



CATÓLICA

UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO

Escola Superior de Biotecnologia

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES HIPERPROTEICAS DE ORIGEM VEGETAL DESTINADAS A GRUPOS-ALVO ESPECÍFICOS

por

Mariana Rita Torres Machado

[Novembro, 2015]



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO
Escola Superior de Biotecnologia

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES HIPERPROTEICAS DE ORIGEM
VEGETAL DESTINADAS A GRUPOS-ALVO ESPECÍFICOS**

Development of plant origin hyper protein formulations for specific target groups

Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação

por

Mariana Rita Torres Machado

Local: Frulact, SA

Orientação: Engenheira Pilar Moraes (Frulact)

Professora Doutora Ana Gomes (ESB-UCP)

Professora Doutora Manuela Pintado (ESB-UCP)

Novembro, 2015

RESUMO

A procura de alimentos com elevado teor em proteínas tem vindo a aumentar, e consequentemente, tem havido um crescente interesse das empresas do sector em inovar nesta área e em lançar produtos contendo alegações nutricionais relacionadas com o teor proteico.

O presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de formulações proteicas de origem vegetal para grupos-alvo específicos, nomeadamente crianças (1-3 anos e 4-9 anos), adolescentes, seniores, desportistas e consumidores interessados em controlar o seu peso.

O estudo envolveu a pesquisa de potenciais fontes proteicas a incluir no projeto e uma posterior seleção com base nas suas características nutricionais, organoléticas e custo. Tendo finalizado o projeto com 16 fontes proteicas selecionadas de entre as quais leguminosas, cereais, tubérculos, sementes e microalgas.

Os pressupostos para as formulações foram estabelecidos tendo por base o teor proteico desejado no produto acabado e as necessidades energéticas de referência para cada um dos grupos-alvo. Assim, as formulações foram otimizadas ao longo do projeto tendo em conta a adequação dos pressupostos às barreiras tecnológicas sentidas, a seleção e/ou combinação de fontes proteicas que colmatem as necessidades do grupo-alvo, e a seleção de aditivos para a ingredientação que assegurem, sempre que possível, o *Clean Label*, como por exemplo a substituição do ácido cítrico e o amido modificado de milho por agentes naturais, como sumo de limão e amido nativo de milho, respetivamente. As formulações finais consideradas, todas elas *Clean Label*, tiveram como pressuposto comum de que pelo menos 12% do valor energético total do produto acabado fosse proveniente de proteína, e que suprisse pressupostos específicos para cada um dos grupo-alvo, tais como satisfazer as suas necessidades nutricionais, em particular em aminoácidos essenciais.

Com o intuito de facilitar a logística de desenvolvimento de preparados em grande escala, e de auxiliar no enriquecimento futuro de qualquer tipo de preparado desenvolvido pela empresa, desenvolveram-se ainda 23 *mix's* proteicos cuja constituição integrou farinhas e proteínas em pó selecionadas para a mistura pretendida, as quais foram acondicionadas na forma de uma matéria-prima. A formulação dos *mix's* proteicos foi realizada considerando as necessidades de cada grupo-alvo, e tiveram como base toda a experiência tecnológica reunida ao longo do desenvolvimento do projeto.

Palavras-chave: Proteína de origem vegetal, Aminoácidos, Formulações proteicas.

ABSTRACT

The demand for food with high protein content has increased, and consequently there has been a growing interest of the industry to innovate in this area and to launch products containing nutrition claims related to the protein content.

This work aims to develop protein formulations of vegetable origin for specific target groups, namely children (1-3 years and 4-9 years), teenagers, seniors, sportsmen and consumers interested in controlling their weight.

The study involved the screening of potential protein sources to include in the project and subsequent selection based on their nutritional and organoleptic characteristics, and cost. At the end of the project, 16 protein sources were selected, among which pulses, cereals, tubers, seeds and microalgae.

The assumptions for the formulations were established based on the desired protein content in the finished product and the reference energetic needs for each of the target groups. Thus, the formulations were optimized throughout the project, taking into account the adaptation of assumptions after experiencing technological barriers, the selection and/or a combination of protein sources that overcomes the group's needs, and the use of additives to ensure the "Clean Label" whenever possible, such as the replacement of citric acid and modified corn starch by natural agents such as lemon juice and native corn starch, respectively. The final formulations considered, all "Clean Label", had a common assumption that at least 12% of the total energy value of the finished product comes from protein, and specific assumptions for each of the target groups were also fulfilled, such as meeting their nutritional requirements, particularly in essential amino acids.

In order to simplify large-scale development of the formulations, and to assist a future enrichment in any preparation developed by the company, 21 protein mixes whose constitution included flour and powdered proteins selected for the desired mixture, which were stored as raw material, were also developed. The protein mixes formulation was performed considering the needs of each target group, and were based on all the technological experience gathered during the project development.

Keywords: Protein, Plant origin protein, Amino acids, Protein formulations.

AGRADECIMENTOS

Um muito Obrigada:

Em primeiro lugar, à empresa Frulact pela oportunidade que me deu de lá estagiar e crescer;

Em especial ao Senhor Comendador Arménio Miranda, impulsionador do projeto, por tudo o que me ensinou, questionou e me fez querer sempre mais;

À Engenheira Pilar Morais pela orientação e apoio e por me incentivar a testar e esclarecer todas as minhas ideias e dúvidas;

A todo o departamento de Inovação, à Engenheira Helena Gomes e à Engenheira Maria Ana Marques por todo o apoio no projeto, sugestões e provas realizadas e em especial ao Luís Paulico, por toda a paciência, apoio e ajuda prestada, sem dúvida que sem a sua presença nada teria sido da mesma forma;

À Doutora Ana Gomes e Doutora Manuela Pintado, minhas orientadoras de Estágio, por toda a paciência e disponibilidade que tiveram comigo;

Aos meus pais e irmã, por todo o apoio e suporte emocional e por me permitirem seguir os meus sonhos, e principalmente à Matilde que é a minha distração favorita;

À Mariana da Fonseca, colega de estágio e apoio em todos os momentos e também ao Álvaro Oliveira, um agradecimento especial por me desafiar sempre mais.

E por fim, mas não por último, aos meus amigos, por serem aqueles que me acompanharam e apoiaram em todo este percurso assim como os que mais me desviaram do foco quando foi necessário mas especialmente ao Delfim, meu maior apoio e porto seguro.

ÍNDICE

RESUMO	iii
ABSTRACT	v
AGRADECIMENTOS	vii
ÍNDICE	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	xxi
ESTRUTURA DA TESE	xxiii
ORGANIGRAMA	xxv
 CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO	 1
1.1 Frulact, a empresa	1
1.2 I&D na indústria alimentar	1
1.3 I&D na Frulact	2
1.4 Tendências de mercado	2
 CAPITULO II - ESTADO DA ARTE	 5
2.1 Proteínas e aminoácidos	5
2.1.1 A bioquímica das proteínas	5
2.1.1.1 Aminoácidos essenciais e não essenciais	6
2.1.2 Benefícios dos aminoácidos essenciais e não essenciais para a saúde humana	7
2.1.2.1 Benefícios dos aminoácidos essenciais	8
2.1.2.2 Benefícios dos aminoácidos não essenciais	10
2.2 Fontes alimentares de proteína	11
2.2.1 Proteínas de origem vegetal	12
2.2.1.1 Benefícios das fontes proteicas de origem vegetal	15

2.2.1.2	Proteínas vegetais como fontes de fibras	18
2.2.2	Proteínas de origem animal	18
2.3	Grupos-alvo	19
2.3.1	Crianças	19
2.3.2	Adolescentes	20
2.3.3	Seniores	20
2.3.4	Desportistas	22
2.3.5	Controlo de Peso	22
2.4	Contextualização legal	23
2.5	Objetivos do projeto	24
2.6	Trabalhos realizados	24
CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS		27
3.1	Caracterização dos grupos - alvo	27
3.2	Preparados hiperproteicos de origem vegetal	27
3.2.1	Pesquisa e seleção de potenciais fontes proteicas e fornecedores	27
3.2.2	Caracterização sensorial e organolética das fontes	28
3.2.3	Preparação das formulações	28
3.2.3.1	Ingredientes usados nas formulações	29
3.2.4	Pressupostos gerais assumidos na formulação dos preparados	30
3.2.5	Elaboração de preparados	31
3.3	Mix's proteicos	32
CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO		33
4.1	Caracterização dos grupos-alvo	33
4.2	Seleção das fontes proteicas	36
4.3	Caracterização das fontes proteicas	38
4.4	Desenvolvimento de preparados	39
4.4.1	Fase1	39
4.4.1.1	Testes com frutas naturalmente ricas em proteases	44
4.4.1.2	Procura de alternativas às fontes proteicas anteriormente seleccionadas.	46

4.4.1.3	Utilização de stevia e açúcar na redução da adstringência.	48
4.4.1.4	Base láctea para incorporação dos preparados	48
4.4.2	Fase 2	49
4.4.3	Fase 3	50
4.4.4	Fase 4	53
4.4.5	Fase 5	55
4.4.5.1	Clean Label – Preparações finais	58
4.5	Mix's proteicos	61
CAPÍTULO V - CONCLUSÃO		65
CAPÍTULO VI - TRABALHO FUTURO		67
APÊNDICES		69
	Apêndice I	71
	Apêndice II	73
	Apêndice III	75
	Apêndice IV	91
BIBLIOGRAFIA		99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 0.1 - Organigrama do conteúdo da tese.	xxv
Figura 3.1 - Explicação da sequência na criação dos <i>mix's</i> proteicos desenvolvidos nesta etapa do projeto.	32
Figura 4.1 - Imagem dos preparados pasteurizados das fontes proteicas após pasteurização e 24 h de repouso (da esquerda para a direita: proteína de arroz, proteína de ervilha, proteína de batata, proteína de fava, Proteína de <i>Inca inchi</i> , proteína isolada de soja e proteína de lentilha).	38
Figura 4.2 - Fotografia dos preparados contendo (da esquerda para a direita) 17,25%, 12%, 8%, 4% e 1% de proteína de batata.	47
Figura 4.3 - Fotografia do preparado com 10% de proteína de batata.	47

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 - Classificação dos aminoácidos entre essenciais, condicionalmente essenciais e não essenciais (adaptado de Rose <i>et al.</i> , 1954; Kopple & Swendseid, 1975).	6
Tabela 2.2 - Teores proteicos e teores em aminoácidos essenciais, de diferentes fontes de origem vegetal estratificados por família (adaptado de Souci <i>et al.</i> , 1994; USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2013).	14
Tabela 2.3 - Benefícios para a saúde de diferentes fontes proteicas de origem vegetal.	17
Tabela 3.1 - Intervalo percentual das necessidades energéticas totais a incluir numa refeição intercalar.	30
Tabela 4.1 - Necessidades de aminoácidos essenciais (Aae) para crianças e adolescentes (mg/g de proteína) (adaptado de WHO, 2007).	34
Tabela 4.2 - Necessidades de aminoácidos essenciais (aae) para seniores, desportistas e controlo de peso (mg/g de proteína) (adaptado de WHO, 2007).	35
Tabela 4.3 - Teores proteicos e teores em aminoácidos essenciais, de diferentes fontes isoladas/concentradas de origem vegetal, de acordo com ficha técnica do produto*.	37
Tabela 4.4 - Resumo dos resultados obtidos na caracterização sensorial das fontes proteicas realizada por provadores internos do departamento de I&T da empresa.	38
Tabela 4.5 - Resumo dos pressupostos aplicados na fase 1.	40
Tabela 4.6 - Formulações iniciais para os grupos-alvo crianças com 1 a 3 anos com e sem alergénios na sua constituição e para seniores*.	41
Tabela 4.7 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados na Tabela 4.6 medidos após execução e após 24h de repouso.	42
Tabela 4.8 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças do 1 aos 3 anos e dos 4 aos 9 anos*.	43
Tabela 4.9 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo de controlo de peso e desportistas*.	43

Tabela 4.10 - Formulações dos preparados de frutas adicionados de proteases provenientes do ananás (preparado 2) e da papaia (preparado 3). O preparado 1 serviu como controle.	45
Tabela 4.11 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados na Tabela 4.10 com ênfase nos valores de viscosidade medidos durante e após execução e após 24h de repouso.	45
Tabela 4.12 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH medidos após execução e após 24h de repouso, dos preparados realizados com diversos teores de proteína de batata.	47
Tabela 4.13 - Formulações teste de preparados para verificar o efeito de stevia na adstringência do produto final.	48
Tabela 4.14 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 2.	49
Tabela 4.15 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo dos seniores e dos desportistas*.	50
Tabela 4.16 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 3.	51
Tabela 4.17 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo dos adolescentes, controle de peso e seniores.	51
Tabela 4.18 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos e crianças com 4 a 9 anos*.	52
Tabela 4.19 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados nas Tabelas 5.17 e 5.18 medidos após execução e após 24 h de repouso.	52
Tabela 4.20 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 4.	54
Tabela 4.21 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos e 4 a 9 anos cujo VET para a refeição intercalar foi calculado com base em 10% das NET.	54
Tabela 4.22 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados na Tabela 5.21 medidos após pasteurização e após 24h de repouso.	55
Tabela 4.23 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 5.	55

Tabela 4.24 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças do 1 aos 3 anos e dos 4 aos 9 anos cujo VET para a refeição intercalar foi calculado com base em 7,5% das NET.	56
Tabela 4.25 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo dos adolescentes, seniores, controlo de peso e desportistas*.	56
Tabela 4.26 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados nas Tabelas 5.24 e 5.25 medidos após pasteurização e após 24h de repouso.	58
Tabela 4.27 - Preparados da fase 6 desenvolvidos para os grupos-alvo das crianças do 1 aos 3 anos, das crianças dos 4 aos 9 e dos adolescentes*.	59
Tabela 4.28 - Preparados da fase 6 desenvolvidos para os grupos-alvo seniores, desportistas e controlo de peso*.	59
Tabela 4.29 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados nas Tabelas 4.27 e 4.28 medidos ao dia 0 e 1 e à semana 3 e 10.	60
Tabela 4.30 - Formulações dos <i>mix's</i> desenvolvidos para os grupos-alvo dos seniores, controlo de peso e crianças com 4 a 9 anos.	62
Tabela 4.31 - <i>Mix's</i> desenvolvidas para preparados com baixa granulidade, para um elevado teor de proteína e para preparados isentos de soja.	62
Tabela A.1 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos com alergénios da fase 1 relativamente às suas necessidades.	75
Tabela A.2 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos sem alergénios da fase 1 relativamente às suas necessidades.	76
Tabela A.3 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para seniores da fase 1 relativamente às suas necessidades.	76
Tabela A.4 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 1 relativamente às suas necessidades.	77
Tabela A.5 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 1 relativamente às suas necessidades.	77

Tabela A.6 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 1 relativamente às suas necessidades.	78
Tabela A.7 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 1 relativamente às suas necessidades.	78
Tabela A.8 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para séniores da fase 2 relativamente às suas necessidades.	79
Tabela A.9 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 2 relativamente às suas necessidades.	79
Tabela A.10 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para adolescentes da fase 3 relativamente às suas necessidades.	80
Tabela A.11 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 3 relativamente às suas necessidades.	80
Tabela A.12 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para séniores da fase 3 relativamente às suas necessidades.	81
Tabela A.13 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação A para crianças do 1 aos 3 anos da fase 3 relativamente às suas necessidades.	81
Tabela A.14 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação B para crianças do 1 aos 3 anos da fase 3 relativamente às suas necessidades.	82
Tabela A.15 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 3 relativamente às suas necessidades.	82
Tabela A.16 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 4 relativamente às suas necessidades.	83
Tabela A.17 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 4 relativamente às suas necessidades.	83
Tabela A.18 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 5 relativamente às suas necessidades.	84

Tabela A.19 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 5 relativamente às suas necessidades.	84
Tabela A.20 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para adolescentes da fase 5 relativamente às suas necessidades.	85
Tabela A.21 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para séniores da fase 5relativamente às suas necessidades.	85
Tabela A.22 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 5 relativamente às suas necessidades.	86
Tabela A.23 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 5 relativamente às suas necessidades.	86
Tabela A.24 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.	87
Tabela A.25 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.	87
Tabela A.26 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para adolescentes da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.	88
Tabela A.27 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para séniores da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.	88
Tabela A.28 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.	89
Tabela A.29 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.	89
Tabela A.30 - Formulação do GreenMix Protein TOP, indicado para o grupo-alvo dos desportistas	91
Tabela A.31 - Formulação do GreenMix Protein, indicado para o grupo-alvo dos desportistas	91

Tabela A.32 - Formulação do GreenMix Protein Economico (Ec), indicado para o grupo-alvo dos desportistas.	92
Tabela A.33 - Formulação do GreenMix Saciante, indicado para o grupo-alvo de controlo de peso.	92
Tabela A.34 - Formulação do GreenMix Saciante, indicado para o grupo-alvo de controlo de peso.	92
Tabela A.35 - Formulação do GreenMix Sénior.	93
Tabela A.36 - Formulação do GreenMix Senior ómega-3.	93
Tabela A.37 - Formulação do GreenMix Senior.	94
Tabela A.38 - Formulação do GreenMix Sénior Económico (Ec), indicado para o grupo-alvo dos seniores	94
Tabela A.39 - Formulação do GreenMix Soyfree Económico (Ec).	95
Tabela A.40 - Formulação do GreenMix Crianças de 1 aos 3 anos.	95
Tabela A.41 - Formulação do GreenMix Crianças de 1 aos 3 anos.	95
Tabela A.42 - Formulação do GreenMix Crianças dos 4 aos 9 anos.	96
Tabela A.43 - Formulação do GreenMix Adolescentes.	96
Tabela A.44 - Formulação do GreenMix Universal Económico.	96
Tabela A.45 - Formulação do GreenMix Universal Top Protein.	97
Tabela A.46 - Formulação do GreenMix Protein vs €.	97

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

° Bx – Graus Brix

AACR - Aminoácidos de cadeia ramificada

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARN - Ácido ribonucleico

ATP – Adenosina trifosfato

CE – Comissão Europeia

D&A – Desenvolvimento e Aplicações

DCV – Doença Cardiovascular

DDR - *Doses Diárias de Referência* (em inglês: DRI – Dietary References Intake)

DGS – Direção-Geral da Saúde

EFSA –European Food Safety Authority (em português: Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)

EUA – Estados Unidos da América

FAO – Food and Agriculture Organization (em português: Organização para a Agricultura e Alimentação)

FIPA – Federação das Industrias Portuguesas Agro-alimentares

I&D – Investigação e Desenvolvimento

I&T – Inovação e Tecnologia

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL – Low-density lipoprotein (em português: Lipoproteína de baixa densidade)

NET – Necessidades energéticas totais

NPD Group - National Purchase Diary Group

OMS – Organização Mundial de Saúde (em inglês: WHO – World Health Organization)

Prep. – Preparado

SPES - Spread European Safety

UE – União Europeia

ufc – unidades formadoras de colónias

VDR – Valor Diário de Referência

VET – Valor Energético Total

aa - Aminoácido

aae - Aminoácido essencial

ala - Alanina
arg - Arginina
asn - Asparagina
asp - Ácido Aspártico
cys - Cisteína
gln - Glutamina
glu - Ácido Glutâmico
gly - Glicina
his - Histidina
ile - Isoleucina
leu - Leucina
lys - Lisina
met - Metionina
phe - Fenilalanina
pro - Prolina
ser - Serina
thr - Treonina
trp - Triptofano
tyr - Tirosina
val - Valina

ESTRUTURA DA TESE

A dissertação apresenta-se dividida em 5 capítulos conforme o diagrama seguidamente apresentado (**Figura 0.1**).

O capítulo I, a Introdução, descreve a empresa, os sistemas de inovação e desenvolvimento quer na indústria alimentar de forma geral quer particularmente na Frulact.

No capítulo II, o Estado da arte tem como principal objetivo contextualizar as diferentes temáticas abordadas na dissertação e fazer um ponto de situação dos avanços científicos e de mercado das mesmas. Sendo assim faz uma pequena reflexão com informação atualizada sobre proteínas, aminoácidos constituintes e suas principais fontes alimentares, contextualiza o leitor relativamente aos grupos-alvo estudados no projeto e por fim descreve de forma sucinta os objetivos do projeto e a principal abordagem dos trabalhos realizados.

O capítulo III, Materiais e Métodos, descreve de forma sumariada os materiais e procedimentos experimentais utilizados no desenvolvimento dos novos produtos, apresentação dos grupos-alvo do projeto e as diretrizes nutricionais usadas para o desenvolvimento dos mesmos.

O capítulo IV, Resultados e Discussão, apresenta os resultados obtidos e discute as opções consideradas no decorrer do projeto.

A parte final desta dissertação assenta nos capítulos V e VI conclusões e trabalho futuro, respetivamente onde são apresentadas as principais conclusões do estudo e sugeridas algumas ideias a desenvolver no futuro, seguimento deste mesmo projeto.

ORGANIGRAMA

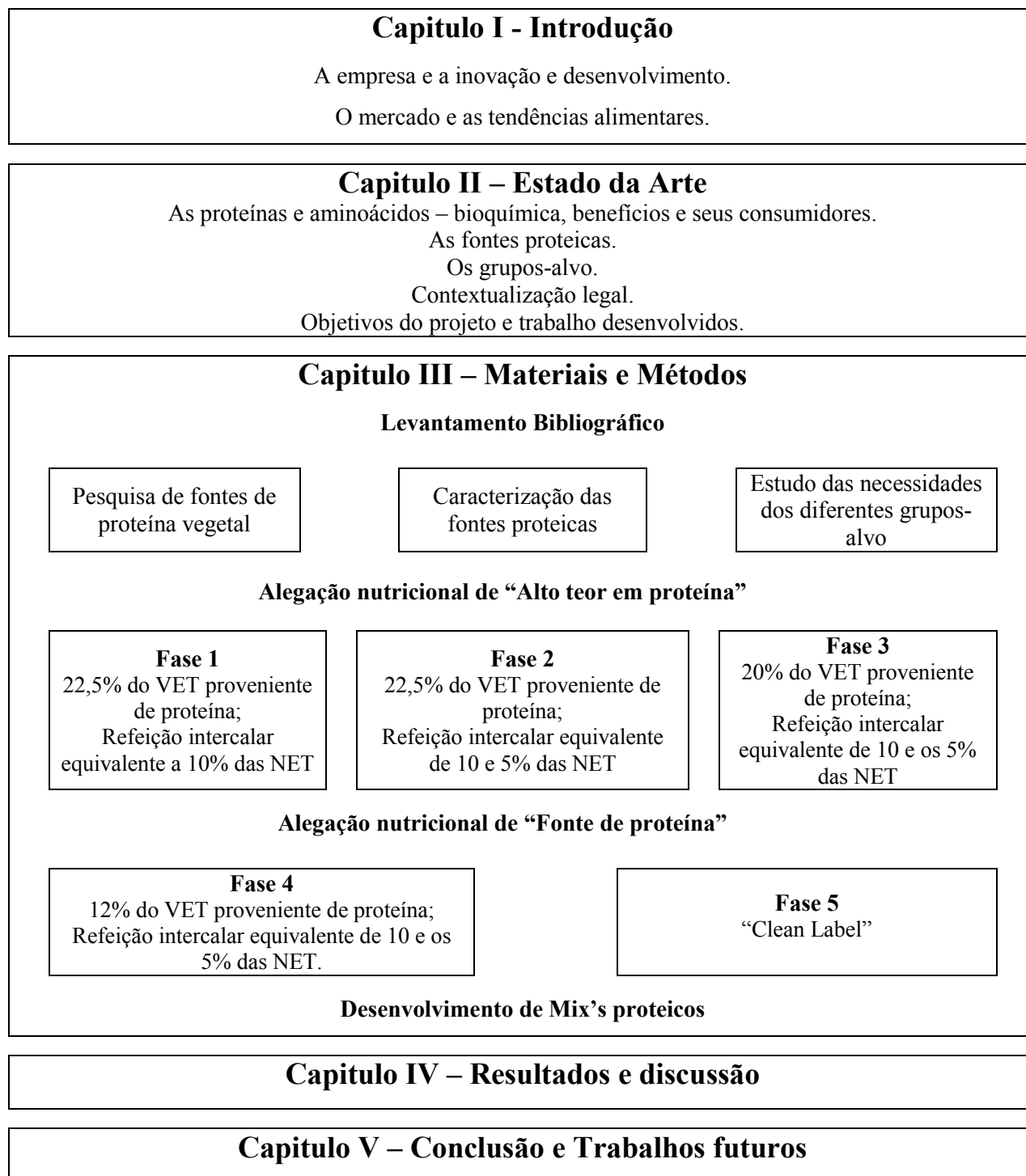


Figura 0.1 - Organograma do conteúdo da tese.

*VET – Valor energético total do produto

*NET – Necessidades energéticas totais do individuo

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO

1.1 Frulact, a empresa

Fundada em 1987 e com mais de 25 anos de história, a Frulact sediou-se na Maia e foi o culminar de muitos anos de experiência dos seus mentores na indústria alimentar, mais propriamente na área dos produtos lácteos. Em 1998, abriu portas no Ferro (Covilhã), para uma nova unidade fabril localizada nas proximidades das grandes zonas de cultivo de fruta, de forma a realizar um melhor acompanhamento das suas matérias-primas desde o cultivo à colheita. A fábrica de Tortosendo, também na Covilhã, foi criada em 2006 e está igualmente localizada de forma estratégica junto a áreas de elevada produção frutícola.

Em 1999 a empresa iniciou a sua internacionalização, possuindo atualmente unidades em Marrocos, França, África do Sul e pretende expandir-se para o Canadá. Em 2012, nasceu o Frutech – Centro de Inovação e Tecnologia Agro-Alimentar da Frulact como resultado da procura de inovação e otimização por parte da empresa. Este centro inclui instalações piloto, laboratórios de microbiologia alimentar e de caracterização físico-química e sensorial de fruta e seus derivados.

A Frulact tem vindo a ser premiada pelo seu trabalho tendo sido reconhecida como “Empresa líder do ano em novas tecnologias”, em 2012 e “Empresa do ano, prémio Excellens Oeconomia” em 2013.

1.2 I&D na indústria alimentar

O crescimento da indústria alimentar ao longo dos anos resultou num aumento da competitividade entre as empresas do setor, exigindo assim a procura de respostas científicas para os desafios a que se propõem e também o melhoramento das tecnologias disponíveis. No entanto, os maiores impulsionadores da inovação são os consumidores, e a sua preferência pela qualidade, conveniência, diversidade e saúde, para além das expectativas sobre segurança, ética e produção sustentável, que vêm criar um conjunto de novos desafios para as empresas do setor. Os atuais padrões de qualidade permitem às empresas estarem presentes no mercado mas não lhes confere maior competitividade. Inovação não significa necessariamente a criação de um novo produto, podendo ser uma nova forma de acrescentar valor e aumentar a competitividade de um produto já existente no mercado, nomeadamente através da alteração de ingredientes, embalagem, imagem ou até mudança no processo de produção.

A Federação Portuguesa das Indústrias Agroalimentares (FIPA) e o polo de competitividade Agroalimentar PortugalFoods em Portugal, juntamente com outras federações europeias, nomeadamente a Spread European Safety (SPES) que integra na sua associação a FIPA, têm por objetivo dinamizar a inovação junto do sector agroalimentar, defendendo a importância da investigação e a colaboração das empresas com os clientes na discussão e disseminação das estratégias de inovação, de modo a corresponder às necessidades de todas as partes interessadas.

1.3 I&D na Frulact

No ano de 2012, a Frulact fundou o centro de investigação Frutech, com o objetivo de inovar e desenvolver novos produtos, de aumentar a capacidade de resposta às solicitações de clientes e ajustar a produção a eventuais mudanças tecnológicas, tendo em conta a eficiência energética e o impacto ambiental. A geração e transmissão de conhecimentos são catalisadores da diferenciação e competitividade desta empresa, sendo promovidos através da colaboração com diversas instituições e entidades do sistema científico e tecnológico, como a Escola Superior de Biotecnologia. Como forma de resposta às diferentes vertentes da inovação o Frutech está dividido em dois segmentos, o D&A, Desenvolvimento e Aplicações e o I&T, Inovação e Tecnologia, no qual este projeto foi desenvolvido.

Acreditando que “a união move o sucesso”, a Frulact garante uma melhoria contínua dos seus serviços em paralelismo com uma produção sustentável, regendo-se pelos ideais de pro-atividade, criatividade e inovação para obter produtos diferentes e de confiança.

1.4 Tendências de mercado

A PortugalFoods (2014) apresentou o “horizonte proteico” como uma das tendências alimentares para 2014, tendo sido prolongada para 2015 (PortugalFoods, 2015) devido a um aumento na procura de produtos enriquecidos com proteínas que se traduzem num maior número de alegações relacionadas com o teor proteico nos produtos alimentares.

O interesse dos consumidores em proteínas tem vindo a crescer na última década. Estatísticas do NPD (National Purchase Diary) Group/Dieting Monitor (Katz, 2014) mostram que a percentagem de adultos que consulta os valores nutricionais proteicos nos rótulos dos produtos aumentou de 21% em 2010 para 25% em 2013, nos Estados Unidos da América (EUA). No mesmo país, em 2014, 92% dos inquiridos afirmaram conhecer a proteína e os seus benefícios (Katz, 2014). De 2012 para 2013, houve também um crescimento de 60% no

que concerne novos produtos alimentares com alegação nutricional de elevado teor proteico, tendo 1 em cada 4 consumidores admitido ter consumido mais proteína em 2014 relativamente a 2013. O mesmo foi referido por 26% de consumidores chineses e 13% dos consumidores ingleses (Yates & Jago, 2014).

Um estudo (Katz, B. 2014) apelidou de “protein seekers” o grupo dos consumidores que procura a proteína como ingrediente fundamental na sua alimentação. Este grupo é transversal a diferentes faixas etárias, estando presente em semelhantes proporções em jovens adultos (18-29 anos), adultos (30-49 anos) e pessoas com idade superior a 50 anos, aferindo assim uma transversalidade nesta tendência alimentar.

Geralmente os consumidores fazem as suas escolhas alimentares com base na procura de um ingrediente específico ou de um benefício para a saúde. No caso das proteínas, a escolha é normalmente associada ao ingrediente e respetivo benefício (Katz, B. 2014). Para o consumidor em geral, os benefícios mais procurados são a diminuição e/ou manutenção do peso corporal. Estes fatores foram referidos por 50% dos consumidores chineses, americanos e ingleses como principal motivação do aumento da ingestão de proteínas, tendo 1/3 destes referido como fator motivacional a saciedade associada ao seu consumo (Yates & Jago, 2014).

Os grupos-alvo desta grande tendência são essencialmente desportistas, seniores, crianças em crescimento e pessoas com dietas restritivas, tal como o vegetarianismo (PortugalFoods, 2014). Estes grupos-alvo destacam-se pelos benefícios para a saúde que, atualmente, estão comprovados e aceites para o consumo de proteínas tal como uma melhoria da saúde óssea, da saúde e formação dos músculos, e promoção do crescimento e desenvolvimento ósseo normal em crianças (Agostoni *et al.*, 2010a).

Na indústria, esta tendência reflete-se através do lançamento de produtos com alegação de alto teor proteico, sendo que os iogurtes representam o segmento com maior atividade a nível mundial, tendo havido um crescimento anual de 34% entre 2010 e 2013 (Innova Market Insights, 2015). Este crescimento resulta do aumento da pesquisa sobre a temática das proteínas como resposta à substituição de proteínas alergénicas, aumento da variedade de opções *Gluten Free* e *Vegan*, satisfação das necessidades dos consumidores em aditivos naturais e, tal como referido anteriormente, providenciar escolhas alimentares mais saudáveis (Musa-Veloso 2014).

Apesar de não estar definido legalmente, existem ainda os produtos considerados *Clean Label*, que também são uma grande tendência alimentar. A sua definição é ainda pouco abrangente mas de acordo com o documento “The Clean Label Guide to Europe” (Ingredion,

2014) a perspectiva do consumidor é que um produto *Clean Label* poderá ser incluído na gama de produtos “naturais”, “orgânicos” e “sem aditivos e conservantes”. Por outro lado, a indústria associa o *Clean Label* à utilização de ingredientes simples e minimamente processados que facilmente poderão ser identificados pelo consumidor, e a uma pequena lista de ingredientes que não deverá incluir ingredientes químicos ou que contenham numeração E.

CAPITULO II - ESTADO DA ARTE

2.1 Proteínas e aminoácidos

2.1.1 A bioquímica das proteínas

As proteínas são as macromoléculas mais abundantes da Natureza, sendo essenciais para a maioria dos processos bioquímicos subjacentes à vida. Funcionalmente, as proteínas são responsáveis pela catálise enzimática, regulação de funções celulares, defesa do organismo, função hormonal, suporte estrutural, entre outros.

Uma proteína é uma macromolécula constituída por aminoácidos (aa), e apesar de já terem sido descobertos cerca de 500 aminoácidos na natureza, apenas 20 são utilizados como elementos fundamentais na composição de proteínas (Wagner & Musso, 1983; Nelson & Cox, 2008; Quintas *et al.*, 2008).

Estes 20 aminoácidos (**Tabela 2.1**) são moléculas constituídas por um átomo de carbono central (denominado de carbono α) ligado a um grupo amina ($-\text{NH}_2$), a um grupo carboxilo ($-\text{COOH}$), a um átomo de hidrogénio e a uma cadeia lateral que difere de aminoácido para aminoácido, atribuindo assim propriedades únicas a cada um (Watson *et al.*, 2004; Nelson & Cox, 2008).

Dois aminoácidos podem ligar-se através de uma ligação peptídica, uma ligação covalente que resulta da condensação entre o grupo α -carboxilo de um aminoácido a montante na ligação e um grupo α -amina de um outro aminoácido a jusante, libertando uma molécula de água (Watson *et al.*, 2004; Nelson & Cox, 2008). Uma cadeia linear de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas denomina-se péptido.

Nos sistemas biológicos, as cadeias laterais dos aminoácidos de um péptido estabelecem interações intermoleculares entre si (ex.: pontes de hidrogénio e forças de van der Waals), alterando a conformação linear do péptido para uma conformação tridimensional. Para além disso, alguns resíduos podem ligar-se covalentemente a resíduos de um outro péptido (ex.: pontes dissulfureto), a cofatores (ex.: vitaminas), entre outras moléculas. E assim, uma proteína é uma ou mais cadeias polipeptídicas eventualmente associadas a certas moléculas, e com uma estrutura tridimensional e uma função biológica definida (Nelson & Cox, 2008).

2.1.1.1 Aminoácidos essenciais e não essenciais

Do ponto de vista nutricional, os aminoácidos podem ser considerados como essenciais (indispensáveis) ou não essenciais (dispensáveis). O modo como é feita esta organização é de certo modo controverso, mas a definição mais tradicional foi referida por Borman *et al.* (1946), que agrupou os aminoácidos de acordo com a capacidade que o nosso organismo tem para os sintetizar e, conseqüentemente, com a relevância que estes têm na nossa alimentação.

Assim, os aminoácidos não essenciais são moléculas que podem ser sintetizadas pelo nosso organismo. Esta síntese ocorre no fígado que, através de enzimas específicas, é capaz de produzir determinados aminoácidos e de transferir o grupo alfa-amina destes para outras moléculas (transaminação), formando assim outros aminoácidos distintos. Existem também aminoácidos igualmente importantes para o nosso organismo, mas que não são sintetizados pelo fígado, tendo por isso que ser obtidos através da alimentação, designando-se de aminoácidos essenciais (Almeida & Afonso, 1997).

Ainda pode ser considerada uma terceira categoria - aminoácidos condicionalmente essenciais, que são tradicionalmente classificados de não essenciais, mas a limitação temporária da sua taxa de síntese pode fazer com que sejam necessários na dieta (Reeds, 2000). A **Tabela 2.1** mostra a classificação dos aminoácidos de acordo com a importância da sua presença na dieta, categorizando-os de essenciais, condicionalmente essenciais e não essenciais.

Tabela 2.1 - Classificação dos aminoácidos entre essenciais, condicionalmente essenciais e não essenciais (adaptado de Rose *et al.*, 1954; Kopple & Swendseid, 1975).

Aminoácidos essenciais	Aminoácidos condicionalmente essenciais	Aminoácidos não essenciais
Fenilalanina	Arginina	Ácido aspártico
Histidina	Cisteína	Ácido glutâmico
Isoleucina	Glicina	Alanina
Leucina	Glutamina	Asparagina
Lisina	Prolina	Serina
Metionina	Tirosina	
Treonina		
Triptofano		
Valina		

Uma outra classificação de aminoácidos pode ser feita de acordo com o seu envolvimento na fisiologia e metabolismo, em que se consideram como moléculas e

percursores importantes para a função de certos sistemas (Reeds, 2000). Neste aspeto, são consideradas as consequências resultantes de uma dieta isenta de um certo aminoácido. Deste ponto de vista, a histidina foi inicialmente considerada como não essencial em adultos (Rose *et al.*, 1954), uma vez que é sintetizada pelo organismo, ao invés das crianças que por terem necessidades mais elevadas, o seu organismo não consegue produzir em quantidades suficientes. Posteriormente, Kopple & Swendseid (1975) observaram que este aminoácido também é essencial em doentes urémicos crónicos e adultos saudáveis, estando a sua escassez associada a falhas na eritropoiese.

2.1.2 Benefícios dos aminoácidos essenciais e não essenciais para a saúde humana

Todos os aminoácidos, quer nutricionalmente essenciais ou não, exercem funções no organismo tais como (Wu, 2013):

- Constituição de péptidos e proteínas;
- Regulação da expressão genética;
- Transporte e metabolismo dos nutrientes (substratos e ativadores da síntese proteica);
- Ativação da lipólise e consequente redução do tecido adiposo (regulação metabólica);
- Modulação de repostas imunológicas;
- Lactação;
- Reprodução;
- Secreção de hormonas;
- Defesa antioxidante e remoção de substâncias tóxicas;
- Funções neurológicas e comportamentais;
- Função digestiva;
- Recuperação de lesões;
- Regulação da pressão sanguínea e da função cardiovascular;
- Pigmentação (olhos, pele e cabelo);
- Osmorregulação;
- Entre outros.

Uma deficiência em aminoácidos no organismo pode causar certas doenças, como a desnutrição. Esta diminuição pode ocorrer de forma generalizada ou só em aminoácidos específicos, podendo contribuir para o aumento dos sintomas e severidade ou progressão de

doenças. Em muitos destes casos recomenda-se a suplementação dos aminoácidos em falta (van de Poll, 2005).

Com base em estudos realizados em humanos e animais, Wu (2010a) propôs uma nova categorização de aminoácidos. Nutricionalmente, estes são classificados como sendo essenciais, não essenciais ou condicionalmente essenciais, mas este novo conceito distingue consoante a função no organismo. Assim sendo, os aminoácidos funcionais são todos os que participam ou regulam vias metabólicas importantes para a saúde, crescimento, desenvolvimento, lactação e reprodução no ser humano. As vias metabólicas incluem:

- Síntese e degradação de proteínas intracelulares;
- Síntese e catabolismo de aminoácidos;
- Síntese de pequenos péptidos, metabolitos azotados e substâncias de enxofre;
- Ciclo de síntese da ureia ou ácido úrico;
- Metabolismo lipídico e da glicose;
- Metabolismo de carbono único.

Para além de serem a unidade estrutural de proteínas, os aminoácidos também são precursores essenciais para a síntese de várias moléculas fisiologicamente importantes, como alguns péptidos, hormonas, neurotransmissores, óxido nítrico, creatina, carnitina e poliamidas (Wu 2009; Kong *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2012; Blachier *et al.*, 2011), e por isso espera-se que possam ser utilizados na prevenção e tratamento de doenças metabólicas como a obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares, lactação insuficiente, problemas de crescimento fetal e pós-natal, infertilidade masculina e feminina, doenças renais, neuronais e doenças infecciosas.

2.1.2.1 Benefícios dos aminoácidos essenciais

Os aminoácidos de cadeia ramificada (AACR), nomeadamente a leucina, isoleucina e valina, correspondem a 1/3 das necessidades diárias em aminoácidos de um humano. Ao contrário dos restantes aminoácidos, estes são oxidados no músculo e não no fígado, e estão intimamente relacionados com a síntese proteica. Para que ocorra a reação de transaminação, os AACR cedem um grupo amina, auxiliando na produção aeróbia de adenosina trifosfato (ATP), o que é importante na passagem do estado de descanso para atividade física (van de Poll, 2005). Por estes motivos, os AACR estão frequentemente associados a desportistas, e são utilizados em suplementos nutricionais para este público-alvo (Howatson, 2012). O aminoácido leucina também desempenha um papel importante no metabolismo proteico, uma

vez que ativa a rapamicina que estimula a síntese proteica e inibe a proteólise intracelular (Dillon, 2012).

O aminoácido metionina é um precursor de cisteína, creatina e taurina, que têm um papel importante no desenvolvimento e manutenção de células neuronais e da retina, participando no metabolismo de síntese de ácido desoxirribonucleico (ADN) e crescimento e desenvolvimento de células através da doação do seu grupo metilo (Wang, 2012). A cisteína tem um papel importante no enovelamento de proteínas e na síntese de glutathione, um antioxidante intracelular. A taurina, abundante em células neuronais e linfócitos, é muitas vezes encontrada em bebidas energéticas, pois tem um papel ativo no controlo das células de contração do músculo cardíaco. Quando em grandes concentrações nos linfócitos, a taurina proporciona um aumento da resistência imunológica a infeções (van de Poll, 2005).

O aminoácido histidina é um precursor de histamina, que funciona como neurotransmissor, regulador da produção do ácido gástrico e desempenha funções no sistema imunitário mediando o crescimento e a funcionalidade das células imunológicas. No entanto, uma elevada produção e libertação de histamina produz sintomas de alergia (van de Poll, 2005).

Relativamente ao aminoácido treonina, este é metabolizado no fígado e é um precursor de glicina, que por sua vez converte-se em serina e está frequentemente associado ao sistema nervoso, neuronal, hepático, e tem propriedades anti-inflamatórias (van de Poll, 2005; Hou *et al.*, 2012).

A lisina é um aminoácido essencial presente principalmente em alimentos de origem animal como a carne, e por isso pode estar deficiente em dietas restritas e à base de trigo e outros cereais. A lisina é catabolizada pelo glutamato e acetil-CoA e é também o precursor para a síntese de carnitina, necessária para a oxidação de ácidos gordos de cadeia longa que ocorre nas mitocôndrias (van de Poll, 2005).

A fenilalanina, através de uma reação de hidroxilação catalisada pela enzima fenilalanina hidroxilase, é convertida em tirosina. Quantidades baixas de tirosina podem dever-se à falta desta enzima, condição conhecida como fenilcetonúria. Por sua vez, a tirosina é um precursor da dihidroxifenilalanina (dopa), uma molécula que pode ser sucessivamente convertida em catecolamina, dopamina, noradrenalina e adrenalina. A dopamina é um importante neurotransmissor que atua em diferentes partes do cérebro e está relacionada com os movimentos, a sensação de prazer e motivação. Uma disrupção de dopamina na glândula basal provoca a doença de Parkinson. A noradrenalina e a adrenalina são os neurotransmissores mais importantes do sistema nervoso simpático. Este sistema nervoso é

ativado durante diferentes formas de emoção ou excitação física, induzindo o aumento da pressão cardíaca e sensação de alerta. A tirosina também pode ser iodinada e servir como precursor de hormonas da tiróide, que são reguladores de atividade metabólica no organismo (Agostoni *et al.* 2011; van de Poll, 2005).

O triptofano pode originar vários produtos através de duas vias metabólicas distintas: degradação oxidativa do triptofano e posterior via de quinurenina, e hidroxilação do triptofano e subsequente descarboxilação. A via quinurenina tem como metabolitos o ácido quinólico e o ácido quinurénico, entre outros. O ácido quinólico é um agonista do recetor de NMDA, e o ácido quinurénico é um antagonista não-seletivo do recetor de NMDA (N-metil D-Aspartato), com uma elevada afinidade para o local de glicina do recetor de NMDA e como tal é um bloqueador de aminoácidos de excitação do sistema nervoso central. A hidroxilação e posterior descarboxilação do triptofano origina serotonina, e subsequentemente a melatonina. A serotonina é sintetizada no sistema nervoso central e está envolvida na regulação do humor e sono. Elevadas concentrações de triptofano no organismo estão associadas a cansaço crónico e encefalopatias hepáticas, enquanto baixas concentrações estão associadas a mudanças de humor, declínio cognitivo e disrupção funcional do intestino.

2.1.2.2 Benefícios dos aminoácidos não essenciais

Apesar de serem considerados aminoácidos não essenciais, não existe evidência científica que comprove que os aminoácidos arginina e glutamina consigam ser sintetizados adequadamente pela mãe ou feto de forma a garantir a sua sobrevivência, crescimento e desenvolvimento saudável (Wu *et al.*, 2010b; Wu, 2011), uma vez que a síntese proteica do feto é dependente do fornecimento equilibrado dos aminoácidos por parte da gestante.

A glutamina, glutamato e aspartato são os aminoácidos mais abundantes nas fontes proteicas, quer animal quer vegetal, e são os maiores combustíveis metabólicos dos enterócitos dos mamíferos (Rezaei, 2013). A glutamina é o aminoácido mais abundante no plasma e participa na divisão celular da mucosa intestinal e no sistema imunológico. É também um precursor de ácido glutâmico, que atua a nível cerebral como excitador de neurotransmissores, e é também um precursor de pirimidina e purina, moléculas envolvidas na síntese de ADN e ácido ribonucleico (ARN), e proliferação celular (van de Poll, 2005).

A alanina e a glutamina são os principais substratos da gliconeogénese hepática e do ciclo da ureia. A alanina é produzida nos tecidos periféricos através de uma reação de transaminação do glutamato, AACR's, entre outros. Seguidamente, a alanina é libertada para a corrente sanguínea e distribuída, principalmente para o fígado e rins. No fígado, este

aminoácido é metabolizado e origina glicose, substrato principalmente utilizado pelo músculo (van de Poll, 2005).

A prolina desempenha um papel importante na síntese de moléculas como arginina, poliamidas e glutamato, na composição e enovelamento de proteínas, e atua em diversas vias metabólicas, reações antioxidantes, respostas imunológicas. Este aminoácido é também um dos principais constituintes do colagénio, que representa cerca de 30% do valor total de proteínas no organismo (Wu, 2011).

A arginina possui 3 átomos de azoto na sua constituição, e é um precursor de ácido nítrico que, consoante o local onde se fixa, poderá ter diversas funções tais como: estimulador da glândula pituitária, vasodilatador, neurotransmissor e precursor da resposta imunológica. A arginina também é um precursor na síntese de ureia e exerce funções na formação do colagénio, reparação de tecidos e síntese de creatina, uma fonte energética do músculo-esquelético e neurónios. Este aminoácido também é bastante importante do ponto de vista farmacológico na medida em que é um estimulante da libertação de hormonas como a insulina, glucagon, somastatina e hormonas de crescimento. No fígado, a arginina é utilizada para o ciclo da ureia, ficando disponível para as restantes funções aquela que se aloca nos rins, pelo que em caso de falência renal ou em condições de elevado catabolismo (queimaduras, trauma ou assepsia), este aminoácido pode ser considerado condicionalmente essencial, recomendando-se assim a sua suplementação (van de Poll, 2005).

A asparagina funciona como precursor de glutamina e alanina no músculo, e pode ser convertido através da asparaginase em amónia e ácido aspártico, constituintes importantes no ciclo de Krebs (formação do oxaloacetato e citrato) (van de Poll, 2005).

Em suma, aos aminoácidos glutamina, asparagina, prolina, glicina, serina, alanina e taurina são lhes diretamente atribuídas funções de neurotransmissores e/ou funções moduladoras e os aminoácidos arginina, glicina e cisteína são precursores de neurotransmissores gasosos de reconhecimento. A tirosina é um precursor de dopamina, o triptofano um precursor de serotonina e a histidina um precursor de histamina.

2.2 Fontes alimentares de proteína

As proteínas fazem parte das grandes tendências alimentares dos últimos anos e os seus benefícios são frequentemente referidos, sendo por isso o consumo de proteína cada vez mais recomendado e discutido. Sabe-se que este macronutriente é essencial pois contribui para o crescimento, reparação, funcionamento e estrutura de todas as células vivas. Alguns

exemplos da sua importância no nosso organismo são as hormonas como a insulina que controla o açúcar sanguíneo, as enzimas como as amilases e proteases que são essenciais na digestão dos alimentos e as proteínas musculares que permitem a contração dos músculos.

As proteínas encontram-se nos mais diversos alimentos. Fontes de origem animal como carne, peixe, ovos, leite, queijo e iogurte, fornecem proteínas de alto valor biológico, que possuem na sua constituição todos os aminoácidos essenciais em quantidades adequadas às necessidades do organismo adulto. Por outro lado, fontes de origem vegetal como as hortaliças, cereais, frutos secos e fabáceas (leguminosas) verdes e secas, proporcionam proteínas de baixo ou moderado valor biológico, uma vez que não possuem alguns dos aminoácidos essenciais ou possuem em quantidades inadequadas.

Se uma fonte proteica não possui um aminoácido em quantidades suficientes para suprir as necessidades de um ser humano, esse aminoácido é considerado como limitante. No entanto, como o aminoácido limitante é diferente consoante as proteínas, a qualidade da fonte proteica pode ser melhorada através da combinação de diferentes proteínas, um conceito designado de complementaridade proteica (Gilbert, 2010).

2.2.1 Proteínas de origem vegetal

As proteínas de origem vegetal são muitas vezes associadas a regimes alimentares restritos como o vegetarianismo. No entanto, estas fontes estão cada vez mais presentes no dia-a-dia de uma alimentação saudável e equilibrada, sendo a Dieta Mediterrânica um exemplo da sua presença imperativa. A Dieta Mediterrânica é geralmente rica em frutas, legumes, grãos integrais e proteínas de origem vegetal e pobre em carnes e derivados, tendo por isso efeitos benéficos a longo prazo na saúde humana, tais como diminuição da prevalência de doenças cardiovasculares (DCV), obesidade e diabetes tipo II. Os teores elevados em fibras dietéticas, antioxidantes, ácidos gordos insaturados e alimentos de baixa densidade energética são alguns dos componentes que conferem a esta dieta tais benefícios (Schröder, 2007; Hu, 2014).

Uma razão também apontada para o aumento do consumo destas fontes proteicas reside no facto de comparativamente às fontes proteicas de origem animal, estas serem mais económicas e sustentáveis na forma como são produzidas, respondendo assim a um dos parâmetros do *Horizonte Proteico* – a Sustentabilidade (PortugalFoods, 2015).

De acordo com Mahan & Escott-Stump (2010), as combinações alimentares preferíveis de incluir na dieta por forma a fornecer todos os aminoácidos essenciais incluem grãos (trigo, cevada, aveia) e fabáceas ou sementes e fabáceas.

Na **Tabela 2.2** é possível consultar os teores proteicos e em aminoácidos essenciais de diversas fontes de proteínas de origem vegetal, obtidos através de bibliografia europeia e norte-americana. A versão completa da tabela, com teores de aminoácidos não essenciais e alergenicidade, pode ser consultada no **Apêndice I**.

Tabela 2.2 - Teores proteicos e teores em aminoácidos essenciais, de diferentes fontes de origem vegetal estratificados por família (adaptado de Souci *et al.*, 1994; USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2013).

Fonte Proteica		Referência	Proteína (%)	aae (g/100 g)								
				His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Trp	Val
Amaranthaceae												
Quinoa		USDA Database	14,12	0,41	0,50	0,84	0,77	0,31	0,59	0,42	0,17	0,59
Asteraceae												
Girassol	Semente	USDA Database	20,78	0,63	1,14	1,66	0,94	0,49	1,17	0,93	0,35	1,32
		SOUCI <i>et al.</i>	22,47	0,63	1,37	1,71	0,89	0,49	1,26	0,91	0,31	1,26
	Farinha	SOUCI <i>et al.</i>	37,00	0,94	2,05	2,79	1,40	0,71	1,96	1,47	0,55	2,18
Fabaceae												
Ervilha		USDA Database	5,42	0,11	0,20	0,32	0,32	0,08	0,20	0,20	0,04	0,24
		SOUCI <i>et al.</i>	6,55	0,22	0,54	0,67	0,61	0,10	0,40	0,45	0,10	0,52
Fava		USDA Database	26,12	0,66	1,05	1,96	1,67	0,21	1,10	0,93	0,25	1,16
Feijão branco		USDA Database	23,36	0,65	1,03	1,87	1,60	0,35	1,26	0,98	0,28	1,22
		SOUCI <i>et al.</i>	21,30	0,70	1,49	2,26	1,87	0,26	1,40	1,15	0,23	1,63
Feijão vermelho		USDA Database	22,53	0,63	1,00	1,80	1,55	0,34	1,22	0,95	0,27	1,18
Grão-de-bico		USDA Database	22,39	0,57	0,88	1,47	1,38	0,27	1,10	0,77	0,20	0,87
		SOUCI <i>et al.</i>	19,80	0,53	1,14	1,46	1,37	0,26	0,96	0,70	0,16	0,98
Lentilha		USDA Database	24,63	0,69	1,07	1,79	1,72	0,21	1,22	0,88	0,22	1,22
		SOUCI <i>et al.</i>	23,50	0,71	1,19	2,11	1,89	0,22	1,40	1,12	0,25	1,39
Soja	Grão	SOUCI <i>et al.</i>	33,73	0,83	1,78	2,84	1,90	0,58	1,97	1,49	0,45	1,76
	Proteína isolada	USDA Database	80,69	2,30	4,25	6,78	5,33	1,13	4,59	3,14	1,12	4,10
Tremoço		USDA Database	36,17	1,03	1,62	2,74	1,93	0,26	1,44	1,33	0,29	1,51
Pedaliaceae												
Sésamo (sementes)		USDA Database	17,73	0,52	0,76	1,36	0,57	0,59	0,94	0,38	0,39	0,99
Poaceae												
Aveia	Farinha	SOUCI <i>et al.</i>	13,83	0,32	0,70	1,24	0,58	0,28	0,85	0,56	0,20	0,92
	Grão	SOUCI <i>et al.</i>	11,69	0,27	0,56	1,02	0,55	0,23	0,70	0,49	0,19	0,79
Arroz	Farinha	SOUCI <i>et al.</i>	6,68	0,18	0,33	0,62	0,28	0,19	0,39	0,24	0,10	0,50
	Grão branco	USDA Database	6,50	0,15	0,28	0,54	0,24	0,15	0,35	0,23	0,08	0,39
Centeio	Grão	SOUCI <i>et al.</i>	8,82	0,19	0,39	0,67	0,40	0,14	0,47	0,36	0,11	0,53
Cevada	Grão	SOUCI <i>et al.</i>	9,84	0,21	0,46	0,80	0,38	0,18	0,59	0,43	0,15	0,58
Milho	Farinha	USDA Database	6,93	0,21	0,25	0,85	0,20	0,15	0,34	0,26	0,05	0,35
		SOUCI <i>et al.</i>	8,31	0,18	0,38	1,08	0,24	0,16	0,38	0,33	0,50	0,43
	Grão	SOUCI <i>et al.</i>	8,54	0,26	0,43	1,22	0,29	0,19	0,46	0,39	0,70	0,51
Sorgo		SOUCI <i>et al.</i>	10,30	0,22	0,58	1,36	0,26	0,20	0,44	0,44	0,11	0,58
Trigo	Gérmen	USDA Database	23,15	0,64	0,85	1,57	1,47	0,46	0,93	0,97	0,32	1,20
		SOUCI <i>et al.</i>	26,60	0,84	1,32	2,17	1,90	0,56	1,18	1,55	0,33	1,68
	Grão	SOUCI <i>et al.</i>	11,73	0,28	0,54	0,92	0,38	0,22	0,64	0,43	0,15	0,62

2.2.1.1 Benefícios das fontes proteicas de origem vegetal

De forma generalizada, os grãos integrais tem como principais benefícios para a saúde a redução da prevalência de doenças crônicas como a DCV, diabetes, síndrome metabólico e alguns tipos de cancro, podendo também desempenhar um papel positivo no controlo do peso (Rebello, *et al.*, 2014a). Estudos (Jonnalagadda, *et al.*, 2011) indicam que o consumo de grãos integrais diminui substancialmente o risco de doenças crônicas tais como a doença coronária, diabetes e cancro e ainda tem um impacto positivo no controlo do peso corporal e na saúde digestiva. Outro estudo realizado (Ye, *et al.*, 2012) também apurou que um consumo de 48 a 80 g/dia de grãos inteiros ou 3 a 5 porções/dia reduz o risco de DCV em 21%. O mesmo estudo também observou uma associação inversa entre o consumo de grãos integrais e o ganho de peso. Existem ainda evidências que relacionam os grãos integrais à redução da pressão arterial, como é o caso do estudo realizado por Wang *et al.* (2007) onde se apurou que quatro ou mais porções de grãos integrais reduzem a hipertensão em mulheres com mais de 45 anos. Outro estudo (Tighe, *et al.*, 2010) indicou que a substituição de três porções de cereais refinados por cereais integrais (trigo integral ou aveia) durante 12 semanas também reduziu a pressão sanguínea, diminuindo assim a incidência de doença aterosclerótica coronária e de acidentes cerebrais vasculares em mais do que 15% e 25%, respetivamente. Este mesmo resultado foi identificado em 14 indivíduos saudáveis e normoponderais para uma ingestão de 48 g/dia durante 3 semanas (Bodinhham *et al.* 2011).

Apesar dos estudos acima apresentados, a instituição Health Canadá concluiu que as evidências não eram suficientes para suportar uma alegação de saúde sobre grãos integrais e doença coronária. Relativamente à redução de diabetes tipo 2, o “Dietary Guidelines Advisory Committee” e a “Health Foundation Summit 2012” concluíram não haver evidência para tal associação. Também a EFSA (Agostoni *et al.*, 2010b) não considera suficientemente caracterizada a relação entre o consumo de grão integrais e as alegações de saúde propostas.

Relativamente ao consumo de fabáceas como o feijão, ervilha, grão-de-bico e lentilha, estes têm efeitos benéficos na prevenção e controlo da obesidade e doenças associadas, tais como doenças coronárias, diabetes e síndrome metabólico. Os resultados de um estudo (Bazzano *et al.* 2001) demonstram uma redução de 22% em doenças coronárias e 11% em DCV, quando aumentada a ingestão de fabáceas de 1x para 4x ou mais por semana. Rebello *et al.*, (2014b) demonstrou que a substituição de alimentos com alta densidade energética por legumes tem efeitos benéficos na prevenção e tratamento da obesidade e doenças associadas, tais como a diabetes, doenças cardiovasculares e síndrome metabólico. Cinco doses de

fabáceas numa dieta sem restrições energéticas durante mais de 8 semanas reduz os fatores de síndrome metabólica de forma superior ou equivalente a uma dieta de restrição calórica (Mollard *et al.* 2012).

As fontes de proteína vegetal contêm substâncias com interesse nutricional como ácidos gordos polinsaturados, polifenóis, compostos antioxidantes e fibra, cuja presença nas fontes proteicas referidas na **Tabela 2.2** e respetivos benefícios para a saúde encontram-se listados na **Tabela 2.3**.

Tendo em conta a base deste trabalho, foram selecionadas as fontes mais interessantes para o projeto em curso, isto é, apenas fontes cujo teor proteico fosse superior a 15%.

Tabela 2.3 - Benefícios para a saúde de diferentes fontes proteicas de origem vegetal.

Fonte proteica	Componente	Benefícios associados	Fonte bibliográfica
Girassol	Ácidos gordos polinsaturados	Redução de colesterol LDL e triglicerídeos, prevenindo DCV e fatores de risco associados.	Richmond <i>et al.</i> , 2013.
Ervilha*	Compostos nutricionais e fitoquímicos	Atividade antioxidante protegendo assim as células do stress oxidativo, diminuição do colesterol total	Nithiyanantham, <i>et al.</i> , 2012; Samson, <i>et al.</i> , 2010; Ha, <i>et al.</i> , 2014.
Fava	L-Dopa (levodopa) Compostos fenólicos	Diminuição do colesterol LDL e triglicerídeos Atividade antioxidante L-Dopa é um precursor da dopamina, hormona em falta na doença de Parkinson e por isso ajuda no controlo desta patologia.	Macarulla, <i>et al.</i> , 2001; Pastor-Cavada, <i>et al.</i> , 2011; Baginsky, <i>et al.</i> , 2013.
Feijão	Polifenóis e antioxidantes	Redução do colesterol LDL, e consequente diminuição dos fatores de risco da síndrome metabólica, DCV e doenças inflamatórias.	García-Lafuente, <i>et al.</i> , 2014; Ha, <i>et al.</i> , 2014.
	Amido e fibra solúvel	Contribuição para um índice glicémico baixo, ajudando no controlo da diabetes.	
	Potássio, ferro, magnésio, zinco, folato e lisina.	Manutenção de um organismo saudável.	
Grão-de-bico	Compostos fenólicos e saponinas	Ajuda na saciedade, e prevenção de doenças inflamatórias, neuronais, hipertensão, entre outras. Auxilia na diminuição do colesterol LDL	Murty <i>et al.</i> , 2010; Xiao <i>et al.</i> , 2014 ; Ha, <i>et al.</i> , 2014.
Lentilha	Compostos antioxidantes, flavonoides, antocianinas Saponinas Fibra dietética	Diminuição da hipertensão Diminuição de glicemia e colesterol Atividade anti carcinogénica Atividade antioxidante	Faris, <i>et al.</i> , 2013 ; Amarowicz, <i>et al.</i> ; 2010; Oomah, <i>et al.</i> , 2011.
	Proteína	Tratamento de crianças desnutridas, devido à sua boa digestibilidade e eficácia de absorção de azoto.	Hossain, <i>et al.</i> , 2009.
Soja	Isoflavonas	Redução do colesterol LDL e triglicerídeos, aumento do colesterol HDL e atenuação de outros fatores de risco associados a DCV ateroscleróticas.	Zdrengeha <i>et al.</i> , 2006.
Tremoço	Glúten(ausência) polifenóis, carotenóides, fitosteróis, tocoferóis e alcaloides	Visto não conter glúten, satisfaz as necessidades proteicas e em aminoácidos de indivíduos que sofrem de doença celíaca. Atividade antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena e anti-inflamatória.	Khan, <i>et al.</i> , 2015.
Sésamo	Vitamina E, sesamina, sesamolina e sesamol	Diminuição dos valores de colesterol total, LDL e peroxidação lipídica. Aumento da capacidade antioxidante, o que reduz o stress oxidativo das células e beneficia assim a tensão arterial e função neuronal.	Jamarkattel-Pandit <i>et al.</i> , 2010; Kinugasa <i>et al.</i> , 2011; Wichitsrano <i>et al.</i> , 2011; Alipoor <i>et al.</i> , 2012; Mirmiran <i>et al.</i> 2013.
Gérmen de trigo	Fibra insolúvel	Diminuição dos níveis de glicose no sangue, ajudando na prevenção de diabetes. Diminuição do risco de DCV	Tripkovic <i>et al.</i> , 2014.

*apesar do seu baixo teor proteico, esta fabácea (leguminosa) foi considerada uma vez que existe a possibilidade de utilizar um isolado proteico de ervilha.

2.2.1.2 Proteínas vegetais como fontes de fibras

As fontes de proteínas de origem vegetal são também naturalmente mais ricas em fibras alimentares do que as fontes de proteínas de origem animal. As fibras alimentares incluem a celulose, hemicelulose, pectinas, gomas, mucilagens e lenhina, e exercem funções de regulação e promoção do bem-estar e da saúde no nosso organismo. As fibras apenas estão presentes em alimentos de origem vegetal e classificam-se em dois tipos: solúveis e insolúveis. As fibras solúveis, presentes na aveia, cevada, fabáceas, frutos e produtos hortícolas, reduzem os níveis de colesterol total e contribuem para a regulação dos níveis sanguíneos de glicose. A fibra solúvel retarda o esvaziamento gástrico, aumentando assim a possibilidade de interação entre os nutrientes e as células que libertam hormonas de saciedade e ainda melhora o trânsito intestinal e reduz a taxa de absorção de colesterol. Por outro lado, as fibras insolúveis podem ser encontradas nos cereais “integrais” e farinhas pouco refinadas, nozes e outros frutos com sementes comestíveis e nas partes mais fibrosas de hortícolas. Estas arrastam consigo a água, aumentam o volume das fezes facilitando os movimentos peristálticos, e promovendo uma melhoria no trânsito intestinal. As fibras alimentares não aportam calorias ao alimento mas aumentam o volume do produto ingerido, o que promove a sensação de saciedade através de um atraso no esvaziamento gástrico, prevenindo assim uma ingestão exagerada de alimentos e diminuindo o risco de obesidade (Almeida & Afonso, 1997; Trumbo *et al.*, 2002; FCNAUP, 2004).

Relativamente às necessidades de fibras para as crianças, estima-se que estas devam ingerir cerca de 19 g/dia dos 1 aos 3 anos e 25 g/dia em idades entre os 4 e os 8 anos. Durante a adolescência as necessidades variam entre 26 e 39 g de fibra total/dia e nos adultos variam entre 25 e 38 g, nos seniores entre 21 e 30 g de fibra total/dia. Estes valores diferem consoante o sexo, visto as mulheres terem necessidades mais baixas do que os homens (Institute of Medicine of the National Academies, 2005).

2.2.2 Proteínas de origem animal

As proteínas de origem animal foram referidas ao logo deste trabalho como mais ricas em aminoácidos essenciais, e por isso com maior valor biológico. Independentemente desses fatores, sabe-se também que estas fontes proteicas contêm teores lipídicos mais elevados quando comparadas com fontes proteicas de origem vegetal.

Ao longo deste projeto a proteína de origem animal mais utilizada será a do leite, veiculada num produto fermentado – o iogurte. Em Portugal, segundo a portaria nº 742/92 de

24 de Julho, o iogurte é um produto coagulado, obtido por fermentação láctica devido à ação exclusiva de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* sobre o leite ou produtos lácteos (leite pasteurizado, leite pasteurizado parcialmente desnatado, leite pasteurizado desnatado ou nata pasteurizada) com ou sem a adição de leite em pó ou derivados, açúcares e edulcorantes, devendo a flora específica estar viva e abundante no produto final (igual ou superior a 10^7 ufc/g).

2.3 Grupos-alvo

Nas sociedades ocidentais, é cada vez maior a prevalência de doenças crônicas relacionadas com uma má prática alimentar, tais como Diabetes *Mellitus* tipo 2, obesidade, osteoporose, doenças cerebrais e cardiovasculares (Lepor *et al.*, 2013). Como já foi referido anteriormente, a proteína tem um efeito benéfico nestas patologias, assim como outros fatores nutricionais presentes nas suas fontes, pelo que se considera de extrema importância aliar a saúde, o bem-estar e o prazer.

No entanto, a proteína é necessária ao ser humano em diferentes proporções consoante as diferentes fases da vida, idade ou da prática de exercício físico. Assim, foram estipulados diferentes grupos-alvo para este projeto, tais como crianças (do 1 aos 3 anos e dos 4 aos 9 anos), adolescentes, seniores, desportistas e consumidores interessados em controlar o seu peso.

2.3.1 Crianças

A obesidade foi considerada como a epidemia do século XXI pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2003) e é considerada a doença nutricional pediátrica mais prevalente a nível mundial (Rêgo & Peças, 2012). Aliar um estilo de vida sedentário a uma alimentação desequilibrada contribui para esta patologia, e sendo assim, é essencial realizar uma alimentação equilibrada durante a infância para promover um crescimento saudável, um desenvolvimento cognitivo adequado e prevenir problemas de saúde futuros. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2014a), a faixa etária “crianças” representa todos aqueles que têm idades compreendidas entre os 0 e 9 anos. Nesta fase da vida, a alimentação tem um papel fundamental na saúde, sendo que as proteínas contribuem para a síntese de proteínas teciduais e de crescimento (Rodriguez, 2005). Por esta razão, as necessidades proteicas e em aminoácidos das crianças são proporcionais ao peso corporal, e superiores às dos adultos. De acordo com Feucht (2005), a dose diária de referência de proteína para uma

criança de 1 aos 3 anos é de 13 g/dia e para uma criança com 4 a 9 anos é de 19 g/dia (Institute of Medicine of the National Academies, 2005).

Segundo Rêgo *et al.* (2012), que estudaram a ingestão alimentar de crianças dos 1 aos 3 anos em Portugal, o contributo total de ingestão energética (kcal) foi 18% acima do limite superior de recomendação de proteína em % de energia total. Considerando a quantidade de proteína ingerida em gramas por kg de peso, esta foi de 4,5 g/kg/dia. O grupo dos laticínios foi o que mais contribuiu para o aporte proteico total (36%), tendo sido também o que forneceu mais cálcio.

2.3.2 Adolescentes

Na adolescência, definida pela faixa etária dos 10 aos 19 anos (WHO, 2014a), o crescimento é exponencial e por isso o suprimento das necessidades energéticas e de um adequado aporte proteico nestes indivíduos é imperativo (Mahan & Escott-Stump, 2010). Nesta faixa etária, as necessidades proteicas para rapazes são de 34 a 52 g de proteína/dia e para as raparigas 34 a 46 g de proteína/dia (Institute of Medicine of the National Academies, 2005).

Apesar de não ser muito recorrente, a realização de uma ingestão proteica inadequada durante a puberdade pode levar a alterações no seu crescimento e desenvolvimento (Mahan & Escott-Stump, 2010). Nos jovens mais velhos e fisicamente mais maduros, estas deficiências repercutem-se na perda de peso e massa magra e alterações na composição corporal. Também poderá ocorrer uma diminuição na resposta imunológica e consequentemente uma maior suscetibilidade a infeções (Mahan & Escott-Stump, 2010).

2.3.3 Seniores

O estatuto de idoso é atribuído consoante o nível socioeconómico do país. Em países em desenvolvimento é considerado como idoso aquele que tem idade igual ou superior a 60 anos, enquanto em países desenvolvidos o idoso é aquele com idade igual ou superior a 65 anos (OMS, 2014b)

A OMS (2014b) refere que entre o ano 2000 e 2050 a população com mais de 60 anos vai duplicar (11% para 22%) e estima que em 2050 o número de indivíduos com mais de 60 anos seja de 2 biliões. Também o número de indivíduos com 80 anos ou mais vai quadruplicar até 2050 para 395 milhões. Em Portugal, a população com 70 anos ou mais representava 11% da população em 2001 passando, em 2011, a representar 14% da população.

Relativamente à população com 65 anos ou mais aumentou de 16% em 2001 para 19% em 2011 (Instituto Nacional de Estatística, I.P., 2012). Sabe-se também que o risco de demência aumenta com a idade sendo estimado que 25-30% dos indivíduos com mais de 85 anos tenham algum declínio cognitivo (OMS, 2014b).

Segundo os dados do Centro de Controlo de Doenças e Prevenção (CDC) presentes no artigo *Strategic Nutrition for Healthy Aging* (Hazen, 2014), 80% dos Seniores é afetado por, pelo menos por uma das patologias abaixo mencionadas sendo que 50% da população é afetada, por pelo menos por duas dessas patologias:

Cancro	Cataratas/ glaucoma
Demência (Alzheimer e Parkinson)	Depressão
Diabetes	Problemas Respiratórios
Doenças degenerativas	Hipertensão
Imunidade comprometida	Incontinência
Osteoporose, artrite e fraturas ósseas	Doença vascular, doença coronária e insuficiência cardíaca congestiva

A principal causa de morte em seniores, nos EUA, segundo o Centro de Controlo de Doenças e Prevenção, deve-se a doenças cardiovasculares, cancro, enfarte do miocárdio e doenças respiratórias, seguindo-se da doença de Alzheimer, diabetes, gripe e pneumonia, entre outras. Em Portugal, o Programa Nacional para a Saúde de Pessoas Idosas da Direção-Geral da Saúde (Gambôa *et al.*, 2006), afirma que as maiores causas de morte em seniores se devem a doença crónica como Alzheimer e Parkinson, acidente vascular cerebral, doenças cardiovasculares, doenças do foro respiratório e digestivo e tumores malignos.

Tendo em conta os dados apresentados é essencial incidir sobre a prevenção destas doenças. Nesta área a nutrição tem um papel fundamental fornecendo uma vasta gama de nutrientes que potenciam e beneficiam a saúde.

As proteínas têm também um grande impacto na manutenção óssea e muscular dos seniores. Assim, um correto aporte proteico neste público-alvo pode combater a sarcopenia, que se define pela perda, com a idade, de massa óssea e da força e função muscular resultando num aumento do risco de debilidade física tornando o individuo dependente e com menor qualidade de vida. A sarcopenia afeta 10 a 50% pessoas com mais de 60 anos, atingindo nos dias de hoje cerca de 50 milhões de pessoas em todo o mundo e estima-se que nos próximos

40 anos este número aumente para 200 milhões (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010; Mahan & Escott-Stump, 2010).

2.3.4 Desportistas

O exercício físico aumenta as necessidades energéticas totais e várias são as referências aos benefícios das proteínas na recuperação muscular. Para efeitos de necessidades proteicas e energéticas foram considerados como desportistas, adultos que realizam atividade física moderada e regular (ex: 1h 30m pelos menos 3 vezes por semana).

Existem 3 aminoácidos com um papel relevante no metabolismo e síntese proteica: a leucina, a isoleucina e a valina. Estes aminoácidos de cadeia ramificada (AACR), como já foi referido, são aminoácidos essenciais e por isso têm de estar presentes na alimentação. A importância destes na dieta de um desportista, comparativamente aos restantes aminoácidos essenciais, é que estes são metabolizados nos músculos e não no fígado. A ingestão de AACR é frequentemente associada à diminuição da percepção do esforço, uma vez que estes competem com o triptofano pelos transportadores até ao cérebro. Havendo uma elevada quantidade de AACR, estes ocupam os transportadores e impedem que o triptofano chegue ao cérebro e estimule a produção de serotonina. Esta hormona, é a responsável pela sensação de fadiga geral. Posto isto, um elevado aporte de AACR exerce efeitos benéfico sobre a percepção do esforço assim como melhora a performance cognitiva (Kreider *et al.*, 2004; Blomstrand, 2006; Campbell *et al.*, 2007).

2.3.5 Controlo de Peso

A prevalência de patologias relacionadas com maus hábitos alimentares e um estilo de vida sedentário tem vindo a aumentar ao longo do tempo e por isso, o grupo-alvo “controlo de peso” surge como resposta a uma necessidade do mercado.

Para isso, os produtos desenvolvidos, para além de terem um teor calórico reduzido, contam também na sua constituição com fontes proteicas associadas a um alto teor em fibra e que conferem uma textura mais densa, e por isso aparentemente mais saciante. Assim, é também possível aferir que este grupo-alvo beneficia do consumo de produtos hiperproteicos e sobretudo de origem vegetal.

Os metabolitos, incluindo certos aminoácidos, contribuem para a percepção da saciedade. Mellinkoff *et al.* (1956) sugeriu um relacionamento entre a concentração de aminoácidos no soro e mudanças de apetite. Esta hipótese é referida como a “teoria

aminostática”, em que independentemente de ser induzida através da ingestão de proteínas ou através da administração de misturas de aminoácidos, este aumento na concentração de aminoácidos no soro está acompanhado de uma diminuição do apetite. Consequentemente, um aumento no apetite está acompanhado de uma descida na concentração de aminoácidos. O mesmo estudo refere que uma elevada concentração de aminoácidos no sangue e plasma, que não consiga ser canalizada para a síntese proteica, pode servir como sinal de saciedade para o mecanismo de regulação da ingestão de alimentos, resultando assim numa mais-valia para o grupo-alvo em questão.

2.4 Contextualização legal

Os produtos novos no mercado, como qualquer produto, são regulados por requisitos legais. Relativamente a produtos enriquecidos em proteína, de acordo com a lista do anexo do Regulamento (CE) N° 1924/2006 referente a alegações nutricionais, pode ser atribuída a alegação de “fonte de proteína” quando pelo menos 12% do valor energético total (VET) de um alimento for fornecido por proteína, ou a alegação de “alto teor de proteína” quando pelo menos 20% do VET do alimento for fornecido por proteína. Se o alimento tiver no mínimo a alegação nutricional de “fonte de proteína”, este pode ostentar as seguintes alegações de saúde:

- “Crescimento e manutenção da massa muscular e manutenção normal dos ossos”. Estas alegações constam no Reg. (UE) N° 432/2012 e cumprem com os termos do artigo 13° do Reg. (UE) N° 1924/2006 (alegações que não referem diminuição do risco de doenças e alegações relativas ao desenvolvimento e à saúde das crianças);
- “A proteína é necessária para o crescimento e desenvolvimento ósseo normal em crianças”. Esta alegação consta no Reg. (CE) N° 983/2009 e cumpre com o disposto no artigo 14° do Reg. (UE) N° 1924/2006 (alegações relativas à redução de um risco de doença e alegações relativas ao desenvolvimento e à saúde das crianças).

No Regulamento (UE) N° 1169/2011 referente à rotulagem, está indicado no anexo II uma lista de substâncias ou produtos que provocam alergias ou intolerâncias. O mesmo regulamento, o anexo XIII – parte B refere as doses de referência calóricas e de macronutrientes para adultos. E por fim, no anexo XIV é possível consultar a tabela de conversão utilizada como referência para calcular o valor energético dos principais macronutrientes.

Para o desenvolvimento deste projeto, a Portaria Nº 742/92 do Regulamento (UE) Nº 1169/92 tem um papel fundamental, nomeadamente no artigo 1º que refere que um iogurte aromatizado, por definição, tem de ter pelo menos 75% de parte láctea, podendo os restantes 25% serem géneros aromáticos, tais como frutas e vegetais (frescos, congelados, em pó, conservados ou em compotas) e seus derivados (sumos, sumos concentrados, polpas, polmes e xaropes), sementes ou parte de sementes comestíveis, mel, café, cacau, chocolate e especiarias.

O Decreto-Lei Nº 363/98 de 19 de Novembro é relativo a aditivo alimentares permitidos, respetivo número E e quantidades máximas de utilização.

2.5 Objetivos do projeto

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de preparados com um elevado teor de proteína de origem vegetal e destinados a diferentes grupos-alvo, tais como crianças entre 1 e 3 anos, crianças entre 4 e 9 anos, adolescentes, desportistas, seniores e pessoas que pretendam controlar o peso. Tendo em conta o enquadramento da empresa pretende-se que os preparados sejam posteriormente incorporados em produtos lácteos ou ingeridos *per se* como um preparado de fruta enriquecido.

Desta forma, este projeto assenta na criação de misturas de fontes de proteína vegetal que sejam capazes de suprir as necessidades proteicas em aminoácidos essenciais dos vários grupos-alvo, assim como enriquecer nutricionalmente essas misturas aproveitando os benefícios das fontes/ ingredientes escolhidos.

Através deste projeto pretende-se criar um produto inovador que potencie o crescimento económico da empresa, assim como uma forma de obter vantagens competitivas no mercado.

2.6 Trabalhos realizados

No âmbito do desenvolvimento deste projeto foram executados diversos trabalhos, sendo que nem todos serão reportados nesta dissertação devido a não terem uma implicação direta para o desenvolvimento do projeto, nomeadamente:

- Caracterização nutricional, com base em bibliografia, de todas as fontes proteicas utilizadas;
- Caracterização organolética das fontes proteicas selecionadas;

- Processamento e tratamento de feijão (branco e vermelho) e grão-de-bico como matérias-primas;
- Elaboração de um gelado proteico;
- Realização de *shapes* proteicos (Lopes & Almeida, 2013);
- Criação de preparados alternativos com proteína animal (colagénio);
- Desenvolvimento de *mix*'s de proteínas vegetais a incorporar em preparados de fruta;
- Realização dos cálculos para as tabelas nutricionais dos produtos apresentados no âmbito do projeto.

Estes trabalhos foram desenvolvidos paralelamente e, de forma mais direta ou indireta, contribuíram para atingir o objetivo.

CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo descreve de forma sumariada os materiais e procedimentos experimentais utilizados no desenvolvimento dos novos produtos, apresentação dos grupos-alvo do projeto e as condicionantes nutricionais para o desenvolvimento dos mesmos.

Os ensaios foram realizados em escala piloto no laboratório de investigação e desenvolvimento de Frutech, departamento de inovação da Frulact, no período de Setembro de 2014 a junho de 2015.

3.1 Caracterização dos grupos - alvo

A seleção dos grupos-alvo baseou-se na pesquisa de públicos beneficiadores de uma alimentação enriquecida em proteína associada também a uma estratégia de mercado da empresa.

Posteriormente foi necessário estimar as necessidades energéticas totais diárias para cada um dos grupos-alvo, assim como as suas necessidades proteicas e em aminoácidos. Para tal, recorreu-se a um relatório técnico da OMS (WHO, 2007) sobre as necessidades de proteínas e aminoácidos na nutrição humana, a documentos da Direção-Geral da Saúde (DGS) e ainda às diretrizes dietéticas americanas elaboradas pela United States Department of Health and Human Services em parceria com a USDA (United States Department of Agriculture).

3.2 Preparados hiperproteicos de origem vegetal

A metodologia utilizada na concretização deste projeto visa o desenvolvimento de produtos de elevada qualidade, adaptados nutricionalmente e de forma sustentada a cada grupo-alvo com o intuito de uma futura comercialização.

3.2.1 Pesquisa e seleção de potenciais fontes proteicas e fornecedores

A pesquisa de possíveis fontes proteicas a utilizar estava parcialmente desenvolvida aquando do início do estágio, tendo no entanto sido necessária uma interpretação da documentação existente e uma pesquisa complementar. Para além dos testes já realizados, foram propostas outras fontes ao longo de todo o projeto, de maneira a responder a algumas das dificuldades tecnológicas sentidas.

Foram refutadas fontes proteicas com baixo teor em proteína, elevado preço ou sabor desagradável. O parâmetro inicial de aceitação de fontes proteicas foi de pelo menos 20% de teor proteico.

Para a pesquisa dos valores nutricionais das fontes proteicas foram consultadas tabelas nutricionais tais como a USDA (USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2013), SOUCI (Souci *et al.*, 1994) e ainda a Tabela da Composição de Alimentos (Porto & Oliveira, 2006).

3.2.2 Caracterização sensorial e organolética das fontes

Para a realização da caracterização das fontes, foram dissolvidas 5 g do ingrediente em água (94,9%) e Sorbato de potássio (0,1%) e posteriormente pasteurizados a 95 °C durante 4 minutos. Após arrefecimento, efetuou-se a análise sensorial constituída por um painel interno não treinado. A análise sensorial consistiu num teste de aceitação com uma escala hedónica (de 0 a 5) (**Apêndice II**) onde se percebeu quais as fontes proteicas melhor aceites de acordo com o seu sabor (artificial, doce, torrado, amargo, ácido, salgado e adstringente), granulidade (presença ou ausência, e em caso de presença, fina ou grossa) e viscosidade (desde fluído como água até viscoso como mel). Estes parâmetros têm um elevado impacto no sabor final e textura do preparado.

3.2.3 Preparação das formulações

Um preparado de fruta define-se como uma mistura de fruta, outros ingredientes, aromas e aditivos seguido de tratamento térmico e embalagem para expedição. Nesses preparados, encontram-se frequentemente hidrocolóides que podem ser definidos como substâncias com capacidade de gelificar ou espessar soluções aquosas, estabilizar espumas, formar emulsões ou dispersões, entre outros (Lersch, 2008; Williams & Phillips, 2000). Neste projeto foram utilizados dois tipos de amido - o amido modificado de milho, que são substâncias obtidas através de um ou mais tratamentos químicos de amidos comestíveis, que podem ter sofrido um tratamento físico ou enzimático e podem ser fluidificadas por via ácida ou alcalina ou branqueadas (Decreto-lei Nº 363/98) e o amido nativo de milho, *Clean Label* que contribui para dar volume aos géneros alimentícios sem contribuir significativamente para o seu valor energético disponível. O sorbato de potássio funciona como conservante, que por definição é a substância que prolonga a durabilidade dos géneros alimentícios, protegendo-os contra a deterioração causada por microrganismos. Relativamente ao ácido

cítrico, este é um regulador de acidez, isto é, é uma substância que altera ou controla a acidez ou a alcalinidade de um género alimentício (Decreto-Lei nº 363/98). O açúcar utilizado sob a forma de sacarose, para além do seu poder adoçante, confere também um melhor sabor e textura ao preparado e ainda pode ser utilizado como conservante.

Por fim a fruta, que, como matéria-prima pode ser encontrada sob diversos formatos (inteira, em cubos, purés, polpas ou sumos), em diferentes condições de armazenamento (fresca, congelada, assética, pasteurizada ou seca) e através de processamento pode originar xaropes, compotas, molhos, vinhos e vinagres (FAO, 1997). Para além dos benefícios nutricionais que aporta, confere também cor e sabor ao preparado.

3.2.3.1 Ingredientes usados nas formulações

- Fruta (em pedaços, puré e concentrado de sumo):
 - Concentrado de puré de laranja (concentrado 3,6 vezes);
 - Concentrado de puré de amora (concentrado 3,1 vezes);
 - Concentrado de puré de morango (concentrado 3,0 vezes);
 - Morango em pedaços;
 - Concentrado de sumo de maçã (concentrado 6,25 vezes);
 - Concentrado de sumo de limão (concentrado 5,75 vezes).

- Edulcorantes: Açúcar e Stevia;
- Hidrocoloides, tal como o amido (com diferentes características) e carragenina;

A necessidade de utilização de um certo amido difere consoante a temperatura e o teor em sólidos solúveis (°Bx) do preparado. Estas especificações são estabelecidas pelo fornecedor.

- Conservante (Sorbato de potássio);
- Regulador de acidez tal como o ácido cítrico e concentrado de sumo de limão;
- Fontes de proteína, nomeadamente:
 - Proteína de ervilha;
 - Proteína isolada de soja;
 - Proteína de tremço;
 - Proteína isolada de batata;
 - Proteína de fava;
 - Proteína de lentilha;
 - Farinha de arroz;

- Proteína de arroz;
- Chlorella em pó;
- Farinha de sementes de sésamo;
- Farinha de sementes de girassol;
- Farinha de grão-de-bico;
- Farinha de Quinoa;
- Gérmen de trigo;
- Farinha de feijão vermelho;
- Farinha de feijão branco.

3.2.4 Pressupostos gerais assumidos na formulação dos preparados

De acordo com a Direção-Geral da Saúde (Candeias *et al.*, 2005), uma refeição intercalar deve suprir 5 a 15% das necessidades energéticas totais recomendadas por dia, dependendo da altura da ingestão, sendo que 5% será mais indicado para o meio da manhã, e 15% para o lanche da tarde. As escolhas da percentagem do VET atribuída a uma refeição intercalar foram feitas de acordo com os grupos-alvo e respetivas necessidades energéticas. No entanto, devido a algumas barreiras tecnológicas, pressupostos como a percentagem de proteína desejada em produto acabado e o VET recomendado para uma refeição intermédia, foram sendo adaptados formando diferentes fases de trabalho (**Tabela 3.1**). De acordo com Amaral (2008), uma refeição intercalar de um adolescente não deverá ultrapassar 10% das necessidades energéticas totais (NET).

Tabela 3.1 - Intervalo percentual das necessidades energéticas totais a incluir numa refeição intercalar.

	VET (%)	Refeição intermédia (%)
Fase 1	22,5	10
Fase 2	22,4	5 -10
Fase 3	20	5 - 10
Fase 4	12	5 - 10
Fase 5	12	5 - 7,5

Relativamente à divisão dos macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas e lípidos) esta foi realizada também de acordo com a Direção-Geral da Saúde (Candeias *et al.*, 2005) que prevê que o VET é distribuído pelos macronutrientes da seguinte forma:

- Hidratos de Carbono 55 a 75%;
- Proteínas 10 a 15%;
- Lípidos 15 a 30%.

3.2.5 Elaboração de preparados

A etapa inicial consiste na pesagem de todos os ingredientes a incluir nos preparados formulados. Segue-se a dispersão dos ingredientes, começando pelas fontes proteicas, na água disponível da fórmula e restantes ingredientes líquidos. Reservar um pouco de água, para dispersão do amido. Para a obtenção de uma melhor dispersão, foi utilizada a varinha mágica (BRAUN, 600 Watt, turbo) na rotação máxima (velocidade 15) por aproximadamente 3 minutos (min).

Passagem da mistura no Ultra Turrax durante cerca de 2 min e velocidade progressiva de 4200 rpm (velocidade 1) até um máximo de 25000 rpm (velocidade 6) de modo a garantir uma melhor dispersão das farinhas em solução.

Todo o preparado foi, por fim, pasteurizado a 95 °C durante 4 min para eliminação de contaminantes microbiológicos. Este binómio tempo/temperatura foi utilizado de acordo com o estipulado internamente pela empresa para fórmulas com cereais que se supõem terem uma elevada carga microbiana.

Após pasteurização, a medição de parâmetros de Brix (° Bx), pH e viscosidade é imperativa para compreender as suas propriedades finais pós-operação, tendo para isso sido utilizados um refratómetro, um potenciómetro e um viscosímetro, respetivamente. Esta análise repete-se após 24 h da confeção dos preparados, antes do seu armazenamento.

Os parâmetros estabelecidos para os preparados desenvolvidos foram para o °Bx 8 ± 2 cm e um valor de pH de $4,2 \pm 0,2$, após 24 h da sua execução.

O arrefecimento dos preparados foi realizado à temperatura ambiente ou em recipientes com água também à temperatura ambiente até atingirem a temperatura de 45 °C.

O acondicionamento dos preparados foi realizado sob condições de refrigeração a 8 °C.

A incorporação dos preparados foi realizada em diferentes bases lácteas, açucaradas ou não, com uma dosificação de acordo com o definido nos pressupostos. A incorporação foi

precedida de uma aromatização dos preparados. A escolha dos aromas dependeu do sabor pretendido e das características e grupos-alvo de cada formulação desenvolvida (como por exemplo: para os grupo-alvo das crianças foram sempre utilizados aromas naturais).

No final de cada uma das experiências foi realizado um *focus group* com um painel interno para analisar a aceitação do produto e decidir se se investe ou se desiste da opção.

3.3 Mix's proteicos

Nesta etapa apenas foram utilizadas proteínas isoladas, concentradas e farinhas proteicas, que, e seguindo os pressupostos de criação de uma mistura (em pó) que seja completa do ponto de vista nutricional e adaptada aos diferentes grupos-alvo, foram selecionadas, agrupadas, misturadas e posteriormente armazenadas como matérias-primas. A **figura 3.1** ilustra a criação dos *mix's* proteicos desenvolvidos nesta etapa do projeto.

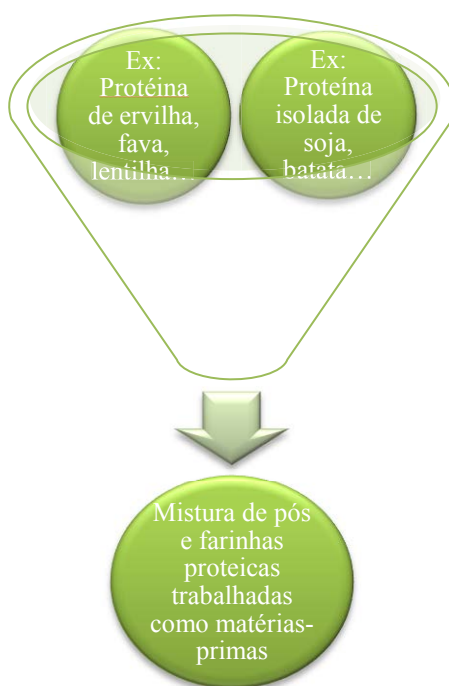


Figura 3.1- Explicação da sequência na criação dos *mix's* proteicos desenvolvidos nesta etapa do projeto.

CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proteína é um tema cada vez mais discutido e estudado, e muitos são os produtos que têm vindo a ser lançados com alegações referentes ao teor de proteína. No entanto, a maioria dos produtos com estas alegações são essencialmente lançados nos EUA. Uma hipótese para esta discrepância entre a Europa e EUA para este tipo de produtos poderá estar relacionado com as diferentes legislações vigentes.

Segundo a legislação nos EUA e Canadá (Code of Federal Regulations, 2015), podem ser atribuídas alegações nutricionais referentes ao teor de proteína tais como “high in”, “rich in”, “excellent source of protein” sempre que a proteína representar pelo menos 20% do valor diário de referência (VDR) de 50 g (≥ 10 g) para indivíduos com idade superior a 4 anos. A alegação “good source of”, “contains”, “provides protein” pode ser atribuída se a proteína representar entre 10-19% do VDR (5-9,5 g) e a alegação de “more”, “fortified”, “enriched”, “added”, “extra” ou “plus protein” pode ser atribuída se a quantidade de proteína por 100 g de alimento enriquecido representar um acréscimo de 10% do VDR (5 g) em relação ao teor de proteína do alimento de referência. Por outro lado, tal como já referido no subcapítulo 2.5 “Contextualização legal”, segundo o regulamento (CE) 1924/2006 da legislação Europeia, pode ser atribuída a alegação de “fonte de proteína” quando pelo menos 12% do valor energético total (VET) de um alimento for fornecido por proteína, ou a alegação de “alto teor de proteína” quando pelo menos 20% do VET do alimento for fornecido por proteína. Isto é, ao invés da legislação europeia em que cada produto terá que ter o teor de proteína proporcional ao seu teor calórico, nos EUA o teor de proteína está dependente do valor de referência da própria fonte proteica. Posto isto, pode-se especular que esta será uma das razões pelas quais o crescimento do mercado da proteína está tão desenvolvido nos EUA. Relativamente às alegações de saúde associadas ao consumo de proteína, estas também divergem entre a legislação Europeia e a dos EUA e Canadá. O presente estudo foi feito tendo em conta a legislação europeia.

4.1 Caracterização dos grupos-alvo

No âmbito deste projeto foram inicialmente estabelecidos os seguintes grupos-alvo: crianças, adolescentes, seniores, desportistas e consumidores que pretendam controlar o seu peso. Nos públicos-alvo em crescimento (crianças e adolescentes) as necessidades calóricas e proteicas variam de acordo com a idade, uma vez que nesta fase da vida as crianças crescem muito rápido, e por isso as suas necessidades vão aumentando proporcionalmente ao seu peso.

Sendo assim, o grupo-alvo das crianças foi segmentado em dois sub-grupos, crianças do 1 aos 3 anos e crianças dos 4 aos 9 anos. Já nos adolescentes, e por ser uma altura de crescimento progressivo e acelerado, também fazia sentido uma distinção mas comercialmente não era exequível.

As Doses Diárias de Referência (DDR; DRI - Dietary Reference Intake) são estabelecidas de forma a permitir um crescimento adequado e um balanço azotado positivo. A melhor forma de determinar as necessidades proteicas nesta faixa etária é com base na proporção por quilograma de peso, uma vez que desta forma é possível acompanhar e distinguir as diferenças na velocidade de crescimento e desenvolvimento nos adolescentes. Geralmente na estratificação dos grupos na bibliografia, e principalmente nestes casos de estado de maturação física tão diferente, as necessidades nutricionais diferem principalmente consoante o sexo e a idade do indivíduo e por isso são, em alguns casos, estimados valores que possam cobrir as necessidades de um grupo-alvo generalizado.

Assim, para efeitos e desenvolvimento do projeto, considerou-se que, para a faixa etária do 1 aos 3 anos, as necessidades calóricas são de 1300 kcal/dia (FCNAUP, 2004), e de 1500 kcal/dia para a faixa etária dos 4 aos 9 anos, para os adolescentes foram consideradas necessidades energéticas de 2500 kcal/dia (FAO, 2001).

Na **Tabela 4.1** é possível ver quais as necessidades em aminoácidos essenciais estimados para crianças com idades compreendidas entre 1 e 3 anos, os 4 e 9 anos e ainda os adolescentes, refletindo o desacelerar da velocidade de crescimento à medida que acompanhamos a curva de crescimento.

Tabela 4.1 - Necessidades de aminoácidos essenciais (Aae) para crianças e adolescentes (mg/g de proteína) (adaptado de WHO, 2007).

Necessidades em Aae (mg/g de proteína)			
Aae	Crianças (1-3 anos)	Crianças (4-9 anos)	Adolescentes
His	18,0	16,0	16,0
Ile	31,0	31,0	30,0
Leu	63,0	61,0	60,0
Lys	52,0	48,0	47,5
Met + Cys	26,0	24,0	23,0
Phe + Tyr	46,0	41,0	40,5
Thr	27,0	25,0	24,5
Trp	7,4	6,6	6,4
Val	42,0	40,0	40,0

Para os restantes grupos alvo a distinção manteve-se ao longo do decorrer do projeto tal como estipulado inicialmente. Apesar das necessidades proteicas variarem de grupo-alvo em grupo-alvo, as necessidades em aminoácidos essenciais são as mesmas para desportistas, seniores e controlo de peso (**Tabela 4.2**), uma vez que estas necessidades são calculadas em proporção da proteína ingerida (esta sim já significativamente variável para estes três grupos).

Relativamente às necessidades energéticas, estas também variam dentro do mesmo grupo-alvo, consoante o sexo e no caso dos desportistas consoante o tipo e intensidade do treino. Mesmo assim e tal como nos grupos-alvo anteriores, foi necessário estimar um valor referência para as necessidades energéticas de cada grupo em questão. Sendo assim, considerou-se para o grupo alvo dos seniores necessidades energéticas de 2200 kcal/dia, para o grupo de controlo de peso 1700 kcal/dia e necessidades de 2600 kcal/dia para desportistas (Thompson & Veneman, 2005).

As necessidades em aminoácidos essenciais estimados para estes grupos-alvo estão listadas na **Tabela 4.2**.

Tabela 4.2 - Necessidades de aminoácidos essenciais (aae) para seniores, desportistas e controlo de peso (mg/g de proteína) (adaptado de WHO, 2007).

Aae	Necessidades em Aae (mg/g de proteína)
His	15
Ile	30
Leu	59
Lys	45
Met + Cys	22
Phe + Tyr	38
Thr	23
Trp	6
Val	39

Nas **Tabelas 4.1 e 4.2**, os valores das necessidades em aminoácidos essenciais encontram-se por grama de proteína ingerida e não por kilograma de peso, uma vez que não era possível estipular um peso médio para cada grupo-alvo.

4.2 Seleção das fontes proteicas

Após uma aprofundada pesquisa das necessidades energéticas e em aminoácidos essenciais dos diferentes grupos-alvo do projeto, a seguinte etapa consistiu em distinguir as fontes proteicas mais recomendadas para cada caso do ponto de vista nutricional, tendo como base a bibliografia e a recolha de valores nutricionais a partir de fichas técnicas das matérias-primas (**Tabela 4.3**).

Um dos critérios de exclusão estabelecido na escolha das proteínas foi que nenhuma fonte com um teor proteico inferior a 20% seria considerada na seleção inicial, uma vez que com um teor proteico tão baixo seria necessário uma incorporação da matéria-prima demasiadamente elevada, o que não só alteraria as propriedades a nível de consistência e a nível organolético do preparado, como também poderia ter elevado impacto no custo final do produto. Sendo assim, numa segunda fase de pesquisa, instigou-se a possibilidade da utilização de proteínas concentradas e isoladas. Os fatores mais determinantes para a escolha das fontes proteicas foram o fator económico e o teor proteico da fonte, e sabendo por um lado que as proteínas concentradas e isoladas são as que contêm um teor proteico mais elevado, por outro, também são mais dispendiosas. No entanto, e tendo em conta que a quantidade a usar de fonte proteica é muito menor, geralmente acaba por ser a melhor opção pois assim também se contorna possíveis constrangimentos na textura e sabor que a fonte proteica poderia conferir ao produto acabado. Contudo, no que concerne à proteína de tremço esta não foi utilizada nos preparados uma vez que é uma fonte extremamente dispendiosa e alergénica.

Tabela 4.3 - Teores proteicos e teores em aminoácidos essenciais, de diferentes fontes isoladas/concentradas de origem vegetal, de acordo com ficha técnica do produto*.

	Proteína (g/100g)	His (g/100g)	Ile (g/100g)	Leu (g/100g)	Lys (g/100g)	Met + Cys (g/100g)	Phe + Tyr (g/100g)	Thr (g/100g)	Trp (g/100g)	Val (g/100g)
Proteína de ervilha	80,00	1,790	3,330	6,130	5,320	0,780	5,640	2,430	0,000	3,880
Proteína Soja Isolada	90,00	2,300	4,200	7,000	5,400	2,200	7,800	3,300	1,100	4,300
Proteína de tremçoço	87,00	0,000	4,060	7,060	3,530	1,690	3,700	2,670	0,500	3,080
Proteína de batata	90,00	1,900	5,600	10,10	7,600	3,900	12,100	4,600	1,200	7,300
Proteína de fava	60,00	1,480	2,400	4,320	3,780	1,090	4,140	1,970	0,550	2,700
Proteína de <i>Inca inchi</i>	60,00	2,600	5,000	6,400	4,300	3,700	7,900	4,300	2,900	4,000
Proteína de lentilha	55,00	1,200	2,200	3,740	3,590	0,860	3,940	1,800	0,410	2,460
Proteína de arroz	80,00	2,600	3,900	8,400	3,200	5,700	11,000	3,800	0,900	5,800
<i>Chlorella</i> em pó	62,50	1,220	3,660	4,840	3,600	2,340	5,030	2,680	1,970	3,700
Farinha de sementes de sésamo	40,32	1,187	1,734	3,008	1,293	2,145	3,827	1,674	0,882	2,252
Farinha de sementes de girassol	48,06	1,333	2,403	3,500	1,977	1,995	3,418	1,959	0,735	2,775
Farinha de grão-de-bico*	22,39	0,57	0,88	1,47	1,38	0,549	1,612	0,77	0,2	0,87
Gérmen de trigo*	23,15	0,64	0,85	1,57	1,47	0,91	1,634	0,97	0,32	1,20
Farinha de feijão vermelho*	22,53	0,63	1,00	1,80	1,55	0,585	1,854	0,95	0,27	1,18
Farinha de feijão branco*	23,36	0,65	1,03	1,87	1,60	0,604	1,918	0,98	0,28	1,22
Farinha de quinoa*	14,12	0,41	0,5	0,84	0,77	0,513	0,857	0,42	0,17	0,59
Farinha de arroz*	6,680	0,180	0,330	0,620	0,280	0,280	0,670	0,240	0,100	0,500

*Valores retirados da tabela nutricional USDA por falta de dados em ficha técnica destas matérias-primas.

4.3 Caracterização das fontes proteicas

Após a seleção das fontes a integrar na lista de matérias-primas iniciais do projeto, foi realizada uma análise sensorial com provadores internos do I&T para proceder a uma caracterização mais aprofundada de cada fonte proteica, tendo por base os parâmetros considerados mais importantes tais como a granulabilidade e adstringência mas também a acidez, a amargura, a doçura, o sabor a torrado, salgado ou artificial.

Como principais resultados desta análise (**Tabela 4.4**) percebeu-se que as fontes com maior granulabilidade eram a proteína de arroz e a proteína de *Inca inchi* e as com menor granulabilidade eram a proteína isolada de soja, a proteína de batata e a proteína de ervilha. Também foi possível concluir que nenhuma das fontes testadas apresentava nota de acidez e que a maioria foi caracterizada como pouco ou nada doce, sem notas de salgado e que grande parte dos provadores identificou uma nota de amargo em todas as fontes tendo sido a proteína de batata considerada como a mais amarga. No geral, as fontes proteicas com apreciação negativa relativamente ao sabor foram a proteína de batata e fava.

Tabela 4.4 – Resumo dos resultados obtidos na caracterização sensorial das fontes proteicas realizada por provadores internos do departamento de I&T da empresa.

Granulabilidade	Sem granulabilidade	Com granulabilidade fina	Com granulabilidade grossa
Fonte	Proteína isolada de soja Proteína isolada de batata Proteína de ervilha	Proteína de fava Proteína de lentilha	Proteína de arroz Proteína de <i>Inca inchi</i>
Adstringência	Pouca/Nenhuma adstringência	Com adstringência	Com elevada adstringência
Fonte	Proteína de arroz Proteína de <i>Inca inchi</i>	Proteína de fava Proteína de lentilha Proteína isolada de soja Proteína de ervilha	Proteína isolada de batata



Figura 4.1 – Imagem dos preparados pasteurizados das fontes proteicas após pasteurização e 24 h de repouso (da esquerda para a direita: proteína de arroz, proteína de ervilha, proteína de batata, proteína de fava, Proteína de *Inca inchi*, proteína isolada de soja e proteína de lentilha).

As características visuais (**Figura 4.1**) apontadas durante o estudo da caracterização das fontes proteicas, corroboram com os resultados apresentados na **Tabela 4.4** relativamente às fontes que apresentam granulidade, isto é, foi realçada a deposição de pó no fundo do recipiente e uma solução opaca para as fontes que apresentaram granulidade grossa (proteína de arroz e proteína de *Inca inchi*), mas também na proteína de fava e na proteína de lentilha que sensorialmente apresentaram uma granulidade mais fina. Também foi possível observar a deposição de pó no caso da proteína de ervilha e proteína isolada de soja, apesar de não se sentir granulidade. A proteína de batata formou uma solução homogênea, gelatinosa e de cor translúcida.

Também foram apontadas propriedades espumantes à proteína de lentilha, batata e fava que refletem um grande desafio tecnológico para a realização de preparados.

4.4 Desenvolvimento de preparados

Como qualquer trabalho de desenvolvimento de produtos, este projeto foi evoluindo de acordo com os sucessos e insucessos de cada proposta realizada, os pressupostos de trabalho foram sendo alterados de acordo com as necessidades sentidas em laboratório, quer a nível de textura, a nível organoléticos ou até por motivos económicos ou de perfil da empresa. Assim, a apresentação dos diferentes preparados e respetivos resultados, será feita consoante o pressuposto tido em conta na criação do produto, seguida de uma breve discussão e explicação das alterações efetuadas. De realçar que independentemente da fase do projeto em causa, todos os preparados foram desenvolvidos de maneira a suprir as necessidades de cada grupo-alvo em aminoácidos essenciais (**Apêndice III**).

4.4.1 Fase1

Nesta primeira etapa do projeto, um dos principais pressupostos considerados foi que, de acordo com o Regulamento (UE) N°1169/2011 fosse possível alegar “Alto teor em proteína”. De acordo com este mesmo regulamento, esta alegação nutricional apenas pode ser feita se pelo menos 20% do VET do alimento for fornecido por proteína. Assim, e de forma a manter uma margem de segurança, foi estabelecida uma percentagem de 22,5% do VET do produto proveniente de proteína. No caso das crianças este valor não se aplica uma vez que estas têm necessidades proteicas diárias muito inferiores aos restantes grupos-alvo e com esta percentagem ultrapassariam as ditas necessidades. Sendo assim, para a obtenção da alegação de “fonte de proteína” e de acordo com o mesmo regulamento, é necessário que, no mínimo,

12% do VET fosse proveniente de proteína, assim e tal como para os restantes grupos-alvo, foi utilizado um valor acima do recomendado, ou seja 12,5%.

Estas margens de segurança foram aplicadas para que no produto final fosse possível garantir a alegação nutricional pretendida uma vez que os cálculos preliminares para o desenvolvimento das novas formulações foram realizados com valores de fichas técnicas ou tabelas de composição de alimentos e não valores analíticos obtidos em laboratório.

De forma generalizada, o restante VET foi distribuído por hidratos de carbono e lípidos numa proporção de 52,5 e 25% respetivamente, com a exceção do grupo-alvo controlo de peso em que a proporção de lípidos foi diminuída, atingindo assim uma proporção de 57,5% para os hidratos de carbono e 20% para os lípidos.

A conversão dos teores de macronutrientes de kcal para gramas foi realizada de acordo com o anexo XIV do Regulamento (UE) N° 1169/2011.

Na **Tabela 4.5** é possível perceber os pressupostos utilizados e os cálculos efetuados para determinar o teor proteico do produto final a desenvolver na fase 1.

Tabela 4.5 - Resumo dos pressupostos aplicados na fase 1.

Grupo-alvo	Necessidades Energéticas (Kcal)	% das NET atribuída a uma refeição intercalar (5-10%)	Valor calórico do produto a desenvolver (Kcal)	22,5% de proteína para a alegação de "alto teor em proteína" (Kcal)	Teor proteico (g)
Crianças 1-3 anos	1300	10%	130	16,25*	4,1*
Crianças 4-9 anos	1500	10%	150	18,75*	4,7*
Adolescentes	2500	10%	250	56,25	14,1
Seniores	2200	10%	220	49,5	12,4
Desportistas	2600	10%	260	58,5	14,6
Controlo de peso	1700	10%	170	38,25	9,6

*para crianças a percentagem do VET proveniente de proteína considerada foi de 12,5%, para evitar consumo exagerado de proteína relativamente às necessidades das crianças.

Os cálculos acima apresentados pressupõem um produto final com 100 g cujo teor proteico (g) apresentado na **Tabela 4.5** refere-se à quantidade total desejada em produto acabado e, por isso, tem em consideração uma incorporação de preparado vegetal de 50% em

50% de base láctea (iogurte natural) açucarado a 8% com um teor proteico de 3,47 g / 100 g. Este valor foi fixado com base no tipo e marca do iogurte utilizado como *standard* pela empresa.

Numa primeira parte desta etapa, foram realizadas três formulações teste aleatórias (**Tabela 4.6**), sem recurso a qualquer tipo de aromatização, utilização de fruta ou agentes emulsionantes, gelificantes, entre outros. Estes preparados foram realizados com o intuito de perceber as principais interações entre diferentes fontes quando misturadas, uma vez que todos os estudos iniciais de teores máximos de incorporação apenas contemplam uma fonte de cada vez.

Tabela 4.6 – Formulações iniciais para os grupos-alvo crianças com 1 a 3 anos com e sem alergénios na sua constituição e para seniores*.

Ingredientes	Concentração (%)		
	Crianças 1 - 3 anos	Crianças 1 - 3 anos s/ alergénios	Seniores
Gérmen de trigo	4,69	---	---
Proteína isolada de soja	13,58	---	12,35
Sementes de girassol	---	16,84	14,71
Proteína de ervilha	---	11,25	---
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

*Teor proteico em produto acabado de 8,25 g, 7,85 g e 10,42 g respetivamente para os grupos-alvo crianças com 1 a 3 anos com e sem alergénios e seniores.

Estas formulações foram desenvolvidas numa fase do projeto em que os pressupostos ainda não estavam totalmente definidos. Sendo assim, e ao contrário do que foi apresentado anteriormente, foi considerado para o grupo das crianças com 1 a 3 anos a alegação de “rico em proteína” com 22,5% do seu valor energético total proveniente de proteína. Quanto ao preparado desenvolvido para seniores, cujo teor proteico em produto acabado foi de 10,42 g/ 120 g, e comparando com os pressupostos descritos na **Tabela 4.5**, este não contém a quantidade de proteína necessária para obter a alegação pretendida. Por esta mesma razão optou-se por aumentar a quantidade de produto acabado de 100 g para 120g.

Tabela 4.7 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados na Tabela 4.6 medidos após execução e após 24h de repouso.

		° Bx	Viscosidade	pH
Crianças 1 - 3 anos	Execução	9,4	24 cm/43 s	4,30
	24 h repouso	8,9	24 cm / 29 s	4,35
Crianças 1 - 3 anos s/ alergénios	Execução	7,2	3,75 cm / 60 s	4,34
	24 h repouso	7,5	3,25 cm / 60 s	4,35
Seniores	Execução	12,2	24 cm / 8 s	4,27
	24 h repouso	10,8	24 cm / 46 s	4,34

Nestes preparados optou-se pela utilização apenas de água, fontes proteicas, sorbato de potássio como conservante e ácido cítrico como regulador de acidez. A quantidade de ácido cítrico a utilizar nas formulações foi estimada no início da formulação de acordo com o conhecimento prévio dos colaboradores da empresa que supervisionaram o desenvolvimento desta etapa, e ajustada após concretização da fórmula mediante as medições de pH.

Estes preparados não continham nem açúcar adicionado nem amido o que faz com que a viscosidade final do preparado registado na **Tabela 4.7** não reflita totalmente a realidade final de um preparado. Por outro lado é de notar que apesar de serem compostos por tipos e quantidades de farinhas equivalentes o preparado sem alergénios para crianças e o preparado para seniores registaram uma grande diferença na viscosidade final correspondente. Esta diferença de valores pode indicar que a viscosidade do preparado está dependente não só da quantidade mas também do tipo de farinhas utilizadas, da sua conjugação ou ainda da interação proteína-água. Esta interação determina a funcionalidade da proteína em alimentos através da sua capacidade de retenção de água, da solubilidade e das suas propriedades emulsionantes e ainda da viscosidade, gelatinização e sinérese do produto acabado. A retenção de água das proteínas tem um papel determinante na textura, cor e propriedades sensoriais do produto, sendo que no caso das fabáceas, quando utilizadas como aditivos, influenciam a qualidade do produto acabado (Zayas, 1997).

Avaliando a inconsistência das medições obtidas, percebeu-se a importância e começar a desenvolver preparados mais completos e mais aproximados do que se considera um preparado de acordo com a empresa.

Assim, e com o objetivo de se manter o mais fiel possível aos pressupostos estipulados para a fase 1 do projeto, foram formulados novos preparados, apresentados nas **Tabelas 4.8 e 4.9**.

Tabela 4.8 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças do 1 aos 3 anos e dos 4 aos 9 anos*.

Ingredientes	Concentração (%)	
	Crianças 1 - 3 anos	Crianças 4 - 9 anos
Farinha de arroz	2,00	---
Farinha de lentilha	2,00	---
Proteína de batata	3,00	---
Proteína de ervilha	---	5,00
Farinha de sementes de sésamo	---	7,00
Concentrado de puré de laranja	---	8,30
Concentrado de puré de amora	9,75	---
Açúcar	15,00	22,00
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 4,15 g e 6,01 g respetivamente para os grupos-alvo crianças com 1 a 3 anos e dos 4 aos 9 anos.

Tabela 4.9 – Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo de controlo de peso e desportistas*.

Ingredientes	Concentração (%)	
	Controlo de peso	Desportistas
Farinha de feijão vermelho	10,00	---
Gérmen de trigo	12,00	---
Proteína isolada de soja	15,75	13,00
Farinha de sementes de sésamo	---	7,00
Concentrado de puré de laranja	6,67	10,00
Açúcar	20,00	19,00
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 13,44 g e 10,63 g respetivamente para os grupos-alvo de controlo de peso e desportistas.

Os preparados formulados para os grupos-alvo controlo de peso e desportistas listados na **Tabela 4.9** ofereceram algumas limitações na sua preparação, nomeadamente não ser possível incorporar as farinhas nas quantidades suficientes para suprir as necessidades proteicas e conseguir a alegação de “alto teor em proteína”, devido à formação de uma pasta densa e impossível de dosificar ou até de pasteurizar sem queimar, granulosa e farinhenta, mesmo com um acréscimo de cerca de 100% de água. A proteína isolada de soja esteve sempre presente nestes preparados, uma vez que é a fonte com maior teor proteico e a sua utilização permitiu reduzir a quantidade de pó a introduzir na formulação. Sendo esta a fonte proteica mais utilizada nos preparados comerciais, decidiu-se estudar o seu teor máximo de incorporação. Dos resultados obtidos foi possível verificar que uma incorporação de 22% de proteína isolada de soja num preparado de água e açúcar, era o suficiente para ter uma viscosidade diferente da pretendida, tornando o preparado demasiado denso e impossível de pasteurizar. A escolha das restantes fontes proteicas utilizadas na formulação dos preparados para pessoas interessadas em controlar o seu peso e para desportistas, residiu no benefício nutricional que surge da junção de cereais como o gérmen de trigo, às sementes de sésamo e à soja (fabácea).

Para facilitar o processo de dispersão e homogeneização dos preparados várias propostas exploratórias foram testadas como forma de contornar os obstáculos sentidos.

4.4.1.1 Testes com frutas naturalmente ricas em proteases

Foi testada a utilização de frutas naturalmente ricas em proteases para que estas pudessem degradar as proteínas tornando possível uma maior incorporação de farinhas de proteína. Foram utilizados pedaços de ananás, papaia e um controlo (concentrado de puré de laranja).

A papaína é uma protease que se encontra na casca de papaias não maduras (FAO, 1997) e a bromelaína é a enzima presente nos frutos da família *Bromeliaceae* da qual faz parte o ananás. Estas proteases têm variadíssimas aplicações na indústria dos lacticínios (hidrolisam a proteína do soro do leite), indústria farmacêutica, têxtil, alimentar na qual desempenham funções de estabilizadoras de gelatina, “amaciadoras de carne” e como auxiliares na solubilização de produtos proteicos. Estas proteases podem ainda funcionar detergentes biológicos (Polaina & MacCabe, 2007).

Os avanços na biotecnologia durante os últimos vinte anos permitiram desenvolver uma papaína sintética mais barata que a enzima natural (FAO, 1997). No entanto, e referindo

as novas tendências alimentares que dão preferência a alimentos naturais sem aditivos, os testes neste projeto foram realizados com fruta congelada e não com adição de enzimas sintéticas. Além disso, desta forma é possível manter um teor de fruta em preparado, o que nutricionalmente é mais vantajoso.

Tabela 4.10 – Formulações dos preparados de frutas adicionados de proteases provenientes do ananás (preparado 2) e da papaia (preparado 3). O preparado 1 serviu como controle.

Ingredientes		%
Preparado 1	Água	66,17
	Proteína isolada de soja	12,50
	Concentrado de puré laranja	8,33
	Açúcar	7,00
	Farinha de sésamo	6,00
Preparado 2	Água	54,50
	Ananás congelado	30,00
	Proteína isolada de soja	12,50
	Açúcar	7,00
	Farinha de sésamo	6,00
Preparado 3	Água	54,50
	Papaia congelada	30,00
	Proteína isolada de soja	12,50
	Açúcar	7,00
	Farinha de sésamo	6,00

Tabela 4.11 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados na **Tabela 4.10** com ênfase nos valores de viscosidade medidos durante e após execução e após 24h de repouso.

	Viscosidade				
	Antes da pasteurização	Após Pasteurização	24 h repouso	pH	° Bx
Concentrado de puré de laranja	24 cm / 60 s	24 cm / 37 s	24 cm / 22 s	5,95	21,8
Ananás	18,25 cm / 60 s	19,75 cm / 60 s	17,5 cm / 60 s	6,15	26,9
Papaia	7,5 cm / 60 s	1,5 cm / 60 s	0 cm / 60 s	6,70	25,8

Conforme já discutido anteriormente, este teste com a incorporação de fruta rica em proteases resultou da dificuldade sentida ao incorporar quantidade suficiente de fontes proteicas para garantir o uso de alegação nutricional. Foi utilizada fruta congelada uma vez nas outras opções, fruta assética ou em puré, a pasteurização prévia a que a fruta é sujeita, inativaria as proteases.

Nenhum dos preparados obteve a consistência ideal (**Tabela 4.10**). O preparado com papaia ficou demasiadamente denso, enquanto que os preparados com ananás e com concentrado de puré de laranja ficaram demasiadamente líquidos. No entanto, e tendo em conta que nestes preparados não foi adicionado amido, é possível estas formulações sejam as melhores escolhas. Sendo assim, e comparando a textura do preparado com ananás e do preparado com concentrado de fruta, este último apresentou uma melhor textura, mais cremosa e homogénea. No caso da adição de ananás, por ser um fruto fibroso, este conferiu ao produto final uma textura mais arenosa ou fibrosa na qual ainda é possível ver pequenos grumos uma vez que a fruta foi passada na varinha mágica. Como ainda seria necessária a adição de amido para prevenir a separação de fases dos preparados quando em repouso, a limitação da textura seria facilmente contornável.

Relativamente ao custo, seria largamente mais económico utilizar o concentrado de puré de laranja uma vez que são utilizadas quantidades muito menores de matéria-prima. De notar, que apesar do maior volume de água utilizado na preparação da formulação com ananás ficou com uma textura líquida equivalente o que pode sugerir um ligeiro efeito da bromelaína, protéase presentes no ananás (Polaina & MacCabe, 2007).

4.4.1.2 Procura de alternativas às fontes proteicas anteriormente selecionadas.

De acordo com Rebello *et al.* (2014b) a batata não é considerada uma fonte alimentar de proteína mas aquando da utilização de proteína de batata, sendo esta tão concentrada, é possível obter um ingrediente com elevada qualidade nutricional, elevada solubilidade e com características emulsionantes e espumantes.

A proteína de batata foi por isso considerada para este projeto, pois traz benefícios tecnológicos aos preparados e seria uma boa solução para complementar ou até substituir a soja, uma vez que não é alergénica e também possui um elevado teor proteico (90%).

Neste contexto, foram realizadas algumas formulações teste (**Tabela 4.12**) de forma a perceber o comportamento desta matéria-prima e os seus teores máximos de incorporação.

Tabela 4.12 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH medidos após execução e após 24h de repouso, dos preparados realizados com diversos teores de proteína de batata.

Proteína de batata adicionada ao preparado (%)	Pós execução			24 h repouso		
	° Bx	Viscosidade	pH	° Bx	Viscosidade	pH
1%	1,0	Liquido	3,65	1,2	Liquido	3,85
4%	4,7	Liquido	3,36	5,0	Liquido	3,30
8%	8,9	Liquido	3,56	9,0	Liquido	3,48
10%	Não foram realizadas medições uma vez que o preparado continha muita espuma e optou-se por não misturar as duas fases do preparado.					
12%	13,3	2,75 cm / 60 s	3,48	14,6	2,00 cm / 60 s	3,49
17,25%	18,4	Sólido	3,66	Demasiado solido e denso para realizar as medições		



Figura 4.2 – Fotografia dos preparados contendo (da esquerda para a direita) 17,25%, 12%, 8%, 4% e 1% de proteína de batata.



Figura 4.3 – Fotografia do preparado com 10% de proteína de batata.

Os resultados revelaram que um aumento sucessivo no teor de proteína de batata no preparado conduziu a uma textura cada vez mais viscosa, tipo xarope, e que em elevadas concentrações o preparado tornava-se bastante espumoso. A nível organolético, foi detetado que esta fonte proteica era muito adstringente. Em conclusão, a utilização da proteína de batata não se apresentava como uma opção *per se* para a formulação dos preparados subsequentes.

4.4.1.3 Utilização de stevia e açúcar na redução da adstringência.

O stevia é um adoçante natural, sem valor calórico associado, o que permite um menor valor energético no produto final, sendo assim benéfico para pessoas interessadas em controlar o peso. Adicionalmente, por ser altamente concentrado, permite incluir uma maior percentagem de água na formulação para a consequente dispersão das fontes proteicas.

Tabela 4.13 – Formulações teste de preparados para verificar o efeito de stevia na adstringência do produto final.

Ingrediente	Concentração (%)	
	Preparado controlo	Preparado com Stevia
Stevia	---	0,04
Farinha de grão-de-bico	7,0	7,00
Proteína de batata	8,0	8,00
Açúcar	23,5	11,50
Água	61,5	73,46

Neste teste, foram utilizadas as mesmas quantidades de proteína nas duas formulações realizadas, mas uma foi preparada com açúcar e a outra com açúcar e stevia, de forma a perceber qual o impacto da utilização de stevia na redução da adstringência da proteína de batata.

Numa prova realizada com 50% deste preparado em iogurte, todos os provadores notaram uma redução da adstringência no produto com stevia relativamente ao produto adoçado apenas com açúcar. No entanto, na prova sensorial realizada 3 dias após a incorporação do preparado com stevia em iogurte, denotou-se um sabor metálico típico de stevia no produto. Conciliando os resultados obtidos com tentativas anteriores de utilização de stevia pela empresa, esta hipótese foi assim rejeitada.

4.4.1.4 Base láctea para incorporação dos preparados

Ainda nesta fase, foi testada a granulidade do produto acabado consoante a base láctea de incorporação. Isto é, quando o preparado foi incorporado em iogurte grego, a granulidade foi menos acentuada do que quando incorporado em iogurte batido. Por outro lado, a granulidade fez-se sentir muito mais quando o preparado foi incorporado em iogurte líquido. Este resultado comprova que a base láctea pode desempenhar um papel preponderante na perceção da granulidade, principal obstáculo tecnológico sentido.

O iogurte grego ainda foi considerado como a base láctea de eleição para estes produtos, mas devido ao aumento energético que este iogurte aportava, teria consequências diretas no aumento da quantidade de proteína necessária, em produto acabado, para a obtenção das alegações nutricionais pretendidas.

4.4.2 Fase 2

A transição da primeira para a segunda fase de desenvolvimento dos preparados implicou uma ligeira adaptação dos pressupostos inicialmente estabelecidos, i.e., foi diminuída a percentagem das necessidades energéticas totais diárias atribuídas a uma refeição intercalar para os grupos-alvo dos adolescentes, seniores, desportistas e controlo de peso. Esta diminuição foi realizada de forma a diminuir o teor proteico necessário no produto acabado e consequentemente diminuir a quantidade de farinhas e a granulabilidade final do preparado.

Ainda assim, de entre os grupos-alvo foram distinguidos os adolescentes e desportistas que, por terem necessidades energéticas mais elevadas, um decréscimo da percentagem de NET correspondente a uma refeição intercalar de 10% para 7,5% não seria suficiente. Por isso, foi necessário diminuir para 5% para que fosse possível suprir as necessidades proteicas mantendo o produto organoleticamente e tecnologicamente aceitável.

Na **Tabela 4.14** é possível perceber os pressupostos estipulados para a fase 2.

Tabela 4.14 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 2.

Grupo-alvo	Necessidades Energéticas (Kcal)	% das NET atribuída a uma refeição intercalar (5-10%)	Valor calórico do produto a desenvolver (Kcal)	22,5% de proteína para a alegação de "alto teor em proteína" (Kcal)	Teor proteico (g)
Crianças 1-3 anos	1300	10,0	130,0	16,25*	4,10*
Crianças 4-9 anos	1500	10,0	150,0	18,75*	4,70*
Adolescentes	2500	5,0	125,0	28,13	7,03
Seniores	2200	7,5	165,0	37,13	9,28
Desportistas	2600	5,0	130,0	29,25	7,31
Controlo de peso	1700	7,5	127,5	28,69	7,17

*para crianças, a percentagem do VET proveniente de proteína considerada foi de 12,5%, para evitar consumo exagerado de proteína relativamente às necessidades das crianças.

Tal como foi referido na fase 1, estes pressupostos referem-se à quantidade total desejada em produto acabado, tendo em consideração uma incorporação do preparado vegetal de 50% em 50% de base láctea (iogurte natural) açucarada a 8%.

No entanto, e no seguimento das alterações realizadas ainda na fase 1 deste estudo, a quantidade pretendida de produto acabado é de 120 g visto que, para além de aumentar a ingestão diária (aumento do teor de proteína), as necessidades proteicas do individuo mantêm-se, o que significa que para as mesmas necessidades proteicas é necessária uma menor quantidade de proteínas e farinhas em preparado, que por sua vez facilita a dispersão das fontes e diminui a granulosidade.

Tabela 4.15 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo dos seniores e dos desportistas*.

Ingredientes	Concentração (%)	
	Seniores	Desportistas
Farinha de sésamo	2,00	3,50
Farinha de grão-de-bico	4,00	5,00
Concentrado de puré de laranja	8,33	8,30
Proteína isolada de soja	13,00	8,50
Açúcar	20,00	10,00
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 9,96 g e 10,45 g respetivamente para os grupos-alvo dos seniores e desportistas.

Não se observaram diferenças significativas relativamente à capacidade de dispersão das fontes proteicas ou na redução da granulosidade sentida nos preparados desenvolvidos na fase 2 do projeto comparativamente aos anteriormente apresentados na fase 1. Posto isto, esta fase foi considerada uma fase de transição pois apesar das primeiras alterações nos pressupostos os resultados obtidos ainda não eram satisfatórios quer a nível tecnológico quer organolético. Sendo assim rapidamente se abandonou esta hipótese de trabalho e iniciou-se outra alteração nos pressupostos dando origem à fase 3.

4.4.3 Fase 3

Várias formulações foram sendo desenvolvidas e as maiores críticas apontadas foram a textura “farinhenta” e arenosa presente em todos os preparados, além de alguma adstringência e amargor. Na tentativa da redução das características menos apreciadas nos

preparados até à data realizados, optou-se pela redução da percentagem do VET proveniente de proteína de 22,5 para 20%.

Tabela 4.16 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 3.

Grupo-alvo	Necessidades Energéticas Diárias (Kcal)	% do VET atribuída a uma refeição intercalar (%)	Valor calórico do produto a desenvolver (Kcal)	20% do VET proveniente de proteína "alto teor em proteína" (Kcal)	Teor proteico (g)
Crianças 1-3 anos	1300	10,0	130,0	15,6*	3,90*
Crianças 4-9 anos	1500	10,0	150,0	18,0*	4,50*
Adolescentes	2500	5,0	125,0	25,0	6,25
Seniores	2200	7,5	165,0	33,0	8,25
Desportistas	2600	5,0	130,0	26,0	6,50
Controlo de peso	1700	7,5	127,5	25,5	6,38

* Para crianças a percentagem do VET proveniente de proteína foi de 12%, para evitar um consumo exagerado de proteína relativamente às necessidades das crianças.

Tabela 4.17 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo dos adolescentes, controlo de peso e seniores.

Ingredientes	Concentração (%)		
	Adolescentes	Controlo de peso	Seniores
Farinha de quinoa	2,0	1,0	---
Farinha de Grão-de-bico	3,0	4,0	1,0
Proteína de ervilha	3,5	---	---
Proteína isolada de soja	4,0	6,0	5,8
Proteína de batata	---	0,2	---
Farinha de Sésamo	---	---	4,0
Proteína de fava	---	---	6,0
Farinha de feijão vermelho	---	4,0	---
Concentrado de puré de morango	7,0	7,0	7,0
Açúcar	10,0	10,0	10,0
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 6,30 g, 6,53 g e 8,31 g respetivamente para os grupos-alvo dos adolescentes, controlo de peso e seniores.

Tabela 4.18 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos e crianças com 4 a 9 anos*.

Ingredientes	Concentração (%)		
	Crianças 1-3 anos Formula A	Crianças 1-3 anos Formula B	Crianças 4-9 anos
Farinha de quinoa	3,00	2,00	2,00
Farinha arroz	1,00	0,50	0,50
Proteína de ervilha	3,00	3,00	4,00
Proteína de lentilha	2,00	2,00	2,75
Proteína de batata	---	---	0,20
Concentrado de puré de morango	7,00	7,00	7,00
Açúcar	10,00	10,00	10,00
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 4,20 g, 4,09 g e 5,04 g respetivamente para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos (formulação A e B) e crianças com 4 a 9 anos.

Tabela 4.19 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados nas **Tabelas 5.17** e **5.18** medidos após execução e após 24 h de repouso.

Preparado	Pós pasteurização			Passadas 24 h de repouso		
	° Bx	Viscosidade	pH	° Bx	Viscosidade	pH
Crianças 1-3 A	20,1	12,75 cm / 60 s	3,75	18,3	8 cm / 60 s	3,69
Crianças 1-3 B	15	24cm / 12s	3.63	14,2	16 cm / 60 s	3.61
Crianças 4-9	17,8	17 cm / 60 s	3,8	16,5	10,25 cm / 60 s	3,82
Adolescentes	40,1	13,5 cm / 60 s	4,18	20,2	9,5 cm / 60 s	4,11
Controlo de peso	30,4	0,5 cm / 60 s	4,11	24,6	0 cm / 60 s	4,12
Seniores	21,7	8 cm / 60 s	4,48	22,1	6 cm / 60 s	4,55

Nesta fase e na tentativa de diminuir a granulosidade sentida nos preparados realizados anteriormente, todas estas novas versões foram passadas no ultra turrax.

Mesmo assim, e de acordo com as provas realizadas a estes produtos após incorporação em iogurte, na sua maioria os preparados ainda apresentavam alguma granulosidade, sendo o

mais aceitável em sabor e textura, o preparado para o grupo-alvo controlo de peso. No entanto, este mesmo produto era tecnologicamente inviável pois com uma viscosidade de 1 cm seria impossível de bombear industrialmente este preparado para um iogurte.

Relativamente ao resultado tecnológico, verificou-se que os preparados para os grupos-alvo dos seniores, das crianças 1-3 anos (formulação A) e das crianças 4-9 apresentava alguma separação de fases (apresentavam água à superfície) após 24h de repouso à temperatura ambiente; pelo contrário, o preparado desenvolvido para crianças 1-3 anos (formulação B) manifestou a sua separação de fases com água no fundo do preparado. Ainda relativamente ao preparado para crianças 1-3 anos (formulação A), para além da água em suspensão, este encontrava-se gelatinoso e quebrável. Estes resultados tecnológicos podem explicar alguns dos valores mais incoerentes apresentados na **Tabela 4.19**.

De notar, que apesar de muito líquido após dissolução das farinhas, o preparado para os seniores ficou muito espesso após a pasteurização. Este fenómeno é expectável após esta etapa, no entanto neste caso a evolução da viscosidade foi maior do que a esperada. É possível que este acontecimento resulte da elevada quantidade de farinha que após passar no ultra turrax fique mais dispersa e que durante o processamento haja uma maior evaporação da água disponível.

4.4.4 Fase 4

As sucessivas limitações tecnológicas observadas nas fases anteriores na incorporação das diferentes fontes de proteína nos preparados obrigou a uma revisão dos objetivos iniciais pretendidos. E assim, esta nova etapa ficou marcada pela mudança do objetivo na alegação nutricional a aplicar. Mudou de “Rico em Proteína” para “Fonte de proteína”. Com esta alteração de objetivo os teores proteicos exigidos em produto acabado diminuiriam drasticamente potenciando uma maior abrangência na escolha das fontes proteicas a utilizar, novas combinações e melhores texturas e sabores.

Tabela 4.20 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 4.

Grupo-alvo	Necessidades Energéticas Diárias (Kcal)	% do VET atribuída a uma refeição intercalar (%)	Valor calórico do produto a desenvolver (Kcal)	12% do VET proveniente de proteína "fonte de proteína" (Kcal)	Teor proteico (g)
Crianças 1-3 anos	1300	10,0	130,0	15,6	3,90
Crianças 4-9 anos	1500	10,0	150,0	18,0	4,50
Adolescentes	2500	5,0	125,0	15,0	3,75
Seniores	2200	7,5	165,0	19,8	4,95
Desportistas	2600	5,0	130,0	15,6	3,90
Controlo de peso	1700	7,5	127,5	15,3	3,83

Nesta quarta etapa os primeiros preparados a serem testados foram os preparados para crianças, uma vez que para estes grupos-alvo a alegação nutricional sempre foi de “fonte de proteína” e por isso seria um ponto de partida para a realização dos melhoramentos nas formulações.

Tabela 4.21 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos e 4 a 9 anos cujo VET para a refeição intercalar foi calculado com base em 10% das NET.

Ingredientes	Concentração (%)	
	Crianças 1-3 anos	Crianças 4-9 anos
Farinha de quinoa	1,0	1,0
Proteína de ervilha	3,0	---
Proteína de batata	0,2	0,2
Proteína de lentilha	2,0	3,0
Farinha de arroz	2,5	---
Concentrado de sumo de maçã	3,2	3,2
Açúcar	10,0	10,0
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 4,39 g, e 5,10 g respetivamente para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos e crianças com 4 a 9 anos.

Tabela 4.22 – Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados na **Tabela 4.21** medidos após pasteurização e após 24h de repouso.

Pereparado	Pós pasteurização			Passadas 24h		
	° Bx	Viscosidade	pH	° Bx	Viscosidade	pH
Crianças 1-3	15,5	14,75 cm / 60 s	3,79	15,1	3,75 cm / 60 s	3,66
Crianças 4-9	18,2	24 cm / 2 s	3,9	17,1	24 cm / 10 s	3,82

Após a análise sensorial dos primeiros preparados produzidos, percebeu-se que estes ainda estavam muito arenosos e granulados. Para além disso, a viscosidade e o valor de pH não correspondiam ao esperado, tendo por um lado um preparado denso para crianças de 1 aos 3 anos e por outro um preparado líquido e não bombeável para crianças dos 4 aos 9 anos. De facto, estes preparados não eram viáveis, quer a nível organolético quer a nível tecnológico. Uma breve análise aos pressupostos permitiu concluir que nestes grupos-alvo, ainda se podia diminuir a percentagem do NET correspondente a uma refeição intercalar e procedeu-se à alteração final de pressupostos.

4.4.5 Fase 5

Tabela 4.23 - Resumo dos pressupostos estabelecidos para a fase 5.

Grupo-alvo	Necessidades Energéticas Diárias (Kcal)	% do VET atribuída a uma refeição intercalar (%)	Valor calórico do produto a desenvolver (Kcal)	12% do VET proveniente de proteína "Fonte de proteína" (Kcal)	Teor proteico (g)
Crianças 1-3 anos	1300	7,5	97,5	11,70	2,93
Crianças 4-9 anos	1500	7,5	112,5	13,50	3,38

Assim sendo, reiniciou-se o desenvolvimento de fórmulas já com os pressupostos estabelecidos.

Tabela 4.24 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo das crianças do 1 aos 3 anos e dos 4 aos 9 anos cujo VET para a refeição intercalar foi calculado com base em 7,5% das NET.

Ingredientes	Concentração (%)	
	Crianças 1-3 anos	Crianças 4-9 anos
Farinha de quinoa	1,0	2,0
Proteína de ervilha	1,5	2,0
Proteína de lentilha	1,0	2,0
Proteína de arroz	1,5	---
Concentrado de sumo de maçã	3,2	3,2
Açúcar	10,0	10,0
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 4,85 g e 4,66 g respetivamente para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos e crianças com 4 a 9 anos.

Tabela 4.25 - Formulações desenvolvidas para os grupos-alvo dos adolescentes, seniores, controlo de peso e desportistas*.

Ingredientes	Concentração (%)			
	Adolescentes	Seniores	Controlo de peso	Desportistas
Farinha de quinoa	2,00	1,00	2,00	1,00
Farinha de grão-de-bico	1,50	2,50	2,00	---
Proteína de ervilha	1,00	---	---	1,75
Proteína isolada de soja	2,0	3,0	2,00	2,00
Proteína de fava	---	3,00	---	---
Farinha de feijão vermelho	---	---	3,00	---
Concentrado de sumo de maçã	3,20	3,20	3,20	3,20
Açúcar	10,0	10,0	10,0	10,0
Água	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%	<i>qsp.</i> 100%

* Teor proteico em produto acabado de 4,58 g, 3,48 g, 2,80 g e 2,88 g respetivamente para os grupos-alvo dos adolescentes, seniores, controlo de peso e desportistas.

Nesta nova etapa optou-se pela utilização de concentrado de sumo de maçã porque atenua o sabor das farinhas e proteínas utilizadas nos preparados, tem uma cor mais neutra e, principalmente, liberta água para facilitar a dispersão das farinhas e ainda é o método mais económico de incorporar fruta nos preparados.

Estas formulações foram desenvolvidas considerando, de entre as fontes proteicas tecnologicamente mais viáveis, as com maiores benefícios para a saúde de cada um dos grupos-alvo. Para crianças, não foram utilizadas de proteínas alergénicas e usou-se a lentilha pelo facto de ser digerida facilmente apesar do seu elevado teor proteico. Para os seniores, foi considerada a fava uma vez que potencia o aumento da atividade antioxidante e a diminuição do colesterol LDL e triglicérideos, e por ser rica em L-Dopa, um precursor da hormona dopamina, cuja ausência está associada à doença de Parkinson (Baginsky, *et al.*, 2013), visto que a prevenção de doenças neurológicas e a diminuição do colesterol são fatores importantes nesta faixa etária. Para o grupo-alvo de controlo de peso, a utilização de feijão e grão-de-bico foi feita tendo em conta proporcionarem uma textura mais espessa e fibrosa ao preparado, que contribui para a sensação de saciedade e na prevenção de patologias como a hipertensão, hipercolesterolemia, DCV e inflamatórias (Ha, *et al.*, 2014), patologias comumente associadas a indivíduos com excesso de peso. Para desportistas teve-se em conta a utilização de fontes de proteínas completas do ponto de vista dos aminoácidos essenciais, com elevado teor proteico e de fácil absorção, como é o caso da soja.

No geral, todos os preparados foram bem aceites por parte dos provadores, constituindo assim o primeiro grupo de preparados validados e propostos para trabalhos futuros de melhoria. O preparado melhor aceite foi o preparado para seniores por ter apresentado melhor cremosidade, ter boa textura, de ser o mais espesso e ter o melhor sabor.

Tabela 4.26 - Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados nas Tabelas 4.24 e 4.25 medidos após pasteurização e após 24h de repouso.

Preparado	Pós pasteurização			Passadas 24h		
	° Bx	Viscosidade	pH	° Bx	Viscosidade	pH
Crianças 1-3	18,7	16,75 cm /60 s	3,49	21,4	10,25 cm /60 s	3,52
Crianças 4-9	18,4	10,25 cm /60 s	3,51	16,9	14,50 cm /60 s	3,45
Adolescentes	20,6	12,50 cm /60 s	3,76	18,9	10,50 cm /60 s	3,71
Idosos	19,7	7,75 cm /60 s	4,36	19,6	4,50 cm /60 s	4,33
Desportistas	16,3	9,00 cm /60 s	3,77	20,6	5,00 cm /60 s	3,70
Controlo de peso	21,3	21,50 cm /60 s	3,73	20,5	10,75 cm /60 s	3,78

Estas formulações surgiram do culminar de diversas tentativas de formulação, e tem como principal objetivo conciliar as lacunas tecnológicas sentidas com os ingredientes-chave para cada um dos grupos-alvo e ainda em quantidades miscíveis e organolepticamente aceitáveis. Com o avançar do projeto, os pressupostos foram sendo adaptados que forma a melhorar a textura, diminuindo a granulosidade das farinhas e aumentando a cremosidade das formulações, reduzir a acidez característica das formulações iniciais e a adstringência inerente a algumas das fontes proteicas utilizadas como é o exemplo a proteína de batata. Além destes parâmetros, também a sedimentação das farinhas e pós e a separação de fases (libertação de água pela formula em repouso) foram sendo melhoradas e ajustadas com o decorrer das fases do projeto.

4.4.5.1 Clean Label – Preparações finais

Após uma primeira aprovação do conjunto de preparados por parte de empresa, optou-se pela sua otimização bem como por um alinhamento com a versão *Clean Label* cuja definição encontra-se descrita no ponto 1.4 “Tendências de Mercado” no Capítulo 1 - Introdução desta mesma dissertação.

Neste enquadramento, o ácido cítrico utilizado como regulador de acidez foi substituído por concentrado de sumo de limão também com este efeito mas sem número E, e que ainda auxilia a aumentar o teor de fruta rotulado no produto acabado. Adicionalmente os amidos modificados (também com número E) foram substituídos por outros hidrocolóides.

Após a realização destas alterações foram aprovados os preparados apresentados nas **Tabelas 4.24 e 4.25**.

Tabela 4.27 - Preparados da fase 6 desenvolvidos para os grupos-alvo das crianças do 1 aos 3 anos, das crianças dos 4 aos 9 e dos adolescentes*.

Ingredientes	Concentração (%)		
	Crianças 1-3 anos	Crianças 4-9 anos	Adolescentes
Aromas	0,20	0,18	0,18
Farinha de quinoa	---	2,00	1,00
Proteína de arroz	1,00	---	---
Proteína de ervilha	1,50	2,00	1,00
Proteína de lentilha	1,00	2,00	---
Farinha de grão-de-bico	---	---	1,50
Proteína isolada de soja	---	---	2,00
Concentrado de sumo de limão	2,00	2,00	2,50
Concentrado de sumo de maçã	3,20	3,20	3,20
Açúcar	12,50	10,00	10,00
Água	<i>qsp. 100%</i>	<i>qsp. 100%</i>	<i>qsp. 100%</i>

* Teor proteico em produto acabado de 3,45 g, 3,70 g e 3,76 g respetivamente para os grupos-alvo das crianças com 1 a 3 anos, crianças com 4 a 9 anos e adolescentes.

Tabela 4.28 - Preparados da fase 6 desenvolvidos para os grupos-alvo seniores, desportistas e controlo de peso*.

Ingredientes	Concentração (%)		
	Seniores	Desportistas	Controlo de peso
Aromas	0,15	0,14	0,18
Farinha de quinoa	1,00	1,00	---
Farinha de Grão-de-bico	2,50	---	2,00
Proteína de ervilha	---	1,75	---
Proteína isolada de soja	3,00	2,00	1,50
Farinha de arroz	---	---	1,50
Proteína de fava	3,00	---	---
Farinha de feijão branco	---	---	2,00
Concentrado de sumo de limão	2,50	2,00	2,00
Concentrado de sumo de maçã	3,20	3,20	3,20
Açúcar	10,00	10,00	10,00
Água	<i>qsp. 100%</i>	<i>qsp. 100%</i>	<i>qsp. 100%</i>

*Teor proteico em produto acabado de 5,08 g, 3,92 g e 3,33 g respetivamente para os grupos-alvo dos seniores, desportistas e controlo de peso.

Nas formulações desenvolvidas nesta fase 5 versão *Clean Label*, e relativamente à ingredientação usada, apenas se sucedeu à troca de farinha de feijão vermelho (no preparado para controlo de peso) por farinha de feijão branco de forma a remover os marcantes (pequenas manchas vermelhas escuro) e a aumentar o teor proteico.

Estas formulações foram apresentadas ao restante corpo da equipa de inovação Frulact em conjunto com o Comendador Arménio Miranda e foram aceites como resultados finais a este projeto.

Quanto aos parâmetros físico-químicos analisados, estes foram medidos no período de pós pasteurização (a cerca de 90°C), após 24h (à temperatura ambiente), passados 24 e 41 dias de modo a estudar a estabilidade dos preparados ao longo do processo de armazenamento (**Tabela 4.29**).

Tabela 4.29 – Caracterização dos valores Brix, viscosidade e pH dos preparados apresentados nas **Tabelas 4.27 e 4.28** medidos ao dia 0 e 1 e à semana 3 e 10.

		Dia 0	Dia 1	Semana 3	Semana 10
Crianças 1-3	° Bx	22	21,4	21,5	21,4
	pH	3,57	3,90	3,78	3,75
	Viscosidade	3,57 cm / 60 s	7,50 cm / 60 s	8,25 cm / 60 s	7,75 cm / 60 s
Crianças 4-9	° Bx	18,8	18	17,8	18
	pH	3,87	3,85	3,87	3,72
	Viscosidade	8,75 cm / 60 s	4,50 cm / 60 s	5,25 cm / 60 s	4,00 cm / 60 s
Adolescentes	° Bx	20,7	20,7	20,7	20,7
	pH	3,90	4,16	4,06	3,82
	Viscosidade	13,25 cm / 60 s	6,75 cm / 60 s	7,75 cm / 60 s	8,50 cm / 60 s
Controlo de peso	° Bx	22,2	21,4	21,1	21,3
	pH	4,01	4,19	4,04	4,06
	Viscosidade	10,5 cm / 60 s	9,5 cm / 60 s	11,5 cm / 60 s	12,5 cm / 60 s
Sénior	° Bx	20,4	19,3	19,2	19,5
	pH	4,22	4,29	4,28	4,30
	Viscosidade	8,25 cm / 60 s	4,00 cm / 60 s	5,75 cm / 60 s	6,50 cm / 60 s
Desportistas	° Bx	17,1	17,3	17,2	17,2
	pH	4,06	4,10	4,09	4,10
	Viscosidade	14,50 cm / 60 s	9,75 cm / 60 s	11,75 cm / 60 s	11,50 cm / 60 s

Os valores do dia 0 foram medidos logo após a pasteurização, ou seja, a uma temperatura de cerca de 90°C ao invés das restantes medições que foram realizadas à temperatura ambiente; assim, não foram considerados para o estudo da estabilidade.

De entre todos os preparados realizados o parâmetro que mais variou foi a viscosidade. O preparado com maior variação ao longo do tempo foi o do grupo-alvo controlo de peso, e supõe-se que tal como nos outros casos, a diminuição da viscosidade deva-se ao facto de ter ficado com um pequeno excedente de água à superfície do preparado que ao mexer para nova medição de parâmetros, diminui a viscosidade do produto.

De acordo com valores referência estabelecidos pela empresa, o pH deve registar valores de $4\pm0,2$ e a viscosidade de 8 ± 2 cm / 60s. Apesar de nem sempre os diferentes preparados terem apresentado valores de pH e de viscosidade dentro dos valores referência, estes não são fatores eliminatórios pois quer a viscosidades maiores ou menores do estabelecido o importante é que o preparado seja bombeável de forma a ser mais facilmente incorporado pelos equipamentos utilizados na área alimentar.

4.5 Mix's proteicos

Dá-se o nome de *mix's* proteicos à mistura de fontes de proteína (sob a forma de farinhas, proteínas isoladas ou concentradas) e respetivo acondicionamento na forma de uma matéria-prima.

Estes *mix's* surgem da necessidade de facilitar a logística de desenvolvimento de produtos em grande escala no meio empresarial, facilidade de transporte, melhor estabilidade ao longo do tempo de armazenamento, assim como de auxiliar no enriquecimento futuro de qualquer preparado desenvolvido pela empresa.

Estes *mix's* tiveram como base toda a experiência tecnológica reunida ao longo da criação dos preparados mas também o conhecimento nutricional adquirido até à etapa. Assim, foram desenvolvidos vários *mix's* para cada grupo-alvo (**Tabela 4.30, Tabela 4.31 e Apêndice IV**) tendo em conta um maior ou menor aporte proteico (de forma a possibilitar uma menor incorporação de *mix* em preparado final uma vez que já tinha sido provado que quanto maior o teor de pós e farinhas em preparado, maior a granulosidade final), benefícios nutricionais e para a saúde mais adequados ao grupo-alvo em questão, mais ou menos económicos. Para realização dos testes iniciais foi apenas selecionado um *mix* por grupo-alvo.

Para além destes, foram ainda desenvolvidos *mix's* gerais, isto é não direcionados especificamente para nenhum dos grupos-alvo, como o objetivo de desenvolver uma

formulação *mix* económica (selecionar as fontes mais económicas de entre as fontes proteicas disponíveis), com elevado teor proteico e baseado na caracterização inicial das fontes, um *mix* com baixa granulosidade.

Cada mistura recebeu o nome de “GreenMix” que alia a vertente ecológica e sustentável associada às proteínas de origem vegetal a um nome relacionado ao grupo-alvo para o qual é dirigido. Em alguns casos poderá ainda haver mais uma designação relativa a alguma característica do *mix* (económico, proteinplus, soy-free, ómega-3).

Tabela 4.30 – Formulações dos *mix*’s desenvolvidos para os grupos-alvo dos seniores, controlo de peso e crianças com 4 a 9 anos.

GreenMix Sénior		GreenMix Slim		GreenMix 4-9 anos	
Ingredientes	%	Ingredientes	%	Ingredientes	%
Proteína de ervilha	20	Proteína fava	35	Proteína de ervilha	40
Proteína de fava	50	Proteína de lentilha	30	Proteína de batata	5
Proteína de batata	10	Proteína de <i>Inca inchi</i>	35	Proteína de <i>Inca inchi</i>	30
Proteína de arroz	20			Proteína de lentilha	25

Tabela 4.31 – *Mix*’s desenvolvidas para preparados com baixa granulosidade, para um elevado teor de proteína e para preparados isentos de soja.

GreenMix granulosidade baixa		GreenMix protein Ec		GreenMix Soy-Free	
Ingredientes	%	Ingredientes	%	Ingredientes	%
Proteína de batata	15	Proteína de batata	10	Sementes de girassol	5
Proteína de lentilha	15	Proteína de arroz	20	<i>Chlorella vulgaris</i>	5
Proteína de ervilha	30	Proteína de ervilha	40	Sementes de sésamo	5
Proteína isolada de soja	40	Proteína <i>Inca inchi</i>	30	Proteína de lentilha	30
				Proteína de fava	30

No geral, para a constituição destes *mix*’s teve-se em conta os benefícios das fontes para cada grupo-alvo. Por exemplo a fava nos seniores no combate a doença de Parkinson, a lentilha nas crianças para o aumento do teor proteico de digestão facilitada. Foi também considerada a conjugação de fontes muito concentradas para obter o maior teor proteico a partir de uma baixa incorporação de *mix* e a não utilização de fontes proteicas alergénicas para *mix*’s para crianças. O *mix* desenvolvido a pensar numa baixa granulosidade surgiu com base

na caracterização das fontes proteicas apresentada no ponto 4.3 “Caracterização das fontes proteicas”.

CAPÍTULO V - CONCLUSÃO

As fontes de proteínas, suas quantidades e natureza são uma tendência alimentar e o seu consumo está altamente relacionado com benefícios para a saúde. As fontes proteicas de origem vegetal são um mercado em ascensão e cada vez menos associadas apenas a dietas restritas como o vegetarianismo mas sim, mais relacionado com uma alimentação saudável e equilibrada.

No sentido de desenvolver formulações com um elevado teor proteico baseadas em fontes de proteína de origem vegetal os benefícios identificados para cada fonte foram relacionados às necessidades básicas dos seis grupos-alvo em estudo.

Assim, pesquisou-se e percebeu-se quais as propriedades e benefícios mais adequados e proveitosos para cada um dos grupos-alvo abrangidos no processo:

Para as crianças, independentemente da faixa etária em questão, o maior benefício encontrado foi o facto das fontes proteicas serem de origem vegetal e não propriamente o elevado teor proteico. Estas fontes têm um menor aporte de gordura comparativamente às fontes de origem animal mas também um maior teor em fibras e minerais presentes nos cereais, vegetais e leguminosas utilizadas.

No caso dos adolescentes, foi assegurado que as suas elevadas necessidades proteicas fossem supridas de uma forma benéfica para a saúde e mais saudável. O elevado teor em fibra das fontes vegetais aumenta a saciedade reduzindo, assim, a ingestão de *snacks* hipercalóricos e pouco nutritivos ingeridos no intervalo das refeições.

Para os seniores, o maior benefício conseguido residiu nos antioxidantes e restantes fitoquímicos presentes nos ingredientes utilizados que evitam a oxidação das células e por isso retardam o envelhecimento. Acima de tudo, um elevado teor proteico está diretamente associado à manutenção da massa óssea e muscular o que aporta benefícios para a saúde quer de seniores (sarcopenia) quer de desportistas que pretendam manter ou aumentar a sua massa muscular.

A temática da saciedade é nos dias de hoje muito estudada e referida como um dos maiores benefícios da realização de uma dieta hiperproteica. Assim, este benefício aliado à redução dos níveis de glicose e colesterol no sangue (causados por alguns dos constituintes das fontes proteicas estudadas) torna-se fator importante na escolha de produtos para o controlo de peso.

Para além das necessidades proteicas, são também tidas em conta as necessidades específicas de aminoácidos essenciais para cada grupo-alvo (**Apêndice III**). Assim, a mistura proteica fornecida pelo preparado também deverá suprir estas necessidades.

As formulações desenvolvidas no decorrer do projeto tiveram por base os pressupostos previamente delineados. No entanto, nem sempre corresponderam aos objetivos traçados uma vez que, por dificuldades tecnológicas, não foi possível manter a alegação de “alto teor em proteína” acabando mesmo por trabalhar para a alegação de “fonte de proteína”.

CAPÍTULO VI - TRABALHO FUTURO

De modo a dar seguimento ao trabalho realizado neste estudo e com o intuito de estar mais centralizado nos interesses do consumidor, é sugerida a realização de um estudo do consumidor e um *focus group* que possa ajudar a interpretação dos conceitos teóricos deste projeto tais como o benefício das proteínas, assim como explorar as noções do consumidor geral acerca das proteínas de origem vegetal.

No seguimento da evolução deste projeto seria relevante abranger outros grupos-alvo, nomeadamente pessoas com patologias como doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, entre outras. Também com o intuito de ampliar o segmento de consumidores destes produtos, seria importante estudar a incorporação das formulações realizadas em diferentes matrizes alimentares, lácteas ou não (produtos 100% de origem vegetal), tais como pudins, gelatinas, papas de fruta, bebidas energéticas, batidos, entre outros.

Relativamente à sua contextualização legal (alegações nutricionais e de saúde) e para efeitos de comunicação com o público acerca dos teores proteicos de cada um dos produtos, é importante a realização de um estudo analítico de quantificação de aminoácidos, tanto em cada uma das fontes proteicas como nas formulações desenvolvidas, uma vez que todos os cálculos realizados no âmbito deste projeto têm por base valores teóricos de fichas técnicas ou tabelas nutricionais, o que poderá não corresponder ao teor verdadeiro presente no produto acabado. Também seria vantajoso a validação da biodisponibilidade (digestibilidade) e biofuncionalidade das fontes e preparados produzidos, como por exemplo o teor de ómega-3 de algumas das fontes utilizadas.

Um projeto desta natureza terá sempre a possibilidade de continuação no desenvolvimento das formulações realizando ensaios industriais para verificar a viabilidade da produção em larga escala.

APÊNDICES

Apêndice I – Teores proteicos e em aminoácidos, e alergenicidade de diferentes fontes de origem vegetal.

Plantas	Fonte	Proteína	aae (g/100g)										aa (g/100g)										Alergênicos
			His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Trp	Val	Ala	Arg	Asn	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	Pro	Ser	Tir	
Asteraceae Grassol semente farinha	USDA	20,780	0,632	1,139	1,659	0,937	0,494	1,169	0,928	0,348	1,315	1,117	2,403	-	2,446	0,451	-	5,579	1,461	1,182	1,075	0,666	NÃO
	SOUCL	22,470	0,630	1,370	1,710	0,890	0,490	1,260	0,910	0,310	1,260	1,290	2,200	-	2,380	0,390	-	6,400	1,630	1,070	1,170	0,650	NÃO
	SOUCL	37,000	0,940	2,050	2,790	1,400	0,710	1,960	1,470	0,550	2,180	-	3,810	-	-	0,750	-	-	-	-	-	1,040	NÃO
Fabaceae Ervilha Fava Feijão branco Feijão vermelho Grão-de-bico Lentilha Soja	USDA	5,420	0,107	0,195	0,323	0,317	0,082	0,200	0,203	0,037	0,235	0,240	0,428	-	0,496	0,032	-	0,741	0,184	0,173	0,181	0,114	NÃO
	SOUCL	6,550	0,220	0,540	0,670	0,610	0,100	0,400	0,450	0,100	0,520	0,140	1,060	-	0,550	0,130	-	0,990	0,170	0,140	0,280	0,350	NÃO
	USDA	26,120	0,664	1,053	1,964	1,671	0,213	1,103	0,928	0,247	1,161	1,070	2,411	-	2,916	0,334	-	4,437	1,095	1,099	1,195	0,827	NÃO
	USDA	23,360	0,650	1,031	1,865	1,603	0,351	1,263	0,983	0,277	1,222	0,979	1,446	-	2,825	0,254	-	3,561	0,912	0,990	1,271	0,658	NÃO
	SOUCL	21,300	0,700	1,490	2,260	1,870	0,260	1,400	1,150	0,230	1,630	0,740	1,490	-	2,450	0,230	-	4,330	0,950	0,980	1,380	0,970	NÃO
	USDA	22,530	0,627	0,995	1,799	1,547	0,339	1,218	0,948	0,267	1,179	0,945	1,395	-	2,725	0,245	-	3,436	0,880	0,955	1,226	0,634	NÃO
	USDA	22,390	0,566	0,882	1,465	1,377	0,270	1,103	0,766	0,200	0,865	0,882	1,939	-	2,422	0,279	-	3,603	0,857	0,849	1,036	0,512	NÃO
	SOUCL	19,800	0,530	1,140	1,460	1,370	0,260	0,960	0,700	0,160	0,980	-	1,480	-	-	0,280	-	-	-	-	-	0,660	NÃO
	USDA	24,630	0,693	1,065	1,786	1,720	0,210	1,215	0,882	0,221	1,223	1,029	1,903	-	2,725	0,322	-	3,819	1,002	1,029	1,136	0,658	NÃO
	SOUCL	23,500	0,710	1,190	2,110	1,890	0,220	1,400	1,120	0,250	1,390	1,290	2,240	-	3,160	0,250	-	4,490	1,300	1,220	1,510	0,840	NÃO
	SOUCL	33,730	0,830	1,780	2,840	1,900	0,580	1,970	1,490	0,450	1,760	1,530	2,360	-	3,990	0,590	-	6,490	1,420	1,820	1,690	1,250	SIM
	USDA	80,690	2,303	4,253	6,783	5,327	1,130	4,593	3,137	1,116	4,098	3,589	6,670	-	10,203	1,046	-	17,452	3,603	4,960	4,593	3,222	SIM
	USDA	36,170	1,030	1,615	2,743	1,933	0,255	1,435	1,331	0,289	1,510	1,296	3,877	-	3,877	0,446	-	8,686	1,539	1,476	1,869	1,360	SIM
Pedaliaceae Sementes de sésamo	USDA	17,730	0,522	0,763	1,358	0,569	0,586	0,940	0,376	0,388	0,990	0,927	2,630	-	1,646	0,358	-	3,955	1,215	0,810	0,967	0,743	SIM
Poaceae Aveia farinha grão Arroz farinha grão branco Centeio grão Cevada grão Milho farinha grão Sorgo Trigo	SOUCL	13,830	0,320	0,700	1,240	0,580	0,280	0,850	0,560	0,200	0,920	0,880	0,950	-	1,440	0,390	-	3,440	0,960	0,930	0,760	0,580	NÃO
	SOUCL	11,690	0,270	0,560	1,020	0,550	0,230	0,700	0,490	0,190	0,790	0,720	0,850	-	1,110	0,320	-	2,900	0,780	0,870	0,740	0,450	NÃO
	SOUCL	6,680	0,180	0,330	0,620	0,280	0,190	0,390	0,240	0,100	0,500	0,440	0,580	-	0,670	0,090	-	1,150	0,340	0,330	0,410	0,280	NÃO
	USDA	6,500	0,153	0,281	0,538	0,235	0,153	0,348	0,233	0,075	0,387	0,377	-	-	-	0,133	-	1,268	0,296	0,306	0,342	0,217	NÃO
	SOUCL	8,820	0,190	0,390	0,670	0,400	0,140	0,470	0,360	0,110	0,530	0,520	0,490	-	0,680	0,190	-	2,570	0,500	1,250	0,450	0,230	NÃO
	SOUCL	9,840	0,21	0,460	0,800	0,380	0,180	0,590	0,430	0,150	0,580	0,560	0,560	-	0,68	0,220	-	2,810	0,540	1,260	0,540	0,390	SIM
	USDA	6,930	0,211	0,248	0,850	0,195	0,145	0,340	0,261	0,049	0,351	0,518	0,345	-	0,482	0,125	-	1,300	0,284	0,605	0,329	0,282	NÃO
	SOUCL	8,310	0,180	0,380	1,080	0,240	0,160	0,380	0,330	0,500	0,430	-	0,300	-	-	0,110	-	-	-	-	-	0,510	NÃO
	SOUCL	8,540	0,260	0,430	1,220	0,290	0,190	0,460	0,390	0,700	0,510	0,790	0,420	-	0,620	0,140	-	1,780	0,430	1,020	0,520	0,380	NÃO
	SOUCL	10,300	0,220	0,580	1,360	0,260	0,200	0,440	0,440	0,110	0,580	0,880	0,380	-	0,710	0,100	-	2,290	0,430	1,550	0,420	0,250	NÃO
	USDA	23,150	0,643	0,847	1,571	1,468	0,456	0,928	0,968	0,317	1,198	1,477	1,867	-	2,070	0,458	-	3,995	1,424	1,231	1,102	0,704	SIM
	SOUCL	26,600	0,840	1,320	2,170	1,900	0,560	1,180	1,550	0,330	1,680	2,140	2,310	-	2,790	0,460	-	5,250	2,160	1,710	1,520	1,010	SIM
	SOUCL	11,730	0,280	0,540	0,920	0,380	0,220	0,640	0,430	0,150	0,620	0,510	0,620	-	0,700	0,290	-	4,080	0,720	1,560	0,710	0,410	SIM

Apêndice II – Questionário entregue aos provadores para a caracterização das fontes proteicas.

Procedimento: Dissolver 5 g do ingrediente em água (94,9%) e sorbato (0,1%). Pasteurizar a 95 °C, 4 minutos, arrefecer e provar, registrando na ficha de prova (escala de 1 a 5).

Análise sensorial

Produto _____ (Código _____)

Escala	1	2	3	4	5
Descritores	Possui nota característica?		Sim		Não
Sabor artificial	Qual? _____				
Sabor torrado	Sem notas queimado				Muito queimado
Sabor doce	Sem doçura				Muito doce
Sabor salgado	Sem notas de salgado				Muito salgado
Sabor amargo	Sem notas amargo				Muito amargo
Sabor ácido	Sem notas acidez				Muito ácido
Adstringência	Sem adstringência				Muita adstringência
Viscosidade	Fluido (água)				Viscoso (mel)
Granulometria	Sem grânulos (liso)				Com muitos grânulos (arenoso)
Granulometria	Grânulos finos				Grânulos grossos

Vocabulário

Sabor doce - Sensação básica produzida pela diluição aquosa de substâncias naturais ou artificiais como a sacarose ou aspartame.

Sabor amargo - Sensação básica produzida pela diluição aquosa de substâncias naturais ou artificiais como a quinina (presente na água tônica) ou cafeína.

Sabor salgado - Sensação básica produzida pela diluição aquosa de várias substâncias como o sódio.

Acidez - Sensação básica produzida pela diluição aquosa de substâncias ácidas. (Por exemplo: ácido cítrico e ácido tartárico)

Adstringência - Sensação complexa acompanhada por constrição da pele ou mucosa da boca (*alimento prende na boca devido à menor segregação de saliva*) produzido por substâncias como taninos do dióspiro e banana verde.

Granulometria - Atributo de textura relacionado com a percepção do tamanho, forma e número de partículas num produto.

Adjetivos correspondentes aos níveis de granulometria: liso, arenoso, granuloso, partículas pequenas e esféricas ou partículas grandes e irregulares.

Textura - Informação relativa a possíveis atributos mecânicos, geométricos do produto.

Viscosidade - Textura mecânica atribuída a resistência criada ao movimento do produto.

Nota 1: corresponde a força necessária para drenar um líquido da colher para a boca ou a espalhar sobre uma superfície.

Adjetivos utilizados: fluido (água), cremoso (gelado), viscoso (mel).

Apêndice III – Apresentação do teor de aminoácidos teóricos presentes nas formulações desenvolvidas (produto acabado) comparativamente às necessidades em aminoácidos de cada grupo-alvo.

Para melhor compreensão deste documento, a apresentação dos teores em aminoácidos das formulações será estratificada de acordo com as diferentes fases do projeto. Os valores apresentados são referentes a um produto de 120 g, com a exceção dos preparados apresentados na **Tabela A.1 e A.2** (100g).

Fase 1

Tabela A.1 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos com alergénios da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos com alergénios		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,211	0,149
Ile (g)	0,392	0,256
Leu (g)	0,673	0,520
Lys (g)	0,544	0,429
Met + Cys (g)	0,218	0,215
Phe + Tyr (g)	0,655	0,380
Thr (g)	0,312	0,223
Trp (g)	0,091	0,061
Val (g)	0,452	0,347

Tabela A.2 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos sem alergénios da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos sem alergénios		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,193	0,126
Ile (g)	0,370	0,243
Leu (g)	0,646	0,479
Lys (g)	0,521	0,377
Met + Cys (g)	0,170	0,188
Phe + Tyr (g)	0,559	0,322
Thr (g)	0,280	0,196
Trp (g)	0,039	0,052
Val (g)	0,461	0,314

Tabela A.3 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para seniores da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Séniores		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,274	0,156
Ile (g)	0,516	0,313
Leu (g)	0,858	0,615
Lys (g)	0,655	0,469
Met + Cys (g)	0,303	0,229
Phe + Tyr (g)	0,844	0,396
Thr (g)	0,405	0,240
Trp (g)	0,123	0,063
Val (g)	0,593	0,406

Tabela A.4 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,095	0,075
Ile (g)	0,230	0,129
Leu (g)	0,419	0,262
Lys (g)	0,347	0,216
Met + Cys (g)	0,137	0,108
Phe + Tyr (g)	0,365	0,191
Thr (g)	0,182	0,112
Trp (g)	0,038	0,031
Val (g)	0,319	0,174

Tabela A.5 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Crianças dos 4 aos 9 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,151	0,096
Ile (g)	0,277	0,186
Leu (g)	0,503	0,367
Lys (g)	0,386	0,288
Met + Cys (g)	0,170	0,144
Phe + Tyr (g)	0,434	0,246
Thr (g)	0,222	0,150
Trp (g)	0,048	0,040
Val (g)	0,369	0,240

Tabela A.6 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Controlo de Peso		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,349	0,202
Ile (g)	0,622	0,403
Leu (g)	1,076	0,793
Lys (g)	0,880	0,605
Met + Cys (g)	0,365	0,296
Phe + Tyr (g)	1,070	0,511
Thr (g)	0,517	0,309
Trp (g)	0,154	0,081
Val (g)	0,722	0,524

Tabela A.7 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 1 relativamente às suas necessidades.

Desportistas		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,277	0,159
Ile (g)	0,505	0,319
Leu (g)	0,866	0,627
Lys (g)	0,647	0,478
Met + Cys (g)	0,318	0,234
Phe + Tyr (g)	0,873	0,404
Thr (g)	0,406	0,244
Trp (g)	0,134	0,064
Val (g)	0,588	0,415

Fase 2

Tabela A.8 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para seniores da fase 2 relativamente às suas necessidades.

Seniores		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,255	0,149
Ile (g)	0,474	0,299
Leu (g)	0,810	0,587
Lys (g)	0,641	0,448
Met + Cys (g)	0,267	0,219
Phe + Tyr (g)	0,790	0,378
Thr (g)	0,374	0,229
Trp (g)	0,112	0,060
Val (g)	0,542	0,388

Tabela A.9 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 2 relativamente às suas necessidades.

Desportistas		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,207	0,157
Ile (g)	0,381	0,314
Leu (g)	0,657	0,617
Lys (g)	0,516	0,470
Met + Cys (g)	0,230	0,230
Phe + Tyr (g)	0,631	0,397
Thr (g)	0,305	0,240
Trp (g)	0,092	0,063
Val (g)	0,451	0,408

Fase 3

Tabela A.10 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para adolescentes da fase 3 relativamente às suas necessidades.

Adolescentes		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,155	0,101
Ile (g)	0,296	0,189
Leu (g)	0,525	0,378
Lys (g)	0,445	0,299
Met + Cys (g)	0,140	0,145
Phe + Tyr (g)	0,448	0,255
Thr (g)	0,227	0,154
Trp (g)	0,043	0,040
Val (g)	0,365	0,252

Tabela A.11 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 3 relativamente às suas necessidades.

Controlo de Peso		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,166	0,098
Ile (g)	0,317	0,196
Leu (g)	0,553	0,386
Lys (g)	0,459	0,294
Met + Cys (g)	0,175	0,144
Phe + Tyr (g)	0,503	0,248
Thr (g)	0,252	0,150
Trp (g)	0,066	0,039
Val (g)	0,383	0,255

Tabela A.12 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para seniores da fase 3 relativamente às suas necessidades.

Seniores		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,213	0,125
Ile (g)	0,384	0,249
Leu (g)	0,673	0,490
Lys (g)	0,535	0,374
Met + Cys (g)	0,227	0,183
Phe + Tyr (g)	0,626	0,316
Thr (g)	0,309	0,191
Trp (g)	0,091	0,050
Val (g)	0,465	0,324

Tabela A.13 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação A para crianças do 1 aos 3 anos da fase 3 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos formulação A		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,100	0,076
Ile (g)	0,197	0,130
Leu (g)	0,360	0,265
Lys (g)	0,319	0,218
Met + Cys (g)	0,090	0,109
Phe + Tyr (g)	0,265	0,193
Thr (g)	0,149	0,113
Trp (g)	0,019	0,031
Val (g)	0,266	0,176

Tabela A.14 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação B para crianças do 1 aos 3 anos da fase 3 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos formulação B		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,096	0,073
Ile (g)	0,192	0,126
Leu (g)	0,351	0,256
Lys (g)	0,312	0,211
Met + Cys (g)	0,085	0,106
Phe + Tyr (g)	0,256	0,187
Thr (g)	0,145	0,110
Trp (g)	0,017	0,030
Val (g)	0,260	0,171

Tabela A.15 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 3 relativamente às suas necessidades.

Crianças dos 4 aos 9 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,118	0,081
Ile (g)	0,234	0,156
Leu (g)	0,426	0,307
Lys (g)	0,378	0,242
Met + Cys (g)	0,101	0,121
Phe + Tyr (g)	0,332	0,207
Thr (g)	0,178	0,126
Trp (g)	0,022	0,033
Val (g)	0,309	0,202

Fase 4

Tabela A.16 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 4 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,104	0,079
Ile (g)	0,208	0,136
Leu (g)	0,380	0,277
Lys (g)	0,333	0,228
Met + Cys (g)	0,096	0,114
Phe + Tyr (g)	0,288	0,202
Thr (g)	0,158	0,119
Trp (g)	0,021	0,033
Val (g)	0,281	0,185

Tabela A.17 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 4 relativamente às suas necessidades.

Crianças dos 4 aos 9 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,119	0,082
Ile (g)	0,237	0,158
Leu (g)	0,430	0,311
Lys (g)	0,382	0,245
Met + Cys (g)	0,101	0,122
Phe + Tyr (g)	0,335	0,209
Thr (g)	0,180	0,128
Trp (g)	0,022	0,034
Val (g)	0,312	0,204

Fase 5

Tabela A.18 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 5 relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,099	0,069
Ile (g)	0,189	0,120
Leu (g)	0,356	0,243
Lys (g)	0,279	0,200
Met + Cys (g)	0,126	0,100
Phe + Tyr (g)	0,288	0,177
Thr (g)	0,150	0,104
Trp (g)	0,024	0,029
Val (g)	0,267	0,162

Tabela A.19 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 5 relativamente às suas necessidades.

Crianças dos 4 aos 9 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,110	0,075
Ile (g)	0,217	0,145
Leu (g)	0,395	0,285
Lys (g)	0,352	0,224
Met + Cys (g)	0,092	0,112
Phe + Tyr (g)	0,297	0,191
Thr (g)	0,163	0,117
Trp (g)	0,018	0,031
Val (g)	0,288	0,187

Tabela A.20 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para adolescentes da fase 5 relativamente às suas necessidades.

Adolescentes		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,132	0,073
Ile (g)	0,286	0,137
Leu (g)	0,514	0,275
Lys (g)	0,428	0,218
Met + Cys (g)	0,117	0,105
Phe + Tyr (g)	0,306	0,186
Thr (g)	0,172	0,112
Trp (g)	0,033	0,029
Val (g)	0,296	0,183

Tabela A.21 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para seniores da fase 5 relativamente às suas necessidades.

Seniores		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,126	0,052
Ile (g)	0,239	0,104
Leu (g)	0,424	0,205
Lys (g)	0,362	0,157
Met + Cys (g)	0,127	0,077
Phe + Tyr (g)	0,349	0,132
Thr (g)	0,187	0,080
Trp (g)	0,045	0,021
Val (g)	0,301	0,136

Tabela A.22 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 5 relativamente às suas necessidades.

Controlo de Peso		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,098	0,042
Ile (g)	0,189	0,084
Leu (g)	0,337	0,165
Lys (g)	0,290	0,126
Met + Cys (g)	0,106	0,062
Phe + Tyr (g)	0,261	0,107
Thr (g)	0,149	0,064
Trp (g)	0,033	0,017
Val (g)	0,249	0,109

Tabela A.23 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 5 relativamente às suas necessidades.

Desportistas		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,096	0,043
Ile (g)	0,193	0,087
Leu (g)	0,347	0,170
Lys (g)	0,297	0,130
Met + Cys (g)	0,094	0,063
Phe + Tyr (g)	0,262	0,110
Thr (g)	0,146	0,066
Trp (g)	0,025	0,017
Val (g)	0,254	0,112

Fase 5 – Clean Label

Tabela A.24 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças do 1 aos 3 anos da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.

Crianças do 1 aos 3 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,086	0,062
Ile (g)	0,171	0,107
Leu (g)	0,321	0,217
Lys (g)	0,260	0,179
Met + Cys (g)	0,103	0,090
Phe + Tyr (g)	0,245	0,158
Thr (g)	0,134	0,093
Trp (g)	0,019	0,025
Val (g)	0,243	0,145

Tabela A.25 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para crianças dos 4 aos 9 anos da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.

Crianças dos 4 aos 9 anos		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,088	0,059
Ile (g)	0,177	0,115
Leu (g)	0,322	0,226
Lys (g)	0,288	0,178
Met + Cys (g)	0,082	0,089
Phe + Tyr (g)	0,230	0,152
Thr (g)	0,134	0,093
Trp (g)	0,018	0,024
Val (g)	0,242	0,148

Tabela A.26 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para adolescentes da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.

Adolescentes		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,093	0,060
Ile (g)	0,186	0,113
Leu (g)	0,332	0,226
Lys (g)	0,285	0,179
Met+Cys (g)	0,095	0,087
Phe+Tyr (g)	0,251	0,152
Thr (g)	0,142	0,092
Trp (g)	0,027	0,024
Val (g)	0,245	0,150

Tabela A.27 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para seniores da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.

Seniores		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,128	0,076
Ile (g)	0,241	0,152
Leu (g)	0,426	0,300
Lys (g)	0,364	0,229
Met+Cys (g)	0,128	0,112
Phe+Tyr (g)	0,351	0,193
Thr (g)	0,189	0,117
Trp (g)	0,045	0,030
Val (g)	0,303	0,198

Tabela A.28 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para desportistas da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.

Desportistas		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,096	0,059
Ile (g)	0,193	0,118
Leu (g)	0,347	0,231
Lys (g)	0,297	0,176
Met+Cys (g)	0,071	0,086
Phe+Tyr (g)	0,262	0,149
Thr (g)	0,146	0,090
Trp (g)	0,025	0,024
Val (g)	0,254	0,153

Tabela A.29 - Teor de aminoácidos essenciais em produto acabado da formulação para controlo de peso da fase 5 – Clean Label relativamente às suas necessidades.

Controlo de Peso		
AAE	AAE em PA	Necessidades
His (g)	0,084	0,050
Ile (g)	0,168	0,100
Leu (g)	0,302	0,197
Lys (g)	0,259	0,150
Met+Cys (g)	0,092	0,073
Phe+Tyr (g)	0,223	0,127
Thr (g)	0,131	0,077
Trp (g)	0,028	0,020
Val (g)	0,227	0,130

Apêndice IV – Apresentação dos restantes *mix*'s proteicos desenvolvidos

Tal como já foi referido no ponto 4.5 “*Mix*'s proteicos”, esta vertente do estudo baseou-se no desenvolvimento de matérias-primas na qual foram utilizadas proteínas e farinhas proteicas, que foram misturadas e posteriormente acondicionadas.

Cada mistura recebeu o nome de “GreenMix” que alia a vertente ecológica e sustentável associada às proteínas de origem vegetal a um nome relacionado ao grupo-alvo para o qual é dirigido. Em alguns casos poderá ainda haver mais uma designação relativa a alguma característica do *mix* (económico, proteinplus, soy-free, ómega-3).

Tabela A.30 - Formulação do GreenMix Protein TOP, indicado para o grupo-alvo dos desportistas.

GreenMix Protein TOP %	
Proteína Soja Isolada	40
Proteína de batata	40
Proteína <i>Inca inchi</i>	20

Tabela A.31 - Formulação do GreenMix Protein, indicado para o grupo-alvo dos desportistas.

GreenMix Protein %	
Proteína de ervilha	30
Proteína Soja Isolada	30
Farinha de tremçoço	10
Proteína de batata	10
Proteína <i>Inca inchi</i>	20

Tabela A.32 - Formulação do GreenMix Protein Economico (Ec), indicado para o grupo-alvo dos desportistas.

GreenMix Protein Ec %	
Proteína ervilha	35
Proteína de batata	30
Proteína de arroz	35

Tabela A.33 - Formulação do GreenMix Saciante, indicado para o grupo-alvo de controlo de peso.

GreenMix Saciante %	
Proteína de ervilha	35
Proteína de batata	20
Proteína <i>Inca inchi</i>	30
Proteína de arroz	15

Tabela A.34 - Formulação do GreenMix Saciante, indicado para o grupo-alvo de controlo de peso.

GreenMix Saciante %	
Proteína de ervilha	30
Proteína de batata	30
Proteína de lentilha	30
Proteína <i>Inca inchi</i>	10

Tabela A.35 - Formulação do GreenMix Sénior.

GreenMix Sénior %	
Proteína soja	15
Proteína lentilha	30
Proteína de batata	20
Proteína de arroz	20
<i>Chlorella vulgaris</i>	15

Tabela A.36 - Formulação do GreenMix Senior Ȫ-3.

GreenMix Senior Ȫ-3 %	
Proteína de ervilha	10
Proteína de batata	5
Proteína de fava	50
Proteína <i>Inca inchi</i>	25
Proteína de arroz	10

Tabela A.37 - Formulação do GreenMix Senior.

GreenMix Senior %	
Proteína de ervilha	11
Proteína de batata	3
Proteína de fava	40
Proteína <i>Inca inchi</i>	25
Proteína de lentilha	9
<i>Chlorella vulgaris</i>	2
Farinha de sementes de sésamo	10

Tabela A.38 - Formulação do GreenMix Sénior Económico (Ec), indicado para o grupo-alvo dos seniores.

GreenMix Sénior Ec %	
Proteína de ervilha	10
Proteína de batata	15
Proteína de fava	50
Proteína de <i>Inca inchi</i>	25

Tabela A.39 - Formulação do GreenMix Soyfree Económico (Ec).

GreenMix soyfree Ec %	
Proteína de ervilha	25
Proteína de fava	30
Proteína de <i>Inca inchi</i>	25
Proteína de arroz	20

TabelaA.40 - Formulação do GreenMix Crianças de 1 aos 3 anos.

GreenMix crianças de 1 aos 3 anos %	
Proteína de ervilha	20
Proteína de batata	20
Proteína <i>Inca inchi</i>	30

Tabela A.41 - Formulação do GreenMix Crianças de 1 aos 3 anos.

GreenMix Crianças de 1 aos 3 anos %	
Proteína de ervilha	35
Proteína de batata	5
Proteína <i>Inca inchi</i>	30
Proteína de lentilha	30

Tabela A.42 - Formulação do GreenMix Crianças dos 4 aos 9 anos.

GreenMix Crianças dos 4 aos 9 anos %	
Proteína de ervilha	40
Proteína de batata	5
Proteína <i>Inca inchi</i>	30
Proteína de lentilha	25

Tabela A.43 - Formulação do GreenMix Adolescentes.

GreenMix Adolescentes %	
Proteína de ervilha	20
Proteína de batata	5
Proteína <i>Inca inchi</i>	30
Proteína de lentilha	30
Proteína de arroz	15

Tabela A.44 - Formulação do GreenMix Universal Económico.

GreenMix Universal Económico %	
Proteína de ervilha	10
Proteína de fava	55
Proteína <i>Inca inchi</i>	35

Tabela A.45 - Formulação do GreenMix Universal Top Protein.

GreenMix Universal Top Protein %	
Proteína de ervilha	10
Proteína Soja Isolada	45
Farinha de tremçoço	15
Proteína de batata	30

Tabela A.46 - Formulação do GreenMix Protein vs €.

GreenMix Univeresal Protein vs € %	
Proteína de ervilha	30
Proteína Soja Isolada	7,5
Proteína de batata	7,5
Proteína de fava	30
Proteína <i>Inca inchi</i>	25

BIBLIOGRAFIA

Agostoni, C. *et al.*, 2010a. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to protein and increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 414, 616, 730), contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 414, 616, 730), maintenance of normal bone (ID 416) and growth or maintenance of muscle mass (ID 415, 417, 593, 594, 595, 715) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* **8**(10): 1811.

Agostoni, C. *et al.* 2010b Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to whole grain (ID 831, 832, 833, 1126, 1268, 1269, 1270, 1271, 1431) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* **8**(10):1766.

Agostoni, C. *et al.* 2011. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to L-tyrosine and contribution to normal synthesis of catecholamines (ID 1928), increased attention (ID 440, 1672, 1930), and contribution to normal muscle function (ID 1929) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* **9**(6): 2270.

Alipoor, B., Haghighian, M.K., Sadat, B.E., Asghari, M. 2012. Effect of sesame seed on lipid profile and redox status in hyperlipidemic patients. *Int J Food Sci Nutr* **63**(6): 674-678.

Almeida, M.D.V., Afonso, C.I.P.N. 1997. *Princípios Básicos de Alimentação e Nutrição*. Universidade Aberta, Lisboa.

Amaral, J.M., *et al.* 2008. Tratado de Clínica Pediátrica - Volume 1. 1ª ed, Abbott Lda.

Amarowicz, R., Estrella, I., Hernández, T., Robredo, S., Troszyńska, A., Kosińska, A., Pegg, R.B. 2010. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food Chem* **121**(3): 705–711.

Baginsky, C., Peña-Neira, A., Cáceres, A., Hernández, T., Estrella, I., Morales, H., Pertuzé, R. 2013. Phenolic compound composition in immature seeds of fava bean (*Vicia faba* L.) varieties cultivated in Chile. *J Food Compos Anal* **31**(1): 1-6.

Blomstrand, E. 2006. A role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue. *J Nutr* **136**(2): 544S-547S.

- Bodinhham, C.L., Hitchen, K.L., Youngman, P.J., Frost, G.S., Robertson, M.D. 2011. Short-term effects of whole-grain wheat on appetite and food intake in healthy adults: a pilot study. *Br. J. Nutr.* 106, 327–330.
- Borman, A., Wood, T.R., Black, H.C., Anderson, E.G., Oesterling, M.J., Womack, M., Rose, W.C. 1946. The role of arginine in growth with some observations on the effects of argininic acid. *J. Biol. Chem* **166**: 585-594.
- Campbell, B., Kreider, R., Ziegenfuss, T., La Bounty, P., Roberts, M., Burke, D., *et al.* 2007. International Society of Sports Nutrition position stand: protein and exercise. *J Int Soc Sports Nutr* **4**(1): 8.
- Candeias, V., Nunes, E., Morais, C., Cabral, M., Silva, P.R. 2005. *Princípios para uma Alimentação Saudável*. Direcção-Geral da Saúde, Lisboa.
- Code of Federal Regulations. 2012. Title 21, Section 101.9 (c-7 iii) - Nutrition labeling of food.
- Cruz-Jentoft, A.J., Baeyens, J.P., Bauer, J.M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., Martin, F.C., Michel, J.P, Rolland, Y., Schneider, S.M., Topinková, E., Vandewoude, M., Zamboni, M. 2010. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* **39**(4): 412-423.
- Day, L. 2013. Proteins from land plants - Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science and Technology*, 32(1), 25–42.
- Faris, M.A.E. Takruri, H.R., Issa, A.Y. 2013. Role of lentils (*Lens culinaris* L.) in human health and nutrition: a review. *Med J Nutrition Metab* **6**(1): **3-16**.
- FCNAUP – Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto. 2004. *Guia-Os Alimentos na Roda*. Instituto do Consumidor, Lisboa.
- Feucht, S. 2005. Dietary reference intake (DRI) review: case studies illustrating energy and protein for children and adolescent with special needs. *Nutr Focus Newsletter* **20**: 1.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1997. “Guidelines for small-scale fruit and vegetable processors”. Disponível: <http://www.fao.org/3/a-w6864e/index.html#Contents> [data da consulta: 07/20/2015].

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2001. Food and Nutrition Technical Report Series - Human energy requirements.

Gambôa, A., Leitão, A., Silva, A.M.S., Cádima, C., Nunes, E., Imperiatori, E., Canedo, F., von Amann, G., Furtado, I., Clara, J.G., Heitor, M.J., Oswald, W. 2006. Programa Nacional para a Saúde das Pessoas Idosas. Direcção-Geral da Saúde, Lisboa.

García-Lafuente, A., Moro, C., Manchón, N., Gonzalo-Ruiz, A., Villares, A., Guillamón, E., Rostagno, M., Mateo-Vivaracho, L. 2014. In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. *Food Chem* **161**: 216-223.

Ha V, Sievenpiper JL, de Souza RJ, Jayalath VH, Mirrahimi A, Agarwal A, Chiavaroli L, Mejia SB, Sacks FM, Di Buono M. 2014. Effect of dietary pulse intake on established therapeutic lipid targets for cardiovascular risk reduction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Can Med Assoc J*. 186: E252–E262.

Hazen, R. 2014. Strategic Nutrition for Healthy Aging Technical Paper. Fortitech Premixes.

Hossain, M.I., Islam, M.M., Wahed, M.A., Khatun, M., Kabir, I. 2009. Lentil-based high protein diet is comparable to animal-based diet in respect to nitrogen absorption and nitrogen balance in malnourished children recovering from shigellosis. *Asia Pac J Clin Nutr* **18**(1): 8-14.

Ingredion. 2014. "The Clean Label Guide to Europe". Disponível: <http://emea.ingredion.com/Innovation/Achieving-Clean-Label> [data da consulta: 08/20/2015].

Innova Market Insights. 2015. Top 10 trends for 2015 - The impact on sweets & snacks.

Institute of Medicine of the National Academies. 2005. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. The National Academies Press, Washington, D.C.

Instituto Nacional de Estatística, I.P. 2012. Censos 2011 Resultados Definitivos – Portugal.

Jamarkattel-Pandit, N., Pandit, N.R., Kim, M.Y., Park, S.H., Kim, K.S., Choi, H., Bu, Y 2010. Neuroprotective effect of defatted sesame seeds extract against in vitro and in vivo ischemic neuronal damage, *Planta Med* **76**(1): 20-26.

Jonnalagadda, S. S., Harnack, L., Liu, R. H., McKeown, N., Seal, C., Liu, S., Fahey, G. C. 2011. Putting the whole grain puzzle together: health benefits associated with whole grains – summary of American Society for Nutrition 2010 Satellite Symposium. *J. Nutr.* 141, 1011S–1022S).

Katz, B. 2014. Protein and the Global Consumer. *Protein Trends & Technologies Seminar: Formulating with Proteins*. Global Food Forums, Inc.

Khan, M.K., Karnpanit, W., Nasar-Abbas, S.M., Huma, Z., Jayasena, V. 2015. Phytochemical composition and bioactivities of lupin: a review. *Int J Food Sci Tech* 50(9): 2004-2012.

Kinugasa, C., Naemura, A., Hyodo, K., Nakai, Y., Katsuka, M., Yamamoto, J. 2011. Experimental antithrombotic effects of sesame seed whole grains and extracts. *Blood Coagul Fibrinolysis* 22(6): 526-531.

Kopple, J.D., Swendseid, M.E. 1975. Evidence that histidine is an essential amino acid in normal and chronically uremic man. *J Clin Invest* 55(5): 881-891.

Kreider, R.B., Almada, A.A., Antonio, J., Broeder, C., Earnest, C., Greenwood, M., Incledon, T., Kalman, D.S., Kleiner, S.M., Leutholtz, B., Lowery, L.M., Mendel, R., Stout, J.R., Willoughby, D.S., Ziegenfuss, T.N. 2004. ISSN Exercise & Sport Nutrition Review: Research & Recommendations. *J Int Soc Sports Nutr* 1(1): 1-44.

Lepor, N.E., Fouchia, D.D., McCullough, P.A. 2013. New vistas for the treatment of obesity: turning the tide against the leading cause of morbidity and cardiovascular mortality in the developed world. *Rev Cardiovasc Med* 14(1): 20-39.

Lopes, C.M.B.S., Almeida, D.P.F. 2013. Moldable protein matrix containing fruit, vegetables, chocolate or cocoa, for food applications, and process for its manufacture. Patente EP2663199 A1, Frulact, S.A..

Macarulla, M.T., Medina, C., De Diego, M.A., Chávarri, M., Zulet, M.A., Martínez, J.A., Noël-Suberville, C., Higuieret, P., Portillo, M.P. 2001. Effects of the whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolaemic rats. *Br J Nutr* 85(5): 607-614.

Mahan, L.K., Escott-Stump, S. 2010. *Krause – Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 12^a ed, Elsevier, Amesterdão.

Mellinkoff, S.M., Frankland, M., Boyle, D., Greipel, M. 1956. Relationship between serum amino acid concentration and fluctuations in appetite. *J Appl Physiol* **8**(5): 535-538.

Mirmiran, P., Bahadoran, Z., Golzarand, M., Rajab, A., Azizi, F. 2013. Ardeh (*Sesamum indicum*) could improve serum triglycerides and atherogenic lipid parameters in type 2 diabetic patients: a randomized clinical trial. *Arch Iran Med* **16**(11): 651-656.

Mollard, R. C., Luhovy, B. L., Panahi, S., Nunez, M., Hanley, A., Anderson, G. H. Regular consumption of pulses for 8 weeks reduces metabolic syndrome risk factors in overweight and obese adults. *Br. J. Nutr.* 2012, 108 (Suppl. 1), S111–S122.).

Murty, C.M., Pittaway, J.K., Ball, M.J. 2010. Chickpea supplementation in an Australian diet affects food choice, satiety and bowel health. *Appetite* **54**(2): 282-288.

Musa-Veloso, K. 2014. Communicating with Consumers: Regulations on Protein Claims and Ingredients. Protein Trends & Technologies Seminar. Arlington Heights, EUA.

Nelson, D.L., Cox, M.M. 2008 *Lenhinger – Principles of Biochemistry*. 5^a ed, W. H. Freeman and Company, Nova Iorque.

Nithiyanantham, S., Selvakumar, S., Siddhuraju, P. 2012. Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L. *J Food Compos Anal* **27**(1): 52-60.

Oomah, B.D., Caspar, F. Malcolmson, L.J., Bellido, A. 2011. Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Res Int* **44**(1): 436-441.

Pastor-Cavada, E., Juan, R., Pastor, J.E., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J. 2011. Antioxidative activity in the seeds of 28 *Vicia* species from southern Spain. *J Food Biochem* **35**(5): 1373-1380.

Polaina, J., MacCabe, A.P. 2007. Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications. 1^a ed, Springer, Dordrecht.

Portaria n.º 742/92 de 24 de julho. Diário da República – I Série-B, n.º 169 de 24.07.1992. pp. 3462-3465.

Porto, A., & Oliveira, L. 2006. Tabela da composição de alimentos. *Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de Segurança Alimentar e Nutrição*.

PortugalFoods. 2014. “As 10 Grandes Tendências Mundiais do Setor Agroalimentar para 2014, segundo a PortugalFoods”. Disponível: www.portugalfoods.org [data da consulta: 12/01/2014].

PortugalFoods. 2015. Sessão "Top 10 Trends" 2015. Disponível: www.portugalfoods.org [data da consulta: 08/15/2015].

Quintas, A., Freire, A.P., Halpern, M.J. 2008. *Bioquímica – Organização Molecular da Vida*. Lidel, Lisboa.

Rebello, C. J., Greenway, F. L., Finley, J. W. 2014a. A review of the nutritional value of legumes and their effects on obesity and its related co-morbidities. *Obes. Rev*, 15, 392–407.

Rebello, C.J., Greenway, F.L., Finley, J.W. 2014b. Whole grains and pulses: a comparison of the nutritional and health benefits. *J Agric Food Chem* **62**(29): 7029-7049.

Reeds, P.J. 2000. Dispensable and Indispensable Amino Acids for Humans. *J Nutr* **130**(7): 1835S-1840S.

Rêgo, C., Lopes, C., Pinto, E., Nazareth, M., Graça, P. 2012. Alimentação e crescimento nos primeiros anos de vida. EPACI Portugal.

Rêgo, C., Peças, M.A. 2012. Crescer para cima. 1ª ed: Editorial Presença.

Regulamento (CE) n.º 1924/2006 de 20 de dezembro. *JOUE L404 de 30.12.06*. Retificado em *JOUE L12/3 de 18.01.2007*.

Regulamento (CE) n.º 983/2009 de 22 de outubro. *JOUE L277*.

Regulamento (UE) n.º 1169/2011 de 25 de outubro. *JOUE L304/18 de 22.11.2011*.

Regulamento (UE) n.º 432/2012 de 16 de maio. *JOUE L136/1 de 25.05.12*.

Richmond, K., Williams, S., Mann, J., Brown, R., Crisholm, A. 2013. Markers of Cardiovascular Risk in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes Are Improved by the Daily Consumption of Almonds or Sunflower Kernels: A Feeding Study. *ISRN Nutrition*, Article ID: 626414.

Rose, W.C., Haines, W.J., Warner, D.T. 1954. The amino acid requirements of man. V. The role of lysine, arginine and tryptophan. *J Biol Chem* **206**: 421-430.

Schröder, H. 2007. Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem* **18**(3): 149–160.

Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H. 1994. *Food Composition and Nutrition Tables*. Medpharm Scientific Publishers, Estugarda.

Thompson, T.G., Veneman, A.M. 2005. Dietary Guidelines for Americans 2005. U. S. Department of Health and Human Services and U. S. Department of Agriculture.

Tighe, P., Duthie, G., Vaughan, N., Brittenden, J., Simpson, W.G., Duthie, S., Mutch, W., Wahle, K., Horgan, G., Thies, F. 2010. Effect of increased consumption of whole-grain foods on blood pressure and other cardiovascular risk markers in healthy middle-aged persons: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 92, 733–740.

Tripkovic, L., Muirhead, N.C., Hart, K.H., Frost, G.S., Lodge, J.K. 2014. The effects of a diet rich in inulin or wheat fibre on markers of cardiovascular disease in overweight male subjects. *J Human Nutr Diet* 28(5):476-85.

Trumbo, P. *et al.* 2002. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *Journal of the American Dietetic Association* 102.11: 1621-1630.

U.S. Department of Agriculture – Agricultural Research Service. 2013. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. Disponível: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/> [data da consulta: 01/15/2015].

van de Poll, M.C.G., Luiking, Y.C., Dejong, C.H.C., Soeters, P.B. 2005. Amino acids: Specific Functions. In: *Encyclopedia of Human Nutrition* (Eds. B. Caballero, L. Allen & A. Prentice), Elsevier Ltd., Oxford. pp. 92-100.

Wagner, I., Musso, H. 1983. New Naturally Occurring Amino Acids. *Angew Chem Int Ed Engl* **22**: 816-828.

Wang, L., Gaziano, J.M., Liu, S., Manson, J.E., Buring, J.E., Sesso, H.D. 2007. Whole- and refined-grain intakes and the risk of hypertension in women. *Am. J. Clin. Nutr.* **86**, 472–479.

Watson, J.D., Baker, T.A., Bell, S.P., Gann, A., Levine, M., Losick, R. 2004. *Molecular Biology of the Gene*. 5^a ed, Benjamin Cummings, São Francisco.

Wichitsranoi, J., Weerapreeyakul, N., Boonsiri, P., Settasatian, C., Settasatian, N., Komanasin, N., Sirijaichingkul, S., Teerajetgul, Y., Rangkadilok, N., Leelayuwat, N. (2011). Antihypertensive and antioxidant effects of dietary black sesame meal in pre-hypertensive humans. *Nutr J* **10**: 82.

World Health Organization. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *WHO technical report series* **916**:1-149.

World Health Organization. 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition. *WHO Technical Report Series* 935.

World Health Organization. 2014a. *Adolescents: health risks and solutions*; Fact sheet N°345 Disponível: www.who.int [data da consulta: 12/06/2014].

World Health Organization. 2014b. “Facts about ageing” Disponível: www.who.int [data da consulta: 12/06/2015].

Wu, G. 2009. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* **37**(1): 1-17.

Wu, G. 2010a. Functional amino acids in growth, reproduction and health. *Adv Nutr* **1**(31): 31-17.

Wu, G. 2013. Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids* **45**(3): 407-411.

Wu, G., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Johnson, G.A., Kim, S.W., Knabe, D.A., Li, P., Li, X.L., McKnight, J.R., Satterfield, M.C., Spencer, T.E. 2011. Proline and hydroxyproline metabolism: Implications for animal and human nutrition. *Amino Acids* **40**(4): 1053-1063.

Wu, G., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Johnson, G.A., Kim, S.W., Li, X.L., Satterfield, M.C., Spencer, T.E. 2010b. Impacts of amino acid nutrition on pregnancy outcome in pigs: Mechanisms and implications for swine production. *J Anim Sci* 88: E195-E204.

Xiao, Y., Xing, G., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M., Dong, M. 2014. Enhancement of the antioxidant capacity of chickpeas by solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18. *J Funct Foods* 10: 210–222.

Yates, P.A.M., Jago, D. 2014. “High protein is proving to be more than just a fab – Will it change the way we eat?” *Ingredients&Innovation*, Issue n° 02.

Ye, E.Q., Chacko, S.A., Chou, E.L., Kugizaki, M., Liu, S. 2012. Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *J. Nutr.* 142, 1304–1313.

Zayas, J.F. 1997. Water Holding Capacity of Proteins. pp 76-133. In: *Functionality of Proteins in Food*, Springer, Berlin.

Zdrengea, D., Pop, D., Colcear, D. 2006. Effect of dietary isoflavones on plasma cholesterol. *Rom J Intern Med* 44(4): 353-363.