



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**Desenvolvimento de Novos Alimentos para Praticantes de
Atividade Física Adicionados ou não de *Spirulina***

Lisiane Fernandes de Carvalho

Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa
Orientador

Rio Grande, RS
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**Desenvolvimento de Novos Alimentos para Praticantes de
Atividade Física Adicionados ou não de *Spirulina***

Lisiane Fernandes de Carvalho

**Dissertação apresentada como
um dos requisitos para obtenção
do título de mestre no Programa
de Pós Graduação em Engenharia
e Ciência de Alimentos da
Universidade Federal do Rio
Grande.**

**Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa
Orientador**

Rio Grande, RS

2010

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.

Chico Xavier

Dedico este trabalho aos meus pais, Maria Lúcia e Eduardo, à minha irmã Catia e ao meu marido, Gabriel, por todo amor, paciência e incentivo hoje e sempre!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande,
por proporcionar um programa de pós-graduação de qualidade e gratuito.

Ao Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos,
pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa,
pela, orientação, formação, oportunidades, apoio e confiança.

**Aos membros da banca examinadora Lucielen Oliveira dos Santos,
Leonor Almeida de Souza Soares e Luiz Antônio de Almeida Pinto,**
pelas valiosas contribuições, que muito enriqueceram este trabalho.

**Aos professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de
Alimentos,**
pela contribuição em minha formação.

**Aos meus pais Maria Lúcia Macedo Fernandes e Eduardo Henrique Novo de
Carvalho,**
pelo exemplo, amor, educação, incentivo e por tantas outras coisas.

Ao meu marido Gabriel Senna da Rosa,
pelo amor, incentivo e companheirismo em todos os momentos.

À minha irmã Catia Fernandes de Carvalho,
pelo exemplo, carinho e incentivo.

À toda minha família,
pelo carinho e apoio.

As bolsistas Joice Borges, Juliana Moreira e Mariana Oliveira,
pela amizade e preciosa contribuição na parte experimental deste trabalho.

As amigas Ana Priscila Rosa e Elisangela Radmann,
pela grande amizade, pelo incentivo, pelos conselhos, momentos divertidos, por
estarem sempre prontas a ajudar, pelas correções e sugestões.

As amigas Ana Claudia Marguerittes e Thaisa Santos,
pela grande amizade, pelo incentivo, disposição em ajudar e pelos momentos alegres.

**Aos amigos do LEB, Michele Andrade, Sabrina de La Rocha, Pâmela Goularte,
Luiza Moraes, Gabriel da Rosa, Etiele de Moraes, Roberta Martins, Shana
Ferreira, Cristiane Lisboa, Vitor Furlong, Bárbara de Freitas, Adriano Arruda e
Valcenir Júnior Furlan,**

pela amizade, apoio e momentos de descontração proporcionados.

Ao Roque Zílio e Maralice Moreira,
pelo carinho e apoio.

À todos,
que de uma maneira ou de outra contribuíram para realização deste trabalho

À empresa Ethika,
pelo apoio e fornecimento de insumos.

À CAPES,
pela concessão da bolsa de mestrado.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 JUSTIFICATIVAS	16
4 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA	18
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
5.1 Desenvolvimento de Novos Produtos	20
5.2 Mercado de Suplementos Alimentares	21
5.3 Legislação sobre Alimentos para Praticantes de Atividade Física	22
5.4 Nutrição x Exercício Físico	24
5.5 Macronutrientes	26
5.5.1 Carboidratos	26
5.5.2 Proteínas	27
5.5.3 Lipídios	28
5.6 Micronutrientes	30
5.6.1 Vitaminas	30
5.6.2 Minerais	30
5.7 Hidratação do Praticante de Atividade Física	31
5.8 Principais Matérias Primas Utilizadas nos Alimentos Destinados a Praticantes de Atividade Física	32
5.8.1 Proteínas do soro de leite	32
5.8.2 Triacilgliceróis de cadeia média (TCM)	34
5.8.3 Creatina	34
5.8.4 Maltodextrina	35
5.8.5 Sacarose e Dextrose	36

5.8.6 Goma Guar	37
5.8.7 Edulcorantes	37
5.9 Microalga Spirulina	38
5.10 Análise Sensorial	40
5.10.1 Testes Afetivos	40
5.11 Estudo Vida Útil	41
CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	44
6 MATERIAL E MÉTODOS	45
6.1 Desenvolvimento das Formulações	45
6.2 Biomassa da Microalga Spirulina	45
6.3 Análise Sensorial	46
6.4 Composição Centesimal	48
6.5 Análises Microbiológicas	48
6.6 Vida Útil dos Alimentos Desenvolvidos	49
6.6.1 Determinação da taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA)	49
6.6.2 Isoterma de sorção de umidade e umidade crítica (Uc)	51
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
7.1 Repositor Hidroeletrólítico	53
7.2 Potencializador Muscular	62
7.3 Recuperador Muscular	69
CAPÍTULO IV – CONCLUSÃO	77
8 CONCLUSÃO	78
CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
APÊNDICES	94
APÊNDICE 1 - Determinação de carboidratos por adaptação do método de DNS (miller, 1959), com prévia hidrólise ácida dos polissacarídeos (FURLAN et al., 2009).	95
APÊNDICE 2 - Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos repositores com diferentes concentrações de Spirulina	96
APÊNDICE 3 – Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos repositores	97
APÊNDICE 4 - Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos potencializadores. .	98
APÊNDICE 5 – Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos recuperadores.	99

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 Pirâmide de alimentos segundo USDA.....	24
Figura 2 Fotomicroscopia da <i>Spirulina platensis</i> sob aumento de 5000 vezes.	39

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Figura 3 Misturador tipo Y	45
Figura 4 Produção da microalga <i>Spirulina</i> LEB-18	46
Figura 5 Ficha utilizada nas análises sensoriais	47
Figura 6 Análise sensorial realizada em academia	48
Figura 7 Embalagens acondicionadas no dessecador a 90%UR e 30°C.....	50
Figura 8 Embalagens acondicionadas nos dessecadores a 30°C	51
Figura 9 Intenção de compra dos julgadores em relação aos repositores	56
Figura 10 Valores de ganho de umidade da embalagem.....	59
Figura 11 Isoterma de sorção de umidade de repositores hidroeletrolítico sem <i>Sp</i>	60
Figura 12 Isoterma de sorção de umidade de repositores hidroeletrolítico com <i>Sp</i>	60
Figura 13 Intenção de compra dos julgadores em relação aos potencializadores	64
Figura 14 Isoterma de sorção de umidade de potencializador muscular sem <i>Sp</i>	67
Figura 15 Isoterma de sorção de umidade de potencializador muscular com <i>Sp</i>	67
Figura 16 Intenção de compra dos julgadores em relação aos recuperadores	71
Figura 17 Isoterma de sorção de umidade de recuperador muscular sem <i>Spirulina</i> ...	74
Figura 18 Isoterma de sorção de umidade de recuperador muscular com <i>Spirulina</i> ...	75

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Tabela 1 Umidade Relativa dos sais utilizados.....	51
Tabela 2 Aceitação global e média das notas dos repositores com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i>	54
Tabela 3 Aceitação global e médias das notas dos repositores hidroeletrólíticos	55
Tabela 4 Composição por porção (35 g) dos repositores desenvolvidos	57
Tabela 5 Resultados avaliação microbiológica dos repositores hidroeletrólíticos	58
Tabela 6 Resultados referentes à estimativa de vida útil dos repositores	61
Tabela 7 Aceitação global e médias das notas dos potencializadores muscular	63
Tabela 8 Composição por porção (6 g) dos potencializadores desenvolvidos	65
Tabela 9 Resultados avaliação microbiológica dos potencializadores muscular	66
Tabela 10 Resultados referentes a estimativa de vida útil dos potencializadores	68
Tabela 11 Aceitação global e médias das notas dos recuperadores muscular	70
Tabela 12 Composição por porção (40 g) dos recuperadores desenvolvidos.....	72
Tabela 13 Resultados avaliação microbiológica dos recuperadores muscular	73
Tabela 14 Resultados referentes à estimativa de vida útil dos recuperadores.....	75

RESUMO

Os alimentos são essenciais para manutenção do organismo e os nutrientes obtidos através da alimentação dependem da quantidade e diversidade dos alimentos ingeridos. A alimentação, o treinamento físico e o estado de saúde são aspectos fundamentais para o bom desempenho no esporte. Melhorar o desempenho, prevenir doenças, compensar uma alimentação inadequada, prover mais energia, combater a fadiga, melhorar a aparência física e atender à demanda de nutrientes específicos, devido ao intenso nível de atividade física, são as principais razões para justificar o consumo de suplementos, que são destinados a pessoas que não conseguem suprir suas necessidades nutricionais somente com a alimentação. A *Spirulina* é uma microalga rica em proteína, ácidos graxos, vitaminas, sais minerais e pigmentos, sendo utilizada como suplemento alimentar. Além disso, esta microalga possui o certificado GRAS (Generally Recognized As Safe) podendo ser utilizada como alimento sem oferecer risco à saúde humana. O objetivo deste trabalho foi desenvolver seis alimentos para praticantes de atividade física, adicionados ou não de *Spirulina*. Foram desenvolvidos, repositor hidroeletrolítico, recuperador muscular e potencializador muscular, todos com e sem adição da microalga. Foram realizadas formulações e análises sensoriais regulares até definição da formulação final. Após foram realizadas análises químicas e microbiológicas, como também estimada a vida útil dos produtos desenvolvidos por teste acelerado, através de um modelo matemático que relaciona o aumento de umidade do produto com a taxa de permeabilidade ao vapor de água da embalagem. Todos os alimentos desenvolvidos apresentaram médias de aceitação global satisfatórias, acima de 6,0. As análises microbiológicas realizadas em todos os alimentos desenvolvidos demonstraram ausência de Coliformes a 45°C e *Salmonella* sp., indicando que os produtos mostraram-se apropriados para consumo humano, de acordo com os padrões legais vigentes. A taxa de permeabilidade de vapor de água obtida para as embalagens de polietileno de alta densidade avaliadas foi $0,8 \text{ g}_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$ em umidade relativa de 90% a 30°C apresentando alta barreira ao vapor de água. Em relação à vida útil dos alimentos desenvolvidos, estes apresentaram uma estimativa entre 9 e 11 meses. Todos produtos desenvolvidos apresentaram composição que os caracterizam como alimentos para praticantes de atividade física. Com isso, os repositores hidroeletrolíticos podem ser consumidos antes, durante ou após a atividade física, os potencializadores antes e os recuperadores durante e após.

Palavras-chave: atividade física, microalga, suplementos.

ABSTRACT

The food intake is essential to keep the organism working and obtained nutrients will depend on the diet diversity and quantity. Sports results vary according to diet, physical activities and health condition. Improve performance, avoid diseases, have a well balanced diet, improve energy resources, fight against fatigue and obtained specific nutrients, to cope with intense physical activities are reasons to use supplements. The people who use such supplements can't absorb every necessary nutrients thru its daily diet. *Spirulina* is a microalga rich in protein, fatty acids, vitamins, minerals, which has been as supplement. Also this microalga has therefore certificate GRAS (Generally Recognized As Safe) it can be used as nutrient without health risks. The goal of this work was to develop six foods with or without *Spirulina* to physical activities practitioners. Hydroelectrolytic replacement, muscle recovery and muscle potentializer, all with and without the microalga were produced. All formulations were sensorial tested get to the final formula. After the chemical and microbiological analyses was done, in order to estimate shelf life of the products developed through an accelerate period of time. All done through mathematical model with relates the increased humidity from product and the level of permeability of the air in the package. All the food developed were acceptance means satisfactory, above 6.0. The microbiologic analyses made in all products developed show the absence of Coliformes in 45°C and Salmonella sp., showing that all products are recommended for human consumption agreeing with legal standards. The amount water steam permeability of polyethylene high density packages is $0,8 \text{ g}_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ with relative humidity 90% and 30°C showing high barrier for water steam. Shelf life from developed foods showed an estimated time of 9 to 11 months. All the products developed have showed composition that characterized then like food for physical activities practitioners. Thus the hydroelectrolytic replacement can be consumed before, during or after physical activities, muscle potentializer before and muscle recovery during and after.

Key words: physical activity, microalga, supplements

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A prática de atividades esportivas pode proporcionar benefícios à saúde e à qualidade de vida (ADA *et al.*, 2009). No entanto, o esporte nem sempre representa sinônimo de equilíbrio no organismo. As alterações fisiológicas e os desgastes nutricionais gerados pelo esforço físico podem conduzir o atleta ao limiar da saúde se não houver a compensação adequada de nutrientes (LUKASKI, 2004; NIEMAN *et al.*, 2001). A alimentação, o treinamento e o estado de saúde são aspectos fundamentais para um bom desempenho no esporte (BURKE *et al.*, 2004).

A atividade física intensa leva o atleta a manter um equilíbrio muito instável entre demanda energética e consumo de macro e micronutrientes. Um atleta profissional treina em média 4 h diárias, requerendo alto suporte nutricional, sendo que a atividade física intensa leva à perda adicional de minerais pela sudorese intensa ou hemólise em esportes aeróbicos. Isso leva à prática sistemática da suplementação com preparados polivitamínicos ou complexos com minerais e oligoelementos. Porém, as necessidades nutricionais são individuais, variando em função do tempo e do estado fisiológico em que se encontra o esportista (GARCÍA & NAVARRO, 1991).

Diversos trabalhos têm buscado estabelecer recomendações relativas ao consumo nutricional e estratégias dietéticas que possam otimizar o desempenho e atenuar o impacto negativo do exercício na saúde (ADA *et al.*, 2009; THONG *et al.*, 2000).

Segundo Lima (1995) são necessários ao organismo, aproximadamente 40 nutrientes, como aminoácidos essenciais, vitaminas hidro e lipossolúveis, minerais, ácidos graxos essenciais, compostos energéticos, como carboidratos, além da água. Os micronutrientes consumidos em quantidades abaixo de 1 g dia⁻¹ são as vitaminas e elementos como cálcio, fósforo, potássio, ferro, zinco, flúor, iodo, cobre, cobalto, cromo e selênio. Os macronutrientes são os carboidratos, proteínas e lipídios, e para a síntese protéica, o organismo necessita de nove aminoácidos essenciais: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina e histidina.

A microalga *Spirulina* apresenta, em base seca, de 60 a 75% de proteínas, 5 a 15% de lipídios e 10 a 20% de carboidratos além de conter ácidos graxos insaturados e poli-insaturados como o γ -linolênico, vitaminas como a B₁₂ e pigmentos como ficocianina e β -caroteno (RICHMOND, 1990). Metionina e cistina são os aminoácidos essenciais em menor quantidade na microalga, mas mesmo assim estão presentes em mais de 80% do nível ideal recomendado pela FAO (FALQUET, 1996). Estas

concentrações variam de acordo com as condições de cultivo, podendo-se obter uma microalga com maior concentração do composto de interesse.

Há uma importante relação entre a nutrição e a atividade física, porque a capacidade de rendimento do organismo melhora através de uma nutrição adequada, com a ingestão equilibrada de todos os nutrientes, sejam eles carboidratos, gorduras, proteínas, minerais e vitaminas. Os requerimentos nutricionais de indivíduos fisicamente ativos diferem apenas quantitativamente em relação aos de indivíduos sedentários, por necessitarem de maior ingestão energética. Objetivando melhorar o rendimento físico, os esportistas vêm tornando-se cada vez mais adeptos ao uso de suplementos nutricionais (ARAÚJO & SOARES, 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver alimentos adicionados ou não de *Spirulina* LEB-18 que atendam às necessidades nutricionais de praticantes de atividade física e atletas.

2.2 Objetivos Específicos

Formular seis alimentos para praticantes de atividade física: repositor hidroeletrolítico, potencializador muscular e recuperador muscular, sendo todos formulados com e sem a adição da microalga *Spirulina*;

Definir a formulação final dos produtos desenvolvidos utilizando análises sensoriais;

Analisar quimicamente e microbiologicamente os alimentos desenvolvidos;

Estimar a vida útil dos alimentos formulados.

3 JUSTIFICATIVAS

Nas últimas décadas, os métodos de treinamento avançaram, resultando em atletas mais fortes, resistentes e velozes, o que é observado com as freqüentes quebras de recordes. Os melhores atletas continuam a aprimorar a capacidade física, enquanto que os menos bem colocados nos *rankings* apresentam valores nos testes físicos similares aos de 30 anos atrás. Os atletas precisam de musculatura preparada para suportar as demandas impostas, tanto de resistência física, como de velocidade e força (STOLEN *et al.*, 2005).

Como vários nutrientes fornecem energia e regulam os processos fisiológicos relacionados ao exercício, uma alternativa é estudar a associação das modificações dietéticas ao aprimoramento do desempenho atlético (FERREIRA *et al.*, 2001).

Estudos científicos demonstraram que o desempenho e a saúde de atletas podem ser beneficiadas com a modificação dietética. Os estudos convergem em conclusões que estabelecem que, de modo geral, basta o manejo dietético para a obtenção dos efeitos desejados. A suplementação alimentar deve, portanto, ficar restrita aos casos especiais, nos quais a eventual utilização deve sempre decorrer da prescrição dos profissionais qualificados para tal, que são os nutricionistas e os médicos especialistas (SBME, 2003).

Há vários suplementos direcionados para melhora do desempenho esportivo de praticantes de atividade física, estudos demonstraram que muitos desses são consumidores regulares de suplementos (BAYLIS *et al.*, 2001; SOBAL & MARQUART, 1994).

A adição de compostos com funções ativas importantes para o organismo, como a biomassa de *Spirulina* é um diferencial ao produto, já que apesar da comprovação nutricional essencial ao organismo, atualmente não existe no mercado brasileiro produtos com adição dessa microalga.

A *Spirulina* está legalmente autorizada como alimento ou complemento alimentar na Europa, Japão e Estados Unidos. Em 1981, o FDA (Food and Drug Administration), emitiu o certificado GRAS (Generally Recognized As Safe) deliberando que a microalga *Spirulina* pode ser utilizada como alimento sem apresentar risco à saúde (FOX, 1996). No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2009) reconhece a *Spirulina* como ingrediente que pode ser utilizado nas formulações de alimentos, sendo a recomendação diária de consumo do produto de 1,6 g.

Melhorar o desempenho, prevenir doenças, completar alimentação inadequada, prover mais energia, combater a fadiga, melhorar a aparência física e atender à demanda de nutrientes específicos, devido ao intenso nível de atividade física, são as principais razões para justificar o consumo de suplementos (ABENUTRI, 2010; BAYLIS *et al.*, 2001; APPLGATE, 1999).

As indústrias com o objetivo de conquistarem espaço no mercado altamente competitivo investem constantemente no desenvolvimento de novos produtos (GRACE *et al.*, 2004). O mercado tradicional de lojas de produtos naturais e farmácias se expandiu, incluindo lojas esportivas, pedidos por correio e vendas pela internet. Os suplementos direcionados a praticantes de atividade física e a melhora do desempenho esportivo constituem importante nicho desse mercado (BAYLIS *et al.*, 2001).

Em novembro de 2008, foi firmada uma parceria entre o LEB (Laboratório de Engenharia Bioquímica) e a empresa Ethika, com o objetivo de desenvolver vários alimentos, adicionados ou não de *Spirulina*. A Ethika é uma nova marca de suplementos alimentares da empresa Ouro Fino Agronegócio. A Ouro Fino Agronegócio, localizada em Cravinhos/SP, é 100% brasileira e atua desde 1987 com atividades na produção e na comercialização de produtos farmacêuticos para a saúde animal.

4 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA

Desde 1996 o Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) vem pesquisando o cultivo de microalgas, onde já foram estudados cultivos descontínuos e semicontínuos, em fotobiorreatores abertos e fechados, o efeito de fatores como temperatura, iluminância, aeração, taxa de renovação, concentração de corte em cultivos semi-contínuos, o perfil em ácidos graxos na microalga, fontes de nutrientes alternativos, como a água da Lagoa Mangueira, isolamento de cepas, biofixação de CO₂ e formulação de produtos alimentícios adicionados de biomassa de *Spirulina*, como, biscoitos, achocolatado, macarrão, gelatina, barra de cereal, mistura para bolo, pão, sopa, bebida isotônica, entre outros (ANDRADE & COSTA, 2008; MORAIS *et al.*, 2008; ANDRADE & COSTA, 2007; COLLA *et al.*, 2007a; COLLA *et al.*, 2007b; MORAIS & COSTA, 2007; RADMANN *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2006; REICHERT *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2004; COSTA *et al.*, 2003).

Neste período foram elaboradas e defendidas 15 dissertações de mestrado e 3 teses de doutorado nessa linha. No momento está trabalhando no LEB uma equipe em torno de 30 profissionais das diferentes áreas do conhecimento, incluindo Engenharia de Alimentos, Engenharia Química, Engenharia Bioquímica e Química. Ao longo desses anos o LEB formou parcerias com os setores público e privado. Na atualidade, estão em desenvolvimento projetos que envolvem parcerias e contratos com a Fundação ZERI Brasil, Prefeitura Municipal do Rio Grande, Fundação Banco do Brasil e Braskem na produção de *Spirulina* para uso na merenda escolar, Ethika no desenvolvimento de produtos para atletas, Companhia de Geração Térmica de Energia Elétrica (CGTEE) na biofixação de CO₂ originado na combustão de carvão para a geração de energia elétrica, onde esta em operação uma planta de Biofixação de CO₂ na Usina Termelétrica Presidente Médici, operada pela CGTEE, na cidade de Candiota/RS, além de projetos com CAPES e CNPq.

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 Desenvolvimento de Novos Produtos

A área de desenvolvimento de produtos está sempre em constantes mudanças, devido à redução do tempo disponível para o desenvolvimento, ocasionado pela redução do ciclo de vida de produtos, pelo aumento na demanda de novos produtos e serviços, e pelo aumento na quantidade e diversidade de consumidores (seja pela globalização, aumento da população e aumento de pessoas que mudam de faixas de consumo). Este contexto leva a uma necessidade crescente de aumentar o número de lançamentos de novos produtos e serviços (NETO & JUNIOR, 2003).

Lançar no mercado alimentos diferenciados torna-se um desafio que deve ser amplamente estudado. Lampila & Lahteenmaki (2007) acreditam na aceitação de produtos inovadores que tenham sido desenvolvidos para aumentar benefícios para a saúde.

O desenvolvimento de um produto alimentício é um processo complexo que exige estreita relação entre a administração da empresa, equipe de pesquisa e desenvolvimento (P&D) e os setores de marketing, produção, compras, controle de qualidade e vendas, consumidores e fornecedores, para se obter o sucesso desejado (WILLE *et al.*, 2004).

O desenvolvimento de novos produtos nas economias de mercados dinâmicos é fator essencial para a sobrevivência de todas as empresas. Isso também se aplica para as empresas de alimentos, que com frequência, necessitam desenvolver novos produtos para se manterem a frente da concorrência, cada vez mais acirrada. Os consumidores têm aumentado suas expectativas quanto a novidades em produtos e diminuído sua fidelidade às marcas, tornando o mercado de alimentos muito mais competitivo e diminuindo o ciclo de vida de novos produtos (GRACE *et al.*, 2004).

Em mercados competitivos, não se pode basear decisões sobre novos produtos em suposições. Os custos de uma escolha mal feita são altos, as decisões precisam ser tomadas com base em dados e fatos confiáveis. As técnicas de estudo de mercado podem fornecer esta confiança e encontrar necessidades não atendidas ou mal atendidas pelos produtos existentes. Um produto terá grande probabilidade de sucesso se ele satisfizer com vantagens as necessidades expressas pelo mercado. Para gerar idéias promissoras, é preciso identificar e compreender, as necessidades

específicas do mercado e as necessidades dos consumidores (NETO & JUNIOR, 2003).

5.2 Mercado de Suplementos Alimentares

Suplementos nutricionais, nas suas mais variadas formas, são utilizados no meio esportivo, não só pelos atletas, como também por aqueles que buscam no esporte um meio de garantir a saúde e bem estar. A literatura mostra que os atletas consomem estes produtos em grande quantidade (NIEPER, 2005; SOBAL & MARQUART, 1994).

Estudos envolvendo esportistas de academias mostraram consumo de 24% a 40% de algum suplemento nutricional, em geral, sem nenhuma indicação médica e/ou de nutricionista (SCHNEIDER & MACHADO, 2006; HIRSHBRUCH *et al.*, 2003; ARAÚJO & SOARES, 1999).

Os suplementos mais utilizados são as bebidas energéticas (73%), produtos de reposição de calorias de todos os tipos (61,4%), multivitaminas (47,3%), creatina (37,2%) e vitamina C (32,4%) (FROILAND *et al.*, 2004).

Estudos verificaram preferências de suplemento de acordo com o gênero da população pesquisada. A população masculina geralmente prefere os produtos associados com aumento de massa muscular e as mulheres têm preferência por produtos à base de vitaminas e minerais, ervas e aqueles ligados ao emagrecimento (SCHNEIDER & MACHADO, 2006; FROILAND *et al.*, 2004; MAUGHAN, 2002).

Com os constantes investimentos na área de pesquisa de novos ingredientes e alimentos com propriedades funcionais, os suplementos alimentares estão ganhando mais credibilidade entre os profissionais da área de saúde tanto para auxiliar na terapia quanto como medida preventiva. O mercado global de suplementos nutricionais aumentou de U\$59,8 bilhões em 2007, para U\$78,5 bilhões em 2008, com previsão de atingir U\$ 150 bilhões até final de 2011, um crescimento anual de 20-25% (ABENUTRI, 2010).

Segundo a Associação dos Laboratórios Farmacêuticos Nacionais (ALANAC, 2009), a distância entre o consumo brasileiro e o principal mercado de suplementos alimentares, os EUA é muito grande. Enquanto os EUA fecharam 2007 com movimentação em torno dos US\$ 12 bilhões, o mercado de suplementos no Brasil girou apenas US\$ 500 milhões em igual período.

Barras de proteínas, shakes de proteínas, hipercalóricos, carboidratos, aminoácidos, entre outros produtos são alguns dos suplementos alimentares que vêm ganhando espaço num comércio promissor. No Brasil, os fabricantes de suplementos alimentares mais encontrados em casas especializadas são Athletica, Probiótica, DNA, Integral Médica e Nutrilatina.

A venda de suplementos alimentares é liberada sem prescrição médica, enquanto a de esteróides, anabolizantes, é proibida. Porém o uso de suplementos comprados em lojas deve ser acompanhado por uma equipe composta por médico, fisioterapeuta, nutricionista e profissionais de educação física. A dieta deve ser construída minuciosamente por estes profissionais.

5.3 Legislação sobre Alimentos para Praticantes de Atividade Física

No Brasil, a regulamentação de alimentos e medicamentos é realizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), do Ministério da Saúde, porém a mesma não apresenta definição sobre suplementos. Alguns dos produtos são classificados como alimentos para fins especiais, como para praticantes de atividade física. O termo suplemento seria designado apenas para vitaminas e minerais, isolados ou associados (ANVISA, 1998), desde que não ultrapassem 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR), pois, neste caso, seriam considerados medicamentos, assim como os fitoterápicos, o que gera confusão para a regulamentação dos produtos, assim como uma falta de padronização entre os profissionais que trabalham na área. Deste modo, termos como suplemento nutricional, suplemento alimentar, complemento, complemento nutricional, complemento alimentar ou simplesmente suplemento são empregados para os mais diversos produtos.

A RDC N° 18 (ANVISA, 2010) aprova o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas e objetiva estabelecer a classificação, designação, requisitos de composição e de rotulagem dos alimentos para atletas. Este regulamento se aplica aos alimentos especialmente formulados para auxiliar os atletas a atender suas necessidades nutricionais específicas e auxiliar no desempenho do exercício. Segundo esta RDC os suplementos hidroeletrólíticos para atletas devem atender aos seguintes requisitos:

I - a concentração de sódio no produto pronto para consumo deve estar entre 460 e 1150 mg.L⁻¹, devendo ser utilizados sais inorgânicos para fins alimentícios como fonte de sódio;

II - a osmolalidade do produto pronto para consumo deve ser inferior a 330 mosm.kg⁻¹ água;

III - os carboidratos podem constituir até 8% (m/v) do produto pronto para consumo;

IV - o produto pode ser adicionado de vitaminas e minerais, conforme Regulamento Técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais;

V - o produto pode ser adicionado de potássio em até 700 mg.L⁻¹;

VI - o produto não pode ser adicionado de outros nutrientes e não nutrientes;

VII - o produto não pode ser adicionado de fibras alimentares.

Quanto ao tipo de carboidratos, este produto não pode ser adicionado de amidos e polióis. E o teor de frutose, quando adicionada, não pode ser superior a 3% (m/v) do produto pronto para o consumo.

Os suplementos energéticos para atletas devem atender aos seguintes requisitos:

I - o produto pronto para consumo deve conter, no mínimo, 75% do valor energético total proveniente dos carboidratos;

II - a quantidade de carboidratos deve ser de, no mínimo, 15 g na porção do produto pronto para consumo;

III - este produto pode ser adicionado de vitaminas e minerais, conforme Regulamento Técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais;

IV - este produto pode conter lipídios, proteínas intactas e ou parcialmente hidrolisadas;

V - este produto não pode ser adicionado de fibras alimentares e de não nutrientes.

Os suplementos de creatina para atletas devem atender aos seguintes requisitos:

I - o produto pronto para consumo deve conter de 1,5 a 3 g de creatina na porção;

II - deve ser utilizada na formulação do produto creatina monoidratada com grau de pureza mínima de 99,9%.

III - este produto pode ser adicionado de carboidratos;

IV - este produto não pode ser adicionado de fibras alimentares.

Os produtos previstos podem ser comercializados em diferentes formas de apresentação, como tablete, comprimido, pó, gel, líquido, cápsula, barra, dentre outras, desde que atendam aos requisitos específicos estabelecidos.

5.4 Nutrição x Exercício Físico

A alimentação pode delimitar o desempenho do desportista. Para um planejamento alimentar adequado, diversos fatores devem ser considerados, dentre eles a adequação energética da dieta, a distribuição dos macronutrientes e o fornecimento de quantidades adequadas de vitaminas e minerais. Além disso, a dieta do atleta deve ser estabelecida de acordo com as necessidades individuais, a frequência, a intensidade e a duração do treinamento (ADA *et al.*, 2009).

Sabe-se que o elevado aumento do esforço físico decorrente do exercício diário e a inadequação dietética expõem os praticantes de atividade física a problemas orgânicos. Têm-se registrado casos de anemia, perda mineral óssea e outros distúrbios alimentares, relacionados a atletas de ambos os sexos (HALL & LANE, 2001; SMOLAK *et al.*, 2000).

A nova Pirâmide de alimentos, lançada pelo Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) em 19 de abril de 2005, apresentada na Figura 1, mostra a necessidade de aliar a prática de atividades físicas à alimentação equilibrada contemplando todos os grupos de nutrientes.

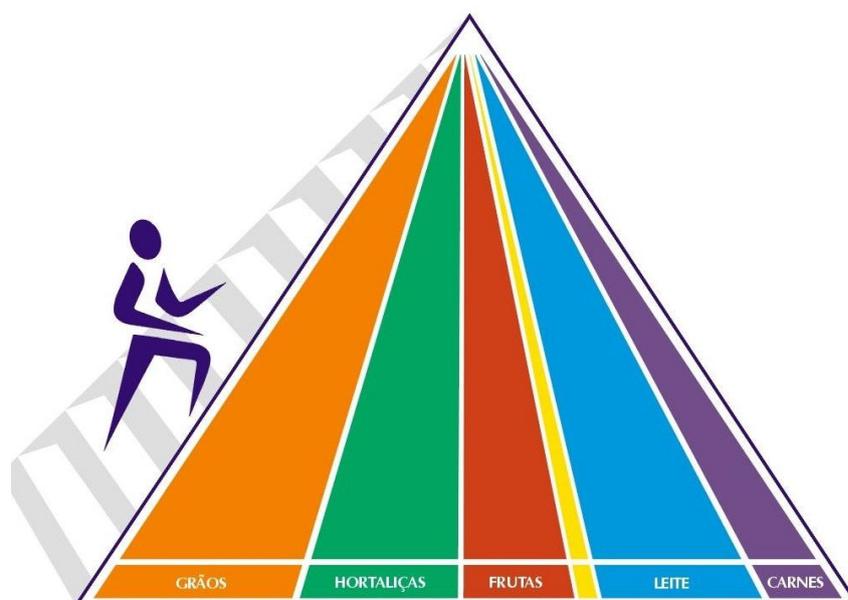


Figura 1 Pirâmide de alimentos segundo USDA

Fonte: USDA (2009)

A alimentação de um praticante de atividade física é diferenciada dos demais indivíduos em função do gasto energético elevado e da necessidade de nutrientes que varia de acordo com o tipo de atividade, da fase de treinamento e do momento de ingestão. A nutrição é, portanto fundamental para bom desempenho em qualquer modalidade esportiva. Para isso, deve ser balanceada e completa, fornecendo os nutrientes necessários ao organismo em quantidades suficientes de acordo com o tipo de atividade realizada, para que possam cumprir as funções de crescimento, reparo e manutenção dos tecidos e, além disso, produzir energia (TIRAPEGUI, 2005).

O consumo adequado de nutrientes é essencial para bom desempenho no esporte. Por essa razão, a dieta de atletas deve ter aporte calórico incrementado para atender ao gasto energético imposto pelo treinamento, e deve ser adequada em termos tanto de quantidade quanto de qualidade, antes, durante e depois de treinamentos e competições (ADA *et al.*, 2009; SCHOKMAM *et al.*, 1999).

A ingestão adequada de carboidratos é importante visto que, os estoques de glicogênio podem ser depletados no decorrer do exercício (SANZ-RICO *et al.*, 1998). Quanto maior a intensidade dos exercícios maior será a participação dos carboidratos como fornecedores de energia.

Carvalho (2003) demonstrou que o exercício prolongado reduz acentuadamente o nível de glicogênio muscular exigindo preocupação com sua reposição. A contribuição dos lipídios também é importante para todo o tempo em que durar o exercício, tendendo a se tornar mais expressiva quando a atividade se prolonga.

As necessidades protéicas dos atletas, em geral, estão sendo bastante discutidas, não só devido ao fato de suas necessidades estarem aumentadas devido ao exercício, mas também em relação aos benefícios da suplementação de aminoácidos no desempenho (ADA *et al.*, 2009).

A suplementação, tanto de vitaminas quanto de minerais, é necessária para assegurar demandas de certos nutrientes por causa dos exercícios extremos, para corrigir alguma inadequação nutricional ou para atender às recomendações (BURKE & READ, 1993).

A hidratação do atleta é muito importante, uma vez que sem a reposição de líquidos, seu rendimento esportivo decresce significativamente. O estresse do exercício é acentuado pela desidratação, que aumenta a temperatura corporal, prejudica as respostas fisiológicas e o desempenho físico e produz riscos para a

saúde. Em determinados casos, o consumo de água não é suficientemente eficaz, fazendo-se necessária a reposição, também, de minerais (CARVALHO, 2003).

5.5 Macronutrientes

5.5.1 Carboidratos

Os carboidratos são compostos químicos formados a partir de carbono, hidrogênio e oxigênio. Existem diversos tipos de carboidratos que variam de acordo com a estrutura química de cada molécula, bem como o número de moléculas que se combinam para formar carboidratos maiores. Os carboidratos que são representados por apenas uma molécula química são chamados de monossacarídeos e entre eles encontram-se a glicose, frutose e galactose. Os dissacarídeos são formados a partir da ligação entre dois monossacarídeos, como maltose, sacarose e lactose. Os polissacarídeos são cadeias maiores, contendo de 10 até 3000 unidades de monossacarídeos. Os representativos são, amido, glicogênio e as fibras (TIRAPEGUI, 2005).

Os carboidratos apresentam função importante no fornecimento de energia ao organismo, por meio do catabolismo da glicose presente na corrente sanguínea e do glicogênio muscular e hepático, estoques corporais de glicose (COYLE, 1992).

A fadiga durante o exercício está freqüentemente associada à depleção dos estoques de glicogênio, e o tempo de exaustão está relacionado às concentrações iniciais de glicogênio muscular antes do exercício (SCHOKMAM *et al.*, 1999; SHEPARD, 1999).

A quantidade de carboidrato na dieta é um importante fator para a reposição dos estoques de glicogênio muscular após treinamentos e competições, especialmente quando o intervalo entre estes é pequeno, não permitindo assim tempo adequado de recuperação entre eles (MAUGHAN, 1997).

O uso do glicogênio muscular como substrato energético é diretamente proporcional à duração e à intensidade do exercício. (SANZ-RICO *et al.*, 1998). É necessário que o carboidrato seja ingerido antes que ocorra a fadiga para que possa assegurar sua disponibilidade nos momentos finais do exercício, quando as concentrações de glicogênio muscular e a glicose sanguínea estão menores. A ingestão diária de carboidrato é importante, pois os estoques de carboidratos no organismo são limitantes e, além disso, sua disponibilidade como substrato energético durante o exercício é fator que pode limitar o desempenho (BURKE *et al.*, 2004).

Na fase inicial do exercício, a captação pelos músculos da glicose sanguínea circulante aumenta e continua aumentando à medida que o exercício progride. Após 40 min. de exercício, o consumo de glicose aumenta de 7 a 20 vezes em relação à captação em repouso, dependendo da intensidade do exercício. A grande contribuição de energia por parte dos carboidratos durante o exercício explosivo ocorre, porque este é o único macronutriente que proporciona energia pela via anaeróbica. Durante o exercício aeróbico de alta intensidade, o glicogênio intramuscular passa a constituir o combustível energético preferencial. Isso proporciona uma vantagem, porque o carboidrato fornece a energia para o exercício duas vezes mais rapidamente que os lipídios e proteínas (MCARDLE *et al.*, 2002).

A administração de carboidratos, tanto sólido quanto líquido, 5 min antes de exercícios intermitentes aumenta a concentração de glicose sanguínea e o tempo de exaustão (SHEPARD, 1999). Estudos demonstram que a ingestão de uma solução de carboidrato durante testes que simulam uma partida de futebol, melhora o desempenho de jogadores durante o mesmo (OSTIJIC & MAZIC, 2002; MCGREGOR *et al.*, 1999).

A resíntese de glicogênio muscular em sua primeira fase é sensível ao fornecimento de carboidrato e é de extrema relevância que, para uma adequada reposição destes estoques, haja o imediato consumo de alimentos ricos em carboidrato. Quando há inadequada ingestão de carboidrato, a taxa de resíntese de glicogênio muscular é mais lenta. O consumo recomendado de carboidrato para uma melhor resíntese dos estoques de glicogênio muscular em 24 h é de 7 a 10 g kg⁻¹ de peso corporal dia⁻¹ (BURKE *et al.*, 2004).

5.5.2 Proteínas

As proteínas são componentes essenciais a todas as células vivas e estão relacionadas, praticamente, a todas as funções fisiológicas. Elas são utilizadas na regeneração de tecidos, funcionam como catalisadores nas reações químicas que se dão no organismo, são necessárias nas reações imunológicas e, juntamente com os ácidos nucleicos, são indispensáveis ao crescimento e reprodução. Quimicamente são polímeros de alto peso molecular, cujas unidades básicas são os aminoácidos. As proteínas, apesar de sua diversidade de funções, são sintetizadas a partir de apenas 20 aminoácidos (BOBBIO & BOBBIO, 1992).

As necessidades protéicas de um praticante de atividade física são maiores do que as de um indivíduo sedentário, devido a lesões induzidas pelo exercício nas fibras musculares, uso de pequena quantidade de proteína como fonte de energia durante a atividade e ganho de massa magra (ADA *et al.*, 2009).

A atividade física eleva as necessidades de ingestão protéica a fim de manter o balanço nitrogenado, ou balanço positivo em fases de treinamento hipertrófico, quando há efetivo anabolismo de proteínas musculares (TIPTON & WOLFE, 2003).

Segundo Lemon (2000), a recomendação protéica aumenta em até 100% para pessoas fisicamente ativas e, esta recomendação é influenciada por fatores como ingestão energética, disponibilidade de carboidrato, intensidade, duração e tipo de exercício realizado, qualidade da proteína ingerida, sexo e idade.

Os aminoácidos servem como fonte auxiliar de nutrientes durante o exercício prolongado de intensidade moderada. Diminuição na síntese protéica e/ou aumento na degradação protéica com exercício fornece aminoácidos para a oxidação, que é inversamente proporcional à disponibilidade de glicogênio (LEMON, 1994).

Como resultado do aumento da oxidação de aminoácidos, estes são irreversivelmente perdidos. Se estes aminoácidos não forem repostos através da dieta, o processo normal de síntese protéica é prejudicado, o que resultaria em redução das proteínas corporais. Isto pode levar a perda crônica da força muscular, que é importante no desempenho do praticante de atividade física (LEMON, 1994). A oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada ocorre principalmente quando o glicogênio muscular está depletado (SANZ-RICO *et al.*, 1998).

Outro fato importante, é que, com o aumento da idade, há redução da síntese de proteína muscular esquelética, promovendo redução da força muscular, perda de massa muscular, diminuição da qualidade e da quantidade da proteína contrátil, aumentando o risco de fraturas e desordens físicas. No entanto, a suplementação com aminoácidos pode melhorar o equilíbrio da proteína muscular, associado a exercícios de resistência (PARISE & YARASHESKI, 2000).

5.5.3 Lipídios

Os lipídios constituem uma classe de compostos com estrutura bastante variada, em geral são solúveis em solventes orgânicos e apresentam baixa solubilidade em água. Os lipídios exercem diversas funções biológicas, como

constituintes de membranas, isolantes térmicos e reservas de energia (TIRAPEGUI, 2005).

As três principais classes de lipídios são: lipídios simples, lipídios compostos e lipídios derivados. Os lipídios simples consistem, sobretudo, de triacilgliceróis (TG), que representam a principal forma de armazenamento de gordura no organismo. Os lipídios compostos são constituídos por um lipídio neutro combinado a outras substâncias químicas, como exemplo pode-se citar os glicolipídios, os esfingolipídios, os fosfoglicerídeos e as lipoproteínas. Os lipídios derivados incluem substâncias derivadas dos lipídios simples e compostos, o colesterol é o mais amplamente conhecido (TIRAPEGUI, 2005).

Juntamente com o carboidrato, os lipídios são a principal fonte de energia durante o exercício. O objetivo da utilização de lipídios durante o exercício é poupar o uso do glicogênio muscular (BURKE *et al.*, 2004).

O consumo de elevadas concentrações de lipídios na dieta é um problema muito comum nas dietas de praticantes de atividade física, tornando mais difícil o consumo das quantidades preconizadas de carboidrato. Entretanto, uma redução severa no consumo de lipídios não é aconselhável, pois este nutriente não só participa do metabolismo da produção de energia, como também do transporte de vitaminas lipossolúveis, e são componentes das membranas celulares (ADA *et al.*, 2009).

A utilização dos estoques corporais de carboidratos e/ou lipídios está relacionada à intensidade e à duração da atividade física. Durante o exercício prolongado, há aumento na contribuição dos lipídios para o metabolismo muscular. A produção de energia a partir dos lipídios é obtida pela hidrólise dos TG que liberam três moléculas de ácidos graxos, que são oxidadas nas mitocôndrias do músculo esquelético (TIRAPEGUI, 2005).

A contribuição dos lipídios para as demandas energéticas do exercício depende da liberação de ácidos graxos pelos triacilgliceróis nos locais de armazenamento da gordura e de seu transporte na circulação para o tecido muscular na forma de ácidos graxos livres ligados a albumina sanguínea. Os triacilgliceróis armazenados na própria célula muscular também contribuem para o metabolismo energético do exercício. A captação dos ácidos graxos pelos músculos ativos aumenta no espaço de 1 a 4 h de exercício moderado. Na primeira hora do exercício, cerca de 50% da energia provém do catabolismo das gorduras. À medida que o exercício prossegue e atinge a terceira hora (com depleção concomitante de

glicogênio), os lipídios passam a contribuir com até 70% da demanda energética total do exercício (MCARDLE *et al.*, 2002).

5.6 Micronutrientes

5.6.1 Vitaminas

As vitaminas funcionam como elos e regulam a sequência de reações metabólicas que liberam energia dentro das moléculas alimentares. Desempenham também importante papel na síntese dos tecidos e em muitos outros processos biológicos (MCARDLE *et al.*, 2002).

São classificadas em lipossolúveis, que são as vitaminas insolúveis em água e solúveis nos lipídios, A, D, E e K; e as hidrossolúveis, que são as vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, biotina, ácido fólico, cianocobalamina) e vitamina C (TIRAPEGUI, 2005).

As vitaminas do complexo B regulam o metabolismo energético, modulando a síntese e degradação de proteínas, carboidratos, gordura, e compostos bioativos. As vitaminas A, D, E e K são armazenadas no tecido adiposo em quantidade substancial. Estas vitaminas lipossolúveis não têm papel direto no metabolismo energético, elas apresentam funções de suporte na utilização de energia (LUKASKI, 2004).

A vitamina C apresenta funções fisiológicas que podem influenciar na atividade física, como antioxidante, reparação e colágeno, que facilitam a recuperação do treinamento intenso, melhorando o desempenho (LUKASKI, 2004).

A deficiência da vitamina E aumenta o estresse oxidativo no músculo esquelético, altera as fibras musculares e pode causar degradações de nutrientes e processos inflamatórios no organismo. Assim, pode-se supor que a vitamina E é um nutriente fundamental no apoio ao desempenho físico (LUKASKI, 2004).

5.6.2 Minerais

Aproximadamente 4% da massa corporal é composta por minerais. Estes funcionam como componentes de enzimas, hormônios e vitaminas; combinam-se com outras substâncias químicas (ex. fosfato de cálcio no osso) ou existem isoladamente (ex. cálcio livre nos líquidos corporais) (MCARDLE *et al.*, 2002).

Os minerais, sódio, potássio e cloro são denominados eletrólitos, já que estão dissolvidos no organismo como íons. A principal função dos eletrólitos é controlar o intercâmbio de fluidos dentro dos vários receptáculos de líquidos do corpo. Isto

permite o equilíbrio das trocas de nutrientes e de excreção entre as células e o meio externo. O sódio e o cloro são os principais minerais do plasma sanguíneo, enquanto o potássio é o mineral predominante no meio intracelular. Os eletrólitos minerais também são importantes para a manutenção da permeabilidade das membranas celulares e da qualidade ácido/básica dos fluidos orgânicos, especialmente a do sangue (MCARDLE *et al.*, 2002).

O zinco desenvolve várias funções no organismo, explicadas em parte pelo papel catalítico e/ou estrutural em mais de 200 enzimas e pela sua ação na estabilização de domínios de proteínas que interagem com DNA ou de proteínas com papel estrutural ou de sinalização (KING *et al.*, 2000).

O zinco é essencial para a integridade e funcionalidade das membranas celulares. A sua concentração na membrana das células pode ser bastante elevada dependendo do tipo celular e é influenciada pelo estado nutricional em zinco do organismo. Atletas geralmente apresentam ingestão desse mineral insuficiente para compensar as perdas aumentadas pelo suor e urina e para atender a demanda bioquímica (KOURY & DONANGELO, 2003).

O magnésio é necessário em uma grande variedade de atividades celulares que dão suporte a diversas funções fisiológicas. O magnésio é envolvido em mais de 300 reações enzimáticas em que o alimento é metabolizado e novos produtos são formados. Algumas dessas atividades incluem a glicólise, metabolismo de gordura e proteína, a hidrólise de adenosina trifosfato. O magnésio também serve como um regulador fisiológico da estabilidade da membrana e neuromuscular, cardiovascular, imunológico e funções hormonais. Assim, o magnésio pode ser considerado um elemento potencial limitante para o organismo humano (LUKASKI, 2004).

5.7 Hidratação do Praticante de Atividade Física

A água é o principal constituinte do corpo humano, em peso e volume. O volume hídrico corporal é dependente da composição corporal do indivíduo, sexo, idade, estado de treinamento e conteúdo muscular de glicogênio, entre outros fatores. Essa diferença é, em parte, determinada pela quantidade de água presente em cada tecido corporal (GREENLEAF, 1992).

Quando a temperatura e a umidade estão altas, a capacidade de desempenhar exercícios prolongados é reduzida. Nessa situação, problemas com termorregulação e desidratação, mais que a depleção dos estoques de energia,

podem causar a fadiga. O volume de suor gerado neste caso pode resultar em grande perda de água corporal associada à perda de eletrólitos (MAUGHAN, 1992).

Através da sudorese o sódio é perdido, com isso em algumas situações justifica-se a sua ingestão durante o exercício. A concentração de sódio no suor varia individualmente, de acordo com vários fatores, como a idade, o grau de condicionamento e a aclimatização ao calor. A inclusão de sódio nas bebidas reidratantes promove maior absorção de água e carboidratos pelo intestino durante e após o exercício (CARVALHO, 2003).

A hidratação é um fator importante que deve ser considerado antes, durante e depois do exercício (GALLOWAY, 1999). Líquidos que contêm carboidratos são mais eficientes na melhoria do desempenho durante a atividade (MAUGHAN & LEIPER, 1999).

A água pode ser uma boa opção de rehidratação para o exercício por ser facilmente disponível e ocasionar um esvaziamento gástrico relativamente rápido. Entretanto, para as atividades prolongadas, de mais de uma hora de duração, ou para as atividades de elevada intensidade, apresenta as desvantagens de não conter sódio e carboidratos, favorecendo a desidratação voluntária e dificultando o processo de equilíbrio hidroeletrólítico (CARVALHO, 2003).

A ingestão de isotônico antes do exercício apresenta algumas vantagens em relação à água. Sendo que a hidratação com carboidratos apresenta vantagens, como: manutenção da glicemia sanguínea, diminuição na possibilidade de hipoglicemia, aumento no tempo de exercício, menor índice de percepção do esforço, absorção intestinal mais rápida e níveis de glicemia ideais durante o exercício (NASSIS *et al.*, 1998).

A hidratação pós-exercício é responsável pela manutenção de fluídos e eletrólitos e pelo armazenamento de glicogênio muscular e hepático. Os principais objetivos da rehidratação pós-exercício incluem a reposição das perdas de água, de eletrólitos e de carboidratos (MEYER & PERRONE, 2004).

5.8 Principais Matérias Primas Utilizadas nos Alimentos Destinados a Praticantes de Atividade Física

5.8.1 Proteínas do soro de leite

As proteínas do soro de leite (PSL) ou *whey protein* são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas

sangüíneas e teciduais a tal ponto que os pesquisadores Dangin *et al.* (2001) e Boirie *et al.* (1997) classificaram essas proteínas como proteínas de metabolização rápida, adequadas para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial.

A utilização dessas proteínas nas formas de concentrados e isolados protéicos evidenciam propriedades muito favoráveis à saúde no sentido de diminuir o risco de doenças infecciosas e também as consideradas crônicas e/ou degenerativas. As PSL auxiliam no estímulo ao sistema imunológico, na proteção contra vários tipos de câncer, contra problemas cardiovasculares e também nos benefícios de seu uso como suplemento alimentar para atletas e esportistas em geral (SGARBIERI, 2004).

Existem diferentes vias pelas quais as proteínas do soro favorecem a hipertrofia muscular e o ganho de força, otimizando o treinamento e o desempenho físico. A quantidade e o tipo de proteína ou de aminoácido, fornecidos após o exercício, influenciam a síntese protéica (WOLFE, 2000).

Além de aumentar as concentrações plasmáticas de aminoácidos, a ingestão de soluções contendo as proteínas do soro aumenta, significativamente, a concentração de insulina plasmática (CALBET *et al.*, 2002), o que favorece a captação de aminoácidos para o interior da célula muscular, otimizando a síntese e reduzindo o catabolismo protéico.

Tipton e Wolfe (2003) em experimento com humanos sedentários e saudáveis, verificaram maior captação muscular de aminoácidos no pós exercício, quando os voluntários ingeriram PSL (20 g) comparado à ingestão de caseínas (20 g).

Além das propriedades nutricionais, as PSL são conhecidas pela versatilidade de suas propriedades funcionais tecnológicas como ingredientes em produtos alimentícios, principalmente pela elevada solubilidade e propriedades emulsificantes (CAPITANI *et al.*, 2005). A solubilidade é uma das características mais importantes de uma proteína, pois esta tem a capacidade de afetar de maneira favorável ou desfavorável sua funcionalidade, afetando suas propriedades gelatinizantes, espumantes e emulsificantes. Em geral, as proteínas são mais solúveis em pH baixo ou elevado por causa do excesso de cargas de mesmo sinal, produzindo repulsão entre as moléculas e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior solubilidade (PELEGRINE & GASPARETTO, 2003).

5.8.2 Triacilgliceróis de cadeia média (TCM)

Os triacilgliceróis de cadeia média (TCM) são constituídos por ácidos graxos que possuem de 6 a 12 átomos de carbono na sua cadeia. Sua digestão ocorre rapidamente, quebrando-se em glicerol e três moléculas de ácido graxo de cadeia média (AGCM) no intestino delgado (BACH *et al.*, 1982).

Os ácidos graxos (AG) que compõem os TCM são: ácidos caprílico (C8:0; 50-80%), cáprico (C10:0; 20-50%) e com uma proporção menor dos ácidos caprílico (C6:0; 1-2%) e láurico (C12:0; 1-2%). Os TCM constituem a principal forma de lipídios presente na dieta humana (JEUKENDRUP *et al.*, 1998).

A ingestão de TCM tem sido utilizada como um meio possível de melhorar o desempenho em exercícios prolongados, obtendo grande quantidade de lipídios, poupando o glicogênio muscular e hepático (TIRAPEGUI, 2005).

O TCM apresenta esvaziamento gástrico mais rápido do que as bebidas isocalóricas de carboidratos (TIRAPEGUI, 2005). Além disso, os TCM apresentam oxidação acelerada durante o repouso e o exercício, em contraste com os triacilgliceróis de cadeia longa (TCL) (METGES *et al.*, 1991).

5.8.3 Creatina

A creatina, ou ácido acético metilguanidina, consiste em uma amina nitrogenada encontrada naturalmente nos alimentos. Não é considerada um composto essencial, pois pode ser sintetizada pelo organismo, mais especificamente no fígado, nos rins e no pâncreas, e tem como precursores três aminoácidos distintos: arginina, glicina e metionina. Além da síntese de creatina no organismo, a alimentação fornece cerca de 1 g de creatina dia⁻¹, principalmente através de produtos de origem animal, como carnes bovinas e peixes (TIRAPEGUI, 2005).

Seus benefícios para o desempenho durante o exercício físico estão associados à elevação da energia intracelular, redução do acúmulo de fosfato inorgânico e elevação do pH (KUROSAWA *et al.*, 2003; WYSS *et al.*, 2000).

O aumento da massa muscular e da força são essenciais para o desempenho na maioria dos exercícios de potência. Estudos mostram que a suplementação de creatina pode aumentar o peso corporal e a força em praticantes de atividade física (MENDES & TIRAPEGUI, 2002; DEMANT & RHODES, 1999).

McClung *et al.* (2003) mostraram que a interação do consumo de creatina com o exercício físico aumentou a síntese protéica do músculo cardíaco de ratos, mas não

aumentou a proteína corporal total. Estudo realizado por Ziegenfuss *et al.* (2002) demonstrou que ciclistas que pedalarão em alta intensidade e curta duração e consumiram creatina ($0,350 \text{ g.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$) tiveram o peso corporal e o volume muscular aumentados, mas os mecanismos não foram explicitados.

Várias estratégias de suplementação têm sido utilizadas para aumentar a quantidade total de creatina, principalmente fosfocreatina no músculo. A dose mais comumente utilizada, a qual é chamada dose de carga, corresponde a um total de 20 a 30 g de creatina por dia. Normalmente, estas doses diárias são divididas em quatro a seis doses de 5 g, uma vez que doses mais elevadas podem provocar náuseas, fraqueza e diarreia (SAHELIAN e TUTTLE, 2002).

No entanto, Hultman *et al.* (1996) recomendaram uma dose de 20 g de creatina por dia durante cinco a seis dias, seguidos de uma manutenção de 2 g de creatina por dia durante 30 dias. Após essa dieta, eles recomendaram intervalo de três meses, antes de se iniciar uma nova dose de carga. Além desse protocolo de suplementação, esses mesmos autores empregaram outro protocolo mais lento, com suplementação de 3 g de creatina por dia durante 28 dias. Tanto a rápida suplementação quanto a mais lenta levaram a resultados similares: aumento em torno de 20% da quantidade total de creatina muscular.

Nas primeiras pesquisas envolvendo a suplementação de creatina, utilizava-se tal composto extraído de carne animal. Porém, o processo de extração apresentava-se extremamente oneroso, o que levou os pesquisadores a buscar uma nova forma de obter a creatina: a síntese química. O monidrato de creatina é a forma mais comum disponível no mercado. Outras formas menos difundidas são vendidas em pequenas quantidades, como creatina fosfato e o citrato de creatina. Os estados físicos dos produtos disponíveis são os mais variados possíveis, pode-se encontrar creatina na forma de pó, gel, líquido, barras e goma de mascar (TIRAPEGUI, 2005).

5.8.4 Maltodextrina

A maltodextrina é formada a partir da hidrólise do amido de milho por ação de ácidos e/ou enzimas. A hidrólise é controlada até adquirir o ponto final desejado e é descrito em termos de dextrose equivalente (DE), uma medida quantitativa do grau de hidrólise do polímero do amido. Mede o poder de redução comparado ao padrão dextrose de 100. Quanto mais elevado o DE, maior a extensão da hidrólise do amido.

O DE da maltodextrina é de 19 ou menos; 20 ou mais o amido hidrolisado é classificado como xarope de milho (BERRY, 2005).

A maltodextrina é uma mistura de sacarídeos nutritivos (simples e complexos), não doces, formados somente por unidades de D-glicose unidas. Possui capacidade de reproduzir a sensação provocada pela gordura devido à rede tridimensional que é formada, durante o seu processo de gelificação (LORET *et al.*, 2004).

A maltodextrina é utilizada em bebidas energéticas com alto conteúdo de carboidratos e em bebidas esportivas com alto conteúdo de proteínas. Este ingrediente melhora a dispersão de proteína no mix em pó e fornece carboidrato na bebida com baixa doçura. Estão sendo desenvolvidas maltodextrinas que também adicionam alguma doçura e maior claridade nas bebidas esportivas; estes ingredientes possuem níveis variáveis de viscosidade na solução (BERRY, 2005).

5.8.5 Sacarose e Dextrose

A sacarose é produzida a partir de cana-de-açúcar (20% de sacarose) ou beterraba (17% de sacarose). Cerca de 40% da sacarose é derivada da beterraba e 60% da cana. A sacarose apresenta rápida percepção da doçura, sendo que o gosto doce é percebido em um ou dois segundos e persiste por aproximadamente 30 segundos. Os produtos elaborados com sacarose destacam-se em termos de aparência (cor, brilho), textura, sabor e estabilidade. Além de conferir gosto doce, a sacarose atua como substrato nas reações de escurecimento não enzimático, intensificando o sabor e a cor dos alimentos. Como agente de corpo, a sacarose aumenta a viscosidade dos alimentos e a densidade do meio, conferindo textura e estabilidade aos produtos dos quais participa. Como conservante, a sacarose atua diminuindo a atividade de água e conseqüentemente inibindo o crescimento de micro-organismos (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

A dextrose está naturalmente presente em muitos frutos e no mel. É a unidade constitucional de importantes polissacarídeos como amido, celulose e glicogênio. A solubilidade da dextrose em água é de 0,9 g mL⁻¹ a 25°C, a qual é aumentada quando dextrose é associada à sacarose. É utilizada como ingrediente na indústria farmacêutica e alimentícia, principalmente na fabricação de pães, bebidas, bebidas para atletas, conservas, geléias e confeitos. No organismo é absorvida pelo intestino delgado diretamente para o sangue, é a fonte energética única do cérebro e principal dos organismos vivos. Está ligada aos processos metabólicos, fornecendo energia

para trabalho muscular e manutenção do metabolismo local, sintetizando glicogênio no fígado e músculos e atuando como matéria-prima na síntese de outros constituintes do organismo como proteínas e gorduras (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

5.8.6 Goma Guar

As gomas são formadas por um grupo de polissacarídeos solúveis em água, de origem vegetal, animal ou microbiológica. Dentre elas a goma guar é extraída do endosperma da semente de *Cyamopsis tetragonolobus*. Não forma gel, é compatível com outras gomas, amidos, hidrocolóides e agentes gelificantes (naturais e sintéticos). Interage sinergisticamente com a goma xantana resultando em aumento na viscosidade da solução. Esta goma produz soluções viscosas com comportamento pseudoplástico em baixas concentrações e é usada em aplicações nas quais é necessário espessamento, estabilização, controle reológico e de viscosidade, suspensão e formação de corpo, modificação de textura, consistência e retenção de água (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

5.8.7 Edulcorantes

Os edulcorantes são utilizados no desenvolvimento de produtos com reduzido teor ou ausência de açúcar. São substâncias diferentes dos açúcares que conferem sabor doce ao alimento (ANVISA, 1997).

Os edulcorantes compreendem o grupo de substâncias utilizadas em substituição à sacarose, que compartilham a propriedade de interagir com receptores gustativos e produzir a sensação percebida e denominada de doce. O edulcorante deve apresentar perfil de sabor e propriedades funcionais semelhantes às da sacarose (MONTIJANO *et al.*, 1998).

Os adoçantes não-nutritivos oferecem insignificante ou nenhuma energia e, como adoçam em pequenos volumes, eles também podem ser chamados de adoçantes intensos. Os edulcorantes intensos proporcionam aos alimentos um gosto similar ao da sacarose, sendo muitas vezes mais doce do que ela. A maioria é isenta de caloria, e aqueles que contêm, são utilizados em pequenas quantidades por causa de sua propriedade edulcorante intensa. São eles o acesulfame-K, aspartame, sacarina e a sucralose (SAVITA *et al.*, 2004).

A sucralose apresenta poder edulcorante 600 vezes maior do que a sacarose a 5% de concentração. A doçura é de percepção rápida, persistindo por um período

ligeiramente maior do que a sacarose. Não possui residual amargo ou metálico. Mostra alta solubilidade em água e alta estabilidade térmica, em meio aquoso e ácido e ao armazenamento (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

Assim como a sacarose, a sucralose em solução é hidrolisada a unidades monossacarídicas, todavia, ocorre muito lentamente e somente em condições extremas de acidez, temperatura e tempo. É um edulcorante muito versátil, podendo ser utilizado em bebidas carbonatadas, bebidas em pó, prontas para beber, geléias, frutas em conserva, pudim instantâneo, gomas de mascar, molhos para saladas, balas, adoçante de mesa, entre outros (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

O acessulfame K é um sal de potássio sintético derivado do ácido acetoacético, isento de calorias, e cerca de 180 a 200 vezes mais doce que soluções de sacarose a 4 e 3% , respectivamente. A doçura do acessulfame é rapidamente perceptível, com decréscimo lento, mas não persistente. O perfil de doçura é semelhante ao da dextrose. Em soluções aquosas altamente concentradas alguns indivíduos são capazes de perceber gosto amargo ou químico sintético, mas tais concentrações não são normalmente utilizadas na formulação de alimentos (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

O acessulfame K mostra excelente estabilidade nas seguintes condições, na forma seca, a armazenamento prolongado, às alterações no processamento especialmente a temperaturas elevadas e pH baixo, em contato com outros ingredientes ou constituintes dos alimentos e à contaminação microbiológica. A estabilidade em solução depende do pH e da temperatura. É altamente estável em solução na faixa de pH de alimentos e bebidas (variável de pH 3 ao neutro). Em pH abaixo de 3 e acima de 9, a hidrólise é mais rápida, sendo influenciada pela temperatura. A substância não é metabolizada, sendo excretada integralmente pela urina (CÂNDIDO & CAMPOS, 1995).

5.9 Microalga *Spirulina*

A microalga *Spirulina* (Figura 2) é uma cianobactéria filamentosa, que forma tricomas cilíndricos multicelulares, com 1 a 12 μm de diâmetro, e se dispõem na forma espiralada, com até 1 mm de comprimento. Através da fotossíntese a *Spirulina* converte os nutrientes do meio em material celular, liberando oxigênio (TOMASELLI, 1997).

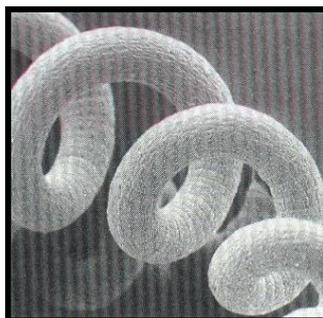


Figura 2 Fotomicroscopia da *Spirulina platensis* sob aumento de 5000 vezes.

Fonte: Fox, 1996.

O conteúdo protéico na *Spirulina* varia entre 64 e 74% de seu peso seco (Vonshak, 1997). As proteínas da *Spirulina* contêm todos aminoácidos essenciais (isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano e valina) que representam 47% do peso total das proteínas (DILLON *et al.*, 1995).

A *Spirulina*, por ter envoltório celular mais parecido com uma bactéria do que com uma alga, suas paredes celulares são mais digeríveis do que outras, uma vez que são constituídas por mucopolissacarídeos e não por celulose, sendo uma vantagem do ponto de vista de preservação da integridade de componentes como vitaminas e ácidos graxos poliinsaturados, uma vez que dispensa o uso de calor para disponibilizar os nutrientes (TOMASELLI, 1997).

As vitaminas que podem estar presentes na *Spirulina* são a biotina, o ácido fólico, o inositol, as vitaminas B12, B6, B3, B2, B1 e E, além do ácido pantotênico. A quantidade de vitamina E presente é de aproximadamente 190 mg.Kg⁻¹ de *Spirulina* (RICHMOND, 1990).

Os minerais presentes em maior quantidade na *Spirulina* são cálcio, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio e zinco. E possui também, alto conteúdo de pigmentos e de outros micronutrientes indispensáveis (BRANGER *et al.*, 2003).

O β -caroteno representa cerca de 80% dos carotenóides presentes na *Spirulina*. Também apresenta em sua composição de 50 a 190 mg.Kg⁻¹, em base seca, de tocoferóis, que podem ser responsáveis pela estabilidade dos ácidos graxos na biomassa desidratada, devido ao seu poder antioxidante (COHEN, 1997; FOX, 1996).

Vários estudos têm sido realizados evidenciando os efeitos terapêuticos desta microalga, que incluem sua utilização na redução da hipercolesterolemia (COLLA, 2007b), atividade antioxidante (MIRANDA *et al.*, 1998) e prevenção de certos tipos de cânceres (HIRAHASHI *et al.*, 2002).

5.10 Análise Sensorial

A Análise Sensorial é usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993).

A qualidade de um produto é considerada pela maioria dos consumidores como a qualidade sensorial, que são os atributos percebidos pelos sentidos. Essa qualidade sensorial está intrínseca às conformidades do produto e suas especificações (QUEIROZ & TREPTOW, 2006).

Na interação com o controle de qualidade, a análise sensorial torna-se insubstituível no desenvolvimento de especificações, quando não é possível utilizar medidas físicas e químicas, para definir propriedades subjetivas e que são fundamentais para a aceitação e preferência do consumidor. Nesse sentido, a análise sensorial torna-se indispensável na indústria de alimentos, no desenvolvimento de novos produtos, modificação de produtos já existentes, otimização de processos, redução de custos, vida útil do produto e pesquisa de mercado (QUEIROZ & TREPTOW, 2006).

Diferentes tipos de testes sensoriais podem ser efetuados de acordo com a informação que se deseja obter. Se o objetivo é pesquisar o grau de aceitação ou a preferência de um produto em relação a outro, testes afetivos devem ser conduzidos com a população consumidora do produto (STONE & SIDEL, 1993).

5.10.1 Testes Afetivos

Os testes afetivos, também chamados de testes de consumidor, são uma importante ferramenta, pois acessam diretamente a opinião (preferência e/ou aceitação) do consumidor potencial de um produto, sobre suas características específicas (MEILGAARD *et al.*, 1999).

A preferência e aceitação são conceitos distintos. A preferência é a expressão do mais alto grau de gostar. A aceitação é a experiência caracterizada por uma atitude positiva. É o fato de um determinado indivíduo ou população ser favorável ao consumo de um produto. A aceitação varia com o poder aquisitivo e com o grau de cultura do consumidor. No entanto, na preferência outros fatores são atuantes, como a qualidade propriamente dita do alimento e hábitos do consumidor (QUEIROZ & TREPTOW, 2006).

A expectativa gerada por um produto influi na aceitabilidade e intenção de compra. Um produto gera dois tipos de expectativas, sensorial e hedônica. Uma expectativa sensorial se caracteriza pela convicção que tem o consumidor de que o produto apresenta determinadas características sensoriais que podem influenciar sua opinião ao consumir o alimento. Na expectativa hedônica estão intrinsecamente ligados os conceitos de satisfação e insatisfação, que podem ser medidos, como a diferença entre o esperado e o percebido consumidor (QUEIROZ & TREPTOW, 2006).

As informações são obtidas por meio de fichas de tomada de dados previamente elaboradas de maneira que seja possível a aplicação de uma avaliação estatística, normalmente expressa com uma linha horizontal ou vertical, ao longo da qual termos hedônicos descritivos são distribuídos (QUEIROZ & TREPTOW, 2006).

A técnica em análise não requer qualquer treinamento, uma vez que expressa a opinião individual do consumidor, o principal critério a ser aplicado é a necessidade dos julgadores fazerem parte do grupo da população que consome a classe do produto de interesse (FARIAS & YOTSUYANAGI, 2002).

Em geral, os testes afetivos são aplicados frente a quatro objetivos principais: verificação do posicionamento do produto no mercado, otimização da formulação do produto, desenvolvimento de novos produtos e avaliação do potencial do mercado (MEILGAARD *et al.*, 1999).

Na área de desenvolvimento de produtos, os testes afetivos têm importante aplicação dada à globalização do mercado de alimentos. Torna-se cada vez mais necessário obter informações sobre os públicos alvos de produtos que são lançados em diversos países ou diversas regiões de um determinado país. Tratar consumidores de diferentes nações ou culturas como se formassem um grupo homogêneo pode ser muito prejudicial para a imagem do novo produto, tanto do ponto de vista sensorial como de mercado (ORTH *et al.*, 2007).

5.11 Estudo Vida Útil

O critério utilizado para a determinação do fim da vida útil de um produto é estabelecido a partir de requerimentos legais, critérios sensoriais, requerimentos de mercado e distribuição, e custos. Do ponto de vista da indústria de alimentos, a vida útil está baseada na extensão da perda de qualidade de um produto antes de ser

consumido. Para o consumidor, o final da vida útil de um produto é o período de tempo em que este deixa de ser aceito (FU & LABUZA, 1993).

A determinação da vida útil de um alimento é um importante objeto de pesquisa, não apenas para as indústrias produtoras, como também para os órgãos governamentais e para os consumidores. A perda prematura da qualidade de um produto pode levar à perda da credibilidade por parte do consumidor e ao menor lucro por parte da indústria. Testes de determinação de vida útil também possibilitam à empresa minimizar custos em formulações e acondicionamento de produtos (FU & LABUZA, 1993).

Medidas objetivas para se determinar o fim da vida útil de um produto, geralmente envolvem parâmetros estreitamente relacionados com a segurança microbiológica e nutricional do produto. Tais parâmetros são ditados às indústrias de alimentos por regulamentações do governo. No entanto, órgãos fiscalizadores não monitoram as alterações sensoriais nos produtos alimentícios, a não ser que tais alterações tornem o alimento inapropriado para venda por conta do surgimento de odores e sabores desagradáveis ou toxicidade potencial (LABUZA & SCHMIDL, 1988).

Do ponto de vista sensorial, o fim da vida útil de um produto é efetivamente determinado pelo consumidor a partir de sua intenção de compra repetida negativa, caso as propriedades sensoriais do produto, percebidas no primeiro contato o mesmo, não tenham atendido às suas expectativas (FU & LABUZA, 1993).

Informações sobre vida útil de novos produtos alimentícios são requeridas durante o desenvolvimento e para o lançamento no mercado. No entanto, muitos produtos têm vida útil prolongada, o que dificulta a determinação experimental em tempos compatíveis com as programações comerciais das empresas. Para essas situações, a aplicação de testes acelerados de vida útil se apresenta como uma alternativa interessante (VITALI *et al.*, 2004).

O teste acelerado de vida útil consiste no armazenamento do produto de interesse sob condições ambientais definidas e controladas de forma a acelerar as taxas de transformação. As taxas aceleradas de transformação determinadas são relacionadas aquelas obtidas sob condições normais de armazenamento. Dessa forma, em um tempo reduzido de estudo, a vida útil do produto é estimada. O teste acelerado de vida útil permite, também, o desenvolvimento de modelos matemáticos para a previsão de vida útil em diferentes condições de armazenagem (VITALI *et al.*, 2004).

Os produtos desidratados são sensíveis ao ganho de umidade, sendo que a mais importante alteração física que ocorre devido a este ganho é a aglomeração. O processo de ganho de umidade promove um aumento da atividade de água do produto que pode levar, dentre outros, a um desenvolvimento microbiano. Os níveis mínimos de atividade de água necessários para o desenvolvimento de microorganismos depende de fatores como temperatura, pH, oxigênio e disponibilidade de nutrientes (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2001).

Nos alimentos desidratados, a conservação tem por princípio, a redução do conteúdo de água e da atividade de água a um nível que as reações deteriorativas durante a estocagem ocorram na menor velocidade possível. Dessa forma, é primordial que a embalagem apresente boa barreira ao vapor de água e integridade ao fechamento, evitando o ganho de umidade que permitiria o crescimento de microorganismos e alterações físicas. É recomendável então a utilização de materiais de embalagem com baixa permeabilidade ao vapor de água, para se manter o nível de qualidade aceitável dos produtos alimentícios (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2001).

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Desenvolvimento das Formulações

Para desenvolvimento das formulações, primeiramente foi realizada a pesagem dos ingredientes em balança analítica (Modelo F4 2104N, Bioprecisa, Brasil), considerando a concentração estipulada por porção do produto. Posteriormente foi realizada a mistura dos ingredientes em misturador tipo Y (Modelo TE-201/10, Tecnal, Brasil), com capacidade de 6 kg, conforme Figura 3.



Figura 3 Misturador tipo Y

6.2 Biomassa da Microalga *Spirulina*

A microalga adicionada nos produtos foi a *Spirulina* LEB -18, isolada da Lagoa Mangueira (MORAIS *et al.*, 2008). Sua produção é realizada na Planta Piloto localizada as margens da Lagoa Mangueira (33° 30' 13" S e 53° 08' 59" W) em Santa Vitória do Palmar, RS. A unidade consiste de 3 tanques abertos tipo raceway de 10.000 L e 1 tanque aberto tipo raceway de 1.000 L para propagação do inóculo. Os cultivos são protegidos por túnel de filme transparente com proteção contra raios UV e expostos a condições ambientais naturais. Quando a *Spirulina* atinge a concentração 0,50 g.L⁻¹, sua biomassa é colhida através de filtração e seca em secador de bandejas por 5 h a 50°C.

A biomassa de *Spirulina* depois de seca foi mantida sob congelamento e após, moída em moinho de bolas (Modelo Q298, Quimis, Brasil) e peneirada em agitador de peneiras (Bertel, Brasil) em Tyler 270. Essa biomassa seca na forma de pó foi embalada a vácuo (Modelo Supervac 400, Sulpack, Brasil) e armazenada para

posterior uso nas formulações. A Figura 4 apresenta algumas etapas da produção da microalga, como coleta, extrusão de sua biomassa e microalga na forma de pó.

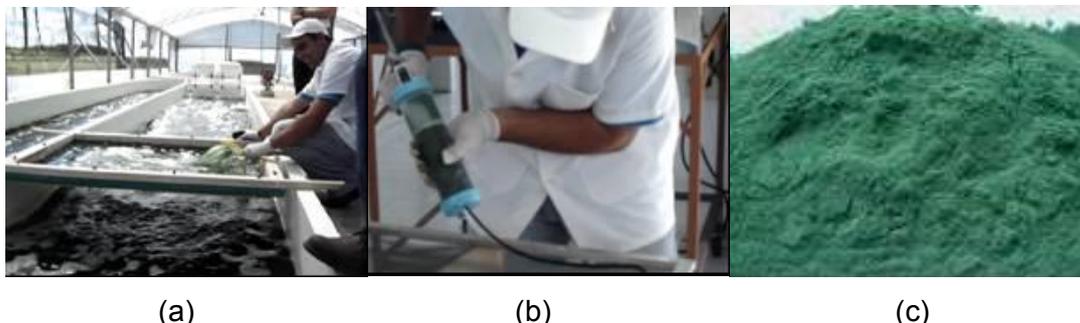


Figura 4 Produção da microalga *Spirulina* LEB-18, (a) coleta, (b) extrusão e (c) microalga na forma de pó

6.3 Análise Sensorial

Para definição da concentração da microalga *Spirulina* utilizada nos alimentos foi realizado teste sensorial de aceitação global, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (TEIXEIRA *et al.*, 1987). O teste de aceitação foi realizado utilizando repositor hidroeletrolítico sem adição da microalga e diferentes concentrações de *Spirulina* no produto, sendo estas, 0,5 e 1%. As análises sensoriais foram realizadas em academia com 35 provadores não treinados.

Após definição da quantidade de *Spirulina* a ser utilizada e definição da formulação final dos alimentos, a fim de verificar a aceitação das bebidas pelos consumidores, foi realizado teste de aceitação global das bebidas, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (TEIXEIRA *et al.*, 1987), bem como avaliada a atitude do consumidor em relação à possível compra desses produtos, utilizando escala de cinco pontos (MEILGAARD *et al.*, 1999) (Figura 5). As análises sensoriais foram realizadas em academia com o público alvo do produto com 40 provadores não treinados, conforme pode ser observado na Figura 6.

As análises sensoriais foram realizadas entre as amostras com e sem adição de *Spirulina* juntamente com uma amostra comercial, sendo esta a mais similar possível em relação aos produtos desenvolvidos.

As amostras foram preparadas de acordo com a recomendação de consumo, agitadas em coqueteleiras até completa homogeneização e mantidas sob refrigeração até seu consumo. Os produtos foram dispostos em copos plásticos codificados com números aleatórios e entregues uma de cada vez a cada julgador em copos de 110

mL com volume útil de 100 mL. Entre uma amostra e outra foi solicitado aos provadores que lavassem a boca com água para retirada do sabor residual da amostra anterior.

Os resultados obtidos foram avaliados através de análise de variância com 95% de confiança e diferença de médias através do Teste de Tukey.

Sexo : _____ Data: ___/___/___

Avalie cada amostra de potencializador muscular, utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou.

9- Gostei muitíssimo
8- Gostei muito
7- Gostei regularmente
6- Gostei ligeiramente
5- Indiferente
4- Desgostei ligeiramente
3- Desgostei regularmente
2- Desgostei muito
1- Desgostei muitíssimo

Número da amostra	Valor

Comentários: _____

Se esta amostra estivesse à venda, qual seria sua atitude?

5- Certamente compraria
4- Provavelmente compraria
3- Tenho dúvida se compraria ou não
2- Provavelmente não compraria
1- Certamente não compraria

Número da amostra	Valor

Comentários: _____

Figura 5 Ficha utilizada nas análises sensoriais



Figura 6 Análise sensorial realizada em academia

6.4 Composição Centesimal

Após definição da formulação final, os produtos foram caracterizados quanto a sua composição química. O teor de umidade, cinzas e proteínas foram determinados de acordo com os procedimentos descritos pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1976) e Lipídios Totais determinados pelo método descrito por Bligh e Dyer (1959). O teor de carboidratos foi avaliado utilizando uma adaptação do método de DNS (MILLER, 1959), com prévia hidrólise ácida dos polissacarídeos (FURLAN *et al.*, 2009). Para análise dos repositores hidroeletrólíticos desenvolvidos a hidrólise foi realizada em chapas aquecedoras por 15 min.

O valor energético e o valor diário recomendado de nutrientes dos produtos desenvolvidos foram calculados de acordo com a RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 da ANVISA que apresenta o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados (ANVISA, 2003).

6.5 Análises Microbiológicas

A avaliação microbiana dos produtos desenvolvidos foi realizada levando em consideração a legislação vigente, RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA que apresenta o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. De acordo com o item 13a, para misturas em pó para o preparo de bebidas, devem ser realizadas análises de Coliformes a 45°C e *Salmonella* sp. A determinação do número mais provável de Coliformes foi realizada de acordo com ABNT (1991) e para verificar presença ou ausência de *Salmonella*, foi utilizada metodologia descrita pelo FDA (2007).

6.6 Vida Útil dos Alimentos Desenvolvidos

Foi realizado o teste acelerado para estimar a vida útil dos produtos desenvolvidos. A vida útil dos produtos foi estimada através de um modelo matemático (Equação 1) que relaciona o aumento de umidade do produto, por meio de sua isoterma de sorção de umidade, com a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) da embalagem. Deste modo, foi estudada a estabilidade dos produtos desenvolvidos até que estes apresentassem estabilização de ganho de umidade.

Esse modelo matemático assume que, quando se tem uma embalagem protegendo um alimento contra o ganho de umidade, a transferência de vapor de água de fora da embalagem para dentro é lenta. Assim, supõe-se que, conforme o vapor de água atravessa a embalagem, este vai sendo distribuído uniformemente no produto alimentício e, portanto, o fenômeno que rege o ganho de umidade do produto é o da transferência de vapor de água do exterior para o interior da embalagem, que pode ser descrita pela Equação 1 (ALVES *et al.*, 1996):

$$t = \frac{Ms \cdot URe}{100 \cdot A \cdot TPVA} \int_{U_0}^{U_c} \frac{dU}{\frac{URe}{100} - Aa(U)} \quad (1)$$

Onde:

t = estimativa de vida útil (dias);

Ms = massa seca do produto (g);

URe = umidade relativa do ambiente de estocagem (%);

A = área da embalagem (m²);

TPVA = taxa de permeabilidade vapor de água da embalagem (g_{água}.m⁻².dia⁻¹);

Aa(U) = atividade de água do produto em função do conteúdo de umidade, que é a isoterma de sorção de umidade do produto;

U₀ = umidade inicial do produto (g_{água}.100 g de produto seco⁻¹);

U_c = umidade crítica do produto (g_{água}.100 g de produto seco⁻¹).

6.6.1 Determinação da taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA)

A taxa de permeabilidade ao vapor de água foi determinada pelo método gravimétrico, segundo metodologia descrita na ASTM E96/E96-05 (2005). A permeabilidade foi avaliada utilizando-se embalagens (INJEPLAST) semelhantes às

utilizadas nos produtos disponíveis no mercado, sendo estas de polietileno de alta densidade (PEAD) lacradas com tampa plástica de rosca e pote com 1 mm de espessura, altura de 57,2 mm e diâmetro de 35,5 mm, com capacidade para 30 mL. Esta foi preparada com dessecante e disposta em dessecador com umidade relativa de 90% para controlar em quanto tempo a embalagem absorvia umidade (Figura 7).

Após o dessecador foi colocado em estufa para controle da temperatura em 30°C. Foram realizadas pesagens sucessivas de 2 em 2 dias até obter a taxa constante de ganho de peso. Foi utilizado Cloreto de Cálcio (CaCl_2) como dessecante e dentro do dessecador para atingir uma umidade relativa de 90% foi adicionado uma solução de Cloreto de Bário (BaCl_2). Após as pesagens, para a obtenção da taxa de permeabilidade de vapor de água, o tempo de condicionamento (dias) foi graficado em função do ganho de peso (g) de cada embalagem, para determinar o coeficiente angular da reta (G/t), sabendo-se a área de permeação do corpo de prova (A) obteve-se a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) através da Equação 2.

$$\text{TPVA} = (G/t)/A \quad (2)$$

Onde:

TPVA = taxa de permeabilidade ao vapor de água ($\text{g}_{\text{água}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$);

G/t = ganho de massa pelo tempo de acondicionamento ($\text{g}_{\text{água}} \cdot \text{dia}^{-1}$);

A = área de permeação da embalagem (m^2).



Figura 7 Embalagens acondicionadas no dessecador a 90%UR e 30°C

6.6.2 Isoterma de sorção de umidade e umidade crítica (Uc)

A isoterma de sorção foi determinada logo após preparo da formulação dos produtos, foram pesados 2 g de amostra em duplicata, sendo estas armazenadas em embalagens de polietileno de alta densidade (mesma embalagem utilizada no ensaio de TPVA) sem tampa e acondicionadas em dessecadores (Figura 8) contendo soluções saturadas de sais, com faixa de umidade relativa entre 22 e 90% (DITCHFIELD, 2000) (Tabela 1) e mantidos em estufa a 30°C até estabilização de ganho de umidade das amostras. Após este período, foram determinadas as umidades de equilíbrio, para cada condição de umidade relativa (ALVES, 1997; TEIXEIRA NETO, 1997). A umidade crítica dos produtos foi estabelecida com base nas alterações que ocorreram durante a estocagem, nas diferentes condições de umidade relativa.

Tabela 1 Umidade Relativa dos sais utilizados

Sal	Umidade Relativa (%)
CH ₃ COOK	22,6
MgCl ₂	32,73
K ₂ CO ₃	43,8
NaBr	57,7
SrCl ₂	70,83
NaCl	75,32
BaCl ₂	90,26

Fonte: DITCHFIELD, 2000.



Figura 8 Embalagens acondicionadas nos dessecadores a 30°C

Os dados experimentais da isoterma de sorção dos produtos foram ajustados pela Equação 3 de Halsey (ALVES *et al.*, 1996), apresentada a seguir:

$$Aa = \exp\left(-C_1/U^{C_2}\right) \quad (3)$$

Onde:

Aa = atividade de água do produto;

U = umidade do produto (g_{água}.100 g de produto seco⁻¹);

C₁ e C₂ = constantes.

A qualidade do ajuste para equação de Halsey foi avaliada pelo erro médio quadrático relativo (EMQR), que é obtido pela Equação 4 (BIZOT, 1996) abaixo:

$$EMQR = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (U_i - U_i^*)^2}{n}}}{\bar{U}} \quad (4)$$

Onde:

U_i = umidade determinada experimentalmente;

U_i* = umidade calculada pelo ajuste;

n = número de pontos experimentais;

U = média das umidades determinadas experimentalmente.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Repositor Hidroeletrolítico

A definição dos ingredientes e concentrações utilizadas nas formulações dos produtos foram baseadas na legislação vigente, na necessidade nutricional de praticantes de atividades físicas e também com base em produtos similares encontrados no mercado.

Por se tratar de um produto em pó para posterior reconstituição em água, a solubilidade é essencial. Assim, primeiramente foram testados os ingredientes em maior quantidade que constituem a formulação, tais como maltodextrina, sacarose e dextrose em água, não apresentando problemas de solubilização. Após, foi incorporado na formulação ácido cítrico, e os sais citrato de sódio, cloreto de sódio e fosfato de potássio, bem como o aromatizante idêntico ao natural de limão e o edulcorante sucralose.

Com objetivo de melhorar aspectos sensoriais retirou-se da formulação maltodextrina e aumentou-se a concentração de sacarose e dextrose, bem como a concentração de ácido cítrico e de aromatizante, desta maneira finalizando a formulação de bancada do repositores sem adição de *Spirulina*.

Para elaboração da formulação do repositores com *Spirulina* foi utilizada como base a mesma formulação do repositores em que a microalga não foi adicionada, porém com aumento do aromatizante e adição do corante dióxido de titânio para tornar o produto mais atrativo frente aos consumidores.

A quantidade de *Spirulina* a ser adicionada no repositores hidroeletrolítico foi definida de acordo com resultados obtidos em análise sensorial, verificando a aceitação do produto sem adição da microalga e com 0,5% e 1% de *Spirulina*.

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes à análise sensorial dos repositores com diferentes concentrações de *Spirulina*. Pode-se verificar que as amostras com 0,5% e sem *Spirulina* não apresentaram diferença significativa a 95% de confiança, enquanto a amostra com 1% de *Spirulina* apresentou diferença entre as demais. As amostras com 0,5% e sem *Spirulina* também obtiveram índice de aceitação acima de 70%, enquanto a amostra com 1% de *Spirulina* obteve índice de 63%, não sendo aceito de acordo com Teixeira *et al.* (1987), pois deveria apresentar índice de aceitação no mínimo de 70%.

De acordo com os resultados obtidos na análise sensorial, realizada com 27 provadores masculinos e 8 femininos, optou-se pela formulação contendo 0,5% da microalga *Spirulina*, a qual obteve Índice de Aceitação de 87% e também por apresentar uma melhor homogeneização.

Tabela 2 Aceitação global e média das notas dos repositores com diferentes concentrações de *Spirulina*

Amostra	Aceitação (%)	Média das notas*
Repositor sem <i>Spirulina</i>	78	7,03 ± 1,54 ^a
Repositor com 0,5% de <i>Spirulina</i>	87	7,83 ± 1,04 ^a
Repositor com 1% de <i>Spirulina</i>	63	5,69 ± 2,21 ^b

*Letras iguais não diferiram entre si, enquanto letras diferentes apresentaram diferença significativa ao nível de 95% de confiança pelo teste de Tukey.

Os ingredientes finais da formulação do repositor sem *Spirulina* foram: sacarose (Guarani), dextrose (Cargill), acidulante: ácido cítrico (Cargill), fosfato tricálcico (Makeni), citrato de sódio (Synth), cloreto de sódio (Synth), antiemectante: fosfato de potássio (Vetec), aroma idêntico ao natural de limão (Duas Rodas) e edulcorante: sucralose (TateLyle). Já o produto com adição de *Spirulina* teve como ingredientes finais os mesmos citados, porém com aroma de limão mais acentuado e incorporação do corante: dióxido de titânio (Vogler) e *Spirulina*.

Os produtos desenvolvidos devem ser diluídos em 500 mL de água e podem ser ingeridos antes, durante e/ou após a atividade física. Segundo a National Athletic Trainer's Association (NATA) (CASA *et al.*, 2000), para assegurar o estado de hidratação, os atletas devem ingerir aproximadamente 500 a 600 mL de água ou outra bebida esportiva duas a três horas antes do exercício e 200 a 300 mL 10 a 20 min antes do exercício, bem como durante o exercício, onde os atletas devem começar a beber logo e em intervalos regulares, com o objetivo de consumir líquidos em uma taxa suficiente para repor toda a água perdida através do suor, ou consumir a maior quantidade tolerada (MURRAY, 1997).

Após definição da quantidade de *Spirulina* utilizada no produto, foram realizadas análises sensoriais de aceitação global e atitude de compra do repositor hidroeletrólítico com e sem adição de *Spirulina* e um produto comercial, disponível no mercado, sendo este mais similar possível ao desenvolvido.

O produto comercial utilizado nas análises sensoriais apresenta os ingredientes, sacarose, dextrose, cloreto de sódio, citrato de sódio, fosfato de potássio monobásico, ácido cítrico, aroma e betacaroteno. A recomendação de consumo para este produto é de 14g em 200mL de água, apresentando valor energético de 48kcal, carboidratos 12g, sódio 90mg e potássio 24mg.

Os resultados obtidos para o teste de aceitação realizado com 31 provadores masculinos e 9 femininos, encontram-se na Tabela 3, pode-se verificar que o produto mais aceito pelos julgadores foi o repositor sem *Spirulina* com Aceitação de 79%, apresentando também a maior média de nota (7,1), porém sem diferença significativa ao nível de 95% de confiança entre os demais produtos. De acordo com Teixeira *et al.* (1987) para o produto ser aceito, esse deve apresentar índice de aceitação no mínimo de 70%, sendo assim, os produtos desenvolvidos com e sem adição de *Spirulina* obtiveram índice de aceitação satisfatório.

As médias das notas obtidas para os produtos desenvolvidos, dispostas na Tabela 3, foram semelhantes às obtidas por Marchi *et al.* (2003), no desenvolvimento de um isotônico natural de maracujá que obtiveram média de notas de aceitação para sabor de 6,9 para bebida pasteurizada e 7,2 para a bebida fresca.

As médias de aceitação global atribuídas aos produtos desenvolvidos apresentaram-se relativamente altas, acima da nota de corte de aceitação (nota 5,0) de acordo com Stone e Sidel (1993).

Tabela 3 Aceitação global e médias das notas dos repositores hidroeletrólíticos

Amostra	Aceitação (%)	Média das notas*
Repositor comercial	78	7,0 ± 1,4 ^a
Repositor sem <i>Spirulina</i>	79	7,1 ± 1,2 ^a
Repositor com <i>Spirulina</i>	74	6,6 ± 1,7 ^a

* Letras iguais não diferiram entre si significativamente ao nível de 95% de confiança pelo teste de Tukey.

Pode-se verificar na Figura 9 que o repositor hidroeletrólítico com *Spirulina* e sem *Spirulina*, dentre os 40 provadores que avaliaram as amostras, 79,5% e 92,3%, respectivamente, tiveram atitude de compra entre “certamente compraria” e “tenho dúvidas se compraria ou não o produto”. Em relação ao produto comercial 84,6% dos provadores apresentaram atitude compra entre as alternativas citadas.

A alternativa “certamente não compraria” foi escolhida por 7,6% dos provadores para o repositor comercial e com adição de *Spirulina*, enquanto 2,5% dos provadores marcaram a mesma alternativa para o repositor sem adição da microalga.

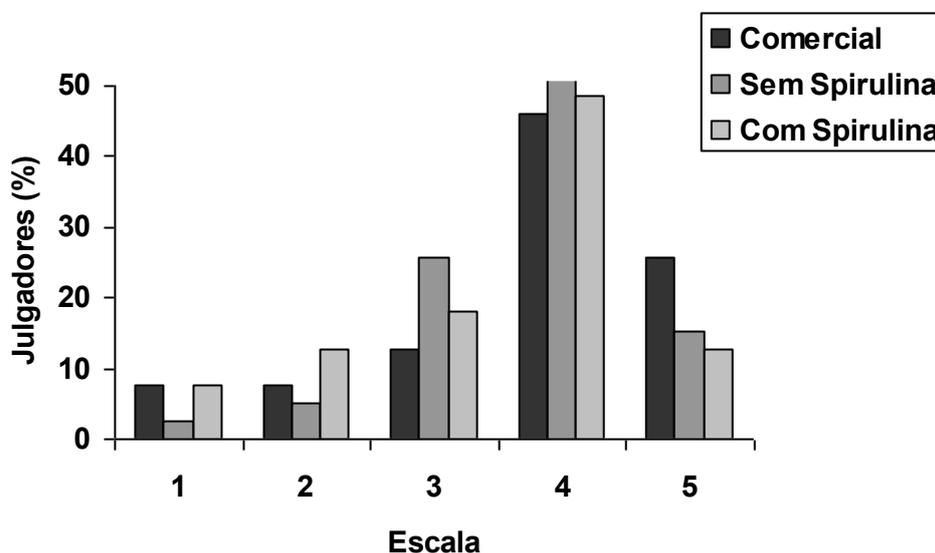


Figura 9 Intenção de compra dos julgadores em relação aos repositores (Escala: 1 - certamente não compraria; 2 - provavelmente não compraria; 3 - tenho dúvida se compraria ou não; 4 - provavelmente compraria e 5 - certamente compraria)

A Tabela 4 apresenta a composição dos repositores hidroeletrólitos desenvolvidos com base na porção de 35 g, de acordo com os resultados, é possível verificar que tanto o repositor com adição de *Spirulina* quanto o sem adição da microalga apresentaram baixo teor de umidade 2,11% e 2,82%, respectivamente. Como se pode verificar este produto não apresenta fonte de lipídios em sua composição, com 0,22% no repositor com adição de *Spirulina* e 0,17% no sem adição.

Os produtos apresentaram teor de carboidratos acima de 90%, com 31,9 g na porção do repositor com adição da microalga e 32,44 g no sem adição, com percentual de valor diário (%VD) de 11% para ambos. Em relação ao valor energético os repositores apresentaram 130 kcal na porção, com valor diário de 7%.

Quanto ao teor de cinzas, o repositor com *Spirulina* apresentou 4% e o sem adição de *Spirulina* apresentou 3,6%. As cinzas representam o teor de fosfatos, potássio, sódio e outros sais que foram adicionados nos produtos, sendo que o repositor com *Spirulina* apresentou um teor mais elevado devido aos minerais presentes nessa microalga, pois foi adicionada a mesma concentração de sais nos

dois produtos desenvolvidos, conforme pode-se observar na Tabela 4, sendo acrescentado na formulação 225 mg de sódio com valor diário de 9% e 60 mg de potássio.

De acordo com a composição dos repositores, pode-se afirmar que as bebidas desenvolvidas se enquadram na classificação especificada pela RDC N° 18 da ANVISA (2010) referente a suplementos hidroeletrólíticos e podem ser utilizadas com a finalidade de repor água e sais minerais eliminados pela transpiração durante atividades físicas.

Tabela 4 Composição por porção (35 g) dos repositores desenvolvidos

Composição	Repositor com <i>Spirulina</i>	Repositor sem <i>Spirulina</i>
Cinzas*	1,40 ± 0,02 g	1,28 ± 0,02 g
Lipídios*	0,08 ± 0,01 g	0,06 ± 0,01 g
Carboidratos*	31,90 ± 0,69 g	32,44 ± 0,28 g
Umidade*	0,74 ± 0,07 g	0,99 ± 0,08g
Sódio**	225 mg	225 mg
Potássio**	60 mg	60 mg

* Resultados são médias de 3 determinações em base seca ± desvios padrão.

** Resultados obtidos com base na formulação.

O teor de carboidratos presente na porção do repositore formulado por Oliveira *et al.* (2006) é de 29 g, quantidade semelhante a do repositore desenvolvido neste trabalho. A indicação de consumo do produto é de 35 g, fornecendo assim 31,90 g de carboidratos no produto sem *Spirulina* e 32,44 g de carboidratos no repositore com *Spirulina*, estas quantidades são suficientes para contribuir na melhora de desempenho de praticantes de atividade física, pois segundo Coggan & Coyle (1991) quando 45 g de carboidrato eram ingeridos por hora, ocorria uma significativa melhora no desempenho atlético. Este fato também foi observado mesmo quando os pesquisadores Murray *et al.* (1991) forneceram entre 20 a 25 g de carboidratos por hora.

A incorporação da microalga *Spirulina* no repositore apresenta algumas vantagens para melhora da hidratação e desempenho do praticante de atividade física, pois os minerais presentes em maior quantidade na *Spirulina* são cálcio, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio e zinco (BRANGER *et al.*, 2003).

Os dados obtidos para a análise microbiológica dos repositores desenvolvidos que estão descritos na Tabela 5, revelam as condições sanitárias satisfatórias do produto para consumo humano. Pois, tanto as análises de *Salmonella* como de Coliformes, realizadas para repositores com *Spirulina* e sem adição da microalga, apresentaram valores abaixo do permitido de acordo com a Resolução RDC n. 12 da Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001).

Tabela 5 Resultados avaliação microbiológica dos repositores hidroeletrólíticos

Determinações			Repositor com <i>Spirulina</i>	Repositor sem <i>Spirulina</i>	Padrões microbiológicos*
<i>Salmonella</i> sp/25 g			ausência	ausência	ausência
Coliformes	a	45°C	< 0,03	< 0,03	5x10 ¹
(NMP/g)					

* RDC n. 12 (ANVISA, 2001)

Em relação à taxa de permeabilidade de vapor de água (TPVA), os produtos acondicionados nas embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD) com área de $6,38 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ e espessura de 1 mm foram avaliados durante 22 dias, resultando em um gráfico com 16 pontos (Figura 10).

A TPVA para a embalagem avaliada foi obtida através do coeficiente angular (0,0052) da equação da reta (Figura 10), com coeficiente de correlação de 0,998, dividido pela área da embalagem, cujo valor foi $0,8 \text{ g}_{\text{H}_2\text{O}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$ a 90% de umidade relativa e 30 °C. De acordo com Garcia *et al.* (1989) o material utilizado na embalagem apresenta alta barreira ao vapor de água, pois um material que apresente uma taxa de permeabilidade ao vapor de água menor que $0,8 \text{ g m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$ é considerado de alta barreira.

O limite de vida de prateleira de produtos desidratados é estabelecido pelo conteúdo de umidade máxima permitida para que não ocorram alterações indesejadas, sendo recomendável a utilização de materiais de embalagem com baixa permeabilidade ao vapor de água (PADULA, 1996).

A umidade relativa na qual a TPVA é determinada representa o gradiente de concentração que irá promover a permeação do vapor de água e, portanto, quanto maior a umidade relativa do ambiente de estocagem, maior é a TPVA da embalagem. Porém à medida que se aumenta a espessura dos filmes, diminui-se a TPVA (GARCIA *et al.*, 1989).

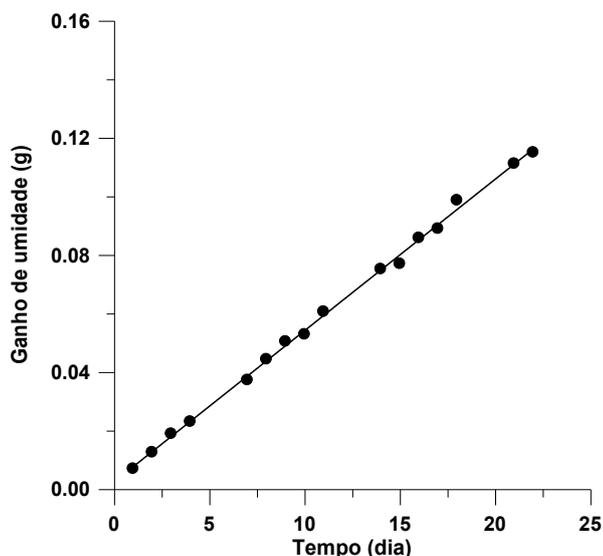


Figura 10 Valores de ganho de umidade da embalagem ao longo do tempo

Em relação à isoterma dos repositores desenvolvidos, tanto com adição de *Spirulina* como o sem adição da microalga, apresentaram comportamento semelhantes. Durante o período em que as amostras estavam nos dessecadores, pode-se observar que no 17º dia na atividade de água 0,22 as amostras se estabilizaram em relação ao ganho de peso não apresentando nenhuma alteração. Já na atividade de água 0,32 e 0,43, as amostras começaram a formar grumos e estabilizaram no 19º dia. Sendo que nas atividades de água acima de 0,57 as amostras ficaram ainda mais aglomeradas, com exceção da atividade de água 0,9, pois as amostras começaram a se dissolver.

No 24º dia na atividade de água 0,57 as amostras apresentaram estabilidade, porém estavam com aspecto aglomerado e úmido. Nas atividades de água 0,70 e 0,75 as amostras começaram a se dissolver e em 0,9 de atividade de água as amostras ficaram totalmente líquidas.

No 28º dia em 0,70 e 0,75 de atividade de água as amostras também ficaram líquidas. Este tipo de alimento, que apresenta um alto teor de açúcares, adsorve pouca água à baixa atividade de água, porém conforme ocorre aumento da atividade de água, a sorção aumenta consideravelmente levando à dissolução dos açúcares (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2001).

Com base nas alterações ocorridas nas amostras, a umidade crítica foi definida na atividade de água 0,32 com 3,0% de umidade para o repositores sem adição

de *Spirulina* e 2,3% de umidade para o repositor com adição da microalga. Nas Figuras 11 e 12 pode-se observar as isotermas de sorção para o repositor sem e com adição de *Spirulina*, respectivamente.

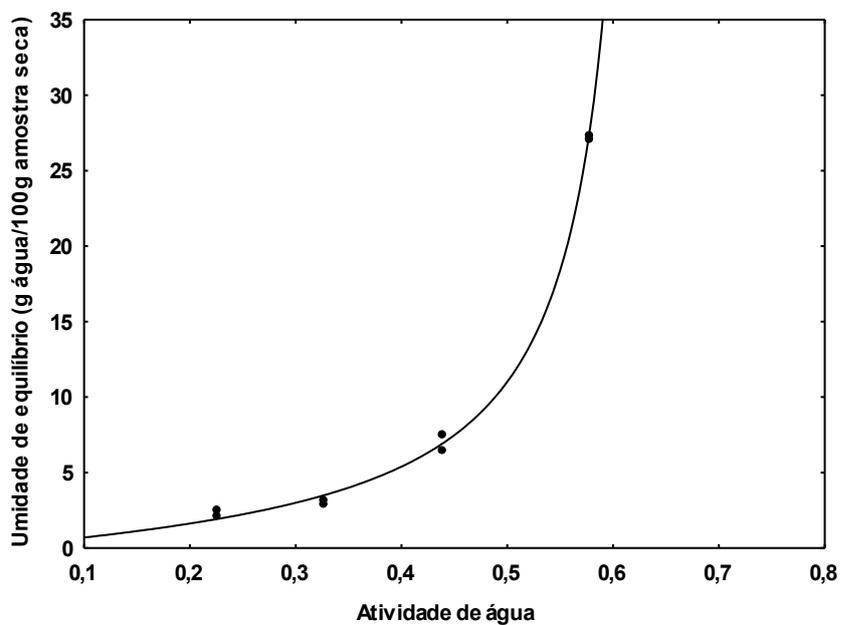


Figura 11 Isoterma de sorção de umidade de repositor hidroeletrolítico sem *Spirulina*

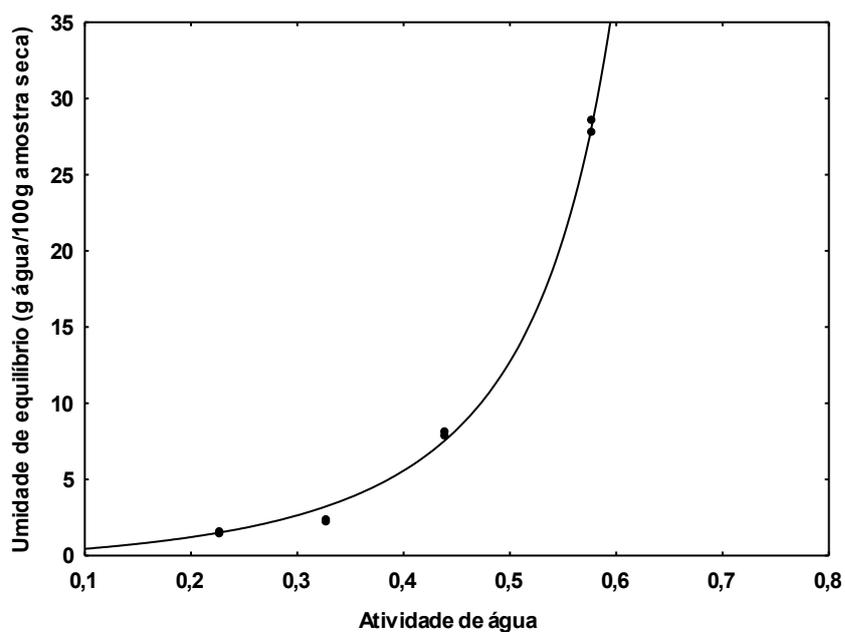


Figura 12 Isoterma de sorção de umidade de repositor hidroeletrolítico com *Spirulina*

As constantes (C_1 e C_2) determinadas através da equação 3 de Halsey são apresentadas na Tabela 6, como também o erro médio quadrático relativo (EMQR) e o coeficiente de correlação (r), indicando a qualidade do ajuste utilizado. Como pode-se observar a equação de Halsey utilizada apresentou um bom ajuste dos dados experimentais das isotermas dos repositores com e sem *Spirulina*, uma vez que o EMQR foi baixo e o coeficiente de correlação obtido foi alto.

Tabela 6 Resultados referentes à estimativa de vida útil dos repositores

Amostra	C_1^*	C_2^*	EMQR	r	Vida útil (meses)
Repositor sem <i>Sp</i>	1,83 ± 0,12	0,38 ± 0,03	0,069	0,97	9
Repositor com <i>Sp</i>	1,58 ± 0,06	0,32 ± 0,02	0,048	0,98	9

* C_1 e C_2 obtidos através da equação 3.

A equação 3 de Halsey ajustada foi substituída na equação 1, apresentada no item 6.6. Em seguida a equação foi integrada no intervalo compreendido entre a umidade inicial dos produtos (2,84% e 2,13% repositores sem e com *Spirulina*, respectivamente) e a umidade crítica definida, visando verificar quais seriam os períodos de vida útil dos repositores hidroeletrólitos com e sem adição de *Spirulina*.

Conforme pode-se observar na Tabela 6, o período de vida útil dos repositores desenvolvidos com e sem adição de *Spirulina* foi 9 meses, período de vida útil abaixo de produtos similares encontrados no mercado que apresentam 18 meses de validade.

A estimativa alcançada neste trabalho foi menor que encontrada no mercado, porém foi utilizada umidade relativa do ambiente de 90%, provavelmente utilizando-se umidade relativa do ambiente inferior, o período de vida útil aumente. Como os períodos foram estimados com base apenas no ganho de umidade, para maior confiabilidade deve-se também acompanhar os produtos durante estocagem em relação à possível contaminação microbiana e efetuar análises sensoriais periódicas para assegurar que os produtos atinjam esta estimativa também em termos microbiológicos e sensoriais.

7.2 Potencializador Muscular

A definição dos ingredientes e concentrações utilizadas nas formulações dos produtos foram baseadas na legislação vigente, na necessidade nutricional de praticantes de atividades físicas e também com base em produtos similares encontrados no mercado.

Com base na legislação vigente (ANVISA) e nos trabalhos de Sahelian e Tuttle (2002) e de Hultman *et al.* (1996), foi definida uma dose de 3 g de creatina por porção. Com a quantidade de creatina na porção definida, para elaboração da formulação foram adicionados maltodextrina, ácido cítrico, corante dióxido de titânio, aroma de limão e o edulcorante sucralose. Porém com o objetivo de promover uma absorção mais rápida de carboidratos foi incorporado na formulação dextrose e para melhorar aspectos sensoriais aumentou-se a quantidade de ácido cítrico, sucralose e aromatizante. Sendo dessa maneira definida a formulação final para o potencializador muscular sem adição da microalga *Spirulina*, contendo os ingredientes maltodextrina (Farmac), dextrose (Cargill), creatina (Galena), aroma idêntico ao natural de limão (Duas Rodas), acidulante ácido cítrico (Cargill), antiemético fosfato tricálcico (Makeni), edulcorantes: acessulfame de potássio (Doremus) e sucralose (TateLyle) e corante dióxido de titânio (Vogler). O potencializador muscular, apresenta como indicação de consumo 1 medida (6 g) com 200 mL de água, com ingestão meia hora antes do treino.

Já o potencializador com adição de *Spirulina* apresenta como composição os ingredientes citados acima mais a incorporação da *Spirulina* e aumento do aromatizante sabor limão. Sendo 0,5% a concentração da microalga utilizada no produto, definida através de resultados obtidos em análises sensoriais prévias com produto similar e também por apresentar uma melhor homogeneização.

A adição de *Spirulina* é uma alternativa para o incremento de alguns minerais no produto, principalmente o fósforo que participa da ressíntese da fosfocreatina no músculo, pois os minerais presentes em maior quantidade na *Spirulina* são cálcio, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio e zinco (BRANGER *et al.*, 2003).

Após definição da formulação final, os potencializadores com e sem adição de *Spirulina*, juntamente com um produto similar foram submetidos a análises sensoriais para verificar a aceitação destes e intenção de compra por prováveis consumidores, sendo estes 22 provadores masculinos e 18 femininos.

Como não foi encontrado no mercado amostra de produto semelhante para realizar a análise sensorial com os produtos desenvolvidos, a análise sensorial foi realizada utilizando-se maltodextrina sabor limão adicionada de creatina, sendo utilizada 30 g de maltodextrina comercial acrescida de 2 g de creatina em 350 mL de água, sendo esta proporção utilizada usualmente por praticantes de atividade física.

Os produtos desenvolvidos com e sem adição de *Spirulina* obtiveram índice de aceitação global satisfatório, com 71% e 73% respectivamente (Tabela 7), embora o produto comercial tenha apresentado índice de aceitação mais elevado (76%), pois de acordo com Teixeira *et al.* (1987) para o produto ser aceito, esse deve apresentar índice de aceitação no mínimo de 70%.

Em relação às médias das notas obtidas para os produtos desenvolvidos, estes apresentaram valores acima de 6,4 não apresentando diferença significativa entre eles e o produto comercial. Todas as amostras apresentaram valores de média acima da nota de corte de aceitação (nota 5,0) de acordo com Stone e Sidel (1993).

Tabela 7 Aceitação global e médias das notas dos potencializadores muscular

Amostra	Aceitação (%)	Média das notas*
Maltodextrina comercial + creatina	76	6,8 ± 1,7 ^a
Potencializador sem <i>Spirulina</i>	73	6,6 ± 1,5 ^a
Potencializador com <i>Spirulina</i>	71	6,4 ± 1,8 ^a

*Letras iguais não diferiram entre si significativamente ao nível de 95% de confiança pelo teste de Tukey.

A Figura 13 mostra que 27,5% dos julgadores “certamente compraria” o produto comercial, enquanto 20,0% e 17,5% manteve a mesma resposta para o potencializador sem e com *Spirulina* respectivamente. Dos 40 provadores 87,5% e 77,5% tiveram atitude de compra entre “certamente compraria” e “tenho dúvidas se compraria ou não o produto” para os produtos desenvolvidos sem e com *Spirulina*, respectivamente.

Em relação a alternativa “certamente não compraria”, 5% dos provadores marcaram esta alternativa para o produto comercial, enquanto 7,5% e 10% escolheram a mesma alternativa para o potencializador sem e com adição de *Spirulina*, respectivamente.

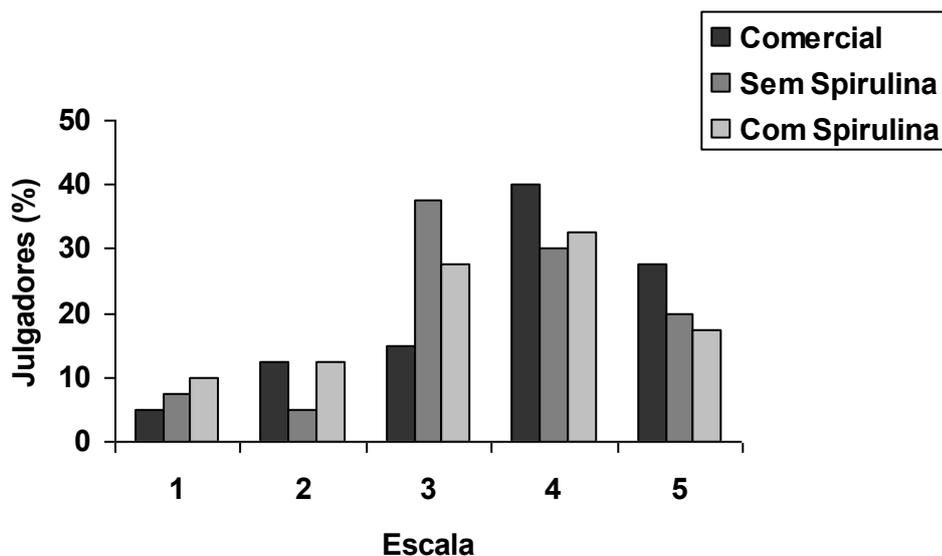


Figura 13 Intenção de compra dos julgadores em relação aos potencializadores (Escala: 1 - certamente não compraria; 2 - provavelmente não compraria; 3 - tenho dúvida se compraria ou não; 4 - provavelmente compraria e 5 - certamente compraria)

A Tabela 8 apresenta a composição dos potencializadores muscular desenvolvidos em porção de 6g, pode-se observar que estes não são fontes de lipídios, apresentaram baixo teor de cinzas, e umidade de 8,5% e 9,1% no respositor com e sem *Spirulina*, respectivamente. Estes produtos têm como principal objetivo aumentar o desempenho de praticantes de atividade física pelo aumento de creatina no músculo e ingestão de carboidratos. Com isso verifica-se que o teor de carboidratos na porção de 6 g para o potencializador sem *Spirulina* é 61,1% e para o produto com *Spirulina* é 63,3%.

Como a porção recomendada é de 6 g, tem-se 1,69 g e 1,61 g de creatina na porção, estes valores estão de acordo com a RDC N° 18 (ANVISA, 2010) que aprova o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas e determina que o produto pronto para consumo deve conter de 1,5 a 3 g de creatina na porção do produto. De acordo com esta mesma resolução pode-se classificar os potencializadores muscular desenvolvidos como suplementos de creatina para atletas.

Os compostos em maior quantidade presentes nos potencializadores são carboidratos e creatina, pois segundo Green *et al.* (1996), a combinação de creatina com carboidrato faz com que os estoques musculares de creatina atinjam, mais facilmente, o seu limite máximo. Estudos realizados por estes autores demonstraram

que, combinando creatina com carboidrato simples, como a glicose, ocorre aumento do transporte de creatina dentro do músculo, mesmo em indivíduos com níveis de creatina muscular próximos do normal. Tanto os suplementados com creatina pura quanto os que receberam creatina adicionada de carboidrato tiveram aumentos da quantidade total de creatina e fosfocreatina, mas os que foram suplementados com creatina adicionada de carboidrato tiveram aumento de 60% a mais de creatina, em comparação ao grupo que recebeu creatina pura.

Tabela 8 Composição por porção (6 g) dos potencializadores desenvolvidos

Composição	Potencializador com <i>Spirulina</i> (g)	Potencializador sem <i>Spirulina</i> (g)
Cinzas*	0,069 ± 0,001	0,067 ± 0,001
Lipídios*	0,004 ± 0,001	0,005 ± 0,001
Carboidratos*	3,800 ± 0,015	3,679 ± 0,004
Umidade*	0,513 ± 0,001	0,550 ± 0,014
Creatina**	1,61	1,69

* Resultados são médias de 3 determinações em base seca ± desvios padrão.

** Resultados obtidos com base na formulação.

O potencializador com adição da microalga *Spirulina* apresenta algumas vantagens em relação ao que não contém esta microalga, pois a *Spirulina* é rica em antioxidantes, vitaminas, minerais, ácidos graxos essenciais, apresenta um teor protéico em torno de 60-70% do seu peso seco e contém todos os aminoácidos essenciais (THAAKURI & JYOTHI, 2007).

Esta microalga pode auxiliar na proteção contra a proteólise, estudos relatam que alguns aminoácidos podem ter efeito anticatabólico durante o exercício, dentre estes se destacam os BCAA's (aminoácidos de cadeia ramificada) (THOMAS *et al.*, 2007; SHIMOMURA *et al.*, 2004). Estes estudos mostraram que o BCAA tem propriedade de retardar a fadiga em atividade de grande intensidade e duração. Quando ingeridos antes dos treinos são preferencialmente utilizados como fonte de energia quando os estoques de glicogênio são reduzidos, minimizando assim a utilização do próprio tecido muscular como substrato energético.

Quando compara-se os resultados obtidos referentes às análises de *Salmonella* sp. e Coliformes a 45°C/g com as especificações dispostas em ANVISA

(2001), observa-se que as bebidas avaliadas podem ser consideradas adequadas do ponto de vista microbiológico, conforme pode-se verificar na Tabela 9.

Tabela 9 Resultados avaliação microbiológica dos potencializadores muscular

Determinações	Potencializador com <i>Spirulina</i>	Potencializador sem <i>Spirulina</i>	Padrões microbiológicos*
<i>Salmonella</i> sp/25 g	ausência	ausência	ausência
Coliformes a 45°C (NMP/g)	< 0,03	< 0,03	5x10 ¹

* RDC n. 12 (ANVISA, 2001)

As isotermas de sorção de umidade dos potencializadores sem e com adição de *Spirulina* são apresentadas na Figuras 14 e 15, respectivamente. Na análise visual no decorrer do estudo destas isotermas, pode-se observar que estas apresentaram comportamentos semelhantes, porém a isoterma do potencializador com adição de *Spirulina* em relação a isoterma do potencializador sem *Spirulina*, apresentou umidade inferior na atividade de água 0,22 e umidade superior em 0,75 de atividade de água, com isso conclui-se que o potencializador com *Spirulina* adsorveu uma maior quantidade de água.

O ganho de umidade ocorre em alimentos de baixa atividade de água ou umidade e pode deteriorar a qualidade do produto, devido à aglomeração, alterações de textura, crescimento microbiológico, atividade enzimática, atividade enzimática e outras reações específicas para cada alimento (PADULA, 1996).

A atividade de água determina os limites mínimos de água disponível para o crescimento microbiano. A maioria das bactérias não se desenvolve em atividades de água menor que 0,91 e para fungos em atividades de água abaixo de 0,80 (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2001).

No 24° dia na atividade de água 0,9 as amostras começaram a apresentar fungos, já no 27° dia na atividade de água 0,32 as amostras estabilizaram em relação ao ganho de peso e não apresentaram alteração. Nas atividades de água acima de 0,43 as amostras começaram a formar grumos, sendo que nas atividades de água 0,70 e 0,75 as amostras ficaram empedradas e úmidas.

No 28° dia nas atividades de água 0,43 e 0,57 as amostras estabilizaram e no 31° dia na atividade de água 0,22 as amostras também estabilizaram. No 33° dia nas

atividades de água 0,70 e 0,75 as amostras ainda permaneciam empedradas e úmidas, porém estabilizaram.

Com isso, a umidade crítica dos produtos foi definida em 9,48% para potencializador sem *Spirulina* e 8,82% para com adição da microalga, ambos em atividade de água 0,43.

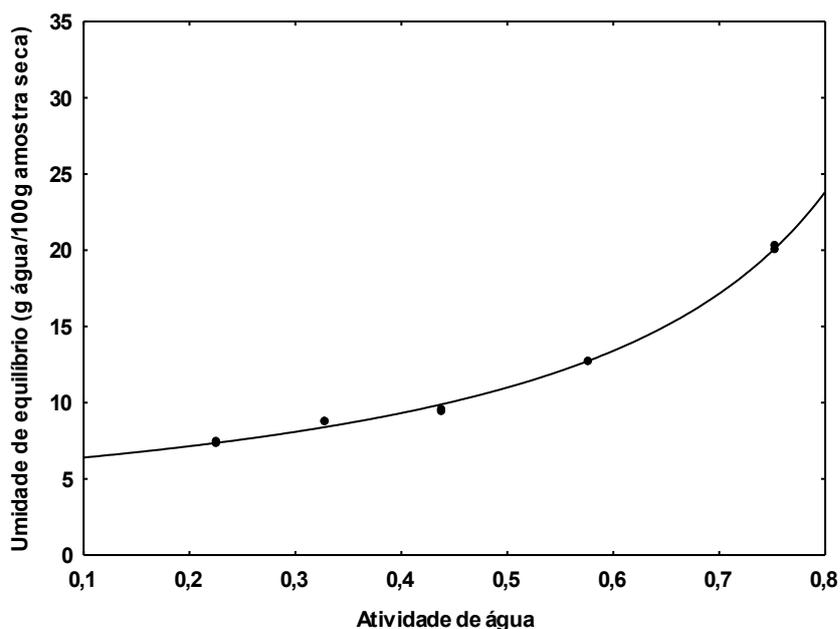


Figura14 Isoterma de sorção de umidade de potencializador muscular sem *Spirulina*

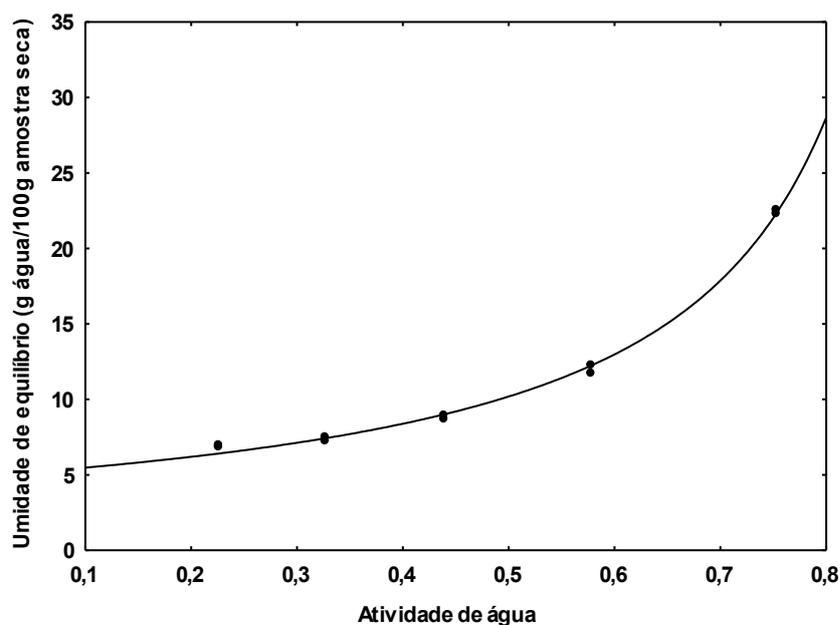


Figura 15 Isoterma de sorção de umidade de potencializador muscular com *Spirulina*

As constantes (C_1 e C_2) determinadas pela equação 3 de Halsey, bem como o erro médio quadrático relativo (EMQR) e coeficiente de correlação (r) do ajuste estão apresentados na Tabela 10. Nesta mesma tabela são apresentados os períodos estimados de vida útil dos potencializadores com e sem adição de *Spirulina* obtidos através da integração da equação apresentada no item 6.6, no intervalo compreendido entre a umidade inicial (9,17% e 8,56% potencializador sem e com *Spirulina*, respectivamente) dos produtos e a umidade crítica definida.

Tabela 10 Resultados referentes a estimativa de vida útil dos potencializadores

Amostra	C_1^*	C_2^*	EMQR	r	Vida útil (meses)
Potencializador sem <i>Sp</i>	41,98 ± 13,09	1,69 ± 0,13	0,053	0,99	11
Potencializador com <i>Sp</i>	19,60 ± 6,48	1,41 ± 0,14	0,075	0,98	9

* C_1 e C_2 obtidos através da equação 3.

Conforme pode-se observar na Tabela 10 tanto o ajuste para o potencializador com *Spirulina* como o sem *Spirulina* apresentaram uma boa qualidade, pois EMQR ficou baixo e também pelos valores de r obtidos.

Em relação à estimativa de vida útil o potencializador com *Spirulina* apresentou 9 meses de vida útil e o potencializador sem *Spirulina* 11 meses, esta diferença no período de vida útil pode ter sido ocasionada pela maior adsorção de água pelo potencializador com *Spirulina* em relação ao sem *Spirulina*, fazendo com que este último atingisse um período de vida útil mais prolongado e também pelo fato da diferença entre a umidade crítica e umidade inicial ser maior no potencializador sem *Spirulina* em relação ao com adição de *Spirulina*.

Os resultados obtidos encontram-se abaixo dos encontrados no mercado (18 meses), porém foi utilizada umidade relativa do ambiente de 90%, provavelmente utilizando-se umidade relativa do ambiente inferior, o período de vida útil aumente. Para um resultado mais preciso deve-se levar em consideração também alterações que possam ocorrer ao longo do armazenamento referente a expectativas sensoriais, bem como contaminações microbiológicas.

7.3 Recuperador Muscular

A definição dos ingredientes e concentrações utilizadas nas formulações dos produtos foram baseadas na legislação vigente, na necessidade nutricional de praticantes de atividades físicas e também com base em produtos similares encontrados no mercado.

Primeiramente foram testados os ingredientes maltodextrina, proteína concentrada do soro de leite 35%, pré-mix vitamínico e mineral, triglicerídeos de cadeia Média (TCM), aroma idêntico ao natural de limão, espessante: goma guar, acidulante ácido cítrico e edulcorante acessulfame de potássio, utilizando-se uma dose de 35 g em 250 mL de água. Porém, a bebida ficou muito viscosa, com isso diminuiu-se a quantidade de goma guar e a dose foi modificada para 40 g em 350 mL de água.

Além disso, a bebida apresentou amargor residual em decorrência do uso do edulcorante acessulfame de potássio, para tornar a bebida mais agradável foi adicionada dextrose e edulcorante sucralose na formulação. Para finalizar a formulação a proteína concentrada de soro 35% foi substituída pela proteína concentrada de soro 80% com o objetivo de aumentar o teor de proteína no produto final.

Após realização de análises sensoriais de bancada foi definida a formulação final do recuperador muscular sem adição da microalga *Spirulina*: maltodextrina (Farmac), proteína concentrada do soro de leite 80% (Glanbia), dextrose (Cargill), pré-mix vitamínico e mineral (MCassab) [sulfato de magnésio monohidratado (magnésio), ácido ascórbico (vitamina C), acetato de tocoferol (vitamina E) e sulfato de zinco monohidratado (Zinco)], triglicerídeos de cadeia Média (TCM) (Tovani), aroma idêntico ao natural de limão (Duas Rodas), espessante: goma guar (Doremus), acidulante ácido cítrico (Cargill), edulcorantes acessulfame de potássio (Doremus) e sucralose (TateLyle).

Para o desenvolvimento do recuperador com adição da microalga *Spirulina* foi utilizada como base a formulação do recuperador em que a microalga não foi adicionada, sendo 0,5% a concentração da microalga utilizada no produto, definida através de resultados obtidos em análises sensoriais prévias com produto similar e também por apresentar uma melhor homogeneização.

A formulação do produto com adição de *Spirulina* apresenta além dos ingredientes citados no recuperador sem adição da microalga, aroma de limão mais

acentuado e incorporação da microalga *Spirulina*. E como indicação de consumo 40 g do produto em 350 mL de água, com ingestão durante e após o exercício para permitir que o atleta apresente seu melhor desempenho horas após o exercício ou no dia seguinte. Pois a capacidade de qualquer atleta para seu melhor desempenho está diretamente relacionada na recuperação dos músculos após o exercício.

Após definição da formulação final, os recuperadores com e sem adição de *Spirulina*, juntamente com um produto similar encontrado no mercado, foram submetidos a análises sensoriais para verificar a aceitação destes e intenção de compra por prováveis consumidores, sendo estes 23 provadores masculinos e 18 femininos.

O produto comercial utilizado nas análises sensoriais apresenta os ingredientes, sacarose, proteína concentrada de soro de leite, maltodextrina, frutose, carbonato de magnésio, sal, fosfato de potássio, vitamina E, vitamina C, acidulante ácido cítrico, estabilizante lecitina de soja, aromas e corantes naturais e artificiais. Como indicação de consumo é recomendado 34g em 200mL de água durante o treino. Este produto apresenta valor energético de 140kcal, carboidratos 26g, proteínas 6g e gorduras totais 1g.

Os resultados da aceitação e médias das notas de aceitação global dos recuperadores com e sem *Spirulina*, bem como o produto comercial, avaliados pelos julgadores estão demonstrados na Tabela 11. Os recuperadores desenvolvidos apresentaram médias de aceitação global acima de 6,0, valores estes superiores ao comercial que apresentou média 4,4, abaixo da nota de corte de aceitação (nota 5,0) segundo Stone e Sidel (1993).

Tabela 11 Aceitação global e médias das notas dos recuperadores muscular

Amostra	Aceitação (%)	Media das notas*
Recuperador comercial	55	4,4 ± 2,1 ^a
Recuperador sem <i>Spirulina</i>	73	6,5 ± 1,5 ^b
Recuperador com <i>Spirulina</i>	72	6,5 ± 1,7 ^b

*Letras iguais não diferiram entre si, enquanto letras diferentes apresentaram diferença significativa ao nível de 95% de confiança pelo teste de Tukey.

Segundo Teixeira *et al.* (1987) considera-se o valor 70%, o mínimo a ser atingido para que se considere aceito o produto. Assim sendo, os produtos

desenvolvidos obtiveram índice de aceitação satisfatório, acima de 70%, enquanto o produto comercial não atingiu o índice de aceitação mínimo.

Em relação a intenção de compra verifica-se na Figura 16 que 46,3% dos julgadores “provavelmente compraria” e 12,2% “certamente compraria” o recuperador sem adição de *Spirulina*. Já em relação ao produto com adição da microalga, 24,4% “certamente compraria”, enquanto 4,9 % “certamente compraria” o produto comercial.

Nenhum provador marcou a alternativa “certamente não compraria” para o recuperador com *Spirulina*, enquanto 29,2% e 9,7% escolheram a mesma alternativa para o produto comercial e sem *Spirulina*, respectivamente.

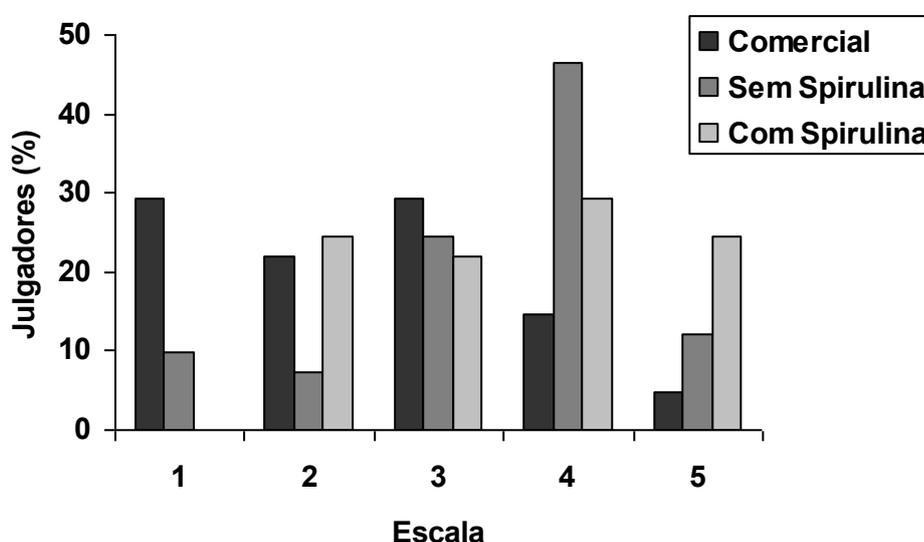


Figura 16 Intenção de compra dos julgadores em relação aos recuperadores muscular (Escala: 1 - certamente não compraria; 2 - provavelmente não compraria; 3 - tenho dúvida se compraria ou não; 4 - provavelmente compraria e 5 - certamente compraria)

De acordo com a Tabela 12 pode-se observar que os recuperadores com e sem *Spirulina* apresentaram teor de carboidratos de 75,8% e 82,2%, respectivamente, com valor diário (VD) de 11% e proteínas 17,2%, com valor diário de 9%. Estes recuperadores foram desenvolvidos procurando manter uma proporção de carboidratos : proteínas de 4:1, pois de acordo com estudos essa razão contribui para uma recuperação mais rápida, pois os atletas não só precisam se hidratar, mas também precisam repor as proteínas consumidas no decorrer do exercício que vão auxiliar na recuperação da massa muscular (HARMON *et al.*, 2007; SAUNDERS *et al.*, 2004)

Durante o exercício prolongado, o organismo utiliza as proteínas presente nos músculos para atender as necessidades de energia. O estudo de Koopman *et al.*, (2004) demonstrou que o consumo de carboidratos juntamente com proteínas durante o exercício pode minimizar a degradação muscular, auxiliar no apoio a síntese muscular e melhorar o equilíbrio de proteína. Em contraste, uma bebida esportiva somente com carboidratos durante o exercício resultou em um aumento na degradação muscular e uma diminuição na síntese protéica.

Em relação a umidade (Tabela 12) os recuperadores apresentaram teores de 6,7% O teor de cinzas ficou abaixo de 2%, já em relação aos lipídios, estes apresentaram a mesma quantidade 2,1% com valor diário de 2%, que foram incorporados na formulação com o objetivo de poupar o glicogênio muscular e hepático e melhorar assim o desempenho em exercícios prolongados.

Os recuperadores sem e com adição de *Spirulina* desenvolvidos apresentaram valor energético de 167 kcal (VD de 8%) e 157 kcal (VD de 8%), respectivamente. Com base na RDC N° 18 (ANVISA, 2010) que aprova o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas estes produtos se enquadram nos requisitos especificados nesta resolução, podendo assim ser classificados como suplementos energéticos para atletas.

Tabela 12 Composição por porção (40 g) dos recuperadores desenvolvidos

Composição	Recuperador com <i>Sirulina</i> (g)	Recuperador sem <i>Spirulina</i> (g)
Cinzas	0,67 ± 0,01	0,74 ± 0,01
Lipídios	0,85 ± 0,01	0,85 ± 0,01
Proteínas	6,97 ± 0,04	6,91 ± 0,03
Carboidratos	30,34 ± 0,16	32,91 ± 0,07
Umidade	2,71 ± 0,04	2,74 ± 0,04

*Resultados são médias de 3 determinações em base seca ± desvios padrão.

O recuperador com adição da microalga *Spirulina* apresenta algumas vantagens em relação ao que não contém esta microalga, pois segundo Thakuri & Jyothi (2007) a *Spirulina* é rica em antioxidantes, vitaminas, minerais, ácidos graxos essenciais, apresenta um teor protéico em torno de 60-70% do seu peso seco e contém todos os aminoácidos essenciais.

Pesquisadores estudaram os danos musculares pós-exercício em ciclistas que beberam uma combinação de carboidratos proteínas ou uma bebida apenas com carboidratos e verificaram que os atletas que ingeriram a combinação de carboidratos e proteínas durante o exercício apresentaram uma redução nos danos musculares mais acentuada, quando comparada com atletas que ingeriram a bebida somente com carboidratos. Os atletas que ingeriram a combinação também relataram uma diminuição das dores musculares 24 h após o exercício (ROMANO-ELY *et al.*, 2006; SAUNDERS *et al.*, 2004).

As análises microbiológicas demonstraram ausência de Coliformes a 45°C e *Salmonella* sp. conforme observa-se na Tabela 13. A partir das análises realizadas, o produto mostrou-se apropriado para consumo humano, de acordo com os padrões legais vigentes (ANVISA, 2001).

Tabela 13 Resultados avaliação microbiológica dos recuperadores muscular

Determinações	Recuperador com <i>Spirulina</i>	Recuperador sem <i>Spirulina</i>	Padrões microbiológicos*
<i>Salmonella</i> sp/25g	ausência	ausência	ausência
Coliformes a 45°C (NMP/g)	< 0,03	< 0,03	5x10 ¹

*RDC n. 12 (ANVISA, 2001).

As isotermas de sorção de umidade dos recuperadores sem e com adição de *Spirulina* desenvolvidos são apresentadas nas Figuras 17 e 18, respectivamente. Conforme observa-se as isotermas apresentaram comportamento semelhante, sendo que o início da aglomeração das amostras ocorreu em atividade de água acima 0,70 para as duas formulações a partir do 13° dia. Fato este não verificado na atividade de água entre 0,22 e 0,57.

A partir do 19° dia em atividade de água 0,9 as amostras começaram a empedrar e acima de 0,70 de atividade de água as amostras apresentaram-se ainda mais aglomeradas e úmidas. Na atividade de água 0,43 e 0,57 as amostras começaram a formar grumos, enquanto na atividade de água 0,22 e 0,32 as amostras não apresentaram alteração.

No 24° dia em atividade de água 0,9 as amostras começaram a apresentar crescimento de fungos e em atividade de água 0,70 e 0,75 as amostras apresentaram-se totalmente aglomeradas e começaram a escurecer. As amostras

estabilizaram em relação ao ganho de peso e apresentaram uma aglomeração mais acentuada em atividades de água 0,43 e 0,57. Com isso definiu-se as umidades críticas 7,14% e 7,10% para o recuperador sem e com *Spirulina*, respectivamente em atividade de água 0,43.

No 31º dia em atividade de água 0,22 as amostras estabilizaram não apresentando alteração e no 36º dia em atividades de água 0,70 e 0,75 as amostras também estabilizaram, porém apresentando um aspecto aglomerado úmido e de coloração escura.

O processo de ganho de umidade promove um aumento da atividade de água do produto que pode levar, dentre outros, a um desenvolvimento microbiano. Como também ao escurecimento não enzimático, a baixas atividades de água, a reação ocorre lentamente, devido à inadequada mobilidade dos reagentes, no entanto, o aumento da atividade de água acelera a reação de escurecimento (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2001).

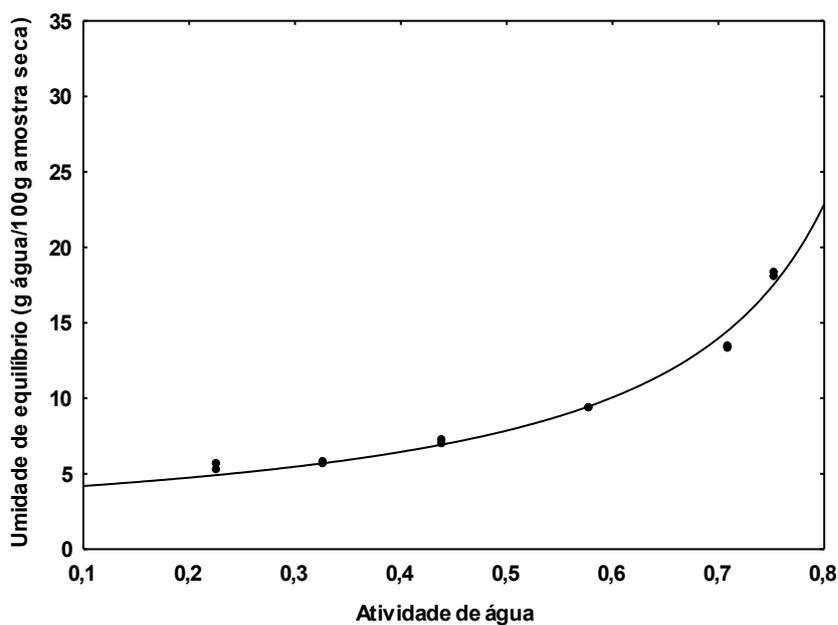


Figura 17 Isoterma de sorção de umidade de recuperador muscular sem *Spirulina*

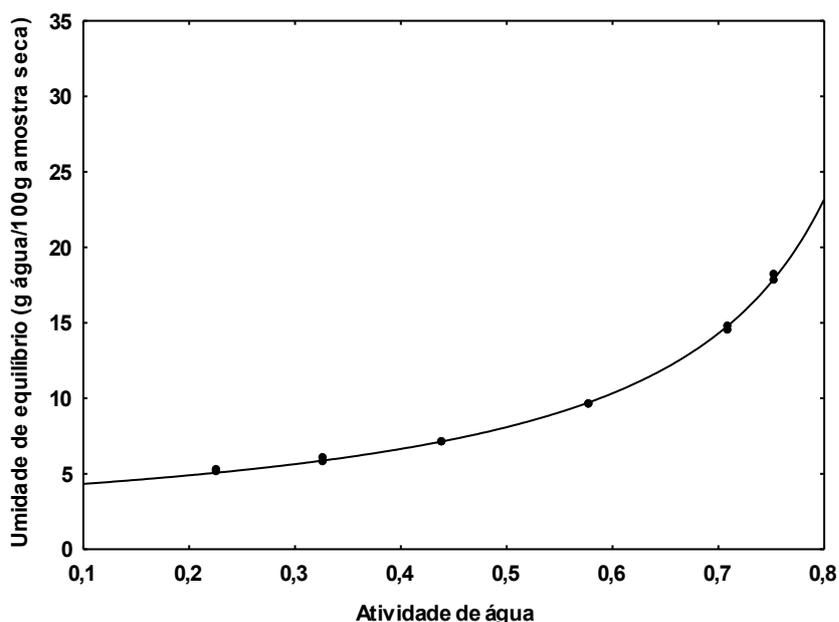


Figura 18 Isoterma de sorção de umidade de recuperador muscular com *Spirulina*

As constantes (C_1 e C_2) determinadas pela equação 3 de Halsey são apresentadas na Tabela 14, como também o erro médio quadrático relativo (EMQR) e de coeficiente de correlação (r), indicando a qualidade do ajuste utilizado. Como observa-se a equação de Halsey utilizada apresentou um bom ajuste dos dados experimentais das isotermas dos recuperadores com e sem *Spirulina*, uma vez que o EMQR obtido foi baixo e o coeficiente de correlação ficou alto.

Tabela 14 Resultados referentes à estimativa de vida útil dos recuperadores

Amostra	C_1^*	C_2^*	EMQR	r	Vida útil (meses)
Recuperador sem <i>Sp</i>	14,01 ± 3,05	1,41 ± 0,10	0,064	0,98	9
Recuperador com <i>Sp</i>	12,36 ± 1,71	1,34 ± 0,06	0,044	0,99	11

* C_1 e C_2 obtidos através da equação 3.

A equação 3 de Halsey ajustada foi substituída na equação 1, apresentada no item 6.6. Em seguida a equação foi integrada no intervalo compreendido entre a umidade inicial dos produtos (6,87% e 6,78% para o recuperador sem e com *Spirulina*, respectivamente) e a umidade crítica definida, visando verificar quais seriam os períodos de vida útil dos recuperadores com e sem adição de *Spirulina*.

A Tabela 14 apresenta o período de vida útil dos recuperadores desenvolvidos sem e com adição de *Spirulina* com base no ganho de umidade destes foi 9 e 11 meses, respectivamente. Esta diferença nos períodos de armazenamento pode ter sido ocasionada pelo fato da diferença entre a umidade crítica e inicial ter sido maior no recuperador com *Spirulina* em relação ao sem *Spirulina*.

Os períodos estimados para os recuperadores desenvolvidos foram semelhantes em relação aos verificados no mercado que são em torno de 12 meses de validade para este tipo de produto, porém vale ressaltar que os períodos de vida útil apresentados foram estimados com base apenas no ganho de umidade. Desta maneira, sugere-se que sejam realizados estudos de estocagem acompanhando a estabilidade dos produtos em termos de análises sensoriais e microbiológicas para verificar possíveis alterações que poderão ocorrer no produto ao longo da vida útil estimada.

CAPÍTULO IV – CONCLUSÃO

8 CONCLUSÃO

Todos os produtos desenvolvidos apresentaram composição que os caracterizam como alimentos para praticantes de atividade física, de acordo com o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas os repositores hidroeletrólíticos podem ser utilizados com a finalidade de repor água e sais minerais eliminados pela transpiração durante atividades físicas.

Como também pode-se classificar os potencializadores muscular desenvolvidos como suplementos de creatina para atletas e os recuperadores muscular como suplementos energéticos para atletas. Assim, os repositores podem ser consumidos antes, durante ou após a atividade física, os potencializadores antes e os recuperadores durante e após.

Os repositores hidroeletrólíticos desenvolvidos apresentaram médias de aceitação global acima do ponto de corte (5,0), sendo que conforme o teste de aceitação realizado pelos praticantes de atividade física constatou-se que as médias foram 7,1 para repositores sem *Spirulina*, 7,0 para comercial e 6,6 para com *Spirulina*, as quais não diferiram entre si significativamente pelo teste de Tukey.

No teste de intenção de compra tanto o repositores com *Spirulina* como o repositores sem *Spirulina*, dentre os 40 provadores que avaliaram as amostras, 79,5% e 92,3%, respectivamente, tiveram atitude de compra entre “certamente compraria” e “tenho dúvidas se compraria ou não o produto”.

Em relação aos potencializadores muscular desenvolvidos, às médias de aceitação global obtidas apresentaram valores acima de 6,4 não apresentando diferença significativa entre eles e o produto comercial.

Quando se verificou a intenção de compra pelos julgadores em relação aos potencializadores desenvolvidos, 87,5% e 77,5% tiveram atitude de compra entre “certamente compraria” e “tenho dúvidas se compraria ou não o produto” para os produtos sem e com *Spirulina* respectivamente.

Os recuperadores muscular desenvolvidos apresentaram médias de aceitação global superiores ao comercial, enquanto os recuperadores obtiveram notas acima de 6, o comercial apresentou média de 4,4, abaixo da nota de corte de aceitação.

De acordo com a intenção de compra verificou-se que 46,3% dos julgadores “provavelmente compraria” e 12,2% “certamente compraria” o recuperador sem adição de *Spirulina*. Já em relação ao produto com adição da microalga, 24,4%

“certamente compraria”, enquanto apenas 4,9 % “certamente compraria” o produto comercial.

As análises microbiológicas realizadas em todos os alimentos desenvolvidos demonstraram ausência de Coliformes a 45°C e *Salmonella* sp., indicando que os produtos mostraram-se apropriados para consumo humano, de acordo com os padrões legais vigentes.

A taxa de permeabilidade de vapor de água para as embalagens de polietileno de alta densidade avaliadas foi $0,8 \text{ g}_{\text{H}_2\text{O}} \text{ m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$ a 90% de umidade relativa e 30°C, apresentando alta barreira ao vapor de água.

Em relação ao período de vida útil dos alimentos desenvolvidos, estes apresentaram uma estimativa entre 9 e 11 meses, como estes períodos foram estimados com base apenas no ganho de umidade, sugere-se acompanhar os produtos durante estocagem em relação à possível contaminação microbiana e efetuar análises sensoriais periódicas para assegurar que os produtos atinjam esta estimativa também em termos microbiológicos e sensoriais.

CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABENUTRI – Associação Brasileira das Empresas de Produtos Nutricionais. Disponível em: http://abenuutri.org/yahoo_site_admin/assets/docs/apresentacaomercadosite.2478082.pdf. Acesso em: 01/03/2010.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Análise sensorial dos alimentos e bebidas. Terminologia – NBR 12806. São Paulo, 1993.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos: Determinação do número mais provável (NMP) – NBR 12122. Rio de Janeiro, 1991.

ADA - American Dietetic Association, American College Sports Medicine, Dietitians of Canada. Joint Position Statement. Nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc.* v. 41, p. 709-731, 2009.

ALANAC - ASSOCIAÇÃO DOS LABORATÓRIOS FARMACÊUTICOS NACIONAIS. Disponível em: www.alanac.org.br/noticias.asp?id=78&p=3. Acesso em: 15/03/2009.

ALVES, R. M. V. Especificação de embalagem usando como ferramentas isoterma de sorção e modelo matemático. In: JARDIM, D. C. P., GERMER, S. P. M. Atividade de água em alimentos. ITAL, Capítulo 7. 20p., Campinas, 1997.

ALVES, R. M. V.; BORDIN, M. R.; GARCIA, E. E. C. Aplicação de um modelo matemático na estimativa da vida de prateleira de biscoitos „cream cracker”. *Coletânea do ITAL*, v. 26, p. 89 – 101, Campinas, 1996.

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Outdoor and indoor cultivation of *Spirulina platensis* in the extreme south of Brazil. *Zeitschrift fur Naturforschung*, v. 63, p. 85-90, 2008.

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture*, v. 264, p. 130–134, 2007.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas. Resolução nº 18, de 27 de abril de 2010.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. VII Lista dos novos ingredientes aprovados. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 02/03/2009.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico para Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997.

APPLEGATE, E. A. Effective nutritional ergogenic aids. *International Journal of Sport Nutrition*, v.9, p.229-239, 1999.

ARAÚJO, A. C. M; SOARES, Y. N. G. Perfil de Utilização de Repositores Protéicos nas Academias de Belém, Pará. *Revista de Nutrição*. v. 12, p. 65-80, 1999.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard test methods for water vapor transmission of materials - E96/E96-05, Philadelphia, 2005.

BACH, A. C; BABAYAN, V. K. Medium-chain triglycerides: an update. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 36, p. 950-962, 1982.

BAYLIS, A.; CAMERON-SMITH, D.; BURKE, L. M. Inadvertent doping through supplement use by athletes: assessment and management of the risk in Australia. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v.11, p. 365-383, 2001.

BERRY, D. From starch to maltodextrin. 07/2005. Disponível em: www.foodproductdesign.com/articles/465/465_0705ELE.html. Acesso em: 10/03/2009.

BIZOT, H. Using the G. A. B. model to construct sorption isothermas. In: ALVES, R. M. V.; BORDIN, M. R.; GARCIA, E. E. C. Aplicação de um modelo matemático na estimativa da vida de prateleira de biscoitos „cream cracker”. *Coletânea do ITAL*, v. 26, p. 89 – 101, Campinas, 1996.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. v. 46, p. 31-37, 1959.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Introdução à química de alimentos. 2ª ed. 223p, São Paulo, Varela, 1992.

BOIRIE, Y.; DANGIN, M.; GACHON, P.; VASSON, M. P.; MAUBOIS, J. L.; BEAUFRÈRE B. Slow and fast dietary proteins differently modulate post-prandial protein secretion. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 94, p. 14930-14935, 1997.

BRANGER, B.; CADUDAL, J. L.; DELOBEL, M.; OUOBA, H.; YAMEOGO, P.; OUEDRAOGO, D.; GUERIN, D.; VALEA, A.; ZOMBRE, C.; ANCEL, P. *Spirulina* as a food supplement in case of infant malnutrition in Burkina-Faso. Archives de pédiatrie, v. 10, p. 424–431, 2003.

BURKE, L. M.; KIENS, B.; IVY, J. L. Carbohydrate and fat for training and recovery. Journal of Sports Science, v. 22, p.15-30, 2004.

BURKE, L. M.; READ, R. S. Dietary supplements in sport. Sports Medicine, v.1, p. 43-65, 1993.

CALBET, J. A. L; MACLEAN, D. A. Plasma glucagon and insulin responses depend on the rate of appearance of amino acids after ingestion of different protein solutions in humans. Journal Nutrition. v. 132, p. 2174-2182, 2002.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos para fins especiais: dietéticos. São Paulo: Livraria Varela, 1995.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 40, p. 1123-1128, 2005.

CARVALHO, T. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 9, p. 43-56, 2003.

CASA, D. J.; ARMSTRONG, L. E; HILLMAN, S. K; MOUNTAIN, S. J.; REIFF, R. V.; RICH, B. S. E. ; ROBERTS, W. O; STONE, J. A. NATA: National Athletics Trainer's Association Position Statement. Journal of Athletic Training. v.35, p. 212- 224, 2000.

COGGAN, A. & COYLE. E.F. Carbohydrate ingestion during prolonged exercise: effects on metabolism and performance. In: HOLLOSZY, J. O., Exercise and Sports Science Reviews. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 19:1-40, 1991.

COHEN, Z. The chemicals of *Spirulina*. In: VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira)* Physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 1997.

COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 1489–1493, 2007a.

COLLA, L. M.; FURLONG, E. B.; COSTA, J. A. V. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. *Brazilian archives of biology and technology*. v. 50, p.161–167, 2007b.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. *Bioresource Technology*, v. 92, p. 237–241, 2004.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. *Spirulina platensis* growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions. *Z. Naturforsch*, v. 58, p. 76–80, 2003.

COYLE, E. D. Carbohydrate Supplementation during Exercise. *Journal Nutrition*, v. 122, p. 788-795,1992.

DANGIN, M.; BOIURIE, Y.; GARCIA-RODENAS, C.; GACHON, P.; FAUQUANT, J.; CALLIER, P.; BALLEVRE, O.; BEAUFRERE, B. The digestion rate is an independent regulating factor of post prandial protein retention. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*, v. 280, p. E340-E348, 2001.

DEMANT, T. W.,; RHODES, E. C. Effects of creatine supplementation on exercise performance. *Sports Medicine*, v. 28, p. 49-60, 1999.

DILLON, J. C.; PHUN, A. P.; DUBACQ, J. P. Nutritional value of the algae *Spirulina*. *World Review of Nutrition and Dietetics*. v. 77, p. 32–46, 1995.

DITCHFIELD, C. Estudos dos Métodos para a Medida da Atividade de Água. 195f. Dissertação (Mestre em Engenharia). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FALQUET, J; HURNI, J. Spiruline Aspects Nutritionnels. *Antenna Technology*, 1996. Disponível em: www.antenna.ch. Acesso em: 15/04/2009.

- FARIAS, E. V.; YOTSUYANAGI, K. Técnicas de Análise Sensorial. Campinas. ITAL. 116p., 2002.
- FERREIRA, A. M. D.; RIBEIRO, B. G.; SOARES, E. A. Consumo de carboidratos e lipídios no desempenho em exercícios de ultra-resistência. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 7, p. 67-74, 2001.
- FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2007. Bacteriological Analytical Manual Online. Disponível em: www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html. Acesso em: 06/03/2009.
- FOX, R. D. *Spirulina* production & potencial. France: Edisud, 232 p., 1996.
- FROILAND, K.; KOSZEWSKI, W.; HINGST, J.; KOPECKY, L. Nutritional Supplement Use Among College Athletes and Their Sources of Information. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism. v. 14, p. 104-120, 2004.
- FU, B.; LABUZA, T. P. Shelf-life prediction: theory and application. Food Control. v. 4, p.125-133, 1993.
- FURLAN, V. J. M.; MARGARITES, A. C. F.; MOREIRA, J. B.; SCHMIDT, V. W., COSTA, J. A. V. Quantificação de Carboidratos em Microalgas In: XX III Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia (Cricte), Joinville/SC, 2009.
- GALLOWAY, S. D. Dehydration, rehydration, and exercise in the heat: rehydration strategies for athletic competition. Journal of Applied Physiology, v. 24, p. 188-200, 1999.
- GARCIA, E. E. C.; PADULA, M.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L. Embalagens plásticas – propriedades de barreira. 44p. CETEA/ITAL, Campinas, 1989.
- GARCÍA, J. A. V.; NAVARRO, S. Z. Necesidades nutricionales en deportistas. Archivos de Medicina del Deporte, v. 8, p. 169-179, 1991.
- GRACE, M. F. C; WILLE, S. A. C; WILLE, H. Práticas de desenvolvimento de novos produtos alimentícios na indústria paranaense. Revista FAE. v. 7, p. 33-45, 2004.
- GREEN, A. L.; HULTMAN, E.; MACDONALD, I. A.; SEWELL, D. A.; GREENHAFF, P. L. Carbohydrate ingestion augments skeletal muscle creatine accumulation during creatine supplementation in humans. American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism, v. 271, p. E821-E826, 1996.

GREENLEAF, J. E. Problem: thirst, drinking behavior, and involuntary dehydration. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. v. 24, p. 645-656, 1992.

HALL, C.; LANE, A. Effects of rapid weight loss on mood and performance among amateur boxers. *British Journal of Sports Medicine*, v. 35, p. 390-395, 2001.

HARMON, J. H.; BURCKHARD, J. R.; SEIFERT, J. G. Ingestion of a carbohydrate-protein supplement improves performance during repeated bouts of high intensity cycling. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. v.39, p. S363, 2007.

HIRAHASHI, T.; MATSUMOTO, M.; HAZEKI, K.; SAEKI, Y.; UI, M.; SEYA, T. Activation of the human innate system by *Spirulina*: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *International Immunopharmacology*. v. 2, p. 423 – 434, 2002.

HIRSCHBRUCH, M. D.; LAJOLO, F. M.; PEREIRA, R. F. Consumo de suplementos por alunos de academias de ginástica em São Paulo. *Revista de Nutrição*, v. 16, p. 265-272, 2003.

HULTMAN, E.; SODERLUND, K.; TIMMONS, J. A.; CEDERBLAD, G.; GREENHAFF, P. L. Muscle creatine loading in men. *Journal of Applied Physiology*, v. 81, p. 232-237, 1996.

JEUKENDRUP, A. E.; SARIS, W. H. M.; WAGENMAKERS, A. J. M. Fat metabolism during exercise: a review. Part I: Fatty acid mobilization and muscle metabolism. *International Journal of Sports Medicine*, v. 19, p.231-44, 1998.

KING, J. C.; SHAMES, D. M.; WOODHOUSE, L. Zinc homeostasis in humans. *Journal of Nutrition*, v. 130, p. 1360S-1366S, 2000.

KOOPMAN, R.; PANNEMANS, D. L. E.; JEUKENDRUP, A. E.; GIJSEN, A. P.; SENDEN, J. M. G. HALLIDAY, D.; SARIS, W. H. M.; VAN LOON, L. J. C.; WAGENMAKERS, A. J. M. Combined ingestion of protein and carbohydrate improves protein balance during ultra-endurance exercise. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*, v. 287, p. E712–E720, 2004.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Revista de Nutrição*, v. 16, p. 433-441, 2003.

KUROSAWA, Y.; HAMAOKA, T.; KATSUMURA, T.; KUWAMORI, M.; KIMURA, N.; SAKO, T.; CHANCE, B. Creatine supplementation enhances anaerobic ATP synthesis

during a single sec maximal handgrip exercise. *Molecular & Cellular Biochemistry*. v. 244, p. 105-112, 2003.

LABUZA, T. P.; SCHMIDL, M. K. Use of sensory data in the shelf-life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation. *Cereal Foods World*. v. 33, p. 193-205, 1988.

LAMPILA, P.; LAHTEENMAKI, L. Consumers' attitudes towards high pressure freezing of food. *British Food Journal*. v. 109, p. 838-851, 2007.

LEMON, P. W. Beyond the zone: protein needs of active individuals. *Journal of the American College of Nutrition*, v.19, p.513S-521S, 2000.

LEMON, P. W. Protein requirements of soccer. *J. Sports Sci*. v.12, p.S17-S22, 1994.

LIMA, D. R. Manual de farmacologia clínica, terapêutica e toxicologia. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 1252 p., 1995.

LORET, C.; MEUNIER, V.; FRITH, W. J.; FRYER, P. J. Rheological characterization of the gelation behaviour of maltodextrin aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*. v.57, p. 153- 163, 2004.

LUKASKI, H. C. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*. v. 20, p. 632-644, 2004.

MARCHI, R.; MONTEIRO, M.; CARDELLO, H. M. A. B. Avaliação da vida de prateleira de um isotônico natural de maracujá. *Braz. J. Food Technol*. v. 6, p. 291-300, 2003.

MAUGHAN, R. The athlete's diet: nutritional goals and dietary strategies. *Proceedings of the Nutrition Society*. v. 61, p. 87-96, 2002.

MAUGHAN, R. J.; LEIPER, J. B. Limitations to fluid replacement during exercise. *Canadian Journal of Applied Physiology*, v. 2, p. 173-87, 1999.

MAUGHAN, R. J. Energy and macronutrient intake of professional football (soccer) players. *British Journal of Sports Medicine*, v.31, p.45-47, 1997.

MAUGHAN, R. J. Fluid balance and exercise. *International Journal of Sports Medicine*, v. 13, p. 132-135, 1992.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. Fundamentos de Fisiologia do Exercício. 2 ed. 667 p., Rio de Janeiro, 2002.

MCCLUNG, M.; HAND, A.; DAVIS, M.; CARSON, A. Effect of creatine supplementation on cardiac muscle of exercise-stressed rats. *European Journal of Applied Physiology*, v. 89, p. 26-33, 2003.

Mc GREGOR, S. J.; NICHOLAS, C. W.; LAKOMI, H. K. A.; WILLIAMS, C. The influence of intermittent high-intensity shuttle running and fluid ingestion on the performance of a soccer skill. *Journal of Sports Science*, v.17, p. 895-903, 1999.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. *Sensory Evaluation Techniques*. 2.ed. Flórida – USA: CRC Press, 354 p., 1999.

MENDES, R. R.; TIRAPEGUI, J. Creatine: the nutritional supplement for exercise – current concepts. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 52, p.117-127, 2002.

METGES, C. C.; WOLFRAM, G. Medium and long-chain triglycerides labeled with C: comparison of oxidation after oral or parenteral administration in humans. *Journal Nutrition*. v. 21, p. 31-36, 1991.

MEYER, F.; PERRONE, C. A. Hidratação pós-exercício - Recomendações e Fundamentação científica. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*. v. 12, p. 87-90, 2004.

MILLER, G. L. Use of de dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. v. 31, p. 426-428, 1959.

MIRANDA, M. S.; CINTRA, R. G.; BARROS, S. B. M.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina máxima*, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v. 31, p.1075-1079, 1998.

MONTIJANO, H.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; BORREGO, F. Technological properties and regulatory status of high intensity sweeteners in the European Union. *Food Science and Technology Internacional*. v. 4, p. 5-16, 1998.

MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. *Zeitschrift fur Naturforschung*. v. 63, p. 144-150, 2008.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*. v. 129, p. 439–445, 2007.

- MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: Características físicoquímicas, sensoriais e digestibilidade. *Alimentos e Nutrição*. v. 17, p. 323-328, 2006.
- MURRAY, B. Reposição de Fluidos. *Sports Science Exchange*. v. 13, p.1-6, 1997.
- MURRAY, R., PAUL, G. L, SEIFERT, J. G., EDDY, D. E. Responses to varying rates of carbohydrate ingestion during exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 23, p. 713-718, 1991.
- NASSIS, G. P; WILLIAMS, C.; CHISNALL, P. Effect of a carbohydrate-electrolyte drink on endurance capacity prolonged intermittent high intensity running. *British Journal of Sports Medicine*, v. 32, p. 248-252, 1998.
- NETO, A. L.; JUNIOR, O. C. Identificação de oportunidades para novos produtos: um processo permanente. IV Congresso Brasileiro Gestão e Desenvolvimento de Produtos. Gramado, RS, 2003.
- NIEMAN, D. C.; HENSON, D. A.; SMITH, L. L.; UTTER, A. C.; VINCI, D. M.; DAVIS, J. M.; KAMINSKY, D. E.; SHUTE, M. Cytokine changes after a marathon race. *Journal of Applied Physiology*, v. 91, p. 109-114, 2001.
- NIEPER, A. Nutritional supplement practices in UK junior national track and field athletes . *British Journal of Sports Medicine*, v. 39, p. 645-649, 2005.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. 2 ed. v. 1, São Paulo, 1976.
- OLIVEIRA, M. C. L.; MOURA, J. P.; BENEDET, H. D. Caracterização química e avaliação sensorial de bebida hidroeletrólítica fermentada obtida a partir de permeado de leite tipo C. *Revista Analytica*. v. 23, 2006.
- ORTH, U.; KOENIG, H. F.; FIRBASOVA, S. Cross-national differences in consumer response to the framing of advertising messages: an exploratory comparison from Central Europe. *European Journal of Marketing*. v. 41, p. 327-348, 2007.
- OSTOJIC, S. M.; MAZIC, S. Effects of a carbohydrate-electrolyte drink on specific soccer tests and performance. *Journal of Science and Medicine*, v.1, p. 47-53, 2002.
- PADULA, M. Influência da embalagem na vida de prateleira de alimentos. In: *Reações de transformações e vida de prateleira de alimentos processados – Manual técnico nº 6*, Cap. 4, p. 4-17. Campinas,1996.

PARISE, G.; YARASHESKI, K. E. The utility of resistance exercise training and amino acid supplementation for reversing age-associated decrements in muscle protein mass and function. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. v. 3, p. 489-495, 2000.

PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Estudo da solubilidade das proteínas presentes no soro de leite e na clara de ovo. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v. 5, p. 57-65, 2003.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. *Análise Sensorial para a Avaliação da Qualidade dos Alimentos*. 268p. Rio Grande, 2006.

RADMANN, E. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. *Aquaculture*, v. 265, p.118–126, 2007.

RICHMOND, A. *Handbook of microalgal mass culture*. Boston: CRC Press, 1990.

REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 23, p. 23–28, 2006.

ROMANO-ELY, B. C.; TODD, M. K.; SAUNDERS, M. J.; ST.LAURENT, T. Effect of an Isocaloric Carbohydrate-Protein-Antioxidant Drink on Cycling Performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. v. 38, p. 1608-1616, 2006.

SAHELIAN, R.; TUTTLE, D. Creatine nature's muscle builder. Ed. Avery Publishing Group, 1997. In: ALVES, I. A. Recursos Ergogênicos Nutricionais. *Revista Mineira de Educação Física*, v. 10, p. 23 - 50, 2002.

SANZ-RICO, J.; FRONTERA, W. R.; RIVERA, M. A.; RIVERA-BROWN, A.; MOLE, P. A.; MEREDITH, C. N. Dietary and performance assessment of elite soccer players during a period of intense training. *International Journal of Sport Nutrition*, v. 8, p. 230-240, 1998.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis. CETEA/ITAL. 215p. Campinas, 2001.

SAUNDERS, M. J.; KANE, M. D.; TODD, M. K. Effects of a Carbohydrate-Protein Beverage on Cycling Endurance and Muscle Damage. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 36, p. 1233-1238, 2004.

SAVITA, S. M.; SHEELA, K.; SUNANDA, S.; SHANKAR, A. G.; RAMAKRISHNA, P. Stevia rebaudiana – A functional Component for food industry. *Journal Human Ecology*, v.15, p. 261-264, 2004.

SBME - SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.9, p.43-56, 2003.

SCHNEIDER, A. P.; MACHADO, D. Z. Consumo de suplementos alimentares entre freqüentadores de uma academia de ginástica de Porto Alegre – RS. *Nutrição em pauta*. v. 78, p.12-15, 2006.

SCHOKMAM, C. P.; RUTISHAUSER, I. H. E.; WALLACE, R. J. Pre- and pos game micronutrient intake of a group of elite australian football players. *International Journal of Sport Nutrition*, v. 9, p.60-69, 1999.

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

SHEPARD, R. J. Biology and medicine of soccer: an update. *Journal of Sports Sciences*, v. 17, p. 757-786, 1999.

SHIMOMURA, Y.; MURAKAMI, T.; NAKAI, N.; NAGASAKI, M.; HARRIS, R. A. Exercise Promotes BCAA Catabolism: Effects of BCAA Supplementation on Skeletal Muscle during Exercise. *The Journal of Nutrition*, v.134, p.1583-1587, 2004.

SMOLAK, L.; MURNEN, S.; RUBLE, A. Female athletes and eating problems: a meta-analysis. *International Journal of Eating Disorders*, v. 27, p. 371-380, 2000.

SOBAL, J.; MARQUART, L. F. Vitamin/mineral supplement use among athletes: a review of the literature. *International Journal of Sport Nutrition*, v. 4, p. 320-334, 1994.

STOLEN, T.; CHAMARI, K.; CASTAGNA, C.; WISLOFF, U. Physiology of soccer: an update. *Sports Medicine*, v. 35, p. 501-36, 2005.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory Evaluation Practices. New York – USA: Academic Press, 338 p., 1993.

TEIXEIRA, E.; MEINERT E. M.; BARBETTA, P. A. Análise sensorial de alimentos. Florianópolis: UFSC, 180 p, 1987.

TEIXEIRA NETO, R. O. Isotermas de sorção de umidade: técnicas de obtenção e aplicações. In: JARDIM, D. C. P., GERMER, S. P. M. Atividade de água em alimentos. ITAL, Capítulo 6, 11p., Campinas, 1997.

THAAKUR, S. R.; JYOTH, B. Effect of *spirulina maxima* on the haloperidol induced tardive dyskinesia and oxidative stress in rats. Journal of Neural Transmission. v.114, p.1217-25, 2007.

THOMAS, C.; PERREY, S.; BEN SAAD, H.; DELAGE, M.; DUPUY, A. M.; CRISTOL, J. P.; MERCIER, J. Effects of a Supplementation during Exercise and Recovery. International Journal of Sports Medicine. v. 28, p. 703-712, 2007.

THONG, F. S. L.; MCLEAN, C.; GRAHAM, T. E. Plasma leptin in female athletes: relationship with body fat, reproductive, nutritional, and endocrine factors. Journal of Applied Physiology, v. 88, p. 2037-2044, 2000.

TIPTON, K. D.; WOLFE, R. R. Protein and amino acids for athletes. Journal of Sports Sciences, v.22, p.65-79, 2003.

TIRAPÉGUI, J. Nutrição, metabolismo e suplementação na atividade física. 350p., São Paulo, 2005.

TOMASELLI, I. Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina)*. In: VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira)* Physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 1997.

USDA - United States Department of Agriculture. Disponível em: www.cnpp.usda.gov/MyPyramid-breakout.htm. Acesso em: 06/03/2009.

VITALI, A. A.; TEIXEIRA NETO, R. O.; GERMER, S. P. M. Testes acelerados de vida de prateleira. In: MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M. Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados. ITAL, Capítulo 7, 7p., Campinas, 2004.

VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira)* Physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 1997.

WILLE, G. M. F. C.; WILLE, S. A. C.; FREITAS, R. J. S.; HARACEMIV, S. M. C.; PENTEADO, P. T. P. Perfil dos Técnicos que Desenvolvem Produtos Alimentícios. Visão Acadêmica. v. 5, p. 125-130, 2004.

WOLFE, R. R. Protein supplements and exercise. American Journal of Clinical Nutrition, v. 72, p. 551s-557s, 2000.

WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews*, v. 80, p. 1107-1213, 2000.

ZIEGENFUSS, T. N.; ROGERS, M.; LOWERY, L.; MULLINS, N.; MENDEL, R.; ANTONIO, J.; LEMON, P. Effect of creatine loading on anaerobic performance and skeletal muscle volume in NCAA Division I Athletes. *Nutrition*. v. 18, p. 397-402, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - Determinação de carboidratos por adaptação do método de DNS (miller, 1959), com prévia hidrólise ácida dos polissacarídeos (FURLAN *et al.*, 2009).

O pré-tratamento ácido consiste na utilização de 1g de amostra seca das microalgas e adição de 100 mL de HCl 1,5 N em erlenmeyer de 250 mL; para a completa hidrólise dos oligômeros restantes, o erlenmeyer foi fechado com papel alumínio e autoclavado a uma temperatura de 121°C, a 1,1 atm durante 20 min. Após decompressão da autoclave, o frasco foi retirado e resfriado à temperatura ambiente, sendo a mistura reacional neutralizada inicialmente com NaOH 40% e em seguida com NaOH 10%. Esta mistura foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL, na qual se adicionou 5 mL de ferrocianeto de potássio 15% (Carrez I) e 5 mL de sulfato ou acetato de zinco 30% (Carrez II), agitando-se após cada adição. Posteriormente, o volume foi completado com água destilada, homogeneizando a mistura. A solução permaneceu em repouso por 15 minutos para a decantação do precipitado e após foi realizada a filtração em papel filtro.

Do filtrado foi transferido um volume de 125 mL para um becker, adicionando-se 2,5 mL de álcool etílico 99,5% e 10 mL de tampão acetato, agitando-se a solução durante 10 minutos. Em seguida a mistura foi levada a um banho-maria a 70°C por 20 minutos com breve agitação em intervalos de 5 minutos. Após, foi acrescentado 1 mL de tungstato de sódio 12%, e a mistura foi filtrada, desprezando as 10 primeiras gotas do filtrado, e então foi retirado 1 mL do hidrolisado para realizar a determinação dos açúcares redutores totais por espectrofotometria a 546 nm, utilizando-se como padrão uma curva de glicose (0,1-1,0 mg/mL).

APÊNDICE 2 - Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos repositores com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Julgadores	Notas repositor sem <i>Spirulina</i>	Notas repositor 0,5% <i>Spirulina</i>	Notas Repositor 1% <i>Spirulina</i>
1	9	7	8
2	8	8	5
3	7	7	1
4	8	9	6
5	5	9	6
6	7	9	8
7	6	7	3
8	7	6	2
9	8	8	6
10	7	8	7
11	7	8	9
12	9	8	5
13	7	9	6
14	5	7	4
15	6	8	5
16	7	8	2
17	7	7	6
18	8	9	7
19	8	8	7
20	4	9	8
21	5	9	9
22	9	9	8
23	9	6	6
24	9	9	7
25	8	9	2
26	7	6	2
27	6	7	6
28	7	6	3
29	8	8	8
30	7	9	7
31	7	7	6
32	2	7	9
33	7	9	4
34	6	7	5
35	9	7	6

APÊNDICE 3 – Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos repositores.

Julgadores	Notas repositores comercial	Notas repositores sem <i>Spirulina</i>	Notas repositores com <i>Spirulina</i>
1	3	8	8
2	7	7	6
3	4	6	8
4	8	9	7
5	7	8	6
6	9	8	7
7	8	7	6
8	9	8	7
9	7	8	6
10	9	7	8
11	6	5	8
12	8	5	2
13	4	5	6
14	7	8	8
15	8	8	8
16	8	4	6
17	6	9	9
18	8	7	4
19	7	5	6
20	7	8	2
21	4	9	9
22	7	9	8
23	8	6	8
24	7	8	7
25	7	6	7
26	4	7	4
27	8	7	7
28	7	6	4
29	7	7	7
30	8	7	4
31	8	6	7
32	6	7	8
33	7	7	8
34	9	8	9
35	7	8	6
36	8	7	6
37	8	7	6
38	7	7	5
39	6	8	9
40	8	7	9

APÊNDICE 4 - Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos potencializadores.

Julgadores	Notas potencializador comercial	Notas potencializador sem <i>Spirulina</i>	Notas potencializador com <i>Spirulina</i>
1	8	7	4
2	9	8	3
3	6	8	6
4	7	9	7
5	7	6	8
6	6	5	2
7	9	9	8
8	7	6	6
9	6	5	5
10	9	6	7
11	8	3	4
12	7	6	6
13	9	5	4
14	7	7	3
15	6	5	8
16	8	8	9
17	7	3	6
18	7	8	7
19	9	5	9
20	5	6	8
21	8	6	6
22	7	5	7
23	7	8	7
24	7	8	3
25	7	8	8
26	6	6	7
27	7	6	6
28	7	7	8
29	2	6	8
30	4	7	8
31	8	8	4
32	6	7	4
33	4	7	6
34	4	9	7
35	8	7	7
36	7	7	6
37	2	7	7
38	8	4	9
39	9	8	8
40	7	7	8

APÊNDICE 5 – Notas atribuídas pelos julgadores referentes aos recuperadores.

Julgadores	Notas recuperador comercial	Notas recuperador sem <i>Spirulina</i>	Notas recuperador com <i>Spirulina</i>
1	4	8	7
2	5	8	7
3	4	6	6
4	4	7	8
5	7	4	6
6	1	7	3
7	6	7	7
8	5	8	7
9	6	7	5
10	1	4	7
11	2	7	5
12	6	7	7
13	1	5	8
14	2	8	7
15	5	9	8
16	5	7	8
17	2	7	4
18	4	6	8
19	4	6	6
20	8	7	6
21	4	6	4
22	6	5	3
23	5	7	9
24	2	6	8
25	8	7	9
26	3	7	7
27	3	7	6
28	6	6	8
29	1	4	7
30	2	6	4
31	6	8	8
32	4	7	7
33	8	1	4
34	6	5	5
35	7	5	5
36	7	8	9
37	4	7	7
38	4	8	6
39	7	7	8
40	6	8	8
41	1	8	3