



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
DE PROCESSOS**



DOUTORADO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

**SECAGEM DE *SPIRULINA* (*Spirulina platensis*) E UTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO
DE BISCOITOS**

NILCIMELLY RODRIGUES DONATO

**Campina Grande – Paraíba
FEVEREIRO, 2015**

SECAGEM DE *SPIRULINA* (*Spirulina platensis*) E UTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE BISCOITOS

NILCIMELLY RODRIGUES DONATO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Processos.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Desenvolvimento de Processos

ORIENTADORES: Prof. Dr. Alexandre José de Melo Queiroz

Prof.^a. Dr.^a. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo

**Campina Grande - Paraíba
FEVEREIRO – 2015**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

D677s Donato, Nilcimelly Rodrigues.
Secagem de *spirulina* (*Spirulina platensis*) e utilização na produção de biscoitos / Nilcimelly Rodrigues Donato. - Campina Grande, 2015.
117 f.: il. Color.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.

"Orientação: Prof. Dr. Alexandre José de Melo Queiroz, Prof^ª. Dr^ª. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo".

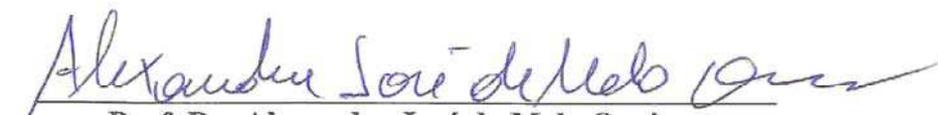
Referências.

1. Microalgas. 2. Liofilização. 3. Secagem por aspersão. 4. Secagem convectiva. 5. Armazenamento. I. Queiroz, Alexandre José de Melo. II. Figueirêdo, Rossana Maria Feitosa de. III. Título.

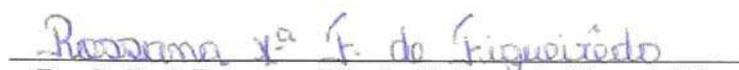
CDU658.5:528.26/27(043)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO DE
NILCIMELLY RODRIGUES DONATO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS DO CENTRO DE CIÊNCIAS E
TECNOLOGIA

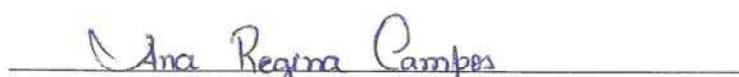
Tese de Doutorado **aprovada com distinção** em 26 de fevereiro de 2015


Prof. Dr. Alexandre José de Melo Queiroz

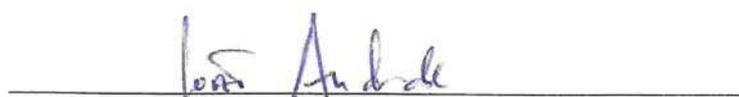
Orientador – UAEA/UFCG


Prof.^a. Dr.^a. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo

Orientadora – UAEA/UFCG


Prof.^a. Dr.^a. Ana Regina Nascimento Campos

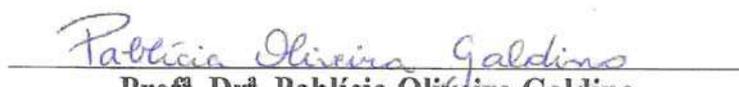
Examinadora - UAE/UFCG


Prof.^o. Dr.^o. João Andrade da Silva

Examinador – CTDR/UFPB


Prof.^a. Dr.^a. Maria Elicidy Gomes de Oliveira

Examinadora – UAS/UFCG


Prof.^a. Dr.^a. Pablicia Oliveira Galdino

Examinadora – CCT/UEPB

*"Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu
não teria saído do lugar".
Chico Xavier*

*Dedico a Deus todo meu trabalho, sem Sua força, Sua companhia e
Seu ímenso amor, nada seria.*

AGRADECIMENTOS

Deus, toda a minha gratidão, por me fazer acreditar que sou capaz de tudo a que me proponho, pela coragem e perseverança durante este desafio.

Minha família, tão essencial em minha existência e equilíbrio, meu eterno exemplo, a meus pais, Nilson Donato e Maria Amélia, e a meu irmão, Hygor, muito obrigada por todo amor e dedicação; vocês são a origem do que hoje sou. Meus grandes e imensuráveis amores, meu esposo, Júnior, companheiro fiel em todas as horas, detentor do aconchego de minha vida, e a nosso filho Daniel, obrigada por fazer de mim a mãe mais feliz do mundo com seu sorriso cheio de amor e alegria, principalmente nas horas de angústia e desespero.

A todos da minha família, pois sei que oraram, torceram, me ajudaram, me incentivaram e vibraram com minha trajetória.

À Prof^ª. Rossana, pela acolhida, ensinamentos, confiança, atenção, paciência e principalmente pela amizade. Saiba que será um exemplo de docente a ser seguido por mim, admiro tamanha dedicação e profissionalismo.

Ao Prof. Alexandre, pela confiança e ensinamentos, meu muito obrigada.

A todos os professores com os quais tive a oportunidade de conviver e aprender.

Aos meus amigos de jornada, na sede de aprender que, por muitas vezes, dividimos muito mais que conhecimentos e ensinamentos; também compartilhamos alegrias e tristezas, sorrisos e lágrimas; a vocês, toda a minha gratidão: Regilane, Elisabete, Shirlyanne, Dani, Karlla, Vanessa, Emanuel, Diego, Franciraldo, Regina, Plúvia, Joyce, Jair, Marco, Flávio, Taciano, Débora, Marcela, Vinicius e Tiago.

Às amigas com as quais tenho o prazer de dividir meu ambiente de trabalho e que muito me estimulam e acreditam em meu potencial: Marília, Carol, Jana, Juliana, Mayara, Flavinha, Camilinha, Karis, Iza, Gigliola, Jailane e Raphaella, especialmente a Elieidy, que há muito tempo é alvo de minha admiração tanto pela pessoa maravilhosa e doce que é, como pela profissional dedicada, exemplar e sobretudo generosa, muito comprometida com a arte de ensinar!

A todos os meus alunos, por eles venci desafios como docente e pesquisadora, a fim de lhes oferecer o melhor de mim para formá-los da maior maneira que eu posso fazer; muito obrigada especialmente a Mayara, Carol, Iris, Raquel, Heloisa e Dani.

À banca, por todas as suas sugestões e contribuições.

À Fazenda Tamanduá, à UFCG, CNPq e os Laboratórios envolvidos, pela parceria e confiança.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE QUADROS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
RESUMO.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 - Objetivo geral.....	2
1.1.1 - Objetivos específicos.....	2
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 - Microalga – <i>Spirulina platensis</i>	4
2.2 - Secagem convectiva.....	9
2.3 - Secagem por liofilização.....	11
2.4 - Secagem por aspersão.....	16
2.5 - Enriquecimento de produtos alimentícios.....	19
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 - Matéria-prima.....	22
3.2 - Processamento da <i>Spirulina</i>	22
3.3 - Caracterização física, química e físico-química da <i>Spirulina</i> in natura.....	23
3.3.1 - Teor de água.....	23
3.3.2 - Resíduo mineral fixo.....	23
3.3.3 - Lipídios totais.....	23
3.3.4 - Proteínas totais.....	23
3.3.5 - Aminograma.....	23
3.3.6 - Carboidratos totais.....	24
3.3.7 - Ácido ascórbico.....	24
3.3.8 - Fibra bruta.....	24
3.3.9 - pH.....	24
3.3.10 - Cor instrumental.....	24
3.3.11 - Atividade de água.....	25
3.3.12 - Viscosidade aparente.....	25
3.4 - Secagens.....	25
3.4.1 - Secagem convectiva.....	26
3.4.1.1 - Cinética de secagem.....	26
3.4.2 - Liofilização.....	27
3.4.3 - Secagem por aspersão.....	27
3.5 - Caracterização física, química físico-química e microbiológica da <i>Spirulina</i> submetida aos três métodos de secagem	28
3.5.1 - Características físicas.....	28
3.5.1.1 - Distribuição granulométrica.....	28
3.5.1.2 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	28
3.5.2 - Características químicas e físico-químicas.....	29

3.5.2.1 – Diferença total de cor.....	29
3.5.2.2 - Clorofila A.....	29
3.5.2.3 - Perfil de minerais.....	29
3.5.3 - Análise microbiológica.....	30
3.6 - Isotermas de adsorção de água da biomassa de <i>S. platensis</i>	30
3.7 - Armazenamento do produto em pó.....	31
3.8 - Processamento do biscoito com adição de <i>Spirulina</i>	32
3.9 - Caracterização física, química e microbiológica dos biscoitos com <i>Spirulina</i>	34
3.9.1 - Características físicas.....	34
3.9.1.1 - Textura instrumental.....	34
3.9.2 - Características químicas.....	35
3.9.3 - Análise microbiológica.....	36
3.10 - Avaliação sensorial dos biscoitos.....	36
3.11 - Análise estatística.....	37
3.12 - Procedimentos éticos.....	37
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1 - Caracterização química, física e físico-química da <i>Spirulina</i> in natura.....	38
4.1.1 - Viscosidade aparente.....	41
4.2 - Secagem convectiva.....	42
4.3 - Caracterização física, química e microbiológica da <i>Spirulina</i> submetida aos três métodos de secagem.....	45
4.3.1 - Caracterização física.....	45
4.3.1.1 - Distribuição granulométrica.....	45
4.3.1.2 - Microscopia eletrônica de varredura.....	49
4.3.2 - Caracterização química da biomassa de <i>S. platensis</i>	51
4.3.3 - Análise microbiológica da biomassa de <i>S. platensis</i>	61
4.4 - Isotermas de adsorção de água.....	61
4.5 - Armazenamento da biomassa.....	69
4.5.1 - Teor de água.....	69
4.5.2 - Atividade de água.....	71
4.5.3 - Luminosidade.....	72
4.5.4 - Intensidade de verde.....	73
4.5.5 - Intensidade de amarelo.....	73
4.5.6 - Proteínas totais.....	74
4.6 - Caracterização física, química e microbiológica dos biscoitos com <i>Spirulina</i>	75
4.6.1 - Avaliação física dos biscoitos com biomassa de <i>Spirulina</i>	75
4.6.2 - Avaliação química dos biscoitos com biomassa de <i>Spirulina</i>	77
4.6.3 - Análises microbiológicas dos biscoitos com biomassa de <i>Spirulina</i> ..	83
4.7 - Avaliação sensorial dos biscoitos.....	83
5 - CONCLUSÕES.....	88
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
APÊNDICE A.....	110

APÊNDICE B..... 113

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 -	Estrutura porosa dos alimentos liofilizados.....	13
Figura 2.2 -	Desenho esquemático de um sistema de “Spray Dryer”, incluindo: (1) bocal para 2 fluidos; (2) sistema de aquecimento de suspensão; (3) câmara de secagem; (4) ciclone para separação de partículas; (5) filtro de remoção das partículas finas; 6 aspirador para geração de fluxo; (7) reservatório do produto.....	17
Figura 3.1 -	Fluxo do processamento de <i>Spirulina</i>	22
Figura 3.2 -	Fluxo das secagens de <i>Spirulina</i>	25
Figura 3.3 -	Fluxo de produção de biscoitos tipo <i>cookies</i> adicionados de <i>Spirulina</i> liofilizada	34
Figura 3.4 -	Probes utilizados nas análises de atributos de textura, a: P/2; b: P/32.	35
Figura 4.1 -	Cinética de secagem da <i>Spirulina</i> , em diferentes temperaturas, com ajuste pelo modelo Midilli.....	45
Figura 4.2 -	Distribuição granulométrica das partículas resultantes do pó de <i>Spirulina</i> submetida a diferentes métodos de secagem	48
Figura 4.3 -	Microscopia eletrônica de varredura de partículas resultantes do pó de <i>Spirulina</i> submetida a diferentes métodos de secagem, com aumento de 2000 vezes. (a) Secagem convectiva a 40 °C. (b) Liofilizada. (c) Secagem por aspersão 150 °C, ciclone. (d) Secagem por aspersão 150 °C, câmara. (e) Secagem por aspersão 170 °C, ciclone. (f) Secagem por aspersão 170 °C, câmara. (g) Secagem por aspersão 190 °C, ciclone. (h) Secagem por aspersão 190 °C, câmara..	50
Figura 4.4 -	Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada a 40 °C por convecção, com ajuste pelo modelo de Peleg.....	66
Figura 4.5 -	Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada a 50 °C por convecção, com ajuste pelo modelo de Peleg.....	66
Figura 4.6 -	Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada a 60 °C por convecção, com ajuste pelo modelo de Peleg.....	67
Figura 4.7 -	Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada por liofilização, com ajuste pelo modelo de Peleg.....	67
Figura 4.8 -	Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada a 150°C por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg.....	68
Figura 4.9 -	Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada a 170°C por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg	68

Figura 4.10 - Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da Biomassa desidratada a 190°C por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg	69
Figura A.1 - Formulário de avaliação sensorial – Teste de Aceitação e Intenção de compra.....	111
Figura A.2 - Formulário de avaliação sensorial – Teste de Ordenação-Preferência.	112

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1 - Composição aminoacídica da <i>S. platensis</i> em base seca.....	7
Quadro 2.2 - Percentual de ácidos graxos presentes em <i>S. platensis</i> em base seca.....	7
Quadro 2.3 - Vitaminas identificadas na biomassa seca de <i>S. platensis</i> , no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha.....	8
Quadro 2.4 - Minerais identificados na biomassa seca de <i>S. platensis</i> , no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha.....	8
Quadro 2.5 - Vantagens do processo de liofilização.....	14
Quadro 2.6 - Desvantagens do processo de liofilização.....	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 -	Modelos matemáticos ajustados à cinética de secagem da <i>Spirulina</i> ..	26
Tabela 3.2 -	Modelos de ajuste de isotermas de adsorção de água.....	30
Tabela 3.3 -	Formulações dos cinco tipos de biscoito.....	32
Tabela 4.1 -	Características químicas, físicas e fisico-químicas na <i>Spirulina</i> in natura.....	38
Tabela 4.2 -	Aminograma da <i>Spirulina</i> in natura.....	41
Tabela 4.3 -	Viscosidade aparente (mPa s) médias da <i>Spirulina</i> in natura a 25 °C em função da taxa de deformação (s ⁻¹).....	42
Tabela 4.4 -	Parâmetros, coeficientes de determinação (R ²) e desvios quadráticos médios (DQM) dos modelos de Page, Henderson e Pabis, Midilli, Dois Termos e Aproximação da Difusão ajustados às curvas de secagem da <i>Spirulina</i> seca por convecção em diferentes temperaturas.....	43
Tabela 4.5 -	Valores médios das análises químicas e fisico-químicas das <i>Spirulinas</i> em pó, secas em diferentes métodos de secagens e temperaturas.....	51
Tabela 4.6 -	Teores dos elementos minerais (mg/100 g) encontrados na <i>Spirulina</i> submetida a diferentes tipos de secagens e temperaturas	56
Tabela 4.7 -	Valores médios do parâmetro de cor - Luminosidade (L) e diferentes intensidades de cores verde (-a*), amarelo (+b*) e diferença total de cor(ΔE*)	57
Tabela 4.8 -	Aminograma da <i>Spirulina</i> seca por diferentes métodos de secagem...	58
Tabela 4.9 -	Valores médios das análises microbiológicas realizadas com <i>Spirulina</i> submetida a diferentes tipos de secagens	60
Tabela 4.10 -	Parâmetros, coeficientes de determinação (R ²) e desvios percentuais médios (P) do modelo de GAB ajustado às isotermas de adsorção de água, a 20, 30 e 40 °C, da Biomassa secas por convecção, Liofilizada e a 150, 170 e 190 °C da <i>Spirulina</i> seca por aspersão	62
Tabela 4.11 -	Parâmetros, coeficientes de determinação (R ²) e desvios percentuais médios (P) do modelo de Oswin ajustado às isotermas de adsorção de água, a 20, 30 e 40 °C, das <i>Spirulinas</i> em pó secas por convecção, Liofilizada e a 150, 170 e 190°C das <i>Spirulinas</i> seca por aspersão	64
Tabela 4.12 -	Parâmetros, coeficientes de determinação (R ²) e desvios percentuais médios (P) do modelo de Peleg ajustado às isotermas de adsorção de água, a 20, 30 e 40 °C, das <i>Spirulinas</i> em pó secas por convecção, Liofilizada e a 150, 170 e 190 °C das <i>Spirulinas</i> seca por aspersão.....	65

Tabela 4.13 - Valores médios de teor de água da <i>Spirulina</i> liofilizada durante o armazenamento a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%.....	70
Tabela 4.14 - Valores médios de atividade de água (aw) da <i>Spirulina</i> liofilizada durante o armazenamento a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%.....	71
Tabela 4.15 - Valores médios de luminosidade da <i>Spirulina</i> liofilizada durante o armazenamento a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%.....	72
Tabela 4.16 - Valores médios de intensidade de verde da <i>Spirulina</i> liofilizada durante o armazenamento a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%	73
Tabela 4.17 - Valores médios de intensidade de amarelo da <i>Spirulina</i> liofilizada durante o armazenamento a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%.....	74
Tabela 4.18 - Valores médios de proteína da <i>Spirulina</i> liofilizada durante o armazenamento a 30 e 40°C e umidade relativa média de 83%.....	74
Tabela 4.19 - Valores médios do parâmetro de cor dos biscoitos <i>cookies</i> - luminosidade (L) e diferentes intensidades de cores verde (-a*) e amarelo (+b*).....	75
Tabela 4.20 - Resultados das análises de textura dos <i>cookies</i> com as cinco formulações.....	76
Tabela 4.21 - Valores médios das análises físico-químicas realizadas com nos <i>Cookies</i> de <i>Spirulina</i> com as cinco formulações.....	78
Tabela 4.22 - Percentual de proteína nas diferentes formulações do biscoito com base na IDR para cada faixa etária.....	79
Tabela 4.23 - Teores médios de elementos minerais (mg/100 g) encontrados nos <i>Cookies</i> de <i>Spirulina</i> com as cinco formulações.....	82
Tabela 4.24 - Valores médios das análises microbiológicas realizadas com cinco formulações de <i>cookies</i>	83
Tabela 4.25 - Valores médios dos testes de aceitação sensorial e intenção de compra realizados com <i>Cookie</i> produzido com farinha de trigo e farinha integral.....	84
Tabela 4.26 - Valores médios dos testes de aceitação sensorial e intenção de compra realizados com <i>cookie</i> elaborado com farinha de trigo refinada e com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i>	85
Tabela 4.27 - Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=55) na análise sensorial de <i>cookie</i> elaborado com farinha de trigo refinada e com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i>	86
Tabela 4.28 - Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=55) na análise sensorial de <i>cookie</i> elaborado com farinha de trigo integral e com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i>	86

Tese de Doutorado: **Secagem de *Spirulina* (*Spirulina platensis*) e utilização na produção de biscoitos**

Autora: **Nilcimelly Rodrigues Donato**

Orientadores: **Prof. Dr. Alexandre José de Melo Queiroz**

Prof.^a. Dr.^a. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo

RESUMO

As microalgas possuem substâncias químicas e nutricionais de relevância na evolução humana, destacando-se a *Spirulina* por sua alta concentração de proteínas e compostos nutracêuticos. A pesquisa se propôs a verificar, entre três métodos de secagem, o que melhor preserva as propriedades nutritivas da *Spirulina*. Entre a secagem convectiva, liofilização e aspersão, selecionou-se a biomassa secada com melhores propriedades químicas e nutricionais e se desenvolveram biscoitos tipo *cookies* adicionados com *Spirulina*. Para esta pesquisa foram realizadas análises de controle de qualidade, incluindo parâmetros físicos, químicos, físico-químicos e microbiológicos da *Spirulina* in natura e seca. Além disso, fez-se o ensaio do armazenamento durante 60 dias em temperaturas de 30 e 40 °C do melhor pó determinado de acordo com as análises citadas anteriormente. Por fim, desenvolveram-se formulações com diferentes concentrações de *Spirulina* de biscoitos tipo *cookies*, as quais foram submetidas a análises físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais. A *Spirulina* in natura apresentou alto teor de água (86,79%), alto valor de atividade de água (0,985), baixa concentração de proteínas (5,87%) e alto valor de ácido ascórbico (60,67 mg/100 g). O melhor modelo ajustado às curvas de cinética de secagem convectiva em três temperaturas diferentes (40, 50 e 60 °C) foi o de Midilli. A observação das imagens por meio da microscopia eletrônica de varredura mostrou que as partículas da biomassa gerada pelos métodos de secagem em estufa e liofilização não apresentaram uniformidade quando comparadas às partículas secadas por aspersão. O modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais das isotermas de adsorção, a 20, 30, e 40 °C, da biomassa, foi o de Peleg. As isotermas foram classificadas como do tipo II e III. As análises físico-químicas realizadas com biomassa sinalizaram que o método que melhor conservou os nutrientes foi por liofilização tendo em vista que apresentou maior concentração de proteínas, lipídios, ácido ascórbico, fibras e aminoácidos, e melhores resultados nas isotermas, nos três modelos matemáticos. A biomassa obtida por este método foi armazenada por 60 dias e demonstrou estabilidade quanto ao teor de água, aumento discreto na atividade de água, diminuição na luminosidade e intensidade de amarelo além de aumento na intensidade de verde. Todas as análises microbiológicas apresentaram resultados que estiveram dentro da legislação nacional vigente. Nos biscoitos, com o aumento do percentual de *Spirulina* na formulação, houve um aumento no percentual proteico do biscoito além de incremento em minerais, quando comparado ao biscoito produzido apenas com a farinha refinada. As análises sensoriais demonstraram que as maiores notas foram atribuídas ao biscoito padrão com farinha de trigo refinada. O biscoito padrão e o biscoito com 5% de *Spirulina* foram preferidos com a mesma intensidade. Conclui-se que o melhor método de secagem para conservação dos nutrientes da *Spirulina* foi a liofilização. A caracterização de enriquecimento se dá ao biscoito adicionado de 15% de *Spirulina* cuja adição de 5% de *Spirulina* em biscoito poderá ser aceita pela população.

Palavras-chave: microalgas, liofilização, secagem por aspersão, secagem convectiva, caracterização físico-química, armazenamento

Doctoral Tesis: **Drying of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) and use in the production of cookies**

Author: **Nilcimelly Rodrigues Donato**

Advisors: **Prof. Dr. Alexandre José de Melo Queiroz**

Prof^a. Dr^a. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo

ABSTRACT

Microalgae have chemical and nutritional substances of relevance in human evolution, there is the *Spirulina* for its high concentration of proteins and nutraceutical compounds. The research proposed to verify, between three drying methods, which one best preserves the nutritional properties of *Spirulina*. Between the convective drying, freeze drying and spray drying, was selected the dried biomass, with better chemical and nutritional properties and developed cookies added with *Spirulina*. For this study, quality control analyses were performed including physical, chemical, physico-chemical and microbiological parameters of the different forms of presentation of *Spirulina*, fresh and dry. In addition, a study was made of the best powders stored for 60 days in the temperatures of 30 and 40 °C determined according to the analysis mentioned above. Finally, it was developed cookies with different concentrations of *Spirulina*, which were subjected to analyses: physical, chemical, physico-chemical, microbiological and sensory. It was found in investigations that fresh *Spirulina* has a high moisture content (86.79%) and water activity (0.985); low concentration of proteins (5.87%) and high value of ascorbic acid (60.67 mg/100 g). The best method adjusted to kinetics curves of convective drying at three different temperatures (40, 50 and 60 °C) was Midilli. The observation of images by scanning electron microscopy showed that the biomass particles generated by drying methods in greenhouses and lyophilisation are not uniform when compared to the dried particles by spray drying. The model that best fit the experimental data of moisture adsorption isotherms to biomass, at 20, 30, and 40 °C, was Peleg. The isotherms were classified as type II and III. The physicochemical analyses with biomass showed that the method that best preserved the nutrients was by lyophilisation in view that presented the highest concentration of proteins, lipids, ascorbic acid, fiber and amino acids, and better results in the isotherms in the three mathematical models. Biomass obtained by this method was stored for 60 days and demonstrated stability for in terms of moisture content, a slight increase in water activity, reduction in brightness and yellowness, as well as increase in greenness. All microbiological analysis showed results that were within the existing national legislation. In the cookies, with the increase in the percentage of *Spirulina* in the formulation, there was an increased percentage of protein cookie, and mineral increase when compared to the biscuits produced only with the refined flour. Sensory analysis showed that the highest scores were attributed to the standard cookie with refined wheat flour. Standard cookie and cookie with 5% *Spirulina* were preferred with the same intensity. It was conclude that the best drying method for conservation of *Spirulina* nutrients was lyophilisation. The characterization enrichment takes the biscuit added 15% *Spirulina* which the addition of 5% *Spirulina* cookie may be accepted by the public.

Keywords: microalgae, freeze drying, spray drying, convective drying, physicochemical characterization, storage

1 - INTRODUÇÃO

As microalgas consistem em uma ampla gama de organismos autotróficos que se desenvolvem por fotossíntese, como as plantas terrestres. Sua estrutura unicelular lhe permite facilmente converter energia solar em energia química (HUESEMANN, BENEMANN, 2009). A biotecnologia de microalgas tem sido desenvolvida para diferentes aplicações comerciais, como desenvolvimento de suplementos nutracêuticos. As microalgas também podem ser usadas em indústrias farmacêuticas visto que algumas espécies produzem compostos bioativos tais, como antioxidantes, anti-inflamatórios, hipolipidêmicos, antibióticos e toxinas (GARCIA et al., 2009; BANJI et al., 2013; MAZOKOPAKIS et al., 2013; MAZOKOPAKIS et al., 2014; VÁZQUEZ-VELASCO et al., 2014). Concomitante a isto as microalgas podem ser utilizadas como suplementos nutricionais para o consumo humano devido à alta concentração de proteínas, vitaminas e polissacarídeos (CARBALLO-CARDENAS et al., 2003). As cianobactérias, especialmente *Spirulina*, foram utilizadas para a alimentação humana em países da Ásia e da África devido ao seu elevado teor de proteínas (OLIVEIRA et al., 1999).

A variabilidade na composição bioquímica desses micro-organismos é bastante diversificada o que vem permitindo que as microalgas sejam utilizadas em diversas aplicações, como nos processos de tratamento de água, na aquicultura, nas indústrias farmacêuticas e também na tecnologia de alimentos. Nesta última a *Spirulina* surge como destaque sendo que sua aplicação se vem desenvolvendo principalmente pela mesma conter elevado teor proteico, aminoácidos essenciais, vitaminas (especialmente B12), sais minerais, além de pigmentos (carotenoides, ficocianinas e clorofilas), ácidos graxos poli-insaturados, incluindo os ácidos graxos ômega-3 e outros compostos biologicamente ativos (COLLA et al., 2007; MAZOKOPAKIS et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010).

De acordo com Tharwat e Alturki (2014), o interesse na produção de biomassa de algas tornou-se intenso durante as últimas seis décadas, em virtude da escassez de alimentos em todo o mundo; baseado nisso, algumas pesquisas têm sido realizadas para investigar as técnicas, procedimentos e processos de produção de grandes quantidades de microalgas (HUESEMANN; BENEMANN, 2009; SPOLAORE et al., 2006) As cianobactérias e as microalgas, tais como *Chlorella*, *Dunaliella* e *Spirulina*, possuem grande potencial não apenas para a produção de algas tradicionais como alimentos mas também para a extração de produtos químicos valiosos, tais como β -caroteno e ficocianina.

Há pelo menos duas razões para se pensar a respeito do papel da biomassa da *Spirulina* na alimentação humana: a velocidade de reprodução dos micro-organismos e o grau de controle que pode ser exercido sobre suas condições de crescimento (SASSANO et al., 2010; KIM et al., 2013).

De acordo com Babadzhanov et al. (2004), a *Spirulina* contém mais proteína do que muitos produtos alimentares; visto que o valor médio de proteína da biomassa da *Spirulina* é 65%; na carne e nos peixes, 15-20%; na soja, 35%; no leite desidratado, 35%; nos amendoins, 25%; nos ovos, 12% e nos grãos, 8-14%.

No Brasil, devido à existência de regiões com circunstâncias climáticas adequadas, a produção da *Spirulina platensis* parece ser uma possibilidade socioeconômica viável (PELIZER et al., 2003; ANDRADE, COSTA, 2008), para ser utilizada como componente de enriquecimento em dietas desequilibradas ou no processamento de alimentos diferenciados. Para tal utilização é imprescindível a aplicação de técnicas de conservação, entre elas a desidratação, que deve ser eficaz para conservar os nutrientes e evitar a contaminação da biomassa (SHOW, LEE, CHANG, 2013; SHOW et al., 2014).

Entre os produtos que podem ser enriquecidos e adicionados da *Spirulina* destaca-se o biscoito, que é um alimento popular pela praticidade que representa atualmente uma vez que é possível transportá-lo facilmente e possui elevada vida de prateleira. Este produto é fabricado a partir de farinha de trigo da adição de grãos ou não, ingredientes (sabores) e moldagem, além disto, possui nutrientes que alimentam e saciam a fome rapidamente, o que combina com o atual modo de vida dos habitantes dos centros urbanos.

Considerando a necessidade de oferta de alimentos saudáveis tem-se, como meta nesta pesquisa, aproveitar o fácil cultivo, rápido crescimento e o valor nutricional da *Spirulina platensis* na elaboração de um produto (biscoito) bastante consumido na atualidade contendo mais teores de proteínas, bem como realizar investigações visando avaliar diversos parâmetros importantes e que apresentam boa aceitação sensorial.

1.1 - Objetivo geral

Produzir Biomassa de *Spirulina platensis* por diferentes métodos de secagem para utilização como ingrediente enriquecedor em biscoitos *cookie*.

1.1.1 - Objetivos específicos

- Avaliar as variáveis físicas, químicas e físico-químicas na *Spirulina* in natura;
- Realizar a desidratação da *Spirulina* utilizando secagem convectiva nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e ajustar os modelos de Page, Henderson e Pabis, Midilli, Exponencial de Dois Termos e Aproximação por Difusão aos dados experimentais das cinéticas de secagem;
- Realizar a liofilização da *Spirulina*;
- Realizar a secagem por aspersão da *Spirulina* nas temperaturas de 150, 170 e 190 °C;
- Avaliar as características físico química, físicas e químicas da biomassa seca;
- Avaliar o comportamento higroscópico por meio das isotermas de adsorção de água do produto, nas temperaturas de 20, 30 e 40 °C, e ajustar os modelos de Oswin, GAB e Peleg às isotermas;
- Analisar a estabilidade da melhor biomassa seca, acondicionado em embalagens laminadas, durante 60 dias de armazenamento;
- Analisar a qualidade microbiológica das biomassas secas;
- Elaborar biscoitos *cookies* enriquecidos com a biomassa de melhor qualidade;
- Avaliar os parâmetros físico-químico, físicos e químicos dos biscoitos enriquecidos com a biomassa;
- Realizar análises microbiológicas nos biscoitos *cookies*;
- Avaliar a aceitação sensorial dos biscoitos enriquecidos com diferentes concentrações da biomassa.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Microalga - *Spirulina platensis*

A utilização de microalgas na alimentação humana ocorre desde tempos remotos, destacando-se algumas espécies do gênero *Nostoc*, consumidas na Ásia, e *Spirulina* no México, pelos Astecas que a ingeriam habitualmente com cereais sob a forma de molho conhecido como “chimolli” ou molho asteca e na África, pelos Kanembous, em que as mulheres colhiam a *Spirulina* no lago Chad, quando os ventos empurravam e aglomeravam essas microalgas nas margens, depois secavam a biomassa ao sol e, posteriormente, a amassavam com as mãos, moldando-as em blocos e cortando-as em pequenos tabletes. Com essa biomassa também era possível preparar o “dihé”, mistura de *Spirulina* com molho de tomate e temperos variados (CHARPY et al., 2004).

Pertencente à ordem *Oscillatoriales*, o gênero *Spirulina* é uma cianobactéria verde-azulada microscópica, fotossintética, unicelular, filamentosa, composta por tricomas de 5-6 µm de largura e 20-200 µm de comprimento em forma de um espiral (que originou o nome), que tem seu habitat em águas alcalinas (HOFF; SNELL, 1999; SHIMAMATSU, 2004). Ao contrário de outras microalgas, esta cianobactéria apresenta baixa susceptibilidade a contaminação em seu cultivo por outros micro-organismos em razão do alto pH necessário ao seu desenvolvimento, mantendo-se, inicialmente, em torno de 8,0 e podendo atingir pH 11,0 (BARROS, 2010; VONSHAK, 1997).

Dentro deste gênero as espécies mais importantes são: *S. platensis*, seguida da *S. maxima* e da *S. fusiformes*. Esta cianobactéria pode ser cultivada de maneira otimizada, em temperaturas entre 35 e 40 °C, sendo que a temperatura mínima na qual seu crescimento se realiza está entre 15 e 18 °C durante o dia mas à noite a *Spirulina* pode tolerar temperaturas relativamente baixas (COZZA; COSTA, 2000; RICHMOND; SOEDER, 1986).

A importância nutricional desta biomassa é determinada pela variedade dos nutrientes que contêm alguns dos quais não são sintetizados pelo organismo humano. Devido a esta variedade torna-se um alimento completo, podendo-se dizer que a *Spirulina* é o alimento com maior número de diferentes nutrientes por unidade de peso (PHANG et al., 2000). Em sua composição pode-se encontrar proteínas (60-70%), carboidratos (20%), lipídios (8%) (OLIVEIRA et al., 2009). Além de minerais e vitaminas, pigmentos, compostos fenólicos, ácido γ -linolênico e outros ácidos graxos essenciais (OLIVEIRA et

al., 2010). Os principais minerais presentes na *Spirulina*, são: o cálcio (0,48%), o fósforo (1,06%); também estão presentes: o magnésio, o ferro, o zinco, o cobre, o cromo, o manganês e o sódio (ALVARENGA et al., 2011). As vitaminas presentes na *Spirulina* são: a vitamina A, na forma de betacaroteno, vitamina C e vitaminas do grupo B (B1, B2, B3, B6 e B12), a biotina, o ácido fólico, o inositol, vitamina E, além do ácido pantotênico. Entre os pigmentos podem ser encontrados a ficocianina (20%) e os carotenoides (0,37%) (HENRIKSON, 1994; RICHMOND, 1990).

A *Spirulina* é o principal micro-organismo usado na produção comercial de ficobiliproteínas (ficoeritrina – coloração vermelha, ficocianina – coloração azul) e clorofila (OLIVEIRA et al., 2008; WALTER et al., 2011). O potencial primário desses pigmentos é o de corantes naturais que podem ser utilizado na indústria alimentícia como pigmento de alimentos (gomas, sorvetes, doces, bebidas, produtos de panificação) substituindo pigmentos sintéticos e na indústria de cosméticos (batons, sombras de olho, lápis delineador). As ficobiliproteínas estão sendo usadas nas indústrias e nos laboratórios imunológicos devido às suas propriedades de alta produção de fluorescência, altos coeficientes de absorvância e fotoestabilidade mas, o crescente número de investigações, têm mostrado suas propriedades na saúde, isto é, aplicações farmacêuticas (BECKER, 2004; SPOLAORE et al., 2006).

Os benefícios à saúde proporcionados pelo consumo de microalgas estão sendo investigados, mais reconhecidos e apreciados nas duas últimas décadas, especialmente desde a introdução dos compostos probióticos (BARROW; SHAHIDI, 2008). A *Spirulina* e seus constituintes possuem várias propriedades nutricionais e terapêuticas que fazem, dela um excelente suplemento alimentar, uma fonte potencial para ser utilizada na prevenção e no tratamento de diversas enfermidades constituindo, assim uma alternativa eficiente para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos caracterizando o micro-organismo no âmbito dos alimentos funcionais (AMBROSI et al., 2008).

As ações da *Spirulina* foram comprovadas em pesquisas experimentais “in vivo” e “in vitro”, verificando-se: seu efeito na saúde visual de homens americanos e chineses, devido à presença de carotenoides (zeaxantina) (YU et al., 2012); efeito antioxidante (COLLA et al., 2007; EL-BAKY; EL-BAZ; EL-BAROTY, 2009; GUARIENTI; BERTOLIN; COSTA, 2010; KIM et al., 2010) ação antitumoral (EL-BAKY, 2003; AKAO et al., 2009); efeito hipocolesterolêmico (NAGAOKA et al., 2005; COLLA, MUCCILLO-BAISCH, COSTA, 2008; BERTOLIN et al., 2009; DONATO et al., 2010;

MAZOKOPAKIS et al., 2013) ação na recuperação nutricional (DONATO et al., 2010) e ainda estudos que demonstram efeito hepatoprotetor (MAZOKOPAKIS et al., 2014).

A *Spirulina* se destaca também pelo seu alto teor de cianocobalamina (vitamina B12), difícil de ser encontrada em dietas vegetarianas; pelo ácido fólico (vitamina B9), necessário para a formação das células e para o bom funcionamento dos sistemas cardiovascular e nervoso além de seu aporte de minerais (Zn, Mg, Cr, Se, Fe) que são oportunos para a manutenção do metabolismo, para a conservação da pele e das mucosas e para o desenvolvimento normal dos ossos e dos dentes (BECKER, 1994; BROWN et al., 1999).

A *Spirulina*, também conhecida como *Arthrospira platensis*, possui composição centesimal variável, influenciada pela forma e otimização de seu cultivo. Henrikson (1994), observou ao avaliar amostras de *S. platensis*, que ela apresentava, em extrato seco, 65% de proteína, 20% de carboidratos, 7% de minerais, 5% de lipídeos e 3% de umidade. Babadzhanov et al. (2004) obtiveram, analisando a composição química da *S. platensis* cultivada no Usbequistão, 68% de proteínas e 14,3% de lipídeos. Oliveira et al. (2009), encontraram valores de 64,1% de proteínas, 8,6% de lipídios e 10,3% de carboidratos. É importante ressaltar que a *Spirulina* contém muito mais proteínas do que outros produtos alimentares, como se pode citar que o valor médio de proteína na *Spirulina* é de 65% (base seca), enquanto que em carne e peixe (base úmida), 15-20%; soja, 35%; leite em pó, 35%; amendoins, 25%; ovos, 12% e grãos, 8-14% (BABADZHANOV et al., 2004).

Apenas as plantas e determinadas bactérias são capazes de sintetizar todos os aminoácidos existentes. Os animais produzem apenas alguns tipos, os chamados aminoácidos não essenciais, obtendo-se os demais por meio da alimentação. Ainda há uma classificação incluindo aminoácidos condicionalmente essenciais em que, em determinadas enfermidades e situações fisiológicas, o organismo não consegue produzir sendo também obtido pelos humanos apenas por meio da alimentação (OLIVEIRA; MARCHINI, 2008). A composição aminoacídica de *S. platensis* (Quadro 2.1) pode ser comparada favoravelmente com outros alimentos ricos em proteínas, como a carne bovina, o leite de vaca, o ovo de galinha e a soja, ressalvando uma pequena deficiência nos aminoácidos que contêm enxofre (metionina e cisteína) (RICHMOND, 2004).

Quadro 2.1 - Composição aminoacídica da *S. platensis* em base seca

Aminoácido	%	Aminoácido	%
Ac. Glutâmico	10,70	Isoleucina*	4,36
Ac. Aspártico	9,20	Serina	4,31
Leucina*	8,02	Prolina	4,04
Alanina	6,51	Tirosina	3,20
Fenilalanina*	5,75	Lisina*	2,95
Glicina	5,17	Histidina*	2,72
Arginina	4,94	Triptofano*	2,53
Treonina*	4,87	Metionina*	1,64
Valina*	4,61	Cistina	0,47

Fonte: Morais et al. (2009); * Aminoácido essencial.

De acordo com Cozza e Costa (2000), cerca 1% do peso da *Spirulina* é representado pelo ácido γ -linolênico que, por ser de fácil extração faz com que esta microalga seja considerada uma fonte de ácidos graxos poli-insaturados e ácido ômega-3 viáveis. Este ácido é considerado como sendo eficaz na diminuição dos níveis de triglicerídeos do sangue e tem sido utilizado em suplementos alimentares para o tratamento de diversas doenças; No Quadro 2.2 é possível observar o perfil lipídico de alguns ácidos graxos presentes na *S. platensis*.

Quadro 2.2 - Percentual de ácidos graxos presentes em *S. platensis* em base seca

Ác. Graxos	Abreviação	%	Ác. Graxos	Abreviação	%
Undecanóico	C11:0	3,48	Linoléico	C18:2	13,86
Palmítico	C16:0	32,53	Linolênico	C18:3	20,56
Palmitoléico	C16:1	13,10	Saturado	SFA	38,91
Estearíco	C18:0	2,90	Monoinsaturado	MUFA	16,30
Oléico	C18:1	3,20	Poli-insaturado	PUFA	34,42

Fonte: Oliveira et al. (2010).

Entre os ácidos graxos comercialmente importantes estão os poli-insaturados essenciais, como os ácidos linoleico, γ -linolênico, eicosatrienoico, araquidônico, eicosapentaenóico (EPA). Além da importância nutricional esses ácidos graxos também apresentam importância farmacêutica visto serem precursores de prostaglandinas, prostaciclina e leucotrienos (RICHMOND, 2004).

Conforme as recomendações do Guia de Ingestão Dietética Recomendada (IDR), (BRASIL, 2005b) o consumo adequado de vitaminas e minerais é relevante para a manutenção das diversas funções metabólicas do organismo visto que eles participam de processos celulares relacionados ao metabolismo energético, à contração, à reparação e crescimento muscular, defesa antioxidante e resposta imune. A não ingestão/absorção

desses micronutrientes pode proporcionar um estado de carência nutricional e, conseqüentemente algumas patologias (BHANDARI; BANJARA, 2015; TUCKER, 2015).

A composição média das principais vitaminas e minerais encontradas na microalga *S. platensis* e em outros alimentos está descrita nos Quadros 2.3 e 2.4, respectivamente.

Quadro 2.3 - Vitaminas identificadas na biomassa seca de *S. platensis*, no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha

Vitamina	<i>Spirulina</i> seca (mg/100 g)	Leite de vaca em pó (mg/100 g)	Soja (mg/100 g)	Ovo de galinha (mg/100 g)
Ácido ascórbico (C)	42-195,3		Tr	0
Calciferol (D)	12000 U	ND	ND	ND
Tocoferol (E)	10-19	ND	ND	ND
Tiamina (B1)	0,8-15,4	0,29	0,66	0,1
Riboflavina (B2)	0,2-0,9	1,03	0,04	0,58
Nicotinamida (B3)	0,6-5,3	0,7	2,2	0,1
Cianocobalamina (B12)	0,3-0,8	ND	ND	ND

Fonte: Becker (1994); Brown et al. (1999); Babadzhanov et al. (2004); Franco (2004). Tr – Traços; ND – Não determinado

Quadro 2.4 - Minerais identificados na biomassa seca de *S. platensis*, no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha

Minerais	<i>Spirulina</i> (mg/100 g)	Leite de vaca em pó (mg/100 g)	Soja (mg/100 g)	Ovo de galinha (mg/100 g)
Cálcio (Ca)	4.000	890	206	42
Ferro (Fe)	1.060	0,5	13,1	1,6
Potássio (K)	15.200	1.132	1.922	150
Magnésio (Mg)	4.800	77	242	13
Manganês (Mn)	26	Tr	2,87	Tr

Fonte: Becker (1994); Brown et al. (1999); Babadzhanov et al. (2004); Franco (2004). Tr – Traços , ND – Não determinado

Em relação as suas características sensoriais, a *Spirulina* apresenta quando seca, odor de peixe seco; se fresca, praticamente, não tem odor nem sabor. Adicionada a qualquer alimento em pequenas proporções ela pode potencializar ou não alterar o sabor do alimento e sua cor verde pode realçar o visual de alguns alimentos (BORJA, 2007).

A *Spirulina* é legalmente autorizada como alimento ou complemento alimentar na Europa, no Japão e na costa asiática do Pacífico. Já nos Estados Unidos, em 1981 a FDA (Food and Drug Administration) determinou que por ser uma boa fonte de nutrientes, pode ser comercializada legalmente como complemento alimentício (HENRIKSON, 1994).

A *Spirulina* é comercializada sobretudo na forma de pó, granulados secos ou cápsulas. Em geral os métodos de secagem utilizados são secagem por aspersão (*spray*

drying), liofilização, secagem solar e secagem convectiva (BONNIN, 1993; LI; QI, 1997; JIMÉNEZ; COSSIO; NIELL, 2003; MORIST et al., 2001; DESMORIEUX; DECAEN, 2005) e o processo de secagem representa cerca de 30% do custo total de produção (RICHMOND, 2008).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite sua comercialização desde que o produto final (cápsula, pó ou produtos no qual o micro-organismo tenha sido adicionado) esteja devidamente registrado de acordo com a Resolução 17/99 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

2.2 - Secagem convectiva

É, provavelmente, um dos mais antigos métodos de preservação de alimentos. Durante muitos séculos ela foi o único método que possibilitava o aumento de vida de prateleira de frutas e vegetais, juntamente com a salga de produtos cárneos. Milhares de anos de métodos de tentativa e erro, bem como pesquisas nas últimas centenas de anos, resultaram no desenvolvimento de uma variedade de métodos e equipamentos de secagem. O processo de secagem é indispensável em muitos setores da indústria de alimentos devido ao aumento da vida de prateleira, ao custo de embalagem reduzido, ao menor peso no transporte e às propriedades sensoriais únicas do produto final (MUJUMDAR, 2006; LEWICKI, 2006).

O principal objetivo da secagem de alimentos é aumentar a sua conservação em função da redução do teor de água até determinado nível no qual a multiplicação de micro-organismos é prevenida uma vez que o crescimento de bactérias, leveduras e bolores ocorre em atividades de água acima de 0,86, 0,7 e 0,6, respectivamente. A redução da atividade de água do alimento para valores inferiores a 0,60 desacelera a maioria das reações de deterioração dos alimentos (escurecimento não-enzimático e reações enzimáticas e hidrolíticas), com exceção da reação de oxidação de lipídeos. Além disto, o produto obtido por secagem apresenta maior facilidade de transporte, armazenamento e manuseio, seja ele para o consumo na forma direta ou como matéria-prima na elaboração de outros produtos alimentícios (TEIXEIRA NETO, 2001; TANG; YANG, 2003).

O processo de secagem é uma operação na qual o calor latente de vaporização é fornecido a dado material com o objetivo de evaporar uma quantidade de água previamente determinada (ou qualquer outro líquido) para uma fase gasosa insaturada obtendo-se um produto sólido seco. Este processo consiste de um fenômeno complexo e simultâneo de

transferência de calor e massa, acompanhado de mudança de fase (BARBANTI; MASTROCOLA; SEVERINI, 1994; RAMASWAMY; MARCOTTE, 2006; MACHADO, 2006).

A secagem é uma operação unitária que tem sido utilizada para obtenção de biomassa, que aumenta a vida de prateleira, minimizando o crescimento microbiano, deteriorações por reações químicas, além da facilidade de transporte e estocagem pela redução de peso e volume (OLIVEIRA et al., 2010).

A qualidade de um produto desidratado é caracterizada pela aparência, cor, textura, sabor e outras propriedades físicas, como densidade e volume específico. Assim sendo, o método e as condições de desidratação empregados irão influenciar na qualidade do produto final (KROKIDA; MAROULIS, 1997).

Oliveira et al. (2009) pesquisaram desidratação de microalgas da espécie *Spirulina* com ar quente, avaliando os efeitos da temperatura de secagem e da quantidade de material por unidade de área interna do secador (kg/m^2) sobre a qualidade do produto final. Observou-se que a secagem mais adequada foi aquela na qual foram utilizadas à temperatura mais alta ($60\text{ }^\circ\text{C}$) e a menor quantidade de material por área interna do secador ($4,0\text{ kg}/\text{m}^2$). Tais condições de processo resultaram em menor tempo de secagem e menor alteração do produto.

Pesquisa realizada por Desmorieux e Decaen (2005), indica que a secagem por convecção em *Spirulina*, além de ser menos onerosa é, também, uma das que menos modificam o produto final. Informações no mesmo sentido foram reafirmadas na revisão sobre a ruptura de células em microalgas durante a secagem (SHOW et al., 2014).

A secagem de *Spirulina* em camada de espuma utilizando albumina como agente espessante, a $60\text{ }^\circ\text{C}$ e diferentes tamanhos de camadas mostrou que a camada mais fina e a temperatura mais elevada causa um efeito significativo sobre a cinética de secagem, tal como a qualidade do produto. Além disso, a existência de agente de expansão também pode aumentar a velocidade de secagem mas a adição de agente de formação de espuma maior do que 2,5%, não demonstrou melhorias significativas. A qualidade da *Spirulina* seca em camada de espuma quanto aos os parâmetros de cor, textura e teor de betacaroteno, apresentou melhor qualidade quando comparada a *Spirulina* produzida pela indústria (AJI; MOHAMAD, 2012).

2.3 - Secagem por liofilização

Segundo Fioreze (2004), no processo de liofilização ou *freeze-drying* a água interna do produto é congelada e pela diminuição da pressão externa ocorre sublimação dessa água, isto é, a vaporização direta a partir do estado sólido. Liofilização ou criosecação (*freeze-drying*) é um processo de desidratação de produtos em condições de pressão e temperatura tais que a água, previamente congelada, passa do estado sólido diretamente para o estado gasoso, ou seja, ocorre uma sublimação.

Segundo Evangelista (1992), é um processo misto ao qual se associam a congelação e a desidratação; sua inclusão entre os processos de frio durante o período de conservação e sim pela diminuição da temperatura em que ocorre. Como este processo é realizado em temperatura baixa e na ausência de ar atmosférico, as propriedades químicas e sensoriais praticamente não são alteradas.

O método normalmente usado para conservação de alimentos é a desidratação pelo calor. Porém o calor altera as características sensoriais e provoca perdas de valor nutritivo do alimento. Entre os alimentos vegetais e animais que melhor se adaptam à liofilização, estão: abacaxi, morango, banana (exceto variedade d'água ou nanica), suco de frutas, coco, legumes diversos, cogumelo, alho, milho, cebola, ovo, peixe camarão, carnes e extrato de café (GAVA, 1998).

A liofilização é um processo de separação por sublimação. A água ou a substância aquosa é removida como vapor da substância congelada, ou seja, passa da fase sólida direto para a fase vapor. Para isto faz-se necessário que a zona da temperatura de sublimação seja abaixo do ponto triplo. O ponto triplo da água acontece a 639,95 Pa e 273,15 K. A água ou solução aquosa existente no produto que se pretende sublimar deve estar na fase sólida; a maioria dos liofilizadores trabalha em -10 °C ou a uma pressão absoluta de aproximadamente 266,65 Pa (MILLMAN et al., 1985).

Na liofilização o alimento se conserva também por redução da sua atividade de água sendo que suas características sensoriais e seu valor nutritivo são menos afetados (FELLOWS, 1994).

A liofilização produz produtos de excelente qualidade, tanto alimentos quanto produtos farmacêuticos devido às temperaturas moderadas às quais o processo é submetido, o que contribui para a formação de substâncias sólidas porosas que retêm o aroma, cor e sabor (RATTI, 2001; KUDRA e MUJUMDAR, 2009). A liofilização a vácuo sujeita o alimento a pressões muito baixas de modo que a operação é efetuada abaixo do ponto triplo da água, levando a um alto custo o produto final em virtude do investimento operacional. Contudo, o alto custo deste processo pode ser compensado pela não

necessidade de manuseamento e estocagem do produto em local refrigerado e também quando o produto tem alto valor agregado.

Na liofilização o principal mecanismo de remoção de água é a sublimação do gelo, que corresponde à primeira fase do processo de secagem enquanto que a dessorção da água ligada não congelada acontece durante a segunda fase (BUBNOVICH et al., 2012).

A secagem primária perdura enquanto a água congelada é removida por sublimação. A interface onde ocorre a mudança de fase se retrai deixando uma camada porosa que, normalmente, é a principal resistência à transferência de calor e aos movimentos dos vapores formados. Durante esta etapa o vácuo na câmara mantém a temperatura de sublimação e a temperatura do meio de aquecimento pode ser alta (acima de 120 °C), mas controlada para evitar o colapso do material. O momento crítico ocorre quando a frente de sublimação atinge o centro do sólido e a última estrutura de gelo desaparece. Normalmente, isto significa que 90% de água do alimento já evaporaram (PINEDO, 2002).

Na secagem secundária elimina-se a umidade não-congelada até um nível adequado para a estabilidade do produto. É um processo de dessorção de umidade e o meio de aquecimento é em torno de 40 °C. O conteúdo de umidade de equilíbrio no produto depende da temperatura do meio, da pressão parcial de vapor de água do meio e da interação química entre composição da formulação e as moléculas de vapor de água. Para determinada formulação o conteúdo de umidade final pode ser reduzido por um aumento na temperatura do meio (a uma pressão parcial constante do vapor de água) ou uma redução na pressão parcial do vapor de água sobre a superfície do meio (a temperatura de produto constante) (PINEDO, 2002).

O alimento seco perde parte da umidade e por isso ocorrerá um aumento na concentração dos nutrientes por unidade de peso, comparando com o produto fresco. Quando reconstituído ou reidratado, assemelha-se bastante ao produto natural, nunca chegando a se igualar por causa das perdas de alguns constituintes (GAVA, 1998). Já os alimentos liofilizados, corretamente envasados, se conservam por mais de 12 meses sem modificações do seu valor nutritivo e em suas características organolépticas (FELLOWS, 1994). Isto é devido ao fato de que os componentes do aroma não se encontram na água pura nem nos cristais de gelo; portanto, durante a sublimação não são arrastados pelo vapor de água e ficam, conseqüentemente, retidos na trama dos alimentos liofilizados. Pela liofilização consegue-se manter até 80% do aroma do alimento, o processo afeta apenas a

textura; mesmo assim, não causa contração nem endurece sua camada superficial (FELLOWS, 1994).

Quanto à estrutura do produto desidratado, permanece praticamente inalterada após a secagem com seus pequenos “túneis”, ou capilares, que antes eram cheios de água líquida; agora permanecem vazios, porém intactos (FIOREZE, 2004). A estrutura porosa dos alimentos liofilizados faz com que sua reidratação seja muito rápida, haja vista que seus capilares permanecem abertos (Figura 2.1) tornando-os alimentos frágeis, bem susceptíveis a danos mecânicos.



Figura 2.1 – Estrutura porosa dos alimentos liofilizados

Este método de desidratação tem, como objetivo, preservar a qualidade do produto. Um fator proeminente é a estrutura rígida proporcionada pelo congelamento da superfície do material em que ocorre a sublimação. Esta rigidez é importante para prevenir colapsos da matriz sólida após a secagem. O resultado é um poro que permite fácil reidratação quando se adiciona água. Outro benefício da liofilização é a rápida transição de material hidratado para desidratado; esta rápida transição minimiza várias reações de degradação que ocorrem durante a secagem, como a reação de Maillard, desnaturação de proteínas e reações enzimáticas (MILLMAN et al., 1985).

O efeito da liofilização sobre as proteínas e carboidratos, é mínimo. No entanto, sua estrutura porosa proporciona bom acesso ao oxigênio, o que pode provocar alterações por oxidação de seus lipídios. Para evitá-lo, os alimentos liofilizados com alto teor de gordura, devem ser envasados em atmosfera de gases inertes tornando o processo ainda mais caro. O método, a taxa de liofilização e a forma da solução contida e a natureza do produto, são críticos no processo de liofilização porque eles afetam a taxa de secagem e a qualidade do produto (KUDRA e MUJUMDAR, 2009).

Quanto às vitaminas, Fellows (1994), afirma que a tiamina e o ácido ascórbico são pouco afetados e as perdas nas demais são desprezíveis. Fator este de grande diferença

entre uma desidratação qualquer e a liofilização. Como todos os métodos de conservação, a liofilização tem suas vantagens e desvantagens, Evangelista (1992) as descreveu (Quadros 2.5 e 2.6).

Quadro 2.5 - Vantagens do processo de liofilização

Ligadas à estrutura do produto	<ul style="list-style-type: none"> • Os alimentos de estrutura esponjosa, depois de reconstituídos, representam fielmente o produto original; • As moléculas constituem “estrutura sólida”, protegendo o produto contra deformações e migrações de seus componentes, durante a produção e a locomoção de vapor.
Ligadas à baixa temperatura de operação	<ul style="list-style-type: none"> • Grande redução: de perdas vitamínicas e de constituintes voláteis; de desnaturação na superfície do produto, de revestimento impermeável, do qual resultam dessecação não uniforme e conseqüente prejuízo da reidratação.
Ligada à digestibilidade	<ul style="list-style-type: none"> • A capacidade digestiva se torna mais elevada.
Ligadas à reidratação	<ul style="list-style-type: none"> • A desidratação é extremamente fácil, as condições são excelentes, tanto em velocidade como em quantidade.
Ligadas a outros fatores	<ul style="list-style-type: none"> • Pela ausência de oxigênio impede a ação de micro-organismos anaeróbicos; • Pela eliminação da água a ação enzimática é inibida; • Vários produtos, quando dessecados e bem embalados, podem permanecer sem riscos durante algum tempo, em temperatura ambiente; • Os alimentos liofilizados se caracterizam por sua leveza e por não necessitarem de refrigeração; • O tempo de armazenamento é significativamente aumentado.

Fonte: Evangelista (1992)

Quadro 2.6 - Desvantagens do processo de liofilização

Implicações econômicas	<ul style="list-style-type: none"> • A principal desvantagem é a do alto custo do processo, que só é compensador ao tratar de produtos caros, como café; • A onerosidade resulta dos gastos obrigatórios referentes ao preço dos equipamentos, sua manutenção e tempo de processamento exigido (cerca de 10 horas).
Perdas de peso e volume	<ul style="list-style-type: none"> • Mesmo sendo imediata a reconstituição, o produto em comparação ao original perde peso e volume.
Degradações oxidativas	<ul style="list-style-type: none"> • Sem a proteção de embalagem adequada (vácuo ou atmosfera de gás inerte) o produto seco, por sua maior superfície, tem a degradação oxidativa.
Aceleração do processo	<ul style="list-style-type: none"> • As acelerações do processo normalmente influem sobre a qualidade de produtos de origem proteica (pescado e outras carnes), que se tornam fibrosos ou esponjosos.

Fonte: Evangelista, 1992.

Segundo ADAMIEC et al. (1995), um congelamento lento (10-100 °C/min) é prejudicial para as células porque propicia a formação de grandes cristais de gelo que após

a sublimação da água ou da substância aquosa podem causar prejuízos mecânicos à estrutura das células. O congelamento *ultraswift* (1000 °C/min) é resultado de uma queda brusca de pressão ou temperatura. Em consequência, deste choque térmico, pequenos cristais de gelo são formados e distribuídos uniformemente sem afetar a estrutura das células; O tipo de congelamento não só facilita o processo tecnológico como intensifica a desidratação. O congelamento *ultraswift* ou autocongelamento é indicado nos casos em que os materiais têm baixo teor de água. Para materiais com alta umidade faz-se, primeiramente, um congelamento inicial.

Segundo Kordowska-Wiater et al. (2011) um dos principais métodos de preservação bacteriana utilizada em escala industrial é a liofilização (criodessecagem). No entanto, este processo dá origem a efeitos colaterais que causam perda de viabilidade celular (HUANG et al., 2006). Para minimizar alguns desses efeitos indesejáveis, adicionam substâncias que sirvam de agente crioprotector (por exemplo, leite desnatado, poliois, hidratos de carbono); assim, o estado fisiológico das células e as condições de reidratação podem ser modificadas (HUANG et al., 2006).

Morist et al. (2001) que compararam a desidratação por três métodos diferentes (pasteurização, liofilização e aspensão) e reidratação de *Spirulina* concluíram, em sua pesquisa que o método mais recomendado é a liofilização devido a degradação do produto ser quase nula e apresentar uma qualidade maior da biomassa.

A liofilização também é um processo não mecânico que facilita a extração de compostos intracelulares como óleos em algas (SCHWEDE et al., 2011), em comparações com a possibilidade de extração na biomassa úmida (natural) com solvente (BELARBI et al., 2000).

A liofilização tem sido amplamente utilizada para a secagem de microalgas em laboratórios de pesquisa; no entanto, é um processo muito caro para o uso em larga escala para produtos comerciais (MERCER; ARMENTA, 2011; MUNIR et al., 2013).

2.4 - Secagem por aspensão

A secagem por aspensão envolve líquido de atomização, gás/mistura de gotículas e secagem de gotículas de líquido (SHELEF; SUKENIK; GREEN, 1984). As gotas de água atomizadas são normalmente pulverizadas para baixo e para dentro de uma torre vertical (câmara) através da qual o ar quente passa para baixo. A secagem é realizada dentro de

poucos segundos. O produto seco é removido do fundo da torre e a corrente de gás residual esgotada por meio de um separador de poeira ciclônica (SHOW et al., 2014).

A secagem de 1 m³ de líquido origina aproximadamente 2×10^{12} partículas uniformes de diâmetro 100 µm, equivalente a uma área superficial de 60.000 m² (MASTERS, 1972). Durante o contato das gotículas com o ar quente em temperaturas elevadas, ocorre um processo rápido de evaporação a partir da superfície das partículas. O tempo de residência do material na câmara do secador por aspersão é curto, normalmente entre 3 e 30 segundos (DITTMAN; COOK, 1977).

Um sistema de secador por aspersão (*Spray dryer*) pode ser explicado seguindo o desenho esquemático apresentado na Figura 2.2 (VALGAS, 2007). Por um sistema de bombeamento a suspensão é aspirada até a parte superior, sendo aquecida (2) até uma temperatura (de entrada ou “inlet”), apropriada para aspersão. Através de um bocal (ou bico atomizador) (1) com saída para os dois fluidos, a suspensão e o gás (ar ou N₂) são injetados ao mesmo tempo na câmara de secagem (3). O processo de aspersão é iniciado quando a massa líquida, sob efeito de compressão do gás, é gotejada pelo pequeno orifício do bocal e é secada pelo efeito da temperatura. Devido ao sistema de sucção (6), o pó atomizado passa por um reservatório onde o gás se movimenta de forma circular, formando um ciclone (4) que serve para separar partículas finas e aglomeradas. Os aglomerados mais pesados se depositam, por gravidade, no reservatório do produto (7), e os finos seguem o fluxo de sucção até ficarem retidos num filtro (5).

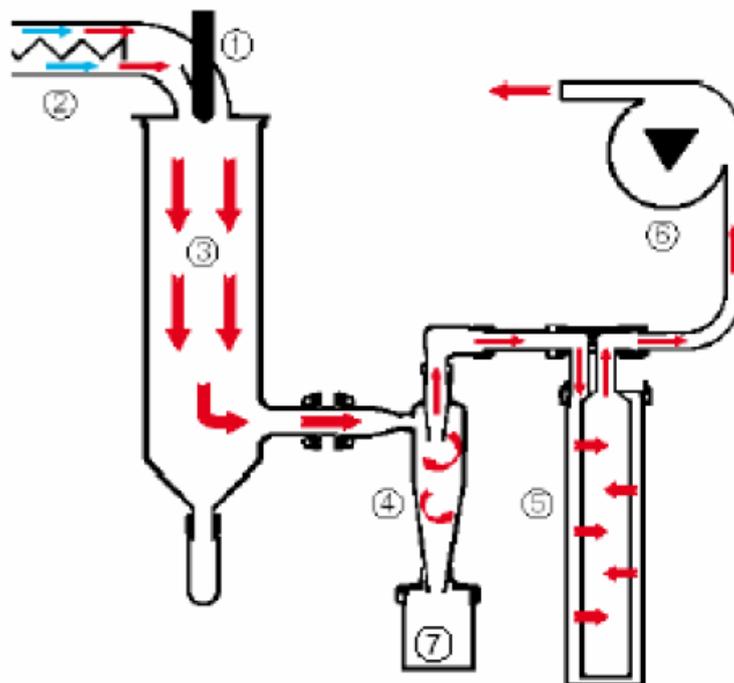


Figura 2.2 - Desenho esquemático do sistema de um secador por aspersão (*Spray dryer*), incluindo: (1) bocal para 2 fluidos; (2) sistema de aquecimento de suspensão; (3) câmara de secagem; (4) ciclone para separação de partículas; (5) filtro de remoção das partículas finas; (6) aspirador para geração de fluxo; e (7) reservatório do produto.

O material a ser desidratado no secador por aspersão pode estar na forma de solução, suspensão ou pasta resultando após o processo, em partículas isoladas, grânulos ou aglomerado. Essas formas do produto obtido dependem das propriedades físicas e químicas do material, do projeto e da operação do secador (CANO-CHAUCA et al., 2005; ANDRADE; FLORES, 2004). A qualidade dos produtos obtidos por aspersão depende das características da solução de alimentação (conteúdo de sólidos, viscosidade e temperatura), do atomizador e da transferência de calor e massa entre o ar aquecido e as gotículas da câmara de secagem (FURUTA; HAYASHY; OHASHI, 1994).

As propriedades dos produtos obtidos por aspersão, tais como densidade do pó, distribuição do tamanho, diâmetro médio e formato das partículas, também são dependentes das características do material líquido e das condições de processo. Esses parâmetros contribuem com as propriedades funcionais do produto desidratado incluindo sua fluidez, manipulação, compressibilidade e mistura/segregação dos seus componentes (químicos) (BHANDARI; HARTEL, 2005).

Um dos parâmetros físicos mais importantes a ser considerado em produto desidratado, é o tamanho das partículas. Esta propriedade pode influenciar na aparência, escoabilidade e dispersibilidade do produto. Também é possível avaliar a estabilidade de uma mistura de diferentes componentes, pela homogeneidade na distribuição das diferentes partículas na mistura e da compactação ou segregação de seus componentes, em que um produto com menor diâmetro fica depositado na parte inferior (O'HAGAN et al., 2005). Quando o tamanho da partícula diminui o aumento da sua área superficial acarreta em maior afinidade com a água e habilidade para se aglomerar (TÓTH; PALLAI-VARSÁNYI, 2006). O conhecimento da densidade de determinado material é relevante, para o armazenamento, processamento, empacotamento e distribuição. A densidade volumétrica (*bulk density*) considera os poros internos e externos da partícula e, comumente, é usada para caracterizar um produto obtido por moagem ou secagem (BARBOSA-CÁNOVAS; JULIANO, 2005).

Diferentes condições do processo de secagem por aspersão resultam em produtos com microestruturas diferentes. Sheu, Rosenberg (1995; 1998) observaram variações na estrutura superficial de microcápsulas obtidas por secagem por aspersão. Foram observadas variações na distribuição de tamanho e, muitas vezes, a formação de dobras na superfície, o que prejudica o escoamento das partículas. Foi observada, também, a formação de fissuras ou buracos na superfície externa.

A secagem por aspersão é considerada o método adequado para a produção de algas visando ao consumo humano (SOEDER, 1980). Apesar de ser um método de secagem muito eficiente, pode romper as células intactas de microalgas devido ao seu processo de aspersão de alta pressão e geralmente transmitir uma degradação indesejada para um produto de qualidade. A maior desvantagem deste processo é o elevado custo operacional, além da baixa digestibilidade de algas secas (SHOW et al., 2014). Em uma pesquisa envolvendo a secagem por aspersão e secagem em secador para microalgas, o último foi recomendado em razão da melhor digestibilidade, menos dispêndio de energia e investimentos inferiores (MOHN; SOEDER, 1978).

Os exemplos encontrados de secagem por aspersão de *Spirulina* foram relatados por Morist et al. (2001), que compararam a eficiência do método de conservação, entre liofilização, aspersão e pasteurização e a *Spirulina* utilizada na pesquisa realizada por Shimamatsu (2004).

2.5 - Enriquecimento de produtos alimentícios

Tendo em vista que a população está à procura de melhor qualidade de vida, os alimentos enriquecidos vêm como alternativa de facilitar o consumo de produtos saudáveis com praticidade, sem a necessidade de pré-preparo ou preparo (MOURA et al., 2014).

Na mira dos consumidores a indústria de alimentos lança com periodicidade uma gama de alimentos enriquecidos de substâncias com alegações funcionais, com propriedades benéficas para saúde humana. A lista de produtos alimentícios e da adição de diferentes nutrientes é extensa no mercado (REC, 2001). Pela legislação do Brasil, o Ministério da Saúde baixou por meio da Secretaria de Vigilância Sanitária, baixou a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, com o objetivo de fixação da identidade e das características mínimas de qualidade dos alimentos adicionados de nutrientes essenciais. O processo de fortificação/enriquecimento, ou simplesmente de adição, é aquele no qual se acresce, ao alimento de acordo com parâmetros legais um ou mais nutrientes, contidos ou não naturalmente no mesmo, com o objetivo de reforçar seu valor nutritivo, inclusive aquele eventualmente perdido no processamento industrial, e prevenir ou corrigir alguma deficiência em um ou mais nutrientes na alimentação da população em geral ou de seus grupos de risco (VELOZZO; FISBERG, 2010).

Como o biscoito é um alimento de fácil acesso, longa vida de prateleira, fácil de armazenar e prático de consumir, este produto parece ser uma opção bem vista para a indústria alimentícia (SANTOS et al., 2013a).

A origem do biscoito surgiu na Antiguidade com a ideia de se amassar grãos entre duas pedras, misturando água àquela massa e secá-la ao fogo, tornando-a uma pasta seca e dura. Este processo contribuiu com o progresso no sistema alimentar do homem, embora não houvesse uma forma definida mas, ao ser acrescido de outros componentes, começou a tomar forma, o que seria semelhante a um pão duro e foi, na verdade, o precursor do que hoje chamamos de biscoito ou bolacha (PISSATO, 2010).

Biscoito foi o termo usado para descrever o pão cozido e duro, que podia ser guardado sem estragar. Tem origem francesa, onde: “Bis” e “Coctus”, significam duas vezes cozidos. Existe também outra versão em relação à origem da palavra biscoito que pode ser derivado do latim *biscoctus* (BAKE INFO, 2004).

A popularidade do "biscoito" aumentou rapidamente e em meados do século XVII, na Europa, teve início a adição de chocolate ao biscoito ou como acompanhamento de chá. Criando desta forma o sabor e com a finalidade de estimular suas vendas investia-se, então

nos mais variados tipos de gosto e aroma. O progresso das vendas alertou as municipalidades para uma boa fonte de renda em taxas e impostos sobre os já populares "biscoitos para chá". Esta súbita oneração do produto incentivou a busca por métodos mais econômicos e de maior rendimento; deu-se, daí o início da industrialização (PISSATO, 2010).

É um produto obtido pelo amassamento e cozimento conveniente de massa preparada com farinha, amidos, féculas e outras substâncias alimentícias, fermentado ou não (ACORSI et al., 2009; HAJ-ISA; CARVALHO, 2011). Segundo a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, na Resolução nº 263, de 22 de setembro de 2005, define: “biscoitos ou bolachas são os produtos obtidos pela mistura de farinha(s), amido(s) e/ou fécula(s) com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos” (BRASIL, 2005a).

De acordo com o presidente do Sindicato da Indústria de Massas Alimentícias e Biscoitos do Estado de São Paulo (SIMABESP), a indústria de biscoitos brasileira se posiciona como a segunda maior produtora mundial, com produção de 1,2 milhões de toneladas em 2009, um crescimento de 2,5% em volume, com relação a 2008. Exporta para mais de 118 países atingindo uma cifra de US\$ 91,61 milhões e tinha, como desafio para 2008, incrementar as vendas externas em 10% (SANTOS et al., 2013a).

No Brasil, grande número de fabricantes produz biscoitos para crianças e adultos, populares ou finos, convencionais ou light, doces ou salgados, sendo que os principais diferenciais entre as marcas são a qualidade, o preço e a apresentação. Este potencial, unido à grande aceitação desses produtos por pessoas de todas as faixas etárias – sendo a média per capita no país de 6,3 kg por ano (MINGOTI; HOLLER; SPADOTTO, 2014), assim como os resultados obtidos em pesquisas anteriores (PEREZ; GERMANI, 2007), estimulam a produção de biscoitos como veículo de proteínas e outros nutrientes.

Na pesquisa realizada por Batoool et al. (2013), os autores verificaram o enriquecimento proteico em biscoitos, por meio da adição da *Nigella sativa*. Para Mohsen et al. (2009), o enriquecimento proteico de *cookies* se deu pela substituição de farinha de trigo por proteína isolada de soja. A fim de enriquecer biscoitos, Guilherme e Jokl (2005) e Kruger et al. (2003), adicionaram fubá de melhor qualidade proteica e caseína em suas formulações, respectivamente.

O enriquecimento de produtos alimentícios pode ser realizado com diferentes nutrientes, como a adição do farelo de linhaça marrom para melhorar a qualidade dos lipídios ofertada em biscoitos (MOURA et al., 2014).

Com o poder nutracêutico que a *Spirulina* apresenta e a popularidade do biscoito, é importante associarmos a tecnologia de alimentos para fabricação de produtos enriquecidos visando proporcionar, à população, um alimento saudável, nutritivo e economicamente acessível.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Matéria-prima

A *Spirulina platensis* in natura utilizada neste experimento, foi cedida pela Fazenda Tamanduá (Santa Terezinha - Paraíba - Brasil), durante o período de janeiro a abril de 2012, foi transportada em caixas térmicas para o LAPPA (Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas) na UFCG, *campus* de Campina Grande – PB, e congelada; quando necessário era realizado descongelamento lento (sob refrigeração) para a realização dos experimentos.

3.2 - Processamento da *Spirulina*

As etapas do processamento da *Spirulina* estão descritas no esquema apresentado na Figura 3.1. Inicialmente, a *Spirulina* in natura foi lavada em água destilada e em seguida homogeneizada em batedeira doméstica, por 20 segundos e posteriormente filtrada através de uma malha de 60 µm. Após essas etapas foi submetida a caracterização física, química e físico-química.



Figura 3.1 – Fluxo do processamento de *Spirulina*

3.3 - Caracterização física, química e físico-química da *Spirulina* in natura

A *Spirulina* foi caracterizada quanto ao teor de água, resíduo mineral fixo, lipídios totais, proteínas totais, aminograma, carboidratos totais, pH, ácido ascórbico, fibra bruta, atividade de água, tensão superficial, cor instrumental e viscosidade. As análises foram realizadas em triplicata, seguindo as seguintes metodologias.

3.3.1- Teor de água

O teor de água foi determinado pelo método gravimétrico a partir de secagem direta em estufa (MedClave Modelo 4) a 105 °C, até peso constante (IAL, 2008).

3.3.2- Resíduo mineral fixo

Para a quantificação do resíduo mineral fixo foi realizada a carbonização da matéria orgânica e em seguida a incineração direta em forno mufla a 550 °C, durante 4 horas (IAL, 2008).

3.3.3- Lipídios totais

Para a determinação do extrato etéreo os lipídeos foram extraídos conforme a metodologia de Folch, Less e Stanley (1957).

3.3.4- Proteínas totais

As proteínas totais foram determinadas com base no teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator de correção 6,25 (IAL, 2008).

3.3.5- Aminograma

A análise de aminoácidos totais foi realizada segundo os métodos descritos por White, Hart e Fry (1986) e Hagen, Frost e Augustin (1989).

Para determinação de triptofano as amostras foram hidrolisadas enzimaticamente com Pronase a 40 °C, por 24 horas seguido de reação colorimétrica com 4-Dimetil-Amino-

Benzaldeído (DAB) em ácido sulfúrico 21,1 N e leitura em espectrofotômetro a 590 nm. O teor de triptofano foi calculado a partir de uma curva padrão, segundo Spies (1967).

3.3.6- Carboidratos totais

Os teores de carboidratos totais foram determinados por diferença entre a somatória dos teores de água, cinzas, lipídios e proteínas, e o total (IAL, 2008).

3.3.7- Ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado conforme a metodologia da AOAC (1997), modificada por Benassi e Antunes (1998), no qual se utiliza ácido oxálico como solução extratora e se baseia na titulação da amostra empregando-se 2,6-diclorofenolindofenol sódio, que dá cor azul em solução alcalina e cor rósea em solução ácida. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g da *Spirulina*.

3.3.8- Fibra bruta

A determinação de fibra bruta foi realizada pelo método gravimétrico (IAL, 2008).

3.3.9- pH

O pH foi determinado por processo eletrométrico em potenciômetro fixo (PG 1800), segundo IAL (2008).

3.3.10- Cor instrumental

A determinação da cor foi realizada em espectrofotômetro portátil Hunter Lab Mini Scan XE Plus, modelo 4500 L, obtendo-se a leitura dos parâmetros L^* que define a luminosidade ($L^* = 0$ – preto e $L^* = 100$ – branco) e a^* e b^* , que são responsáveis pela cromaticidade ($+a^* =$ vermelho e $-a^* =$ verde; $+b^* =$ amarelo e $-b^* =$ azul).

3.3.11- Atividade de água

A atividade de água foi determinada por meio de leitura direta em higrômetro AQUAlab , 3TE de Decagon, a 25 °C.

3.3.12- Viscosidade aparente

A determinação do comportamento reológico geralmente exige o preparo da amostra que, neste caso, foi dispensado, de vez que a *Spirulina* (in natura) se encontra em estado líquido com o teor de água de 86,79%; assim, a análise foi feita em viscosímetro Brookfield DV-II+PRO, que fornece leituras diretas de viscosidade aparente. As leituras foram realizadas a 25 °C, nas velocidades de rotação de 20 a 200 rpm. O *spindle* utilizado foi o de número 21.

3.4 - Secagens e análises

As etapas de realização das secagens de *Spirulina* e posteriores análises, estão descritas na Figura 3.2.

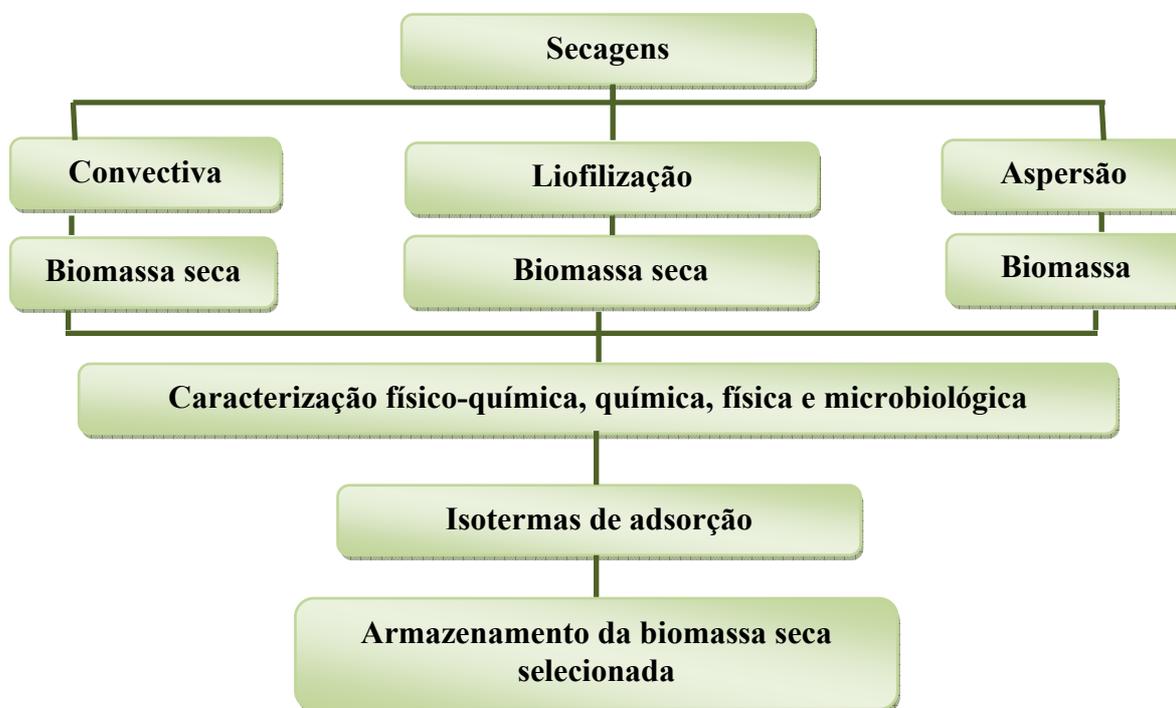


Figura 3.2 – Fluxo das secagens e análises das biomassas

3.4.1 - Secagem convectiva

A *Spirulina* foi espalhada em bandejas de aço inoxidável em camadas com espessura de 1,0 cm, medida com o auxílio de um paquímetro e levadas para desidratação em estufa com circulação de ar, em temperaturas de 40, 50 e 60 °C; em seguida, o produto seco foi retirado das bandejas e triturado/homogeneizado em processador doméstico na velocidade máxima, durante 1 minuto, obtendo-se o produto pulverizado.

3.4.1.1 - Cinética de secagem

Durante o processo de secagem em estufa foi feito o acompanhamento da cinética de secagem pesando-se as bandejas em intervalos regulares de 5 minutos até massa constante. Com os dados da secagem determinaram-se os valores da razão do teor de água (Equação 3.1).

$$RX = \frac{X - X_e}{X_0 - X_e} \quad (3.1)$$

Em que:

RX – razão do teor de água, adimensional;

X – teor de água, base seca;

X_e – teor de água de equilíbrio, base seca;

X_0 – teor de água inicial, base seca

Os modelos semiteóricos de Page, Henderson e Pabis, Midilli, Dois Termos e Aproximação por Difusão foram ajustados aos dados de cinética de secagem, cujas equações estão descritas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Modelos matemáticos ajustados às cinéticas de secagem da *Spirulina*

Modelo	Equação
Page	$RX = \exp(-kt^n)$
Henderson e Pabis	$RX = a \cdot \exp(-kt)$
Midilli	$RX = a \cdot \exp(-kt^n) + bt$
Dois Termos	$RX = a \cdot \exp(-kt) + (1-a)\exp(-kat)$
Aproximação por difusão	$RX = a \cdot \exp(-kt) + (1-a)\exp(-kbt)$

Onde: RX - razão de água (adimensional); k - constante de secagem (min^{-1}); a, b, c, n - constantes do modelo; t - tempo de secagem (min)

Para avaliar qual modelo produziu o melhor ajuste foram utilizados, como parâmetros, o coeficiente de determinação (R^2) e o desvio quadrático médio (Equação 3.2):

$$DQM = \sqrt{\frac{[\sum(RX_{pred} - RX_{exp})^2]}{n}} \quad (3.2)$$

Em que:

DQM - desvio quadrático médio;

RX_{pred} - razão de teor de água predito pelo modelo;

RX_{exp} - razão de teor de água experimental;

n - número de observações.

3.4.2 - Liofilização

Na liofilização as amostras foram dispostas em bandejas com espessura da lâmina de aproximadamente 1 cm e congeladas por contato direto com ambiente resfriado em freezer comercial a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ por 14 horas; posteriormente, as bandejas foram imediatamente transferidas para o liofilizador (marca Terroni) e desidratadas a $-49\text{ }^\circ\text{C}$, por 7 horas, a uma pressão de 0,02955 mmHg; após a secagem as amostras foram trituradas/homogeneizadas em processador doméstico na velocidade máxima, durante 1 minuto, obtendo-se o produto pulverizado.

3.4.3 - Secagem por aspersão

A *Spirulina* foi desidratada em secador por aspersão de bancada modelo MS 1.0 (Labmaq) com bico atomizador duplo fluido e separador de pó do tipo ciclone.

Inicialmente foram realizados testes preliminares da secagem da *Spirulina*, com o objetivo de selecionar o diâmetro do bico aspersor e a vazão de alimentação. As condições iniciais dos testes preliminares de secagem foram: bicos de aspersão com diâmetros de 0,7, 1,0 e 1,2 mm; as vazões de alimentação da amostra de 0,3, 0,5 e 0,7 L h⁻¹; pressão do ar de 30 kgf cm⁻² e vazão do ar comprimido de 30 L/min, com temperatura do ar de secagem de 170 °C.

Foram realizados, em seguida, os experimentos de secagem por aspersão com o bico de aspersão de 1,2 mm e 0,3 L h⁻¹ de vazão de alimentação aplicando-se três temperaturas diferentes para o ar de secagem: 150, 170 e 190 °C.

As amostras em pó secadas na estufa no secador por aspersão e no liofilizador, foram armazenadas em embalagens laminadas e codificadas. Essas amostras embaladas foram estocadas em lugar fresco e na ausência de luz pelo período de tempo de um mês entre a secagem e as análises.

3.5 - Caracterização física, química, físico-química e análise microbiológica da *Spirulina* submetida aos três métodos de secagem

3.5.1 - Características físicas

As amostras de biomassa foram submetidas às análises físicas de cor instrumental (descrita no item 3.3), diferença total da cor, distribuição granulométrica e microscopia eletrônica de varredura.

3.5.1.1 - Diferença total da cor

Após se obter os valores das coordenadas L^* , a^* e b^* por meio de análise direta em um espectrofotômetro descrito no item 3.3.10, foi calculada a diferença total de cor (ΔE^*) de acordo com a Equação 3.3.

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3.3)$$

Em que:

ΔE^* – diferença total de cor

ΔL^* – diferença entre a luminosidade da *Spirulina* in natura e a amostra em pó

Δa^* – diferença entre a intensidade de verde da *Spirulina* in natura e a amostra em pó

Δb^* – diferença entre a intensidade de amarelo da *Spirulina* in natura e a amostra em pó

3.5.1.2 - Distribuição granulométrica

Para determinar a distribuição granulométrica das partículas utilizou-se agitador de peneiras (Granutest) na velocidade de 80 rpm. Foram peneiradas as amostras durante 30 minutos em conjunto de peneiras entre 20 a 80 “mesh Tyler”; em seguida, as quantidades

retidas em cada peneira e na base, foram pesadas e expressas em porcentagens, conforme Germani, Benassi e Carvalho (1997).

3.5.1.3 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das partículas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEMa/CCT/UFCG). As amostras foram preparadas colocando-se uma pequena quantidade de pó aderida a um porta-amostra metálico (*stubs*) em cima de uma fita adesiva de dupla-face condutora convencional; proseguindo, as amostras foram metalizadas com uma liga de ouro/paládio, em um metalizador Quik Coat SC-701 (Sanyu Electron, Tóquio, Japão). As amostras foram, então, observadas em um microscópio eletrônico de varredura (Superscan SSX-550, Shimadzu) e a aquisição das imagens foi realizada pelo software LEO, versão 3.01. As imagens das amostras em pó foram obtidas com aumento de 2000 x.

3.5.2- Características químicas e físico-químicas

As determinações de teor de água, o resíduo mineral fixo, os lipídios totais, as proteínas totais, os carboidratos, o pH, o ácido ascórbico, a fibra bruta e o aminograma foram quantificadas segundo as mesmas metodologias descritas no item 3.3, utilizadas para *Spirulina* in natura. Ainda foram determinados a quantificação de Clorofila A e o perfil de minerais.

3.5.2.2 - Clorofila A

A clorofila A foi quantificada em espectrofotômetro, segundo método descrito por Arnon (1949), usando, como extrator, acetona a 80%, com leitura direta a 645 e 663 nm.

3.5.2.3 - Perfil de minerais

Os minerais foram quantificados por Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva. O equipamento utilizado foi o Shimadzu EDX-720 (EDX) no Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos, do Centro de Educação e Saúde,

localizado na cidade de Cuité - PB. As amostras na forma de resíduo mineral fixo foram colocadas em cubetas as quais foram cobertas por um filme de polipropileno de 5 µm de espessura e, posteriormente, as amostras foram submetidas a vácuo. Foram utilizadas as seguintes condições de operação do equipamento: tensão do tubo de 15 keV (Na a Sc) e 50 keV (Ti a U) e com um colimador de 10 mm, com detector de estado-sólido tipo Si(Li), com resfriamento por nitrogênio líquido.

3.5.3 - Análises microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras de *Spirulina* submetidas a secagem foram realizadas segundo metodologia preconizada por Vanderzant e Spplittstoesser (1992). Para tanto foram realizadas análises de micro-organismos indicadores da qualidade sanitária de alimentos, as quais constaram da contagem do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes a 35 °C e 45 °C, contagem de bactérias aeróbias mesófilas e/ou anaeróbias facultativas viáveis, contagem de fungos filamentosos e leveduriformes, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e detecção de *Salmonella* spp., de acordo com Brasil (2001). As análises foram realizadas em triplicata no, Laboratório de Microbiologia dos Alimentos (CCHSA/UFPB).

3.6 - Isotermas de adsorção de água da biomassa de *Spirulina platensis*

As isotermas de adsorção de água de todas as biomassas secas foram determinadas a 20, 30 e 40 °C utilizando-se o método estático-indireto (CAPRISTE; ROTSTEIN, 1982).

As medidas das atividades de água das amostras em pó foram determinadas no higrômetro medidor de atividade de água AQUALab 3TE (Decagon), e o teor de água de equilíbrio em base seca foi determinado pela relação entre a massa de água e a massa seca das amostras. Os modelos matemáticos de Gab, Peleg e Oswin (Tabela 3.2) foram ajustados aos dados experimentais das isotermas de adsorção de água das amostras fazendo-se uso de regressão não linear e se utilizando o programa Statistica, versão 5.0.

Tabela 3.2 – Modelos de ajuste de isotermas de adsorção de água

Modelo	Equação
GAB	$X_e = \frac{X_m C K a_w}{(1 - k a_w)(1 - k a_w + C k a_w)}$
Peleg	$X_e = k_1 a_w^{n_1} + k_2 a_w^{n_2}$
Oswin	$X_e = a \left(\frac{a_w}{(1 - a_w)} \right)^b$

Onde: X_e – teor de água de equilíbrio; a_w - atividade de água; X_m – teor de água na monocamada, C e K – parâmetros que dependem da temperatura e da natureza do produto; K_1 , K_2 , n_1 , n_2 , a e b – constantes das equações.

Os critérios utilizados para determinação do melhor modelo ajustado aos dados experimentais, foram: o coeficiente de determinação (R^2) e o desvio percentual médio (P) (Equação 3.4).

$$P = \frac{100}{n} \cdot \sum_{i=1}^n \frac{|(X_{\text{exp}} - X_{\text{pred}})|}{X_{\text{exp}}} \quad (3.4)$$

Em que:

- P – desvio percentual médio (%);
- X_{exp} – valores obtidos experimentalmente;
- X_{pred} – valores preditos pelo modelo;
- n – número de dados experimentais.

3.7 - Armazenamento da biomassa desidratada

Com a intenção de selecionar a melhor biomassa seca para verificar seu comportamento durante o armazenamento foram utilizados, como critérios para seleção após a secagem: a maior concentração de proteínas, lipídios, ácido ascórbico e fibras, bem como menor pH, e melhor comportamento nas isotermas, nos três modelos matemáticos.

A biomassa selecionada foi submetida ao armazenamento acelerado em condições controladas de temperatura (30 e 40 °C) e umidade relativa (83%).

A amostra foi colocada em embalagens laminadas compostas de uma camada de PET cristal (polietileno de baixa densidade cristal) e outra camada de PET metal (polietileno tereftalato metal). As embalagens tinham aproximadamente 8 x 8 cm² de lado e continham 10 g da amostra; três embalagens contendo as amostras foram postas em

recipientes de vidro hermético contendo solução saturada de cloreto de potássio (KCl), que propiciou umidade relativa de aproximadamente 83%.

No início do armazenamento (tempo zero), e a cada 15 dias foi feito durante 60 dias o acompanhamento da estabilidade das amostras em pó pela determinação dos parâmetros de qualidade: teor de água, atividade de água, cor e proteínas totais, de acordo com as metodologias já descritas no item 3.3.

3.8 - Processamento de biscoito com adição de *Spirulina*

Após sua seleção com melhor qualidade, a biomassa foi utilizada para elaboração de biscoitos tipo *cookies* enriquecidos; todos os ingredientes para elaboração dos biscoitos, com exceção da biomassa, foram obtidos em redes de supermercado e lojas especializadas da cidade de Campina Grande/PB. Os ingredientes foram transportados ao Laboratório de Técnica Dietética (CES/UAS/UFCG), onde foram processados os biscoitos.

Foram produzidos e caracterizados cinco tipos de formulações diferentes de biscoitos, seguindo metodologia adaptada de Moretto e Fett (1999), a citar: F1 - com 0% de Biomassa (controle), produzido com farinha de trigo refinada; F2 - com 0% de Biomassa liofilizada (controle), elaborado com farinha de trigo integral; F3 - com 5% de Biomassa liofilizada e 95% com farinha de trigo refinada; F4 - com 10% de Biomassa liofilizada e 90% com farinha de trigo refinada; F5 - com 15% de Biomassa liofilizada e 85% com farinha de trigo refinada, além dos demais ingredientes, totalizando 5 amostras, as quais foram analisadas em triplicata. As formulações dos biscoitos e seu fluxo de processamento podem ser visualizados na Tabela 3.3 e na Figura 3.3, respectivamente.

Tabela 3.3 - Formulações dos cinco tipos de biscoito

Ingredientes/ Formulações	F1	F2	F3	F4	F5
Farinha de trigo	100	---	95	90	85
Farinha de trigo integral	---	100	---	---	---
Biomassa	---	---	5	10	15
Óleo de soja	15	15	15	15	15
Lecitina	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Ovo	60	60	60	60	60
Sal	1	1	1	1	1
Bicarbonato de sódio	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Açúcar	30	30	30	30	30
Água	15	15	15	15	15
Essência de baunilha	2	2	2	2	2

Obs.: Quantidades em porcentagem (m/m) com base no total da farinha de trigo

A partir da mistura do óleo, açúcar, ovos, água, essência de baunilha e lecitina, formou-se um creme; em seguida, foram adicionados a farinha de trigo, o sal e o bicarbonato de sódio, dissolvidos em água, e homogeneizando-se durante 3 a 5 min. A massa foi deixada em descanso, por 20 min; os biscoitos foram formados por rolo moldador em forma de círculo com 3 cm de diâmetro e forneados em temperatura de 210 °C, por 15 min; em seguida, foram resfriados em temperatura ambiente de 25 ± 3 °C e acondicionados em embalagens de polietileno.

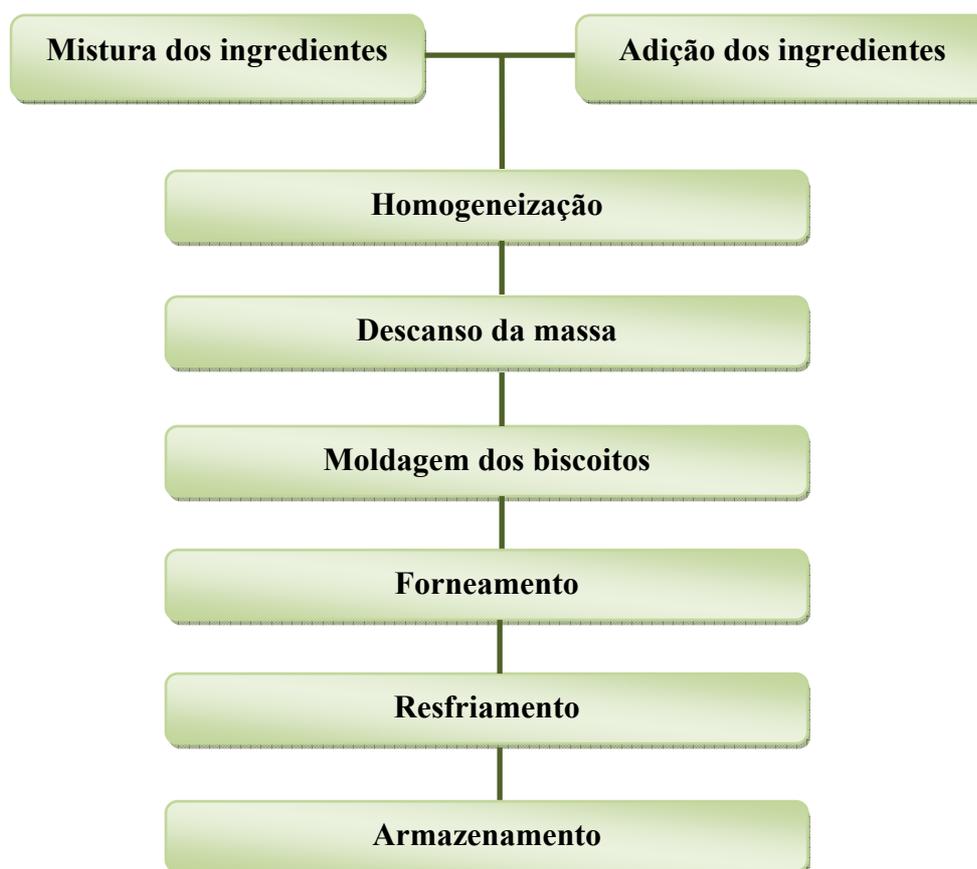


Figura 3.3 – Fluxo de produção de biscoitos *cookies* adicionados de *Spirulina*

3.9 - Caracterização física, química e análise microbiológica dos biscoitos com *Spirulina*

3.9.1 - Características físicas

Após o processamento os biscoitos enriquecidos com *Spirulina* foram submetidos, em triplicata, às análises físicas de cor instrumental descrita no item 3.3.10 e textura instrumental.

3.9.1.1 - Textura instrumental

Para analisar os atributos de textura foram feitos testes de ruptura da fibra, resistência à compressão para os biscoitos formulados. Os testes foram realizados em texturômetro da marca TA.XT plus de acordo com a Figura 3.4, com 10 repetições para cada atributo.



Figura 3.4 - Probes utilizados nas análises de atributos de textura, **a**: P/2; **b**: P/32

O probe P/2 foi utilizado para o atributo ruptura de fibras utilizando-se uma tensão de 50% da amostra com força de contato de 1 N, uma distância de retorno de 30 mm e tempo de retorno de 20 segundos.

Para a análise de resistência à compressão utilizou-se o probe P/32, com uma tensão sobre 50% da amostra, força de contato de 1 N, distância de retorno de 30 mm e tempo de retorno de 20 segundos.

3.9.2 - Características químicas

Os biscoitos foram caracterizados por meio de parâmetros de teor de água, resíduo mineral fixo, lipídios totais, proteínas totais e fibra bruta, de acordo com as metodologias descritas no item 3.3.

O valor calórico dos biscoitos foi calculado a partir dos teores da fração proteica, lipídica e de carboidratos utilizando-se os coeficientes específicos que levam em

consideração o calor de combustão 4,0; 9,0 e 4,0 kcal, respectivamente, conforme BRASIL (2003b).

Visando à determinação dos minerais utilizou-se a metodologia descrita no item 3.5.2.3.

3.9.3 - Análises microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras de *Spirulina* submetida às secagens foram realizadas segundo metodologia preconizada por Vanderzant e Spplittstoesser (1992). Para tanto, foram realizadas análises de micro-organismos indicadores da qualidade sanitária de alimentos, as quais constaram da contagem do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes a 35 °C e 45 °C, contagem de bactérias aeróbias mesófilas e/ou anaeróbias facultativas viáveis, contagem de fungos filamentosos e leveduriformes, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e detecção de *Salmonella* spp., de acordo com Brasil (2001). As análises foram realizadas em triplicata, no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos (CCHSA/UFPB).

3.10 - Avaliação sensorial dos biscoitos

As cinco formulações de biscoitos foram submetidas ao teste de aceitação no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos (CES/UAS/UFCG), e avaliados os seguintes atributos: aparência, cor, aroma, sabor, textura e avaliação global, utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos com notas que foram de 1 (desgostei muitíssimo) até 9 (gostei muitíssimo), segundo metodologia citada por Faria e Yotsuyanagi (2002). Os formulários (Figura A.1 - Apêndice A) destinados a esse teste continham campos que possibilitavam aos provadores, anotar descrições que julgassem importantes.

Para o teste de intenção de compra foi utilizada uma escala estruturada de cinco pontos, em que os julgadores atribuíram notas de 1 (jamais compraria o produto) até 5 (compraria o produto) (Figura A.1). As cinco formulações também foram comparadas quanto à preferência relativa (Figura A.2), tendo-se solicitado, aos painelistas, que colocassem as amostras em ordem decrescente de sua preferência com notas que variaram de 4 (“amostra mais preferida”) a 1 (“amostra menos preferida”). Com a finalidade de se obter maiores informações sobre as características sensoriais de cada amostra os

provadores foram instruídos a relatar os atributos sensoriais que contribuíram para a escolha das amostras “mais preferida” e “menos preferida”.

Esses testes foram realizados com 50 provadores não treinados, escolhidos por serem potenciais consumidores de biscoito, compostos por alunos de graduação, docentes e funcionários da Universidade Federal de Campina Grande – *campus* de Cuité - PB. Em ambos os testes as amostras foram padronizadas e servidas simultaneamente e de forma aleatória, a temperatura ambiente, em bandejas de isopor e acompanhadas do formulário de avaliação sensorial. Juntamente com as amostras foi oferecida água aos provadores, os quais foram orientados, a usá-la entre uma amostra e outra, para remoção do sabor residual e prová-las da esquerda para direita.

3.11 - Análise estatística

Os resultados da pesquisa foram submetidos a testes estatísticos utilizando-se o programa computacional Assistat versão Beta 7.7 (SILVA, AZEVEDO, 2006). O delineamento utilizado no armazenamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 (temperaturas: 30 e 40 °C) x 5 (tempos: 0, 15, 30, 45 e 60 dias) x 3 repetições. Para comparação entre médias foi utilizado o teste de Tukey.

Aos resultados da análise da composição centesimal da Biomassa in natura e seca, bem como dos cinco tipos de biscoito, foram aplicados a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey a 5% de significância e, para o teste de aceitação sensorial do biscoito. Para o teste de ordenação foi utilizada a tabela de Newel MacFarlane (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

3.12 - Procedimentos éticos

Considerando a exigência do Conselho de Saúde, esta pesquisa foi submetida à apreciação e aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa (SISNEP), sob o nº CAAE: 04781512.6.0000.5182, tendo em vista a realização de Análises Sensoriais com humanos, os quais assinaram o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), consentindo em participar da pesquisa (Apêndice B).

Este procedimento está baseado na Resolução 466/12 (CNS-MS, 2012), que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos e

estabelece que "toda pesquisa envolvendo seres humanos deverá ser submetida à apreciação de um Comitê de Ética em Pesquisa".

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Caracterização química, física e físico-química da *Spirulina* in natura

Apresentam-se, na Tabela 4.1, os valores médios e os desvios padrões dos parâmetros químicos, físicos e físico-químicos da *Spirulina* in natura.

Tabela 4.1 - Características químicas, físicas e físico-químicas na *Spirulina* in natura

Parâmetros	Médias e desvios padrão
Teor de água (% b.u.)	86,79 ± 0,04
Resíduo mineral fixo (%)	1,36 ± 0,13
Proteínas (%)	5,87 ± 0,20
Lipídios (%)	1,59 ± 0,09
Carboidratos (%)	1,61 ± 0,10
Ácido ascórbico (mg/100g)	60,67 ± 0,87
Fibra bruta (%)	2,78 ± 0,03
pH	7,43 ± 0,02
Atividade de água (a _w)	0,985 ± 0,00
Tensão superficial (mN/m)	63,84 ± 2,53
Luminosidade (L*)	15,06 ± 0,27
Intensidade de verde (-a*)	-7,73 ± 0,30
Intensidade de amarelo (+b*)	10,60 ± 0,51

O teor de água encontrado para a *Spirulina* in natura foi de 86,79%, valor superior ao determinado por Oliveira et al. (2009) e por Oliveira et al. (2010) que trabalharam com a mesma microalga e quantificaram o teor de água em 76,7 e 75,7%, respectivamente. Quanto ao resíduo mineral fixo (cinzas), o valor médio encontrado foi de 1,36%, inferior, portanto, ao determinado por esses mesmos autores, que foi de 1,7%, em ambos.

Quanto ao teor de proteínas, foi definido, nesta pesquisa, um percentual de 5,87%, bastante inferior ao valor indicado por Oliveira et al. (2010) de 11,9%, e mais distante por Oliveira et al. (2009), que quantificaram 17,2% de proteínas na *Spirulina* fresca. Os outros macronutrientes também apresentaram valores diferentes aos da literatura sendo 1,59% e 1,61% de lipídios e carboidratos, respectivamente. Esses dados são inferiores aos das pesquisas realizadas por Oliveira et al. (2009) e Oliveira et al. (2010), que quantificaram os valores de 2,0 e 3,4% para os lipídeos e de 2,4 e 7,6% para carboidratos, respectivamente.

Tanto no ambiente natural quanto nos cultivos, o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos (MOHEIMANI, 2005). As respostas das células a essas condições ambientais definem esses fatores como limitantes ou otimizantes. Os fatores biológicos estão relacionados às

taxas metabólicas da espécie cultivada, à possível influência de outros organismos sobre o seu desenvolvimento e à idade do inoculo (PELIZER et al., 2003). Quanto aos fatores físico-químicos e nutricionais, os mais observados são a luz (DARLEY, 1982), a temperatura (COLLA et al., 2007), a quantidade e o tipo de aeração (CONVERTI et al., 2006; ONCEL; SUKAN, 2007), a disponibilidade de nutrientes (GUILLARD, 1975), a salinidade (LOURENÇO; MARQUES JUNIOR, 2002) e o pH (LOURENÇO, 2006). Todos esses fatores podem influenciar no valor nutricional das microalgas incluindo sua forma e tamanho, digestibilidade (relacionada à estrutura e composição da parede celular), composição bioquímica (nutrientes, enzimas, toxinas se presentes) e os requerimentos dos organismos alvo da alimentação.

O valor médio encontrado para concentração de ácido ascórbico na *Spirulina* in natura foi de 60,67 mg/100 g. Comparando a concentração deste mesmo nutriente em sucos de *citrus*, o valor do ácido ascórbico na *Spirulina* é considerado elevado uma vez que este nutriente apresenta valores na tangerina Ponkã de 29,30 mg/100 g, tangerina Murcote de 12,78 mg/100 g, laranja Pera de 49,15 mg/100 g, laranja Lima de 66,24 mg/100 g, laranja Natal de 51,28 mg/100 g, laranja Valência de 41,84 mg/100 g e laranja Bahia de 60,32 mg/100 g (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

A quantidade de fibra bruta encontrada nesta pesquisa foi de 2,78%. Considerando que a ingestão diária recomendada (IDR) para adultos é de 25 g (BRASIL, 2005b), nota-se que 100 g de *Spirulina* in natura contribuíram com 11,12% da ingestão diária de um indivíduo adulto.

Verifica-se que a *Spirulina* in natura apresentou pH médio de 7,43. O crescimento de microalgas em cultivo envolve o consumo de CO₂ dissolvido no meio, aumentando o pH do sistema que pode atingir níveis muito elevados (LOURENÇO, 2006). Devido o pH ser utilizado como parâmetro seletivo para presença microbiana e de intercorrências de interações químicas, esta variável deve ser considerada para controle dos tratamentos industriais a serem dados aos produtos alimentícios; assim a *Spirulina*, ao contrário de outras cianobactérias, apresenta baixa susceptibilidade a contaminação de seus cultivos por outros micro-organismos.

A atividade de água (a_w) encontrada na *Spirulina* in natura foi de 0,985, classificada como alta, o que é justificado para uma microalga in natura, ou seja, sem ter sido submetida a nenhum processo de desidratação ou secagem. De acordo com Bejar, Mihoubi, Kechauou (2012), o elevado valor de atividade de água pode promover várias

mudanças às químicas e microbiológicas. Diante deste valor, a redução da atividade de água se faz necessária a fim de aumentar a vida de prateleira da *Spirulina*.

A tensão superficial e a viscosidade são fatores que influenciam nos resultados da eficiência e produtividade da secagem por aspersão com relação ao fluido (pasta, líquido, emulsão, solução etc.) a ser desidratado (ROSA; TSUKADA; FREITAS, 2006). Neste contexto verificou-se que a tensão superficial encontrada na *Spirulina* in natura foi 63,84 mN/m, considerada baixa quando comparada com a tensão superficial da água que é 71,95 mN/m em temperatura ambiente; assim, a *Spirulina* apresenta bom comportamento para a secagem por aspersão.

Considerando que a proteína da *Spirulina* tem características de alimento funcional visto que, dentre muitas propriedades apresentadas uma delas é a capacidade de produzir espuma (formação de filme estável para reter gases), o elevado teor proteico na *Spirulina* faz com que a tensão superficial desta microalga seja baixa (CARVAJAL, 2009). As propriedades das proteínas para formar e estabilizar espumas têm vasta aplicação na indústria de alimentos, como na fabricação de suflês, suspiros, produtos de confeitaria e panificação (TOWNSEND; NAKAI, 1983; CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989).

Para o parâmetro cor da *Spirulina* in natura foram determinados os atributos Luminosidade (L^*), com valor médio de 15,06, intensidade de verde ($-a^*$), com valor médio de -7,73 e intensidade de amarelo ($+b^*$), com valor médio de 10,60. Como o eixo L^* (luminosidade) varia do preto (0) ao branco (100); o eixo a^* do verde ($-a$) ao vermelho ($+a$) e o eixo b^* , do azul ($-b$) ao amarelo ($+b$), os resultados indicam que a *Spirulina* apresenta predominância de amarelo. Reforça-se que a colorimetria tem sido utilizada para caracterizar a cor de diferentes pigmentos, a exemplo das antocianinas (SILVA et al., 2010), clorofila (MALHEIROS, 2007) e carotenoides (MELENDEZ-MARTINEZ; VICARIO; HEREDIA, 2003) e para avaliar a cor de alimentos.

Duarte et al. (2008), encontraram, na *Spirulina* in natura, os valores de $L^* = 19,80$, $a^* = +8,98$ (vermelho) para e $b^* = -5,87$ (azul), estando em escala de cor diferente da encontrada nesta pesquisa (verde-amarelo). Essas diferenças podem ocorrer em razão de diferentes variedades e condições de cultivo, entre outros fatores.

Na Tabela 4.2 se encontra o resultado do aminograma da *Spirulina* in natura; observa-se que a amostra contém, em maior proporção entre os aminoácidos não essenciais, o ácido glutâmico; com relação aos essenciais o de maior concentração foi a leucina. Esses resultados são condizentes com os aminoácidos determinados para as *Spirulinas platensis*, de Campanella, Crescentini, Avino (1999), Babadzhyanov et al.

(2004), Alvarenga et al. (2011) e Tharwat e Alturki (2014). E similar aos resultados dos aminogramas apresentados por Morist et al. (2001), para a *Spirulina* da cepa PCC 8005 e Morais et al. (2009) para a *Spirulina* da cepa LEB 18.

Tabela 4.2 - Aminograma da *Spirulina* in natura

Aminoácidos	Valores (g/100 g)
Ácido glutâmico	10,02
Ácido aspártico	6,31
Arginina**	4,83
Leucina*	4,56
Alanina	4,45
Treonina*	3,54
Valina*	3,42
Glicina**	3,33
Serina**	3,21
Isoleucina*	2,92
Fenilalanina*	2,54
Lisina*	2,44
Prolina**	2,39
Tirosina**	2,26
Metionina*	1,09
Histidina**	0,95
Triptofano*	0,68
Cistina**	0,22

*Aminoácidos essenciais; ** Aminoácidos condicionalmente essenciais; Sem asterisco são os aminoácidos não essenciais.

4.1.1 - Viscosidade aparente

Na Tabela 4.3 se encontram as viscosidades aparentes médias da *Spirulina* in natura nas taxas de deformação de 18,6 a 186 s⁻¹ (equivalentes a velocidades de rotação de 20 a 200 rpm) e temperatura de 25 °C. As amostras apresentaram valores de viscosidade aparente na faixa de 77,00 a 278,83 mPas.

Observa-se que a viscosidade aparente apresentou tendência de redução com o aumento da taxa de deformação na temperatura avaliada, tornando-se mais fluida, comportamento característico de fluidos não newtonianos e pseudoplásticos. Este comportamento geralmente é encontrado em sistemas coloidais onde as partículas assimétricas, com orientação ao acaso ficam inicialmente emaranhadas, formando uma rede e dificultando o escoamento. O aumento na taxa de deformação promove a orientação das partículas ou destruição dos agregados, favorecendo a liberação do líquido que estava retido em seu interior ocasionando, conseqüentemente, a diminuição da viscosidade

(POSSA; MINAS, 2004; ARAÚJO, NASCIMENTO, 2008). Santos et al. (2013b) também verificaram, na microalga *Chlorella* sp. BR001 que se trata de um fluido não newtoniano com características pseudoplásticas, de viscosidades aparentes de aproximadamente 1,25 a 5,5 mPas em taxas de deformação de 11 a 322 s⁻¹ a 25 °C, inferiores a *Spirulina* nesta pesquisa.

Tabela 4.3 – Viscosidades aparentes (m Pa s) médias da *Spirulina* in natura a 25 °C em função da taxa de deformação (s⁻¹).

Taxa de deformação (s ⁻¹)	Viscosidade aparente (m Pa s)
18,6	278,83 ± 2,30 a
27,9	219,80 ± 2,71 b
37,2	189,57 ± 3,17 c
46,5	167,67 ± 0,58 d
55,8	146,67 ± 5,10 e
65,1	136,90 ± 1,51 ef
74,4	126,00 ± 2,10 fg
83,7	119,03 ± 1,90 fgh
93	112,00 ± 0,87 ghi
112	101,50 ± 1,21 hij
130	93,93 ± 2,15 ijl
149	87,00 ± 2,69 jl
167	82,67 ± 2,06 jl
186	77,00 ± 1,73 l

Obs.: Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. DMS – Desvio mínimo significativo; MG – Média geral; CV – Coeficiente de variação; DMS = 19,71 m Pa s; MG = 138,57 m Pa s; CV = 4,76%

4.2 – Secagem convectiva

Na Tabela 4.4 são apresentados os valores dos parâmetros dos modelos matemáticos de Page, Henderson e Pabis, Midilli, Dois Termos e Aproximação da Difusão, ajustados as curvas de cinética de secagem de *Spirulina*, aos coeficientes de determinação (R²) e os desvios quadráticos médios (DQM). Observa-se que todos os modelos matemáticos proporcionaram bons ajustes aos dados experimentais em razão de terem apresentado coeficientes de determinação (R²) superiores a 0,99 e desvios quadráticos médios inferiores a 0,0373. Destaca-se o modelo de Midilli, que apresentou os maiores coeficientes de determinação (> 0,9991) e menores desvios quadráticos médios inferiores a 0,0146.

Tabela 4.4 – Parâmetros, coeficientes de determinação (R^2) e desvios quadráticos médios (DQM) dos modelos de Page, Henderson e Pabis, Midilli, Dois Termos e Aproximação da Difusão ajustados às curvas de secagem da *Spirulina* seca por convecção em diferentes temperaturas

Modelo	Temp. de secagem (°C)	Parâmetro				R^2	DQM
		k	n				
Page	40	0,0016	1,2526			0,9993	0,0130
	50	0,0008	1,2511			0,9989	0,0123
	60	0,0062	1,0467			0,9981	0,0372
Modelo	Temp. de secagem (°C)	Parâmetro			R^2	DQM	
		k	a				
Henderson e Pabis	40	0,0058	1,0472		0,9960	0,0322	
	50	0,0062	1,0493		0,9924	0,0303	
	60	0,0062	1,0467		0,9947	0,0372	
Modelo	Temp. de secagem (°C)	Parâmetro				R^2	DQM
		a	k	n	b		
Midilli	40	0,9784	0,0011	1,3056	2×10^{-6}	0,9996	0,0099
	50	0,9749	0,0011	1,3381	$6,1 \times 10^{-9}$	0,9993	0,0081
	60	0,9698	0,0009	1,3552	$9,6 \times 10^{-10}$	0,9992	0,0145
Modelo	Temp. de secagem (°C)	Parâmetro				R^2	DQM
		a	k	b	q		
Dois Termos	40	0,6233	0,0058	0,4239	0,0058	0,9961	0,0322
	50	0,5244	0,0062	0,5249	0,0062	0,9924	0,0303
	60	0,5231	0,0062	0,5236	0,0062	0,9944	0,0372
Modelo	Temp. de secagem (°C)	Parâmetro			R^2	DQM	
		a	k	b			
Aproximação da Difusão	40	-5,6749	0,0111	0,8927	0,9995	0,0114	
	50	-84,7529	0,0112	0,9918	0,9991	0,0107	
	60	-84,2387	0,0114	0,9916	0,9988	0,0176	

Verifica-se que o parâmetro k (min^{-1}) do modelo de Page aumentou com o aumento da temperatura entre 50 e 60 °C. Segundo Corrêa et al. (2010) o parâmetro k tende a aumentar já que maiores temperaturas significam maiores taxas de secagem chegando ao teor de água de equilíbrio em menor tempo.

Avaliando a constante n do modelo de Page, verifica-se que com o aumento da temperatura de desidratação houve menor resistência do produto à secagem, verificada pela

redução de N. De acordo com Côrrea et al. (2010) a constante n do modelo de Page interfere na resistência interna do produto à secagem.

O parâmetro k, do modelo de Midilli, que representa a constante da taxa de secagem, permaneceu estável com o aumento de 40 para 50 °C e reduziu de 50 para 60 °C. Segundo Goneli et al. (2009), o parâmetro k representa o efeito das condições externas de secagem o qual tende a aumentar com a elevação da temperatura do ar de secagem. Esta tendência foi observada para a constante k dos modelos de Henderson e Pabis, Dois termos e Aproximação da Difusão.

Na Figura 4.1 se encontram as cinéticas de secagem durante a secagem convectiva em estufa da *Spirulina* em diferentes temperaturas avaliadas com ajuste pelo modelo de Midilli, considerado como o melhor modelo dentre os testados.

Observa-se a proximidade das curvas ajustadas aos dados experimentais. Constatase que as curvas de secagem foram influenciadas pela temperatura com a redução gradativa do tempo de secagem com a elevação da temperatura; observa-se, ainda, que em todas as temperaturas as curvas de secagem demonstraram maior perda de água no início do processo de secagem, comportamento similar à secagem de *Spirulina* realizada por Desmorieux e Decaen (2005), que constataram que não há uma constância na taxa de secagem e observaram aumento dessa taxa com o aumento da temperatura de secagem e velocidade do ar de secagem. A influência do aumento da temperatura sobre o tempo de secagem é esperada, como relatada por Oliveira et al. (2009) que afirmam não ter observado período constante de velocidade de secagem além de, na fase inicial, ter ocorrido maior velocidade de secagem com posterior diminuição desta velocidade, ao fim do experimento.

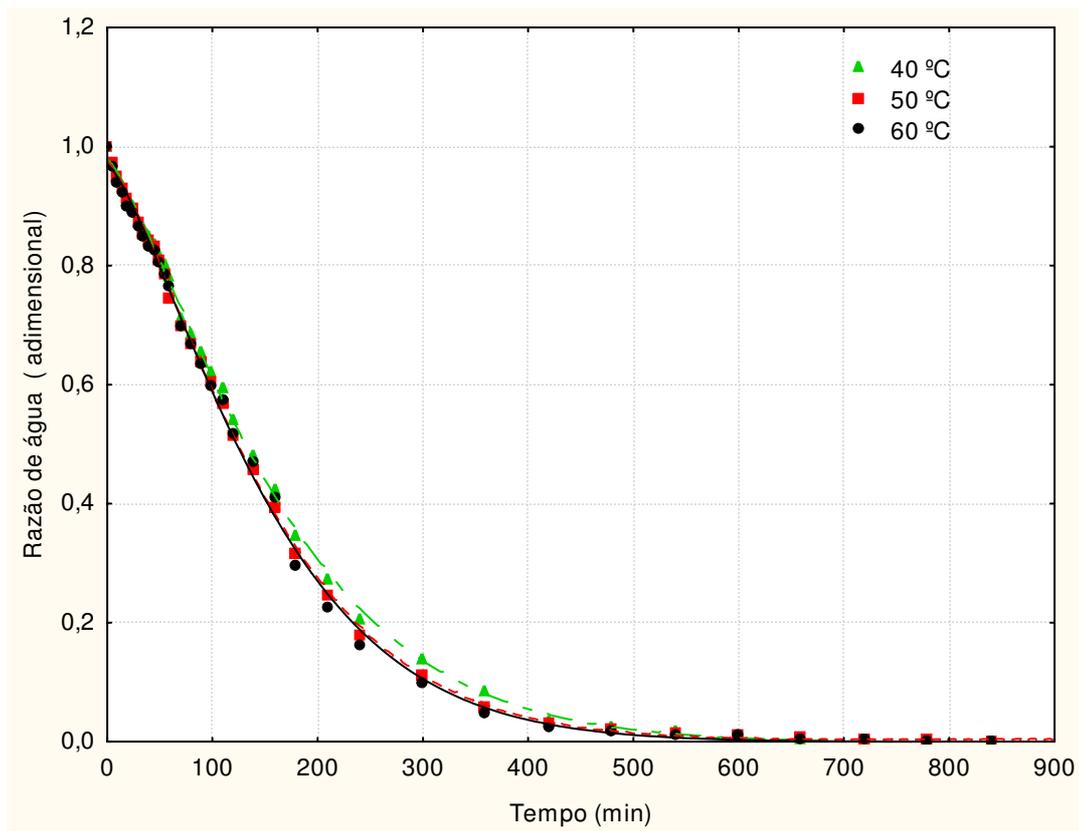


Figura 4.1 – Cinética de secagem convectiva da *Spirulina* em diferentes temperaturas com ajustes pelo modelo de Midilli

4.3 - Caracterização física, química, físico-química e microbiológica da *Spirulina* submetida aos três métodos de secagem

4.3.1 - Caracterização física

4.3.1.1 - Distribuição granulométrica

Na Figura 4.2 são apresentados os histogramas da distribuição granulométrica da biomassa da *Spirulina* desidratada por diferentes métodos de secagem em diferentes temperaturas. Verificou-se que as partículas apresentaram diâmetros muito variados. As amostras secadas em estufa (secagem convectiva) apesar de terem sido trituradas em multiprocessador doméstico, após a secagem, apresentaram distribuição granulométrica distinta. Para a amostra secada em estufa a 40 °C o maior percentual de partículas retidas foi na peneira com abertura de 0,180 mm (mesh 80); a 50 °C as partículas foram maiores do que a 40 °C com o maior percentual retido na peneira com 0,850 mm (mesh 20) e a 60 °C as partículas tiveram seus tamanhos com diâmetros variados entre 0,500, 0,710 e 0,850

mm (mesh 32, 24 e 20), respectivamente. A biomassa produzida por liofilização teve o maior percentual retido na peneira com 60 mesh, equivalente ao diâmetro de 0,250 mm. Apesar do tempo de trituração ter sido pré-determinado possivelmente para padronizar as amostras quaisquer diferenças de tempo possam ter causado esta diferença no tamanho das partículas.

Devido a trituração, do produto secado em estufa e liofilizado ter sido após a secagem, essas partículas se apresentam com tamanhos diversos; esta variação talvez fosse minimizada por um processo de peneiramento posterior à trituração para uniformizar o tamanho das partículas da amostra. Na pesquisa realizada por Dotto et al. (2013), por MEV foi mensurado que partículas da *S. platensis* (secada em estufa a 60 °C) apresentaram diferentes formas e diâmetro médio entre 0,068-0,075 mm.

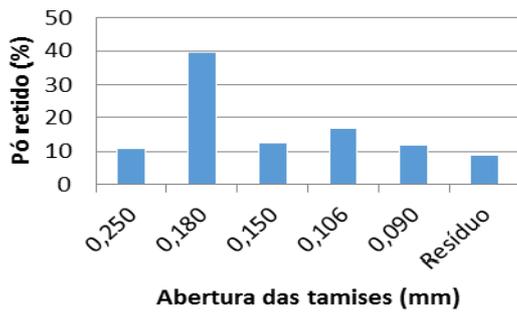
Segundo Tannous e Rocha (2014), as partículas de pó podem ser classificadas de acordo com a abertura das malhas em sólidos grosseiros (abaixo de 4 mesh), finos (4 a 48 mesh) e ultrafinos (48 a 400 mesh). Diante desta classificação as amostras secadas na estufa a 40 °C e secadas no secador por aspersão a 150 °C (ciclone) são classificadas como ultrafinas; as amostras secadas no secador por aspersão a 170 °C (câmara e ciclone), secada a 150 °C e coletada na câmara e seca a 190 °C (ciclone) foram classificadas como finas e a amostra liofilizada e secada no secador por aspersão a 190 °C (câmara) foram classificadas como ultrafina e fina.

Analisando o histograma da Figura 4.2 da amostra liofilizada observa-se que um percentual grande ficou retido como resíduo (> 20%) e que a menor peneira tinha a malha de 0,250 mm, indicando haver partículas com diâmetros inferiores a este valor.

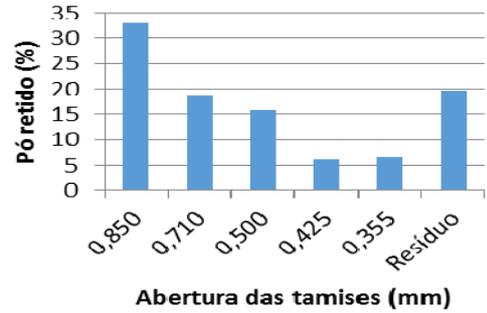
De acordo com Dias e Leonel (2006) a granulometria constitui um aspecto de qualidade importante na padronização de produtos (pós/farinhas) alimentícios porém muitas vezes as classificações são particulares, com denominações de grossa, média e finas, não obedecem a padrões ou técnicas descritas na legislação.

Nos produtos resultantes da secagem por aspersão houve diferença no tamanho das partículas entre o pó advindo da câmara e do ciclone. Constata-se, na amostra secada a 150 °C e coletada no ciclone, que a maior quantidade de biomassa ficou retida na peneira de 0,250 mm de diâmetro (60 mesh) enquanto para a amostra coletada na câmara o maior percentual retido foi na peneira de 0,500 mm (32 mesh).

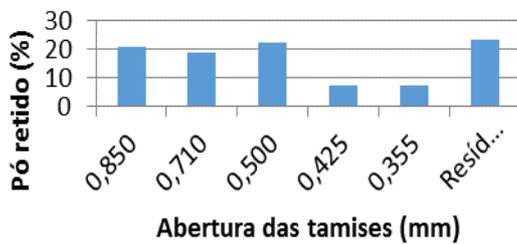
Convectiva 40 °C



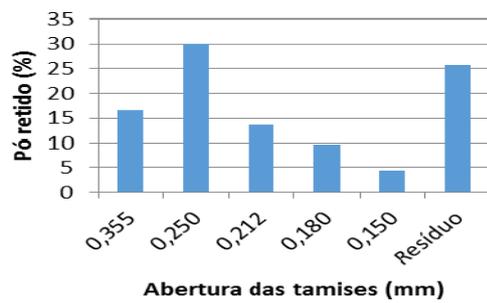
Convectiva 50 °C



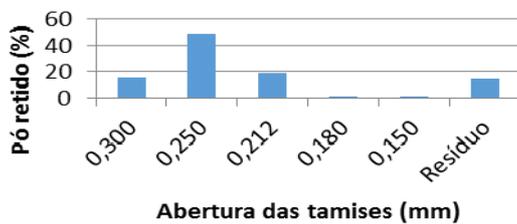
Convectiva 60 °C



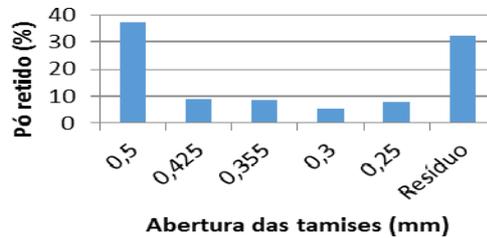
Liofilizada



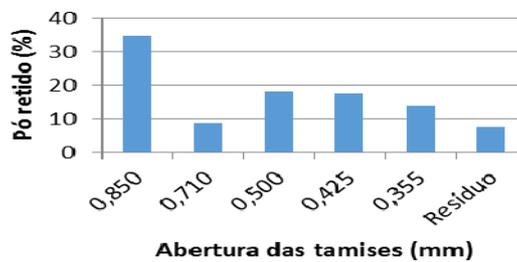
Aspersão - Ciclone 150 °C



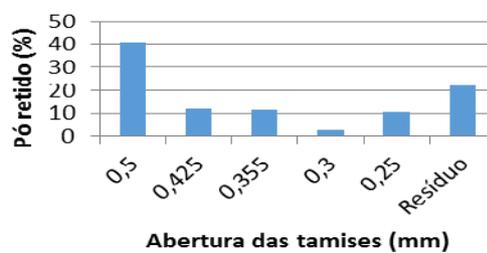
Aspersão - Câmara 150 °C



Aspersão - Ciclone 170 °C



Aspersão - Câmara 170 °C



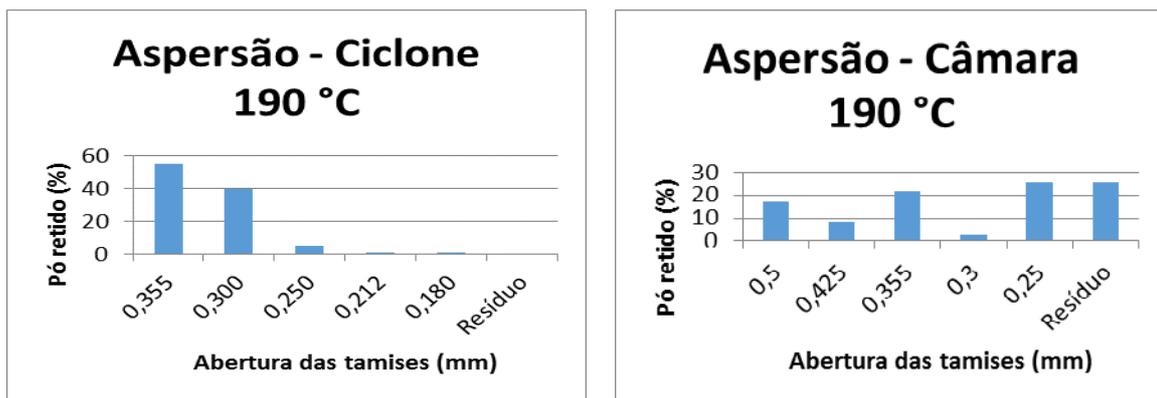


Figura 4.2 – Distribuição granulométrica das partículas do pó de *Spirulina* submetida a diferentes métodos de secagem.

Diferente do tamanho das partículas entre ciclone e câmara do pó secado por aspersão em temperatura de 150 °C, os produtos resultantes da secagem por aspersão nas temperaturas de 170 e 190 °C resultam em maior tamanho de partículas no ciclone. O maior percentual de partículas da biomassa a 170 °C coletada no ciclone foi de 0,850 mm (20 mesh) e na câmara foi de 0,500 mm (32 mesh). Nas amostras secadas a 190 °C, o maior percentual de partículas retidas no ciclone foi de 0,355 mm (42 mesh) e da câmara de 0,250 mm (60 mesh).

Os tamanhos das partículas dos alimentos se constituem em um aspecto importante nas preparações alimentícias, visto que uma uniformidade maior no diâmetro dos pós possibilita melhor qualidade no produto final, no que diz respeito à textura, ao sabor e à atração visual, devido o alimento absorver água de forma homogênea (SILVA et al., 2009).

4.3.1.2 - Microscopia eletrônica de varredura

A análise de morfologia foi realizada nas partículas produzidas com diferentes tipos de secagem (convectiva, liofilizada e por aspersão) e em diferentes temperaturas do ar de secagem. As imagens apresentadas na Figura 4.3 correspondem as partículas produzidas por convecção com temperatura do ar de 40 °C (convectiva), liofilizada e no secador por aspersão nas temperaturas de 150, 170 e 190 °C; neste último tipo de secagem foram analisadas, separadamente, as partículas coletadas na câmara e no ciclone do equipamento.

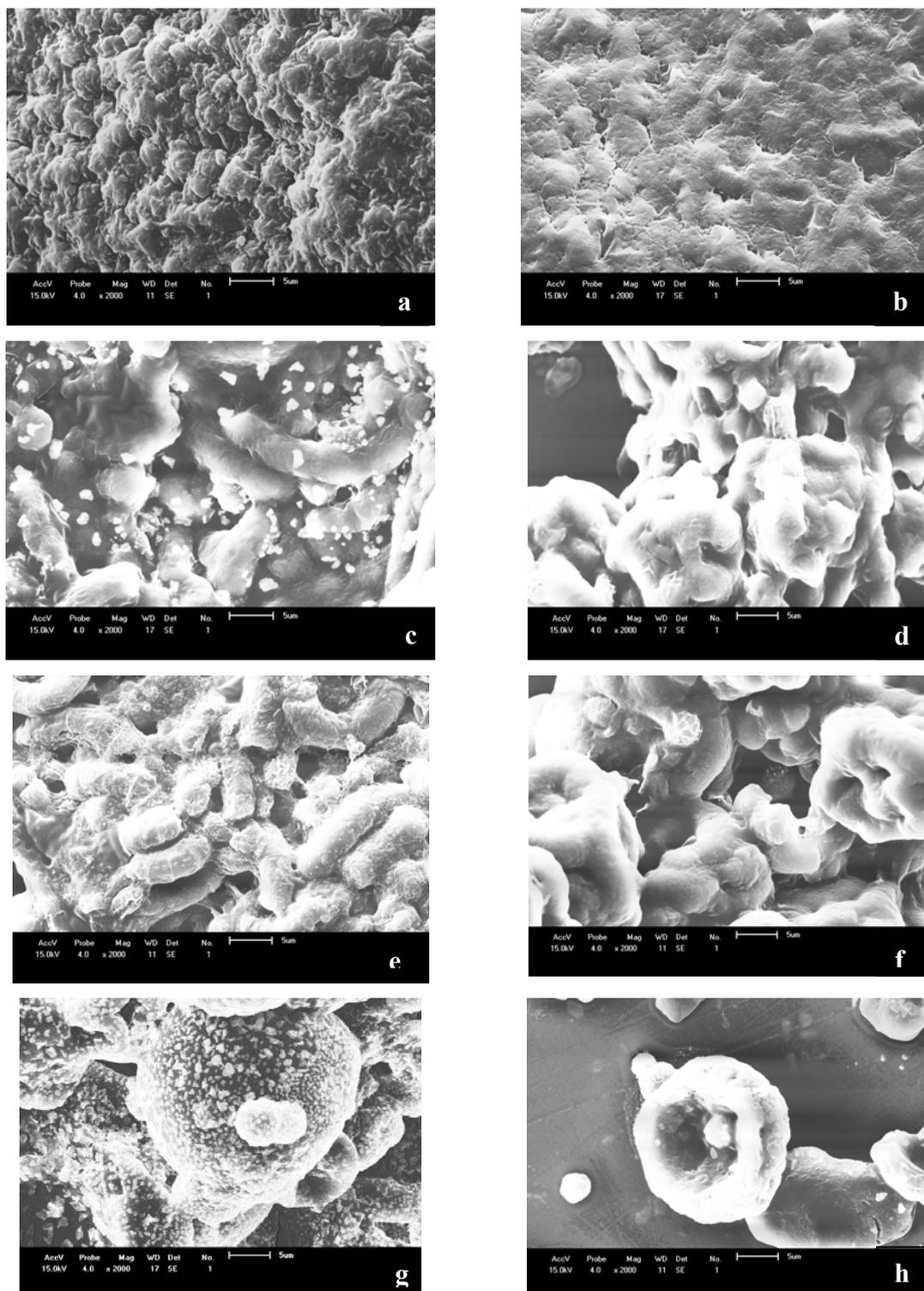


Figura 4.3 – Microscopia eletrônica de varredura de partículas resultantes do pó de *Spirulina* submetida a diferentes métodos de secagem, com aumento de 2000 vezes; (a) secagem convectiva a 40 °C. (b) liofilizada; (c) secagem por aspersão 150 °C, ciclone; (d) secagem por aspersão 150 °C, câmara; (e) secagem por aspersão 170 °C, ciclone; (f) secagem por aspersão a 170 °C, câmara; (g) secagem por aspersão 190 °C, ciclone e (h) secagem por aspersão 190 °C, câmara.

Verifica-se, nas imagens das amostras geradas pelo microscópio eletrônico de varredura (MEV) e conforme mostrado na Figura 4.3 (a, b), que não existe uniformidade na forma nem no tamanho das partículas podendo ser justificado pelo tipo de secagem pois quando a desidratação ocorre em estufa e por liofilização, é formada uma placa plana e a água é evaporada; posteriormente, faz-se uma raspagem da placa com espátula e trituração em processador, causando imperfeições nas superfícies das partículas. Resultados semelhantes foram encontrados por Adiba et al. (2011), que observaram, pelo MEV, que as partículas de biomassa de *Spirulina platensis* desidratadas em estufa a 65 °C apresentaram forma complexa e aglomerada e justifica que, como se trata de um material biológico, os pós são constituídos de várias substâncias hidrófilas e fibrosas, além de açúcares, proteínas e pigmentos. Também foi observada uma superfície áspera no pó de *Spirulina* de origem africana, que possivelmente seja pela estrutura porosa e áspera do produto.

Dotto et al. (2013) observaram uma superfície rugosa e homogênea nas partículas de *Spirulina* originadas da secagem a 60 °C em secador convencional; além disto verificou-se uma estrutura rígida e não porosa por meio do MEV.

As partículas produzidas pela secagem por aspersão apresentaram mais uniformidade quando comparadas aos outros tipos de secagem observando-se formas cilíndricas tendendo a espiral, como observado na Figura 4.3 (c, d, e, f, g, h). Conforme foi ocorrendo o aumento de temperatura de secagem essas estruturas se apresentaram em forma de argolas como pode ser observado na Figura 4.3 (f, h). Esses resultados corroboram com os encontrados por Ferrari, Ribeiro e Aguirre (2012) em polpa de amora preta em pó, os quais verificaram, na análise morfológica por meio do MEV que com o aumento da temperatura de secagem por aspersão houve mais uniformidade nas partículas analisadas.

De acordo com Nijdam e Langrish (2006) em temperaturas mais altas a água evapora mais rapidamente e a película formada se torna seca e rígida, impedindo que as partículas encolham e, assim, como resultado, há uma estrutura mais uniforme. Esses autores observaram a formação de esferas mais lisas e rígidas em leite em pó obtido em secador por aspersão a 200 °C enquanto que o leite produzido a 120 °C apresentou partículas menores e com aparência mais rugosa, o que também pode ser observado nas imagens da *Spirulina* desta pesquisa.

4.3.2 - Caracterização química da Biomassa de *Spirulina platensis*

A Tabela 4.5 contém os valores médios das análises químicas e físico-químicas realizadas nas biomassas desidratadas por diferentes métodos e temperaturas.

Observa-se que o maior teor de água foi encontrado na amostra desidratada por aspersão a 150 °C (12,28%), enquanto a amostra com menor teor de água foi a desidratada por aspersão a 190 °C (8,65%), que foi a maior temperatura de secagem. Verifica-se que os teores de água das amostras da secagem convectiva não apresentaram diferença estatística com o aumento da temperatura de secagem; o contrário ocorreu na secagem por aspersão em que, com aumento da temperatura de secagem, houve tendência de redução do teor de água.

Tabela 4.5 - Valores médios das análises químicas e físico-químicas das *Spirulinas* em pó, secas em diferentes métodos de secagens e temperaturas.

Variável	40 °C	50 °C	60 °C	Liof.	150 °C	170 °C	190 °C
Teor de água (%)	10,91 abc	10,57abc	10,38bcd	11,99ab	12,28a	9,89cd	8,65d
RMF (%)	7,93 e	15,57b	17,82a	8,00e	11,73d	7,02f	14,56c
Proteínas (%)	57,16 a	46,15c	48,33bc	58,62a	40,77d	50,29b	48,38bc
pH	6,20 e	9,42 a	9,33a	6,28e	8,15c	7,23d	8,83b
Lipídios (%)	6,20 e	6,25e	6,36e	11,46a	8,18d	9,10c	10,76b
Carboidratos (%)	16,16 c	19,82b	15,26b	7,91d	24,98a	21,68a	15,77b
Fibras (%)	1,64 d	1,64d	1,85c	2,02ab	2,06a	2,02ab	1,88bc
Ác. ascórbico (mg/100 g)	43,78 a	43,43a	31,32b	44,84a	25,59c	21,41d	21,42d
Clorofila (mg/g)	6,30 c	6,38c	7,08c	9,48a	6,52c	8,05b	6,79c

RMF – Resíduo Mineral Fixo

O teor de água determinado em pesquisas anteriores está próximo dos encontrados por Alvarenga et al. (2011) com 11,92% e 9,7% (DOTTO et al., 2013). Valores inferiores de teor de água foram verificados por Thawat et al. (2014), de 7% em *Spirulina* secada a 60 °C durante 6 a 8 horas e por Lemes et al. (2012) de 5,49 e 5,72%.

Quanto ao resíduo mineral fixo, o maior percentual foi de 17,82%, na amostra secada em estufa a 60 °C e a amostra que demonstrou menor concentração foi a secada por aspersão a 170 °C, com percentual de 7,02%. Os resultados diferentes encontrados entre os tratamentos provavelmente se devem aos diferentes lotes coletados da *Spirulina*. Os fotobioreatores (tanques de cultivo) podem provocar, naturalmente, diferentes concentrações dos constituintes da *Spirulina* dependendo, entre outros fatores, das

condições de cultivo, da estação do ano, da temperatura, da luminosidade e da pluviosidade (BARROS, 2010; KIM et al., 2013).

Valores inferiores para o resíduo mineral fixo da *Spirulina* foram encontrados por Lemes et al. (2012), de 4,96 e 5,4%, e por Dotto et al. (2013), de 6,3%; valores próximos aos das amostras secadas a 40 °C e liofilizadas, foram determinados por Alvarenga et al. (2011), de 8,44%, e por Tharwat e Alturki (2014), de 9%; Donato et al. (2010), quantificaram os minerais em torno de 17,53%, sendo próximos aos da amostra secada a 60 °C.

Uma das características mais marcantes e que destaca a *Spirulina* como alimento funcional, é o seu alto teor proteico, indicando esta alga para uma gama de pesquisas enfatizando este nutriente de alto custo e essencialidade para o desenvolvimento humano. Neste contexto os tipos de secagem que mais conservaram o percentual de proteínas foram a liofilização, cujo teor obtido foi de 58,62% e a secagem convectiva a 40 °C, com o valor de 57,16%, e o método que proporcionou o pó com o menor percentual foi a secagem realizada por aspersão a 150 °C (40,77%). É importante reforçar que a variável temperatura é de suma relevância na secagem, de vez que a temperatura de degradação das proteínas da *Arthrospira* sp., se encontra entre 60 e 70 °C (CHRONAKIS et al., 2001).

Encontram-se, nos relatos percentuais de proteínas de 58,20% (ALVARENGA et al., 2011) e 59,65% (DONATO et al., 2010) próximos ao maior percentual determinado nesta pesquisa porém nesses trabalhos não se encontram detalhes do processo de secagem utilizado para obtenção da biomassa de *Spirulina*. Tharwat e Alturki (2014) e Dotto et al. (2013) desidrataram a *Spirulina* por secagem convectiva utilizando a temperatura de 60 °C; os percentuais encontrados foram 61% e 67%, respectivamente, ambos superiores ao valor de 48,33% desidratado nas mesmas condições na atual pesquisa.

Lemes et al. (2012) estudaram como a concentração de nutrientes era afetada por diferentes enriquecimentos no meio de cultivo encontrando, na *Spirulina* um percentual de proteínas de 40,6% quando cultivada com KNO₃ e de 49,07% quando cultivada com ureia, esses valores estão próximos à faixa encontrada na presente pesquisa, que foi de 40,77 a 58,62% de proteínas.

Valor de proteína inferior foi quantificado por Morist et al. (2001) na *Spirulina* liofilizada, de 56% e valores superiores foram verificados por Leema et al. (2010), na *Spirulina* liofilizada com teores variando de 59,87% a 66,96%, de acordo com o meio de cultivo mais concentrado de água do mar para o menos concentrado respectivamente e para a amostra controle o valor de 71,17%.

Morist et al. (2001) determinaram 53% de proteínas na *Spirulina* desidratada pelo método de secagem por aspersão a 200 °C, valor superior ao quantificado nas três temperaturas pelo mesmo método nesta pesquisa.

Os valores de pH encontrados na biomassa utilizada variaram de 6,20 a 9,42, sendo que na biomassa desidratada por convecção a 40 °C o pH 6,20 foi menor ($p < 0,05$). Atenção deve ser dada à relação entre os valores de pH e o percentual proteico; de acordo com Antelo, Costa e Kalil (2008), em pesquisas sobre o modelo cinético para degradação de ficocianina na *Spirulina*, constataram que em pH 6 nas temperaturas entre 50 a 55 °C este pigmento proteico se manteve mais estável, bem como em pH 5, nas temperaturas entre 57 a 65 °C, e nesta mesma temperatura, em pH 7, foi apresentada menor estabilidade. Assim, e se relacionando os teores proteicos, com os valores de pH encontrados em cada amostra estudada nesta pesquisa, constata-se que os menores valores de pH proporcionaram uma concentração proteica maior.

O teor de lipídios é outro fator de destaque desta microalga que contém, em sua composição, uma variedade de ácidos graxos poli-insaturados, como o γ -linolênico (OLIVEIRA et al., 2010). Neste nutriente o pó obtido pelo método de liofilização apresentou o valor de 11,46%, superior aos outros métodos, principalmente ao método de secagem em estufa nas três temperaturas utilizadas, em que se quantificaram valores inferiores a 6,4%. Porém os dados são próximos aos percentuais encontrados na literatura 7% (DOTTO et al., 2003) e 6% (THARWAT e ALTURKI, 2014), ambos originados de *Spirulina* desidratada por convecção a 60 °C.

Dependendo do meio de cultivo da *Spirulina*, o teor lipídico desta microalga pode variar, como na pesquisa realizada por Leema et al. (2010) em que se verificou que a *Spirulina* liofilizada cultivada em diferentes concentrações de água do mar, o teor de lipídios foi de 12,14% no meio menos concentrado e de 8,04% no meio mais concentrado, e na amostra controle de 13,79%, estando os valores da *Spirulina* liofilizada e secada por aspersão nesta pesquisa, dentro desta faixa. Shimamatsu (2004) determinou 8,5% de lipídios em *Spirulina* secada por aspersão, semelhante ao encontrado nesta pesquisa pelo mesmo método, a 150 e 170 °C.

Os carboidratos se apresentaram em maior concentração na biomassa desidratada por aspersão a 150 °C, com valor de 24,98%, e a menor concentração na biomassa liofilizada, com o teor médio de 7,91%. Esta variação também é encontrada nos carboidratos na pesquisa com diferentes concentrações no meio de cultivo em que os teores ficaram entre 26,97 a 15,01% (LEEMA et al., 2010). Valores de carboidratos, de acordo

com a faixa desta pesquisa, foram determinados por Tharwat et al. (2014) e Dotto et al. (2013) de 17 e 10 %, respectivamente.

Outro componente que contribui para a funcionalidade e destaque da *Spirulina* é a presença de fibras; suas fibras são tão importantes que há pesquisas de uso das fibras de *Spirulina* na produção de nanofibras para uso em aplicações de engenharia de tecidos, como matrizes extracelulares para a cultura de células-tronco e futuro tratamento de lesões da medula espinhal (MORAIS et al., 2010).

Os maiores teores de fibra bruta foram quantificados na biomassa liofilizada (2,02%) e na desidratação por aspersão nas temperaturas de 150 °C (2,06%), e 170 °C (2,02%); e os menores na desidratação por convecção a 50 e 60 °C, de 1,64%. Valor inferior de fibra bruta de 0,78% foi determinado por Alvarenga et al. (2011) e superior foi quantificado por Lemes et al. (2012) de 3,8 e 4,3% em diferentes cultivos de Spirulin e secada por convecção a 60 °C.

Os maiores teores de ácido ascórbico foram encontrados na biomassa liofilizada (44,84 mg/100 g) e da desidratação por convecção a 40 °C (43,78 mg/100 g) e 50 °C (43,43 mg/100 g), condizente com os valores encontrados por Babadzhyanov et al. (2004), que encontraram valores entre 42,0-195,3 mg/100 g de ácido ascórbico na biomassa de *Spirulina* cultivada no Uzbequistão durante as diferentes estações do ano, com a maior concentração quantificada na primavera e a menor no outono. Os menores teores de ácido ascórbico foram das amostras secadas por aspersão (21,41-25,59 mg/100 g), provavelmente em razão das altas temperaturas.

A clorofila foi estatisticamente ($p < 0,05$) maior na *Spirulina* liofilizada, mensurada em 9,48 mg/g, confirmando a afirmação de Koca, Karadeniz e Burdurlu (2006) e de Antelo, Costa, Kalil (2008), em que os pigmentos são sensíveis a altas temperaturas. Como a liofilização ocorre em baixas temperaturas, o tipo de desidratação preservou mais o ácido ascórbico. É importante saber que a luz e a temperatura são os principais fatores físicos que afetam a produtividade de pigmentos das culturas de biomassa algal, em geral autotróficas (CARVALHO; MALCATA, 2003; MADHYASTHA; VATSALA, 2007). Tharwat et al. (2014), determinaram 11,59 mg/g de clorofila na *Spirulina* secada por convecção a 60 °C; ressalta-se que as variáveis no meio de cultivo são determinantes na composição química da *Spirulina*. LEEMA et al. (2010) encontraram, na *Spirulina*, cultivada em diferentes meios, clorofila entre 16,73 a 7,85 mg/g, estando os valores da presente pesquisa dentro desta faixa. Valores inferiores foram verificados por Lemes et al. (2012) de 1,97 e 1,10 mg/g em *Spirulina* de cultivos enriquecidos de formas diferentes.

Na Tabela 4.6 estão expostos os teores dos elementos minerais encontrados na *Spirulina* submetida a diferentes tipos de secagem e temperatura.

Segundo Mahan et al. (2010), minerais são divididos tradicionalmente em macrominerais (necessidade superior a 100 mg por dia) e microminerais ou elementos traços (necessidade inferior a 15 mg por dia). Como pode ser observado, os macrominerais de importância nutricional que aparecem em maiores percentuais na biomassa, são: potássio, cloro, cálcio, enxofre, fósforo e sódio e os microminerais são: ferro em todas as amostras, o cobre na amostra secada por aspersão a 170 °C e o zinco, no pó da liofilização.

O elemento em maior concentração na maioria das biomassas foi o potássio, com a maior concentração na amostra por aspersão a 190 °C seguido do cloro, que apresentou maiores teores na *Spirulina* secada a 60 °C. As maiores concentrações de cálcio e fósforo foram encontradas na amostra liofilizada; o enxofre e o sódio se apresentaram em maior quantidade na *Spirulina* secada a 50 °C e o ferro na amostra obtida na estufa a 40 °C.

Tabela 4.6 - Teores dos elementos minerais (mg/100 g) encontrados na *Spirulina* submetida a diferentes tipos de secagens e temperaturas

Minerais	40 °C	50 °C	60 °C	Liof.	150 °C	170 °C	190 °C
K	3421,0	3934,0	5004,0	3423,0	4243,0	2434,0	5360,0
Cl	1432,0	5194,0	5767,0	1206,0	3890,0	2128,0	4987,0
Ca	265,0	0,0	321,0	368,0	152,0	0,0	0,0
S	38,0	179,0	157,0	32,0	108,0	43,0	0,0
P	701,0	351,0	687,0	776,0	301,0	313,0	491,0
Fe	144,0	23,0	104,0	122,0	27,0	46,0	63,0
Na	1897,0	5864,0	5726,0	1644,0	3139,0	2033,0	3456,0
Sr	10,0	4,0	9,0	10,0	3,0	2,0	5,0
Br	8,0	19,0	24,0	8,0	17,0	9,0	19,0
Mn	12,0	0,0	16,0	10,0	4,0	9,0	0,0
Cu	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
Rb	2,0	2,0	2,0	3,0	3,0	1,0	3,0
Zr	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0	1,0	15,0
Zn	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
Mg	0,0	0,0	0,0	3,9	0,0	0,0	0,0

Alvarenga et al. (2011) quantificaram, na *Spirulina* teor de cálcio de 480 mg/100g e de fósforo de 1060 mg/100g, teores superiores aos do presente trabalho.

Tharwat e Alturki (2014) quantificaram, na *Spirulina*, os seguintes minerais: 620 mg/100 g de sódio; 742 mg/100 g de cálcio; 1154 mg/100 g de fósforo; 1761 mg/100 g de potássio; 587 mg/100 g de magnésio; 115 mg/100 g de ferro e 9 mg/100 g de zinco. Comparando com biomassa da *Spirulina* liofilizada os valores de sódio, potássio e ferro

são maiores na presente pesquisa e os teores de cálcio, fósforo, magnésio e zinco são inferiores.

Na Tabela 4.7 estão apresentados os valores médios da Luminosidade (L), intensidade de verde (-a*), intensidade de amarelo (+b*) e a diferença total de cor (ΔE^*) da *Spirulina* desidratada em diferentes temperaturas e processos de secagem.

Um dos atributos de qualidade e preferência do consumidor, é a cor. Os valores das coordenadas (L*, a* e b*), bem como a diferença total de cor, foram determinados na biomassa da *Spirulina*. Os valores positivos de b* e negativos para a* apresentados na Tabela 4.7 provavelmente são influenciados pelo pigmento clorofila presente na *Spirulina* determinante para a predominância da cor verde.

Tabela 4.7 - Valores médios dos parâmetros de cor - luminosidade (L), intensidade de verde (-a*), intensidade de amarelo (+b*) e diferença total de cor (ΔE^*)

Amostra	L	-a*	+b*	ΔE^*
in natura	15,06 ± 0,27	-7,73 ± 0,30	10,60 ± 0,51	-
40°C	20,38 e	-7,66 a	8,22 d	16,99 e
50°C	16,20 i	-4,55 e	7,33 d	13,97 f
60°C	26,30 a	-5,01 d	10,57 c	56,36 c
Liof	17,92 g	-2,20 g	6,10 e	49,05 g
150°C- A	17,34 h	-5,23 d	14,34 c	38,71 cd
150°C - I	22,30 c	-6,53 c	20,09 a	29,68 a
170°C- A	21,59 d	-7,25 b	18,69 b	1,49 ab
170°C - I	21,26 d	-6,36 c	18,37 b	0,50 b
190°C- A	19,53 f	-4,09 f	13,92 c	13,97 d
190°C - I	23,93 b	-4,14 f	20,68 a	32,53 a

Obs.: A – câmara; I – Ciclone; Médias com letras diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)

Observa-se que em relação à luminosidade (L) que as amostras secadas por convecção, liofilizada e secada por aspersão não obedeceram a uma sequência, porém todas apresentaram valores maiores em referência à amostra in natura que foi de 15,06, significando que as amostras clarearam após a secagem.

Quando se comparam os valores da cor L das amostras secadas por aspersão verificou-se que todos os valores aumentaram em relação à amostra in natura e apresentaram diferença estatística entre as luminosidades da câmara e ciclone na mesma temperatura, com o valor da câmara sendo estatisticamente menor ao do ciclone nas amostras secadas em 150 °C e 190 °C, o que não ocorreu com a amostra secada a 170 °C,

que não apresentou diferença estatística entre as amostras da câmara e do ciclone ($p > 0,05$).

Como se previa os valores de a^* continuaram negativos, devido à intensidade da cor verde nas amostras, e todos os valores se apresentam menores quando comparados a amostra in natura, significando que há diminuição na intensidade da cor verde quando a amostra é secada, independentemente do tipo de secagem.

Em se tratando da intensidade de amarelo (b^*), constata-se que as amostras secadas por convecção e liofilizada, indicaram uma diminuição da intensidade de amarelo; o contrário ocorreu nas amostras secadas por aspersão, que intensificaram a cor amarela quando comparada à amostra in natura.

De acordo com Obón et al. (2009) quando a diferença total de cor fica entre 0 e 1,5, considera-se que a amostra é praticamente idêntica à original, a partir da observação visual que, de acordo com a ΔE^* , foi o que ocorreu com a biomassa secada por aspersão a 170 °C, porém, quando este parâmetro se encontra entre 1,5 e 5, é classificado como diferença perceptível e se a diferença total de cor for maior que 5, significa que a mesma é, sem dúvida diferente visualmente. Partindo deste conceito e se considerando que a diferença total de cor da maioria das amostras analisadas foi bastante alta, pode-se afirmar que a cor da *Spirulina* in natura é diferente da cor da mesma desidratada.

Oliveira et al. (2009) observaram que durante a secagem de microalgas, o uso de temperaturas mais elevadas e camadas menores resultou em menor alteração da cor final do produto, que não pode ser identificado nesta pesquisa em virtude da grande variação de valores para os parâmetros de colorimetria.

Na Tabela 4.8 estão expressos os percentuais de aminoácidos da *Spirulina* secada.

É importante esclarecer a classificação dos aminoácidos quanto à sua essencialidade na fisiologia humana, uma vez que são nutrientes fundamentais para o crescimento e o desenvolvimento normal do organismo. Essas frações proteicas são classificadas em: essenciais, condicionalmente essenciais e não-essenciais (OLIVEIRA, MARCHINI, 2008).

Analisando os resultados encontrados na Tabela 4.8 vê-se que a composição aminoacídica da Biomassa é composta por aminoácidos essenciais em proporções significativas diante do total proteico. Segundo Dillon, Phuc e Dubacq (1995), esta cianobactéria representa uma das fontes mais ricas de proteínas. Esses autores afirmam que até 47% da proteína presente equivalem a aminoácidos essenciais inclusive com a presença de metionina, aminoácido ausente na maioria das microalgas.

De acordo com o aminograma da Tabela 4.8, observa-se que o produto originado da liofilização obteve maiores valores de aminoácidos na maioria, com exceção da arginina, metionina e histidina que se apresentaram em maiores concentrações no produto oriundo da secagem convectiva a 40 °C, e diferenciou a concentração de serina e isoleucina, que estão em maiores proporções na secagem realizada por aspersão nas temperaturas de 150 °C e 190 °C, respectivamente.

Tabela 4.8 – Aminograma da *Spirulina* seca por diferentes métodos de secagem.

Aminoácidos (g/100g)	40 °C	50 °C	60 °C	Liof	150 °C	170 °C	190 °C
Ácido Glutâmico	9,19	6,17	6,53	9,42	6,93	6,79	7,12
Ácido Aspártico	5,85	4,48	4,59	6,21	4,74	4,84	4,98
Arginina**	4,25	3,58	3,72	4,16	3,94	4,15	4,10
Leucina*	4,35	3,09	3,14	4,42	3,25	3,28	3,36
Alanina	4,19	2,59	2,65	4,32	2,78	2,85	2,92
Treonina*	2,92	2,73	2,76	3,72	2,81	2,84	2,90
Valina*	3,27	2,73	2,77	3,33	2,87	2,84	2,92
Glicina**	2,86	2,06	2,10	3,00	2,21	2,21	2,32
Serina**	2,77	2,21	2,26	3,03	3,36	2,39	2,44
Isoleucina*	2,75	2,96	3,02	2,83	3,10	3,05	3,17
Fenilalanina*	2,27	1,78	1,81	2,45	1,93	1,92	1,99
Lisina*	2,26	1,96	2,08	2,28	2,19	1,92	2,28
Prolina**	2,01	1,54	1,58	2,25	1,66	1,68	1,74
Tirosina**	2,22	1,65	1,58	2,23	1,57	1,56	1,65
Metionina*	1,43	0,83	0,86	0,96	0,81	0,82	0,83
Histidina**	0,84	0,64	0,67	0,72	0,69	0,69	0,72
Triptofano*	0,60	ND	ND	0,60	ND	ND	ND
Cistina**	0,20	0,12	0,12	0,21	0,11	0,11	0,09

* Aminoácidos essenciais ** Aminoácidos condicionalmente essenciais, ND – Não determinado

Comparando os resultados do aminograma encontrados na atual investigação com os valores encontrados por Morais et al. (2009), observam-se valores maiores para todos os aminoácidos. As proporções de aminoácidos neste presente estudo se apresentaram de maneira semelhante entre a *Spirulina* in natura (Tabela 4.2) e a biomassa; esta diferença aminoacídica encontrada entre esta pesquisa com a cepa, talvez possa ser explicada pelas variáveis no cultivo, como: temperatura, luminosidade, umidade relativa do ar e oxigenação do meio, de acordo com Richmond (1990), Vonshak (1997) e Jiménez Cossío e Niell (2003).

Em relação aos aminoácidos essenciais encontrados nesta pesquisa, estão em maior proporção na *Spirulina* liofilizada; assim, relacionando o percentual encontrado por Babadzhanov et al. (2004), verifica-se que os valores de 0,8% de leucina, 0,5% de

treonina, 1,3% de valina, 1,3% de isoleucina, 1,9% de lisina e 0,8% de metionina, são inferiores aos teores na *Spirulina* liofilizada.

Verifica-se que todos os aminiácidos essenciais quantificados nesta pesquisa foram inferiores aos percentuais informados por Tharwat e Alturki (2014), com 8,66% para leucina, 5,23% para treonina, 6,05% para valina, 5,88% para isoleucina, 4,58% para fenilalanina, 4,74% para lisina, 2,61% para metionina e 1,63% para o triptofano. Também superiores são os percentuais apresentados por Alvarenga et al. (2011), com 4,84% para leucina, 3,34% para valina, 3,06% para isoleucina, 2,5% para fenilalanina, 2,72% para lisina, 1,98% para metionina, apresentando inferior apenas o aminoácido treonina, com 2,84%.

4.3.3 Análise microbiológica da biomassa de *S. platensis*

Devido à necessidade do controle higiênico-sanitário, com vistas à qualidade microbiológica dos produtos alimentícios e à proteção da saúde da população, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), estabelece a partir da Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Encontram-se, na Tabela 4.9, os resultados obtidos das análises microbiológicas realizadas nas amostras em pós de *Spirulina*.

Tabela 4.9 - Valores médios das análises microbiológicas realizadas com *Spirulina* submetida a diferentes tipos de secagem

Determinação	Biomassa seca							
	40 °C	50 °C	60 °C	Liof.	150 °C	170 °C	190 °C	
Coliformes 35°C (NMP)	a	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Coliformes 45°C (NMP)	a	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
Mesófilos (UFC/g)		2,2 x 10 ³	6 x 10 ¹	2,3 x 10 ⁴	9,9 x 10 ²	1,4 x 10 ³	1,6 x 10 ³	7 x 10 ¹
Aeróbios (UFC/g)		2,5 x 10 ³	4 x 10 ⁴	4 x 10 ³	3,7 x 10 ³	3 x 10 ²	1,3 x 10 ³	7 x 10 ¹
Estaf. Coag. Positiva (UFCCG/g)		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Bolores	e	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Leveduras (UFC/g)		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>Salmonella</i> (SP/25g)		Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

As recomendações com a tolerância máxima vigente na legislação brasileira, preconizam os valores de 10 NMP/g para coliformes fecais (termotolerantes) a 45 °C, 5×10^2 UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva e ausência de *Salmonella*.

Pode-se observar, na Tabela 4.9, que não houve crescimento significativo algum de micro-organismos em 25 g de amostra; assim, a biomassa submetida aos diferentes tipos de secagem se encontra apta para ser utilizada na fabricação de biscoitos sem risco ao consumidor. A ausência de contaminação na alga é atribuída ao controle de qualidade durante o cultivo, colheita e secagem do material biológico, além das condições de cultivo, como temperatura e pH.

4.4 - Isotermas de adsorção de água

Nas Tabelas 4.10, 4.11 e 4.12 se encontram os parâmetros dos modelos de GAB, Oswin e Peleg, com seus respectivos valores de coeficientes de determinação (R^2) e os desvios percentuais médios (P). Os valores obtidos são os resultam do ajuste desses modelos às isotermas de adsorção de água, determinadas a 20, 30 e 40 °C, da biomassa da *Spirulina platensis* secada por convecção (40, 50 e 60 °C), liofilizada e secada por aspersão (150, 170 e 190 °C). Observa-se que os coeficientes de determinação (R^2) resultaram em valores acima de 0,96 em todos os modelos e amostras e os valores de P inferiores a 26%.

Na Tabela 4.10 tem-se os parâmetros no modelo de GAB, que podem ser utilizados na predição das isotermas de adsorção de água da biomassa coletada em todos os métodos de secagem, com os coeficientes de determinação (maiores que 0,9628) e os desvios percentuais médios (menor que 10%). Modelos com valores de P maiores que 10% devem ser evitados para estimar as isotermas de adsorção de água. Observa-se que a biomassa da *Spirulina*, nas temperaturas de isotermas 20, 30 e 40 °C, na maioria das amostras, não apresentou comportamento definido ao aumentar a temperatura das isotermas para o teor de água da monocamada (X_m). Apenas nas amostras da secagem convectiva em 60 °C, o X_m aumentou com o aumento da temperatura da isoterma.

O método de secagem que apresentou o menor X_m foi a secagem em estufa a 40 °C, ao utilizar a temperatura de isoterma de 20 e 30 °C, seguido da secagem por liofilização. Mosquera, Moraga e Martinez-Navarrete (2012) afirmam que o valor do teor de água em monocamada é de particular interesse de vez que indica a quantidade de água que é fortemente adsorvida na superfície dos alimentos e pode estar relacionada à estabilidade.

Na pesquisa com *Spirulina*, Oliveira et al. (2009), observaram o efeito da desidratação por meio gravimétrico sobre as isotermas de adsorção de água nas temperaturas de 10, 20 e 30 °C, ajustadas aos modelos GAB e BET e concluíram que o melhor modelo que se ajustou aos dados experimentais foi o de GAB, pois mostram os melhores coeficientes de determinação ($R^2 > 98\%$) e baixos desvios percentuais médios ($P < 10\%$). Para o modelo de GAB, pôde-se verificar que o teor de água da monocamada diminui com o aumento da temperatura, sendo que este valor representa o teor de água do material quando a sua superfície interna é coberta por uma camada de teor de água unimolecular e o teor de água ótimo para a máxima estabilidade pode ser determinada (ARIAHU; KAZE; ACHEM, 2006).

Tabela 4.10 – Parâmetros, coeficientes de determinação (R^2) e desvios percentuais médios (P) do modelo de GAB ajustado às isotermas de adsorção de água, a 20, 30 e 40 °C, da biomassa da *Spirulina platensis* seca por convecção, Liofilizada e a 150, 170 e 190 °C da biomassa seca por aspersão

Temperatura de secagem (°C)	Temperatura da isoterma (°C)	Parâmetro			R^2	P (%)
		X_m	c	k		
40	20	6,3225	68,5205	0,9797	0,9990	2,83
	30	5,9918	19,5142	0,9946	0,9996	2,45
	40	7,2191	2,8038	0,9877	0,9767	8,54
50	20	40,0926	0,2772	0,8930	0,9946	10,20
	30	12,1175	1,7862	0,9962	0,9935	7,78
	40	25,5299	0,5967	0,9296	0,9982	6,96
60	20	11,2891	1,0527	0,9948	0,9628	16,02
	30	21,5693	0,9909	0,9327	0,9917	6,58
	40	24,3552	0,6051	0,9351	0,9961	9,91
Liofilizada	20	6,4001	2,8653	0,9771	0,9954	5,46
	30	10,7900	0,5706	0,9497	0,9966	5,16
	40	6,6599	6,3512	0,9887	0,9926	8,28
150	20	16,2457	0,6381	0,9360	0,9983	4,9
	30	17,0445	1,5809	0,9175	0,9944	4,14
	40	11,9557	0,9256	0,9768	0,9984	16,08
170	20	12,6678	2,7963	0,9649	0,9918	7,43
	30	14,9299	0,7976	0,9613	0,9982	6,77
	40	8,3411	2,1469	0,9904	0,9976	6,06
190	20	18,3100	0,6025	0,9555	0,9978	4,41
	30	28,4300	0,4145	0,9072	0,9972	19,53
	40	11,9644	0,9145	0,9767	0,9984	16,72

Rahman (1995) e Syamaladevi et al. (2009) afirmam que os valores de K no modelo GAB, comumente podem variar entre 0,7 e 1,0 para materiais alimentícios, como

ocorreu para a *Spirulina* cujo valor de K se situa entre 0,8930 a 0,9962; assim, dentro da faixa supracitada.

De acordo com a classificação de Blahovec (2004) as isotermas de adsorção de água são do tipo III quando apresentam valores dentro da faixa $0 < K \leq 1$ e $0 \leq C \leq 2$ e do tipo II nos valores de $0 < K \leq 1$, $C > 2$. As isotermas de adsorção da biomassa apresentaram comportamento do Tipo II e III. Os pós secados na estufa a 40 °C, apresentaram comportamento de curvas do Tipo II, para as temperaturas de isotermas de 20, 30 e 40 °C, enquanto para as amostras secadas a 50 e 60 °C, foi constatado formato característicos do Tipo III; o pó obtido por liofilização apresentou variação de acordo com a temperatura de isotermas estudadas em que as curvas apresentaram comportamento do tipo II e III; as temperaturas que apresentaram comportamento do Tipo II foram 20 e 40 °C e a do Tipo III, a temperatura de 30 °C. Nos pós obtidos pelo método de secagem por aspersão nas temperaturas de 150 e 190°C, obtiveram-se curvas do Tipo III, em todas as temperaturas de isotermas de adsorção. A temperatura de 170 °C mostrou diferenças nas curvas ao variar a temperatura de observação das isotermas, apresentando comportamento do Tipo II a 20 e 40 °C, enquanto a 30 °C do Tipo III.

Para o modelo de Oswin verifica-se na Tabela 4.11, que as amostras produzidas apresentaram coeficiente de determinação superiores a 0,96 e os valores de P inferiores a 26%. Apesar do modelo ter apresentado bons valores para os coeficientes de determinação, os desvios percentuais médios apresentaram, na maioria dos tipos de secagem, percentuais maiores que 10%, devendo-se evitar seu uso na estimativa das isotermas do pó de *Spirulina*.

Observa-se, para o modelo de Oswin, que o parâmetro **a** do modelo apresentou redução com o aumento da temperatura na *Spirulina* secada em estufa a 40 °C e na *Spirulina* secada por atomização a 170°C. E o parâmetro **b** do referido modelo variou entre 0,7117 e 0,9390, não apresentando comportamento padrão ao aumentar a temperatura de secagem.

Tabela 4.11 – Parâmetros, coeficientes de determinação (R^2) e desvios percentuais médios (P) do modelo de Oswin ajustado às isotermas de adsorção de água, a 20, 30 e 40 °C, das biomassas em pó secas por convecção, liofilizada e a 150, 170 e 190°C por aspensão

Temperatura de secagem (°C)	Temperatura da isoterma (°C)	Parâmetro		R^2	P (%)
		a	b		
40	20	11,1408	0,7117	0,9953	5,81
	30	10,0048	0,7945	0,9964	7,48
	40	9,8616	0,8380	0,9753	9,62
50	20	14,5713	0,9390	0,9918	10,34
	30	15,0463	0,9047	0,9932	8,53
	40	19,3309	0,8021	0,9950	8,38
60	20	11,5477	0,9697	0,9627	15,69
	30	20,4754	0,7796	0,9893	8,99
	40	18,7424	0,8091	0,9930	15,20
Liofilizada	20	9,0610	0,7806	0,9959	5,37
	30	8,6075	0,8297	0,9925	11,67
	40	10,6062	0,7874	0,9929	5,26
150	20	12,0021	0,8680	0,9953	10,71
	30	32,2586	0,4971	0,9951	6,89
	40	12,2110	0,8710	0,9972	25,27
170	20	17,7127	0,7465	0,9921	7,39
	30	13,0196	0,8903	0,9968	12,33
	40	10,9343	0,8611	0,9980	4,66
190	20	14,6527	0,8783	0,9952	9,11
	30	14,9866	0,8681	0,9924	18,99
	40	12,1576	0,8722	0,9972	17,13

Na Tabela 4.12, estão os dados do modelo de Peleg que podem ser utilizados em isotermas de adsorção de água da biomassa coletada em todos os métodos de secagem, em razão de apresentarem coeficientes de determinação maiores que 0,97 e os desvios percentuais médios menores que 11%, indicando bom ajuste ante os modelos avaliados.

Nos ajustes com o modelo de Peleg, as constantes k_1 , n_1 , k_2 e n_2 apresentaram comportamento indefinido, entre os pós. Para o pó obtido por aspensão a 170 °C, verificou-se que os parâmetros k_1 , n_1 e n_2 aumentaram com o aumento da temperatura da isoterma; já para o pó obtido por aspensão a 190 °C, k_2 apresentou tendência a diminuir com o aumento da temperatura. Os parâmetros k_2 e n_2 no produto originado da secagem em estufa com temperatura de 60 °C aumentaram com o aumento da temperatura da isoterma, tal como o parâmetro n_1 na biomassa secada pelo mesmo método, a 50 °C.

Tabela 4.12 – Parâmetros, coeficientes de determinação (R^2) e desvios percentuais médios (P) do modelo de Peleg ajustado às isotermas de adsorção de água, a 20, 30 e 40 °C, das biomassas secadas por convecção, liofilizada e a 150, 170 e 190 °C por aspersão

Temp. de secagem (°C)	Temp. da isoterma (°C)	Parâmetro				R^2	P (%)
		k1	n1	k2	n2		
40	20	95,4984	8,9122	19,1044	0,6280	0,9963	3,94
	30	17,9201	0,6572	116,7995	9,4659	0,9989	3,24
	40	133,5888	9,8345	18,7197	0,6746	0,9854	5,43
50	20	76,9861	4,1937	76,9861	3,7236	0,9899	11,00
	30	243,4810	11,2680	41,8213	1,3446	0,9948	6,65
	40	181,4490	13,1912	96,5835	2,6892	0,9970	8,91
60	20	198,0197	8,6395	19,5916	0,6849	0,9783	7,84
	30	153,6928	7,2578	46,9491	1,3869	0,9911	6,31
	40	336,9304	26,9921	132,0629	3,3841	0,9990	8,65
Liofilizada	20	269,3468	28,3776	44,8331	2,4711	0,9943	9,53
	30	112,1837	9,4828	22,5935	1,6363	0,9973	4,17
	40	675,2497	41,6813	50,4189	2,2445	0,9988	7,56
150	20	193,2667	18,4745	69,8918	2,7293	0,9998	2,36
	30	131,3784	7,8643	42,7502	0,3537	0,9951	3,51
	40	268,1511	21,8267	77,4014	2,9751	0,9999	3,14
170	20	186,8101	14,8234	63,7912	1,8814	0,9900	8,33
	30	257,5037	19,3281	77,6831	2,7343	0,9996	5,12
	40	343,3919	26,9412	65,5639	2,7625	0,9991	7,45
190	20	291,8285	22,8469	107,1116	3,4434	0,9977	9,13
	30	266,7749	21,4791	98,9594	3,0015	0,9996	6,73
	40	268,1385	21,8673	77,4863	2,9875	0,9999	3,00

Para Desmorieux e Deacen (2005), o modelo de Henderson foi considerado o que melhor representa as isotermas de adsorção da biomassa secada por convecção nas condições de temperatura de 40 °C e velocidade do ar de 2,5 m/s².

Nas Figuras 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 e 4.10 tem-se a representação gráfica das isotermas de adsorção de água da biomassa desidratada a 20, 30 e 40 °C, em estufa 40, 50 e 60 °C, liofilizada e a 150, 170 e 190 °C secada por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg, considerado o melhor modelo.

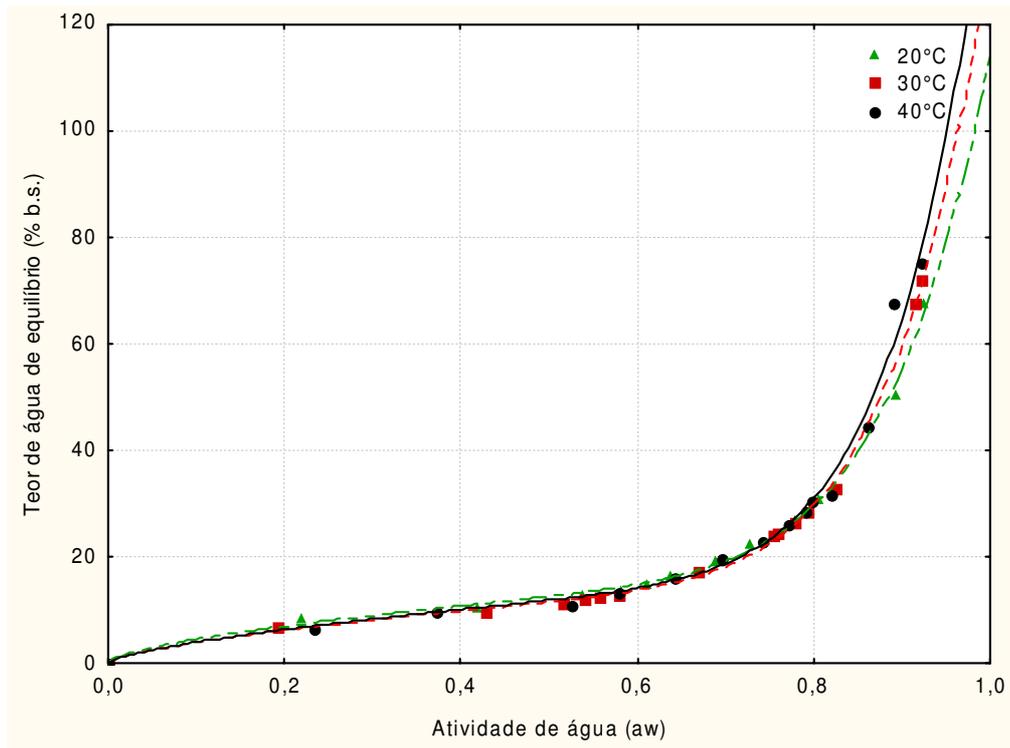


Figura 4.4 - Isothermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada a 40 °C por convecção, com ajuste pelo modelo de Peleg

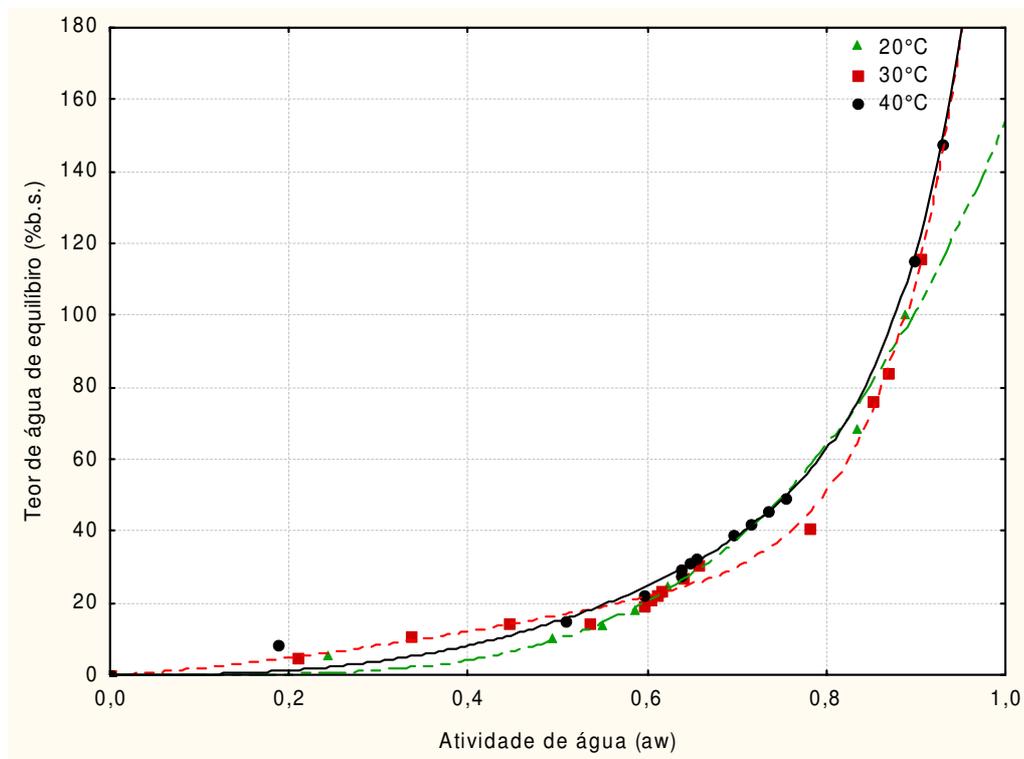


Figura 4.5 - Isothermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada a 50 °C por convecção, com ajuste pelo modelo de Peleg

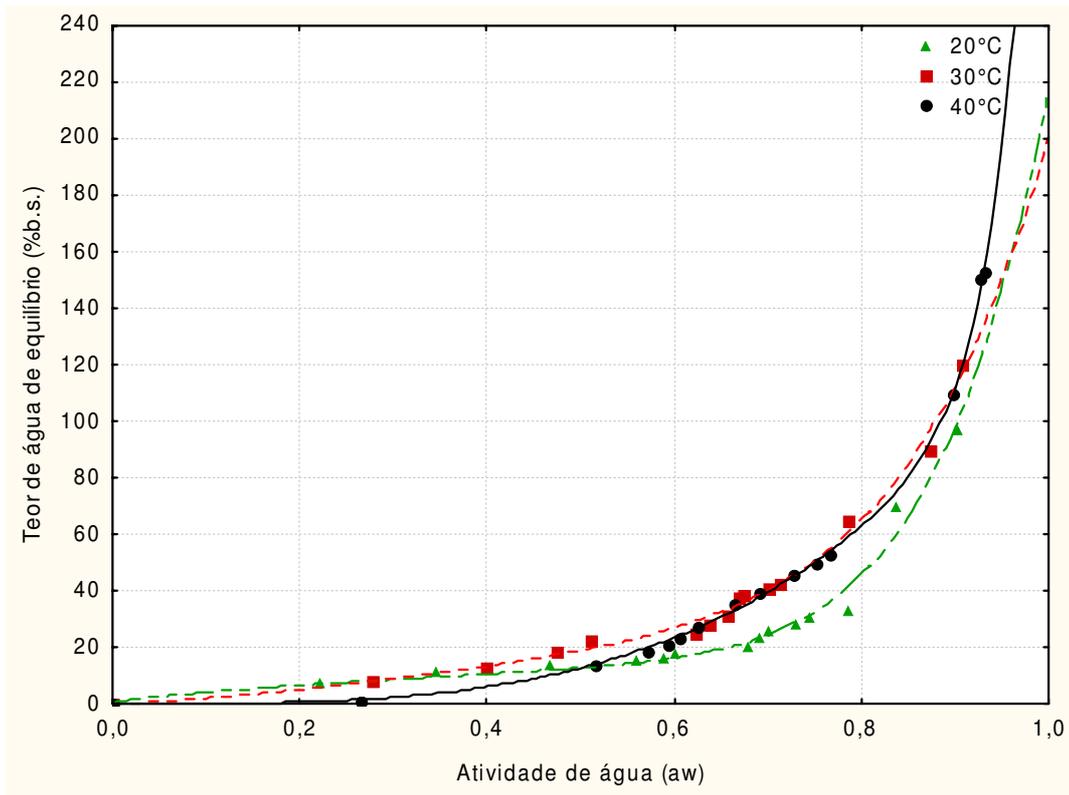


Figura 4.6 - Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada a 60 °C por convecção, com ajuste pelo modelo de Peleg

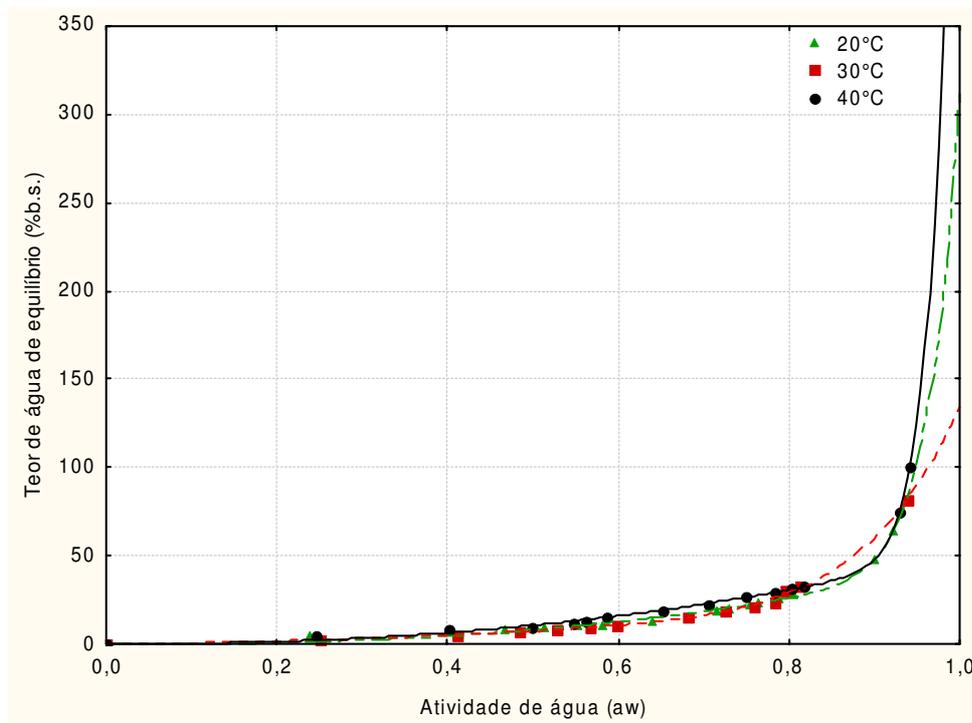


Figura 4.7 - Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada por liofilização, com ajuste pelo modelo de Peleg

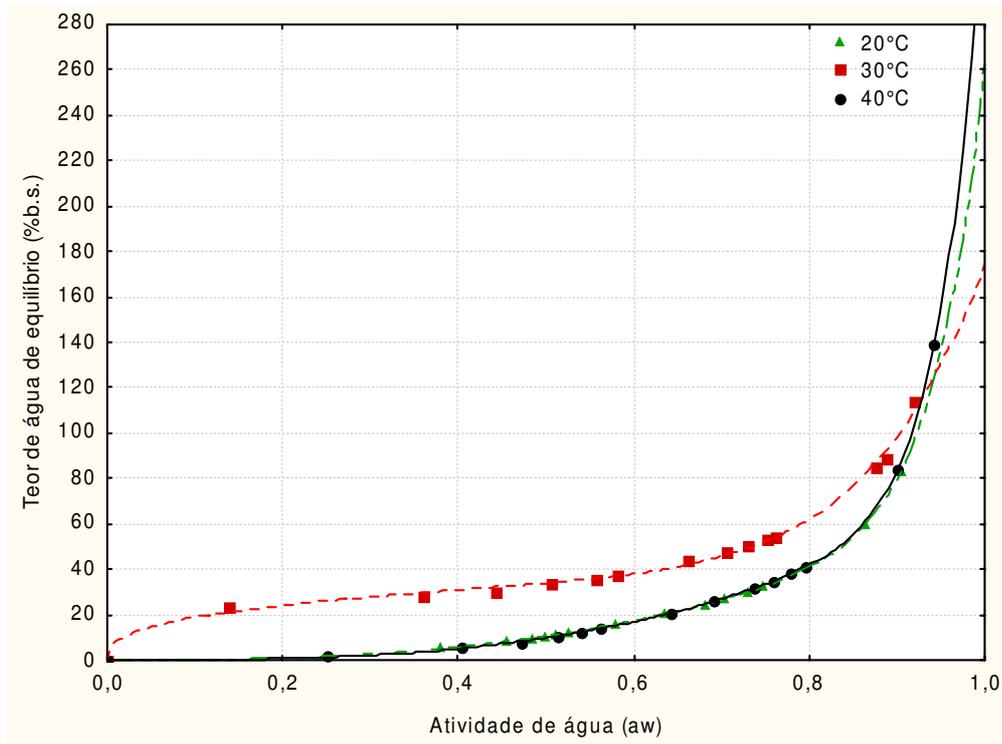


Figura 4.8 - Isothermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada a 150 °C por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg

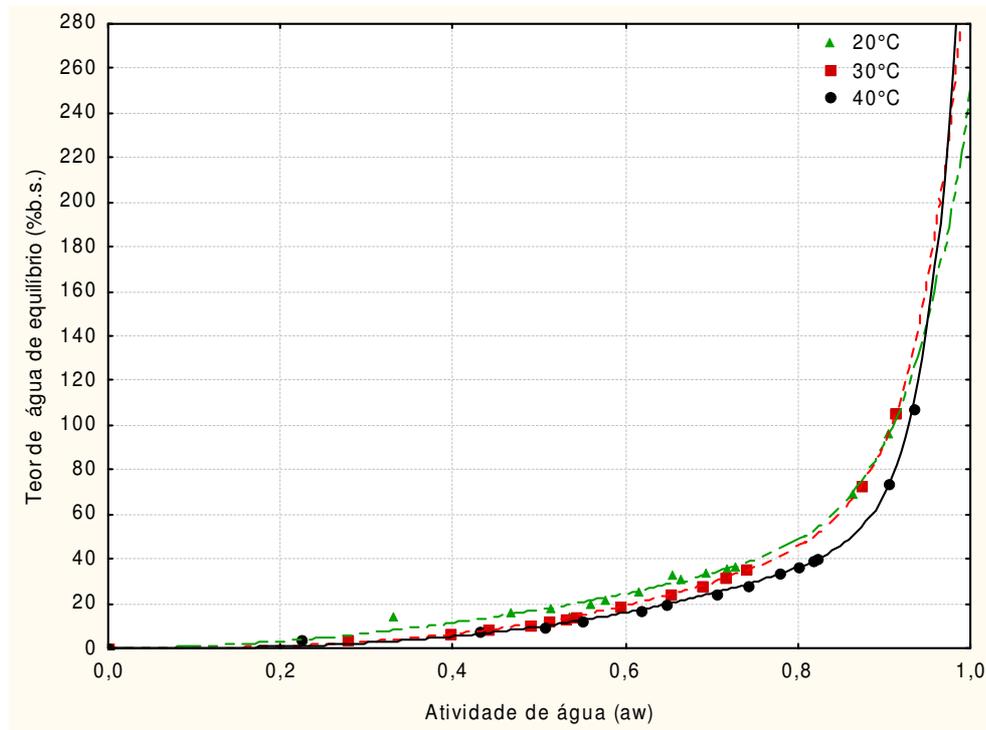


Figura 4.9 - Isothermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada a 170 °C por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg

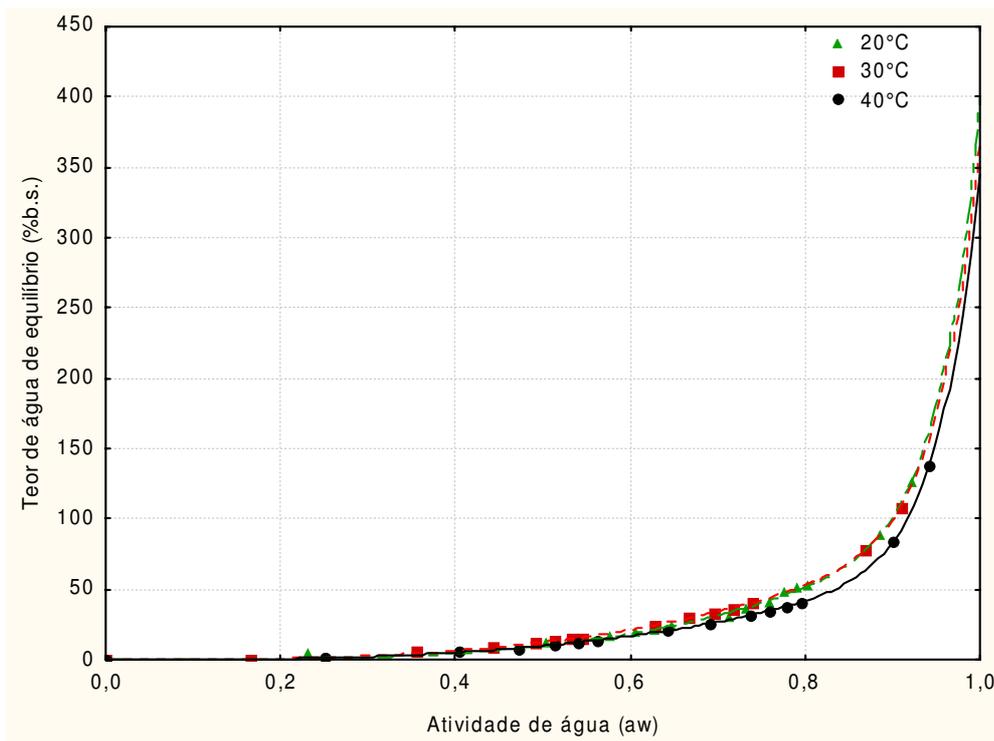


Figura 4.10 - Isotermas de adsorção de água a diferentes temperaturas da biomassa desidratada a 190 °C por aspersão, com ajuste pelo modelo de Peleg

4.5 - Armazenamento da biomassa seca

A escolha amostra, foi definida pela maior concentração de proteínas (58,62%), lipídios (10,46%), ácido ascórbico (44,84 mg/100 g), fibras (2,02%) e aminoácidos essenciais (Tabela 4.7). A melhor foi determinada também pela observação do menor pH (6,38), e melhores resultados (R^2 e P) nas isotermas, nos três modelos matemáticos. Desta forma, escolheu-se a biomassa liofilizada que foi armazenada durante 60 dias.

4.5.1 - Teor de água

Das análises de variância do teor de água (%) da biomassa (liofilizada), em função da temperatura e do tempo de armazenamento sob atmosfera controlada (UR = 83%) verifica-se efeitos significativos a 1% de probabilidade, pelo teste F, para as fontes de variação de temperatura de armazenamento e tempo de estocagem (dias) e para interação entre os dois fatores. O parâmetro de controle mais utilizado para processos de secagem é o teor de água

e sua relação com a atividade de água, que é absolutamente necessária para atingir a estabilidade de um armazenamento ideal (SAMAPUNDO et al., 2007).

Na Tabela 4.13 se encontram os valores médios do teor de água da amostra em pó, armazenada em embalagem laminada durante 60 dias, a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%. Verifica-se que durante o armazenamento ocorreu estabilidade do teor de água nas duas temperaturas em relação ao teor de água inicial, demonstrada pelo fato de não ter havido diferença significativa ($P > 0,05$) para o teor de água, ao longo do tempo, nem nas diferentes temperaturas de armazenamento. Em pesquisa realizada por Kumar, Mahadevaswamy e Venkataraman (1995), com armazenamento de *Spirulina* secada por convecção a 60 °C em embalagens de polietileno e em condições normais de armazenamento ($T = 27$ °C e UR = 65%), ocorreu um aumento discreto do teor de água ao longo do armazenamento, iniciando-se com 5,52% no 1 ° dia e finalizando com 8,03% no 180 ° dia, em condições de armazenamento acelerado ($T = 38$ °C e UR = 90%); este aumento foi mais evidente com 5,52% no 1 ° dia finalizando com 11,90% no 180 ° dia.

Tabela 4.13 - Valores médios de teor de água da biomassa liofilizada

Tempo de armazenamento (dias)	Teor de água (%)	
	30 °C	40 °C
0	13,22 aA	13,22 aA
15	12,29 aA	12,20 aA
30	11,79 aA	11,89 aA
45	11,66 aA	13,10 aA
60	11,64 aA	12,74 aA

DMS para colunas = 2.68926; DMS para linhas = 2.45600; CV% = 6,86 DMS - Desvio mínimo significativo; MG - Média geral; CV - Coeficiente de variação Obs: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Esta estabilidade no teor de água ocorrida durante o armazenamento se deve à composição da embalagem utilizada, formada por PET cristal (polietileno de baixa densidade cristal) e PET metal (polietileno tereftalato metal).

A influência do polietileno de baixa densidade e o polipropileno foram avaliados no armazenamento de *Spirulina* durante 180 dias, condições aceleradas, com temperatura de 38 °C e UR = 90% e condições normais, com temperatura de 27 °C e UR = 65%; concluiu-se que o polipropileno proporciona segurança a um tempo de prateleira por seis meses, enquanto o polietileno de baixa densidade é formado por um material com mais tempo de vida, fornecendo vida de prateleira maior, conferindo mais proteção à biomassa da *Spirulina* durante o armazenamento (KUMAR, MAHADEVASWAMY, VENKATARAMAN, 1995).

4.5.2 - Atividade de água

Das análises de variância da atividade de água da biomassa liofilizada em função da temperatura e do tempo de armazenamento sob atmosfera controlada (UR = 83%) e foram observados efeitos significativos a 1% de probabilidade, pelo teste F, para as fontes de variação temperatura de armazenamento e tempo de estocagem (dias) e para interação entre os dois fatores.

Na Tabela 4.14 são apresentados os valores médios da atividade de água da biomassa liofilizadas, armazenada em embalagem laminada durante 60 dias, nas temperaturas de 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%; nas duas temperaturas, a atividade de água aumentou nos 15 primeiros dias de armazenamento ($p < 0,05$), e permaneceu estável ($p > 0,05$), ao longo do armazenamento, predominando a estabilidade, tal como o teor de água.

Tabela 4.14 - Valores médios de atividade de água (aw) da *Spirulina* liofilizada

Tempo de armazenamento (dias)	Atividade água (aw)	
	30 °C	40 °C
0	0,42 bB	0,42 bB
15	0,58 aA	0,54 abAB
30	0,59 aA	0,66 aA
45	0,58 aA	0,64 aA
60	0,56 aA	0,67 aA

DMS para colunas = 0.17037; DMS para linhas = 0.15448; CV% = 9.33 DMS - Desvio mínimo significativo; MG - Média geral; CV - Coeficiente de variação Obs: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Kumar, Mahadevaswamy e Venkataraman (1995), verificaram no armazenamento de *Spirulina*, que a atividade de água (aw), se direciona conforme seu teor. Assim, em temperatura de 27 °C, quando o teor de água foi 5,5%, a aw foi e 0,19, com o teor de água 12,8%, a aw foi 0,56, considerado, por esses autores, como ponto crítico de segurança do armazenamento da *Spirulina*, nessas condições.

Constatou-se crescimento de bolores na *Spirulina* quando a atividade de água atingiu o valor de 0,86 (KUMAR; MAHADEVASWAMY; VENKATARAMAN, 1995), o que reforça a preconização já conhecida, que formaliza o valor máximo de 0,6 para atividade de água em alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; CELESTINO, 2010).

Considerando a legislação nacional e associando-a aos dados encontrados na atividade de água do armazenamento, não é recomendado o consumo de *Spirulina* armazenada em temperatura de 40 °C, devido ao risco de crescimento de micro-

organismos, de vez que, conforme a Tabela 4.14 aos 30 dias de armazenamento a 40 °C a atividade de água estava acima do mínimo recomendado pela legislação.

4.5.3 - Luminosidade

Na Tabela 4.15 estão os valores médios de luminosidade da biomassa liofilizada armazenada durante 60 dias em embalagens plásticas e laminadas a 30 e 40 °C e umidade relativa de 83%.

Tabela 4.15 - Valores médios de luminosidade da *Spirulina* liofilizada

Tempo de armazenamento (dias)	Luminosidade (L)	
	30 °C	40 °C
0	20,52 aA	20,52 aA
15	18,60 bB	18,40 bB
30	16,83 cC	16,91 cC
45	9,12 dD	7,29 dE
60	7,58 eE	6,66 dE

DMS para colunas = 1.40530; DMS para linhas = 1.47051; CV% = 3.57 DMS - Desvio mínimo significativo; MG - Média geral; CV - Coeficiente de variação Obs: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Verificando os valores médios das luminosidades das amostras em pó nas diferentes temperaturas, observa-se uma redução ($p < 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento, significando que ocorreu escurecimento das amostras. Em relação à temperatura durante o armazenamento não houve diferença estatística da luminosidade com o aumento da temperatura.

4.5.4 - Intensidade de verde

Encontram-se, na Tabela 4.16, os valores médios da intensidade de verde da amostra de biomassa liofilizada armazenada em embalagem laminada durante 60 dias a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%. Observa-se que a intensidade de verde das amostras em pó, quando avaliadas a 30 e 40 °C permaneceu constantes aos 15, 30 e 45 dias, apresentando elevação nos 60 dias; este aumento no final do armazenamento em relação ao início, foi de 51,17 e 49,12%, para as temperaturas de 30 °C e 40 °C, respectivamente, significando que o tom de verde estava mais acentuado, de vez que os resultados são negativos.

Tabela 4.16 - Valores médios de intensidade de verde da *Spirulina* liofilizada

Tempo de armazenamento (dias)	Intensidade de verde (-a*)	
	30 °C	40 °C
0	-9,54 bB	-9,54 bB
15	-6,85 bAB	-6,68 abAB
30	-6,19 abAB	-6,38 abAB
45	-5,72 aAB	-5,81 abAB
60	-4,88 aA	-4,68 aA

DMS para colunas = 2.25515; DMS para linhas = 3.94992; CV% = 15.99. DMS - Desvio mínimo significativo; MG - Média geral; CV - Coeficiente de variação Obs: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4.5.5 - Intensidade de amarelo

São apresentados, na Tabela 4.17, os valores médios da intensidade de amarelo (+b) da amostra liofilizada armazenada em embalagem laminada durante 60 dias, a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%. Observa-se que a intensidade de amarelo diminuiu ($p < 0,05$) com o aumento do tempo de armazenamento e não houve diferença estatisticamente significativa entre as temperaturas ($p > 0,05$).

Da análise de variância da intensidade de amarelo da biomassa liofilizada, em função da temperatura e do tempo de armazenamento sob atmosfera controlada (UR 83%) observaram-se efeitos significativos a 5% de probabilidade, pelo teste F, para as fontes de variação de temperatura de armazenamento e tempo de estocagem e para interação entre os dois fatores.

Tabela 4.17 - Valores médios de intensidade de amarelo (+b) da *Spirulina*

Tempo de armazenamento (dias)	Intensidade de amarelo (+b*)	
	30 °C	40 °C
0	8,49 aA	8,49 aA
15	6,30 abAB	6,49 abAB
30	5,73 bB	5,82 bB
45	5,06 bB	5,40 bB
60	4,84 bB	4,92 bB

DMS para colunas = 2.01382; DMS para linhas = 2.43135; CV% = 12,29 DMS - Desvio mínimo significativo; MG - Média geral; CV - Coeficiente de variação Obs: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

4.5.6 - Proteínas totais

Na Tabela 4.18 são apresentados os valores médios da proteína total da biomassa liofilizada armazenada em embalagem laminada durante 60 dias, a 30 e 40 °C e umidade relativa média de 83%.

Tabela 4.18 - Valores médios de proteína da *Spirulina* liofilizada

Tempo de armazenamento (dias)	Proteína	
	30 °C	40 °C
0	54,77 abAB	54,77 abA
15	51,81 deD	52,09 cdeBC
30	55,00 aA	53,60 abcAB
45	53,40 abcdBC	52,69 cdeBC
60	53,21 bcdCD	51,50 eC

DMS para colunas = 1.48583; DMS para linhas = 1,67111; CV% = 1,08. DMS - Desvio mínimo significativo; MG - Média geral; CV - Coeficiente de variação. Obs: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Verificando os resultados expostos na Tabela 4.18, constata-se, quanto ao teor proteico da biomassa liofilizada, que segue um comportamento diverso quando comparado aos outros parâmetros do armazenamento. Em estudo de Kumar, Mahadevaswamy e Venkataraman (1995) com o teor proteico da *Spirulina* no armazenamento em condições normais (em menor proporção) e condições aceleradas, levaram os autores a concluir que tanto a proteína como as gorduras e minerais são constituintes menos dependentes das variações de armazenamento e acondicionamento.

4.6 – Caracterização física, química e análise microbiológica dos biscoitos com *Spirulina*

4.6.1 – Avaliação física dos biscoitos com *Spirulina*

A cor da superfície, a textura e o sabor de um biscoito, são critérios de aceitação do produto pelos consumidores. As mudanças da cor durante o processo de forneamento estão relacionadas, em geral, com reações bioquímicas. Na Tabela 4.19 estão os valores médios do parâmetro de cor instrumental dos biscoitos tipo *cookies* - luminosidade (L) e diferentes intensidades da cor vermelha (a*) e amarela (b*).

Tabela 4.19 - Valores médios do parâmetro de cor dos biscoitos *cookies* - luminosidade (L) e diferentes intensidades de vermelho (+a*) e amarelo (+b*)

Amostra	Luminosidade	Intensidade de a*	Intensidade de b*
F1 S	34,81 bcd	54,16 a	13,50 bc
F1 P	29,40 de	41,53 b	15,88 b
F2 S	41,74 a	12,54 c	25,12 a
F2 P	36,97 ab	13,06 c	26,93 a
F3 S	36,03 abc	4,74 e	17,58 b
F3 P	30,68 bcde	4,13 de	23,31 a
F4 S	30,03 cde	4,79 e	12,92 bc
F4 P	29,63 cde	7,05 d	16,40 b
F5 S	28,74 de	2,22 e	9,17 c
F5 P	28,08 e	2,90 de	14,46 b

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*; S = superfície superior; P – superfície posterior. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

As características de coloração e textura são dependentes das características físicas e químicas do produto, tais como concentrações de açúcares, teor de aminoácidos, atividade de água, pH etc., e das condições de forneamento, temperatura, velocidade do ar, umidade relativa, coeficiente de transferência de calor e de massa (CHEVALLIER et al., 2002).

A luminosidade L* diminuiu tanto na parte superior quanto na posterior do biscoito, com o aumento na concentração de *Spirulina* ou seja, houve escurecimento dos biscoitos com aumento de substituição da farinha de trigo pela *Spirulina*. Todas as amostras de biscoito com *Spirulina* apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$), sendo que a amostra F5P apresentou menor valor de luminosidade L* (28,08) e a amostra F2S apresentou maior luminosidade L* (41,74).

A substituição da farinha de trigo por *Spirulina* possibilitou uma diminuição também nas colorações amarela e vermelha. Rodrigues, Caliarri e Asquieri (2011), verificaram ao avaliar a substituição de fécula de mandioca por farelo de mandioca desidratado, um incremento das cores vermelha e amarela, justificando este incremento pela reação de Maillard, pelo fato dos materiais envolvidos apresentarem teores relativamente altos de carboidratos.

Avaliou-se a coloração do mesmo biscoito entre suas superfícies superiores e posteriores e se observou que para a intensidade de vermelho os valores correspondentes à superfície superior se apresentaram, em sua maioria, mais elevados que os valores da

superfície posterior; quanto à intensidade de amarelo os valores correspondentes à superfície posterior se apresentam mais elevados do que os valores da superfície superior.

Na Tabela 4.20 estão expostos os valores das características de compressão, corte e penetração dos biscoitos tipo *cookies* referentes às cinco formulações elaboradas. Características físicas como essas são utilizadas para definir a maciez de um produto que, por sua vez, tem influência na sua aceitabilidade. Um produto macio apresenta leve resistência à propriedade física da deformação; um produto firme pode ser descrito como moderadamente resistente a essa mesma propriedade ao passo que a dureza descreve um produto que exhibe resistência substancial à deformação.

Tabela 4.20 – Resultados das análises de textura dos *cookies* das cinco formulações

Análises	Formulações				
	F1	F2	F3	F4	F5
Compressão (N)	400,05 ab	213,42 c	476,61 a	330,88 abc	259,60 bc
Corte (N)	84,12 a	47,64 b	96,37 a	45,316 b	41,32 b
Penetração (N)	19,34 b	9,30 c	27,62 a	9,83 c	10,31 c

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*. Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Ante dos resultados encontrados na Tabela 4.20, observa-se que a formulação F3 foi a que apresentou maior resistência física, uma vez, que a mesma apresentou maiores valores ($p < 0,05$) para as três características: compressão, corte e penetração. Assim, pode-se afirmar que o biscoito com a formulação F3, (com 5% de biomassa) apresentou maior dureza comparado às outras formulações, uma vez que necessitou de mais força para realizar compressão, corte e penetração. Ao contrário, pode-se dizer que a formulação F2, elaborada com 100% de farinha integral, apresentou menores valores quanto às características analisadas seguidas da formulação F5, o que pode ter sido obtido devido à menor quantidade de farinha refinada, respectivamente.

Em pesquisa realizada por Marcílio et al. (2005), visando à determinação das características físicas em biscoito *cookies* com farinha de amaranto, concluiu-se que a farinha integral confere aspecto “esfarelento” ao cookie e mostra que a dureza é função das duas variáveis; teor de gordura e teor de farelo, veiculado pela farinha integral.

De acordo com Rosell, Rojas e Benedito de Barber (2001), as diferenças na absorção de água são ocasionadas principalmente pelo grande número de grupos hidroxila,

os quais estão presentes na estrutura da fibra e permitem a interação de mais água nas ligações de hidrogênio. Assim, a incorporação de fibras em produtos aumenta a capacidade de ligação de água refletindo nas características de textura de amostras de massas, tal como apresentado nos resultados para formulação F2 desta pesquisa.

Diferente dos resultados desta pesquisa, Simas et al. (2009) encontraram aumento na dureza e na força de fratura com aumento do percentual de farinha de palmeira real adicionada aos *cookies*; nesta pesquisa foi observada diminuição estatística no conjunto das características de textura com o aumento percentual do pó de *Spirulina* nas formulações; assim, pode-se afirmar que a *Spirulina* aumentou a maciez do biscoito cookie.

4.6.2 – Avaliação química e físico-química dos biscoitos com *Spirulina*

Na Tabela 4.21 são apresentados os valores médios da composição físico-química dos biscoitos adicionados com *Spirulina*. O teor de água encontrado nos biscoitos apresentou diferença significativa entre quase todas as formulações, destacando-se com maior teor a formulação F4 (16,37%) e com o menor valor a formulação F3 (8,38%), sendo este último valor próximo ao de Moraes, Miranda e Costa (2006), que quantificaram 7,5%, em biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina*.

Tabela 4.21 - Valores médios das análises físico-químicas realizadas nos *Cookies* de *Spirulina* em diferentes formulações

Variável (%)	Formulações				
	F1	F2	F3	F4	F5
Teor de água (%)	12,43 c	15,07 b	8,38 d	16,37 a	14,45 b
RMF (%)	0,82 b	1,68 a	1,03 ab	0,78 b	1,44 ab
Proteínas (%)	11,42 d	12,71 c	12,87 bc	13,04 bc	15,30 a
Lipídios (%)	14,39 ab	14,21 b	14,81 ab	14,92 a	14,92 a
Carb. (%)	58,22 b	52,75 cd	58,95 a	52,64 de	50,19 e
Fibra bruta (%)	2,72 a	3,58 a	3,96 a	2,25 a	3,70 a
Cal. (Kcal/100 g)	408,07 b	389,73 c	420,57 a	397,00 c	396,24 c

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*. Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Quanto ao resíduo mineral fixo, o maior teor encontrado foi em F2 (1,68%), biscoito com farinha integral, resultado este diferente do encontrado por Moraes, Miranda e

Costa (2006), em pesquisa realizada com biscoitos suplementados com *Spirulina*, adicionados dos percentuais de 1, 3 e 5% nas formulações, que encontrando-se o teor médio de resíduo mineral fixo de 0,44% em suas amostras.

Em pesquisas com biscoitos, realizadas por Fasolin et al. (2007) com farinha de banana verde Medeiros (2009) com polpa de pequi; Rodrigues et al. (2007) com café e Simas et al. (2009) com farinha de palmeira-real, todos os resultados encontrados para resíduo mineral fixo se encontram entre 1 e 2% da composição centesimal analisada, valores próximos aos encontrados nesta pesquisa.

O teor de proteínas encontrado nos biscoitos *cookies* foi quantificado de acordo com o que se esperava, apresentando maior valor diferenciado estatisticamente ($p < 0,05$) na formulação com maior percentual de *Spirulina* F5 (15%), com 15,30% para os protídeos, seguido das formulações enriquecidas F3 e F4, que não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) apresentou o menor teor proteico o biscoito formulado com farinha de trigo refinada (F1) com 11,42%.

Ressalta-se que a substituição da farinha de trigo pela *Spirulina*, em produtos alimentícios, mesmo em pequenas proporções, da margem a um aumento no aporte, pois a farinha de trigo com teor de água de 13% e um percentual proteico de 10,15% (MADEIRA, 2014), se comparada com a *Spirulina* liofilizada com o teor de água de 11,99% e 58,62% de proteína, obviamente que quaisquer valores percentuais de substituição acarretarão no enriquecimento proteico do produto.

A Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), descreve na Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA (BRASIL, 2005b), a média das necessidades diárias de nutrientes (Ingestão Diária Recomendada - IDRs) para a população brasileira. De acordo com os percentuais de IDR preconizados, uma porção (100 g) do biscoito com adição de 15% de *Spirulina* desenvolvido nesta pesquisa, fornece 45% das recomendações diárias de proteínas para uma criança entre 7 e 10 anos, e 30,60% das necessidades diárias de um adulto enquanto o biscoito sem *Spirulina* (F1) fornece 33,58% e 22,84%, respectivamente, diante deste resultado, o biscoito com 15% de *Spirulina*, de acordo com a legislação (BRASIL, 1998) pode ser considerado de “alto teor” ou “rico” em proteínas e também ser denominado de enriquecido ou fortificado, em razão de conter no mínimo 30% do valor de proteínas preconizados pela IDR.

A comparação entre a quantidade de proteína nas diferentes formulações de biscoitos e as IDRs para diferentes faixas etárias da população brasileira está apresentada na Tabela 4.22.

Tabela 4.22 - Percentual de proteína nas diferentes formulações do biscoito com base na IDR para cada faixa etária

Faixa Etária	IDR* (g)	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	F4 (%)	F5 (%)
1-3 anos	13	87,84	97,77	99,00	100,31	117,69
4-6 anos	19	60,10	66,89	67,74	68,63	80,53
7-10 anos	34	33,58	37,85	37,85	38,35	45,00
Adulto	50	22,84	25,42	25,74	26,08	30,60
Gestante e Lactante	71	16,08	17,90	18,13	18,37	21,55

IDR = Ingestão Diária Recomendada; F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*

*Fonte: Brasil (2005b).

Na pesquisa com biscoitos de chocolates com *Spirulina* (MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006) o valor de proteína encontrado no biscoito padrão foi de 10,3% que não diferiu da formulação com menor percentual de *Spirulina* (1%), enquanto o maior valor encontrado foi de 11,1% no biscoito adicionado de 5% da alga.

Percebe-se a importância nutricional do biscoito suplementado com *Spirulina* quando se comparar o teor proteico com outras pesquisas que utilizam outras fontes de enriquecimento deste nutriente, assim como Guilherme e Jokl (2005), que encontraram o maior valor de proteína (11,74%) em pesquisa com biscoitos utilizando fubá de melhor qualidade proteica.

Larosa et al. (2009), realizaram análises de biscoitos enriquecidos com proteína isolada de soja (PIS), e o biscoito que apresentou maior teor proteico foi o da formulação que continha 20% de PIS, apresentando valor de 20,10% e não se diferenciando estatisticamente ($p > 0,05$) dos percentuais de 15 e 10% de PIS nas formulações pesquisa semelhante à realizada por Mohsen et al. (2009), que trabalharam com biscoito contendo 40% de farinha de “okara”, e obtiveram 20,84% de proteína (LAROSA et al., 2009).

A caracterização de um alimento com alto teor de proteína, pode ser comprovada ao se comparar os valores de proteínas encontrados nesta pesquisa, com alguns resultados de pesquisas como as que foram realizadas por Simas et al. (2009) e Vieira et al. (2008); ambos trabalharam com biscoitos sem glúten utilizando resíduos da palmeira-real; esses pesquisadores encontraram 3,99% de proteína. Fasolin et al. (2007), analisaram biscoitos produzidos com farinha de banana e encontraram 7,8% de proteínas. Hoffman e Kruger (2011) utilizaram 8% de pulmão bovino para elaboração de biscoitos e encontraram 9,8%

de proteínas. Rodrigues et al. (2007), encontraram o maior valor, 7,79% de proteínas em biscoitos contendo café.

Na determinação lipídica a amostra que apresentou o menor valor foi a formulação contendo farinha integral F2 (14,21%), porém não houve diferença ($p > 0,05$) entre esta e as formulações F1 e F3. As formulações F4 e F5 apresentaram o mesmo teor lipídico, qual seja, 14,92%, estatisticamente igual a F3. Hoffman e Kruger (2011) e Larosa et al. (2009) obtiveram valores inferiores de lipídios, de 7,65% e 9,16%, respectivamente. Moraes, Miranda e Costa (2006) encontraram percentuais maiores em relação aos desta pesquisa, correspondendo a 18,6% em biscoitos de chocolate suplementados com *Spirulina* bem como outros resultados que também apresentaram teor lipídico superior ao desta pesquisa, como Simas et al. (2009), com 18,31%, Guilherme e Jokl (2005), com 18,32%, Vieira et al. (2008), com 19,61%, Mohsen et al. (2009), com 19,42%, Fasolin et al. (2007), com 19,75%, Rodrigues et al. (2007), com 21,70% e Santos et al. (2011), com 22,46%.

Quanto aos açúcares totais, verificou-se maior teor para a formulação F3 (58,95%), com 5% de *Spirulina*, a qual diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) das demais formulações. Os menores valores de carboidratos foram encontrados nas formulações F2, F4 e F5 com percentuais de 52,75; 52,64 e 50,19%, respectivamente, com exceção de F2; são as formulações com maiores concentrações de *Spirulina*. Esses valores (carboidratos e proteínas) se encontram em concordância com as pesquisas encontradas na literatura em relação às proporções percentuais desses nutrientes, similarmente à medida que o percentual do produto em análise aumenta a concentração percentual nas formulações, há diminuição no percentual do farináceo usado e assim ocorre redução do teor de carboidrato na formulação final, tal qual nossa investigação aconteceu na pesquisa de Simas et al. (2009), Vieira et al. (2008) e Mohsen et al. (2009).

Guilherme e Jokl (2005) encontraram um percentual de carboidratos de 69,47%, superior ao valor desta pesquisa, sendo justificada a utilização das farinhas de melhor qualidade proteica. Outros valores de carboidratos superiores foram encontrados por Hoffman e Kruger (2011), de 75%; Rodrigues et al. (2007), de 70,10% e Santos et al. (2011), com o valor para hidratos de carbono de 73,43%, porém Larosa et al. (2009) determinaram uma quantidade de 50,21% de carboidratos, inferior ao quantificado nesta investigação, sendo justificado pelo alto teor de fibras que o biscoito adicionado (farinha de “okara”) apresenta em sua composição.

Quanto à determinação de fibras, não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre as cinco amostras analisadas; os valores tiveram média de 3,24% da composição centesimal

dos biscoitos. Resultados semelhantes foram encontrados por Guilherme e Jokl (2005), que encontraram uma média de 3,06%; por Simas et al. (2009), que quantificaram 3,41% de fibras em biscoitos isentos de glúten com adição de 10% de farinha da palmeira real e Vieira et al. (2008), o um valor de 3,89% de fibras, o que também modificou biscoitos com adição de farinha da palmeira real. Nas pesquisas realizadas por Morais, Miranda e Costa, (2006) e Moshen (2011) foram encontrados valores inferiores na quantificação das fibras relacionados aos deste estudo, determinados em 1,8% e 6,61%, respectivamente; nas investigações realizadas Larosa et al. (2009) e Santos et al. (2011), foram quantificados valores superiores, aos desta pesquisa em relação ao conteúdo de fibras (7,75 e 7,71%, respectivamente) em biscoitos com farinha de “okara” e biscoitos com aveia, respectivamente.

Encontrou-se maior quantidade de calorias na formulação F3 (420,57 Kcal/g) e menor nas formulações F2 (389,73 Kcal), F4 (397,00 Kcal) e F5 (396,24 Kcal). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Hoffman e Kruger, (2011), os quais identificaram 408 Kcal. A maioria dos resultados encontrados na literatura apresentou o valor energético superior ao encontrado nesta pesquisa (VIEIRA et al., 2008; MOSHEN, 2009; SIMAS et al., 2009; RODRIGUES et al., 2007; SANTOS et al., 2011).

Encontram-se, na Tabela 4.23, os teores médios de minerais encontrados nos *cookies* com *Spirulina* nas cinco formulações diferentes. Pode-se observar que os minerais com maiores percentuais presentes são potássio, enxofre e cálcio, considerados fundamentais no funcionamento do metabolismo humano.

Tabela 4.23 - Teores médios de elementos minerais (mg/100 g) encontrados nos *Cookies* com *Spirulina* em diferentes formulações

Formulações	K	Ca	S	P	Fe	Si	Mn	Cu	Ag
F1	260,0	100,0	250,0	100,0	30,0	70,0	0,0	10,0	20,0
F2	710,0	200,0	390,0	180,0	40,0	110,0	20,0	10,0	0,0
F3	380,0	120,0	290,0	110,0	30,0	90,0	0,0	10,0	0,0
F4	320,0	90,0	200,0	80,0	30,0	60,0	0,0	10,0	0,0
F5	650,0	160,0	330,0	140,0	60,0	110,0	0,0	0,0	0,0

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*

É notório que o aumento do percentual biomassa de *Spirulina* nas formulações de biscoitos tipo *cookies* contribui para o aumento no percentual de minerais no produto; portanto, esta biomassa surge como fonte interessante de minerais e elementos traços.

Quando relacionamos as quantidades de minerais encontradas nos *cookies* na formulação F5, com as indicações das IDR's, calcula-se que o cálcio encontrado no biscoito representa 16% do recomendado para a ingestão diária de um adulto. Quando relacionamos as recomendações para uma criança de 1 a 3 anos este valor e é elevado para 32%.

Foi encontrada, na formulação F5 dos biscoitos, a quantidade de 140 mg/100 g de fósforo. Como a recomendação de ingestão de fósforo para um adulto é de 700 mg por dia, afirma-se que 100 g do biscoito contém 20% das necessidades desse mineral para um adulto, diariamente. O valor de cálcio nos biscoitos enriquecidos com *Spirulina* nesta pesquisa variou entre 90 e 160 mg/100g, enquanto Simas (2008) encontrou 47,39 e 106,28 mg/100 g e Rodrigues et al. (2007) quantidades entre 200,00 a 203,00 mg/100 g.

Verifica-se que o teor de potássio na formulação F5 desta pesquisa apresentou o valor de 650 mg/100 g, similar aos resultados em biscoitos analisados por Simas (2008) e Rodrigues et al. (2007), que quantificaram esses minerais com os valores de 655,09 e 793,33 mg/100 g, respectivamente.

Um outro macromineral de suma importância, devido à sua participação em diversas reações químicas orgânicas e participação na maioria dos tecidos, é o enxofre, cuja a recomendação de ingestão diária não é estabelecida; este apresentou maior representação na formulação F2 (390 mg/100 g) seguida da formulação F5 (330 mg/100 g); esses valores são superiores aos encontrados por Rodrigues, Caliari e Asquiere (2011) para este mineral em biscoitos com fécula e farelo de mandioca, em que as quantidades de enxofre variaram entre 183 a 209 mg/100 g de biscoito.

O ferro também foi um mineral presente no biscoito formulado com 15% de *Spirulina* atingindo o valor de 60 mg/100 g, índice bastante superior ao encontrado por Simas (2008), que quantificou o ferro entre 1,36 e 3,42 mg/100 g; e 3,64 mg/100 g determinado por Lacerda et al. (2009).

4.6.3 - Análises microbiológicas dos biscoitos com *Spirulina*

De acordo com os resultados das análises microbiológicas nas diferentes formulações de *cookies* descritos na Tabela 4.24, todas as formulações estão dentro dos padrões aceitáveis para consumo humano, conforme a legislação vigente (BRASIL, 2001), indicando que os biscoitos foram processados em condições adequadas podendo ser empregados na análise sensorial. Resultado semelhante com as pesquisas realizadas por

Santos et al. (2011) e Pissato (2010), analisando biscoitos de farinha de buriti e biscoito tipo *cookie* enriquecido com cálcio e vitamina D, respectivamente.

Tabela 4.24 - Valores médios das análises microbiológicas realizadas em diferentes formulações de *cookies*

Determinação	Formulações					RDC 12/2001
	F1	F2	F3	F4	F5	
Coliformes a 35 °C NMP	<3	<3	<3	<3	<3	-
Coliformes a 45 °C NMP	<3	<3	<3	<3	<3	10
Mesófilos UFC/g	1,8x10 ²	1,8x10 ²	1,1x10 ¹	9x10 ⁰	9x10 ⁰	-
Anaeróbios UFC/g	2x10 ²	2,2x10 ²	1,7x10 ²	1,2x10 ²	1,5x10 ²	-
Estaf. Coag. Positiva UFCG/g	<1	<1	<1	<1	<1	5 x 10 ²
Bolores e Leveduras UFC/g	2x10 ¹	1x10 ¹	1x10 ¹	<1x10 ²	<1x10 ²	-
Salmonella sp/25g	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*

4.7 - Avaliação sensorial dos biscoitos

Na Tabela 4.25 são apresentados os valores médios dos testes de aceitação sensorial e intenção de compra, realizados com biscoitos *cookies* de farinha de trigo refinada e farinha de trigo integral, análise desenvolvida para verificar se há diferença entre os atributos de um biscoito refinado (comum) e um integral.

Tabela 4.25 - Valores médios dos testes de aceitação sensorial e intenção de compra realizados com *Cookie* produzido com farinha de trigo e farinha integral

Atributos	Formulações	
	F1	F2
Aparência	7,07	6,56
Cor	7,17 *	6,60
Aroma	6,90	6,50
Sabor	6,96 *	6,21
Textura	5,87	6,60
Avaliação Global	7,08	6,92
Intenção de Compra	4,04	3,79

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F2 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo integral; *Diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade no teste t-Student

Pode-se observar que o biscoito com farinha refinada obteve notas que variaram de 5,87 a 7,17 indicando que na avaliação dos atributos pelos provadores os termos hedônicos estiveram entre “nem gostei/nem desgostei” a “gostei moderadamente”. O mesmo não ocorreu para as formulações com farinha integral os quais obtiveram notas variando de 6,21 a 6,92. Os resultados das notas médias atribuídas para intenção de compra desses produtos, variaram de 3,79 a 4,04, indicando que os provadores "talvez comprassem/talvez não comprassem" o cookie formulado com farinha integral e "possivelmente comprariam" o produto elaborado com farinha refinada, caso fossem comercializados.

Para as características de aparência, aroma e textura, não foi apresentada diferença estatística ($p < 0,05$), para os atributos cor e sabor mas houve diferença estatística a favor do biscoito elaborado com farinha de trigo refinada, que obteve as maiores notas. As amostras de biscoitos avaliadas apresentaram boa aceitação apesar da diferença estatística entre elas nos atributos de cor e sabor tendo em vista que todos os atributos avaliados obtiveram notas médias acima de 5,0 (equivalente ao termo hedônico 5 = “não gostei/nem desgostei”) (BÁRCENAS; ROSSEL, 2006).

Os valores médios dos testes de aceitação sensorial e a intenção de compra realizados com *cookie* elaborado com farinha de trigo refinada e com diferentes concentrações de *Spirulina*, estão na Tabela 4.26.

Tabela 4.26 - Valores médios dos testes de aceitação sensorial e intenção de compra realizados com *cookie* elaborado com farinha de trigo refinada e com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Atributos	Formulações			
	F1	F3	F4	F5
Aparência	7,36 a	4,60 b	4,33 b	4,22 b
Cor	7,40 a	4,66 b	4,13 b	3,96 b
Aroma	6,87 a	5,98 b	5,46 bc	5,06 c
Sabor	6,73 a	5,89 ab	5,46 b	5,40 b
Textura	5,71 a	6,40 a	5,73 a	6,22 a
Avaliação Global	6,89 a	5,95 b	5,44 b	5,28 b
Intenção de Compra	3,91 a	3,11 b	2,76 b	2,66 b

F1 = formulação de biscoito sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*; Médias com letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

De acordo com a Tabela 4.26, as maiores notas médias ($P < 0,05$) foram atribuídas aos *cookies* da formulação F1, elaborado com farinha de trigo refinada com exceção da

textura em que não houve diferença ($P > 0,05$) entre as amostras. Dado semelhante aos apresentados na Tabela 4.20 em que, de acordo com a análise de textura instrumental, não houve um padrão seguido entre as formulações.

Em se tratando de sabor, um atributo muito relevante na escolha de um alimento as formulações F1 e F3 não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), dado bastante significativo na elaboração de novo alimento uma vez que a formulação F3 pode ser considerada funcional por incorporar 5% de *Spirulina* em seu conteúdo.

Em virtude do cultivo da *Spirulina* ser em meio aquoso, por se tratar de uma alga, o aroma que a acompanha é comum aos pescados o que, no entanto é raro na tecnologia de alimentos, na elaboração de novos produtos, principalmente produtos de panificação e confeitaria, como biscoitos; assim, a nota atribuída para o aroma dos *cookies*, aos quais foram adicionados *Spirulina*, tendeu a diminuir com o aumento no percentual da alga na formulação.

A distribuição das notas, de acordo com a ordenação preferencial pelos provadores na análise sensorial de biscoito tipo *cookies* elaborado com farinha de trigo refinada e com diferentes concentrações de *Spirulina*, está exposta na Tabela 4.27.

Tabela 4.27 - Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=55) na análise sensorial de *cookie* elaborado com farinha de trigo refinada e com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Formulações	Número de Provadores por Ordem*				Somadas das ordens**
	1	2	3	4	
F1	08	11	05	31	169 a
F3	10	12	22	11	144 ab
F4	12	22	18	03	122 b
F5	25	10	10	10	115 b

F1 = formulação de biscoito com farinha de trigo refinada, sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*; * 1 = menos preferido, 4 = mais preferido. ** Soma das ordens de cada amostra = (1 x nº de provadores) + (2 x nº de provadores) + (3 x nº provadores) + (4 x nº provadores); a, b – letras minúsculas sobrescritas indicam as diferenças significativas apresentadas entre os *cookies* ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman

Segundo os testes de ordenação, a amostra de biscoito F1 obteve maior número de provadores classificando-a como amostra mais preferida, juntamente com a amostra F3 (menor percentual de *Spirulina*); já as amostras F4 e F5 (com maior percentual de *Spirulina*) foram destacadas como amostras menos preferidas.

Na Tabela 4.28 é apresentada a distribuição das notas, de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=55) na análise sensorial de *cookies* elaborado com farinha de trigo integral e *cookies* enriquecidos com *Spirulina*.

Tabela 4.28 - Distribuição percentual de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=55) na análise sensorial de *cookie* elaborados com farinha de trigo integral e com diferentes concentrações de *Spirulina*

Formulações	Número de Provadores por Ordem*				Somadas das ordens**
	1	2	3	4	
F2	1	2	3	4	152 a
F3	13	06	09	25	122 a
F4	15	16	13	09	137 a
F5	12	10	19	12	119 a

F2 = formulação de biscoito com farinha de trigo integral, sem adição de *Spirulina*, produzido com farinha de trigo refinada; F3 = formulação de biscoito com 5% de *Spirulina*; F4 = formulação de biscoito com 10% de *Spirulina*; F5 = formulação de biscoito com 15% de *Spirulina*; * 1 = menos preferido, 4 = mais preferido. ** Soma das ordens de cada amostra = (1 x nº de provadores) + (2 x nº de provadores) + (3 x nº provadores) + (4 x nº provadores); a, b – letras minúsculas sobrescritas indicam as diferenças significativas apresentadas entre os *cookies* ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman

Pode-se observar que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre as amostras significando que a preferência dos provadores é a mesma entre o biscoito formulado com farinha de trigo integral e os biscoitos com diferentes concentrações de *Spirulina*.

5 - CONCLUSÕES

- A biomassa de *Spirulina platensis* in natura é bastante perecível, com baixo teor de gordura e carboidratos, e rica em fibras e ácido ascórbico.

- A *Spirulina* in natura se caracterizou como fluido pseudoplástico.

- O modelo de Midilli foi, nas temperaturas de secagem de 40, 50 e 60 °C, o que descreveu, de forma mais eficaz, os dados da cinética de secagem, apresentando o maior coeficiente de determinação e menor desvio quadrático médio.

- A partir da granulometria observou-se que houve variações no tamanho das partículas da biomassa, em todos os métodos de secagem.

- Por meio da microscopia eletrônica de varredura verificou-se que a biomassa produzida na estufa e no liofilizador, apresentou menos uniformidade e mais imperfeições quando comparado com a biomassa produzida por aspersão, que apresentou superfícies mais lisas, independente da temperatura de secagem.

- Entre os métodos de secagem a biomassa obtida por liofilização foi considerada como a melhor em relação às demais, em razão de apresentar a maior concentração de proteínas, lipídios, ácido ascórbico, fibras e aminoácidos essenciais bem como menor pH e melhores resultados (R^2 e P) nas isotermas, nos três modelos matemáticos.

- O modelo de Peleg apresentou os melhores ajustes às isotermas de adsorção de água da *Spirulina*, com os maiores coeficientes de determinação e os menores desvios percentuais médios, nas temperaturas de 20, 30 e 40 °C; as isotermas foram classificadas como dos tipos II e III.

- Com relação ao tempo e à temperatura de armazenamento (biomassa liofilizada), não ocorreu alteração no teor de água porém houve diminuição na luminosidade, na intensidade da cor verde e amarela.

- Na análise da textura instrumental a formulação de biscoito que apresentou maior dureza foi a F3, elaborada com 5% de *Spirulina*.

- A caracterização química dos biscoitos demonstrou que a formulação com maior teor de água foi F4 (10% de *Spirulina*), o maior teor de resíduo mineral fixo foi da formulação F2 (100% farinha de trigo integral), o destaque para o percentual de proteínas foi para formulação F5 (15% de *Spirulina*), os lipídios ficaram mais concentrados nas formulações F1 (100% farinha de trigo refinada), F4 e F5 e o maior valor energético foi encontrado na formulação F1.

- A maior quantidade de minerais foi encontrada na formulação de biscoito F2 (100% farinha de trigo integral).

- A qualidade microbiológica, tanto da biomassa quanto dos biscoitos, atende à legislação nacional para os parâmetros alimentares.

- A formulação F1 (100% de farinha de trigo refinada) foi melhor aceita nas análises sensoriais, seguida da formulação F3 (5% de *Spirulina*), e não houve diferença estatística quanto à ordenação na aceitação entre essas duas formulações.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACORSI, D. M.; BEZERRA, J. R. M. V.; BARÃO, M. Z.; RIGO, M. Viabilidade do processamento de biscoitos com farinha de pinhão. **Ambiência**, v. 5, n. 2, p. 207-212, 2009.

ADIBA, B. D.; SALEM, B.; NABIL, S.; ABDELHAKIM, M. Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera L.*) and *Spirulina* (*Spirulina sp.*) powders. **Powder Technology**, v. 208, n. 3, p. 725-730, 2011.

ADAMIEC, J.; KAMINSKI, W.; MARKOWSKI, A.; STRUMILLO, C. In: MAJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. Nova Iorque: Marcel Dekker, 1995. p. 775-808.

AJI, P.; MOHAMAD, D. Drying *Spirulina* with foam mat drying at medium temperature. **International Journal of Science and Engineering**, v. 3, n. 2, p. 1-3, 2012.

AKAO, Y.; EBIHARA, T.; MASUDA, H.; SAEKI, Y.; AKAZAWA, T.; HAZEKI, K.; SEYA, T. Enhancement of antitumor natural killer cell activation by orally administered *Spirulina* extract in mice. **Cancer Science**, v. 100, n. 8, p. 1494-1501, 2009.

ALVARENGA, R. R.; RODRIGUES, P. B.; CANTARELLI, V. D. S.; ZANGERONIMO, M. G.; SILVA JÚNIOR, J. W. D.; SILVA, L. R. D.; PEREIRA, L. J. Energy values and chemical composition of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 992-996, 2011.

AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 109 - 117, 2008.

ANDRADE, I.; FLORES, H. Optimization of spray drying of rosele extract (*Hibiscus sabdariffa L.*). In: INTERNATONAL DRYING SYMPOSIUM, 14., 2004. **Proceedings...** São Paulo, 2004. v. A., p. 597 – 6-4.

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.

ANTELO, F. S.; COSTA, J. AV; KALIL, S. J. Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 41, n. 1, p. 43-47, 2008.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. Williams, S. 14. Ed. Arlington, 1997. 1141 p.

AQUALAB. **Analizador de atividade de água para avaliar biodegradação (alimentos e fármacos)**: Modelo CX-2. Decagon Devices, Inc. 950 NE Nelson Court Pullman, WA 99163 USA, 2001.

ARAÚJO, D. G.; NASCIMENTO, C. R. Efeito da aditivção nas propriedades reológicas e nas características de sedimentação da polpa de bauxita-I Ensaio Preliminares. **Jornada de iniciação científica do CETEM/MCT**, v. 16, p. 22-28, 2008.

ARIAHU, C. C.; KAZE, S. A.; ACHEM, C. D. Moisture sorption characteristics of tropical fresh water crayfish (*Procambarus clarkii*). **Journal of Food Engineering**, v. 54 n. 75, p. 355-363, 2006.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949.

BABADZHANOV, A. S.; ABDUSAMATOVA, N.; YUSUPOVA, F. M.; FAIZULLAEVA, N.; MEZHLUMYAN, L. G.; MALIKOVA, M. K. H. Chemical composition of *Spirulina* cultivated in Uzbekistan. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n. 3, p. 276 – 279, 2004.

BAKE INFO. The New Zealand Baking Industry Research Trust. New Zealand. **The science behind bread making**.

BANJI, D.; BANJI, O. J.; PRATUSHA, N. G.; ANNAMALAI, A. R. Investigation on the role of *Spirulina* in ameliorating behavioural changes, thyroid dysfunction and oxidative stress in offspring of pregnant rats exposed to fluoride. **Food chemistry**, v. 140, n. 1, p. 321-331, 2013.

BARBANTI, D.; MASTROCOLA, D.; SEVERINI, C. Air drying of plums: A comparison among twelve cultivars. **Sciences des Aliments**, n. 14, p. 61-73, 1994.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; JULIANO, P. Physical and chemical properties of food powders. In: ONWULATA, C. **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. cap. 3, p. 39-71.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperature and HPMC addition. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 92-9, 2006.

BARROS, K. K. S. **Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) para alimentação humana**. 2010. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

BARROW, C.; SHAHIDI, F. **Marine nutraceuticals and functional foods**. CRC Press: Taylor Francis, Group. 2008. 494 p.

BATOOL, R.; BUTT, M. S.; SHARIF, M. K.; NAWAZ, H. Effect of *Nigella sativa* meal protein isolates supplementation on the physical and sensory characteristics of *cookies* during storage. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 12, n. 6, p. 521-528, 2013

BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 301 p.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, p. 312-351. 2004.

BEJAR, A. K.; MIHOUBI, N. B.; KECHAUOU, N. Moisture sorption isotherms: Experimental and mathematical investigations of Orange (*Citrus sinensis*) peel and leaves. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1728-1735, 2012.

BELARBI, E.; MOLINA, E.; CHISTI, Y.; RETRACTED: A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 9, p. 951-969, 2000.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A. Comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extrattractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 31, p. 507-573, 1998.

BERTOLIN, T. E.; PILATTI, D.; GIACOMINI, A. C. V. V.; BAVARESCO, C. S.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V. Effect of microalga *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on hippocampus lipoperoxidation and lipid profile in rats with induced hypercholesterolemia. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 5, p. 1253-1259, 2009.

BHANDARI, B. R.; HARTEL, R. W. Phase transitions during food powder production and powder stability. In: ONWULATA, C. **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. cap. 9, p. 262-292.

BHANDARI, S.; BANJARA, M. R. Micronutrients deficiency, a hidden hunger in nepal: prevalence, causes, consequences, and solutions. **International Scholarly Research Notices**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

BLAHOVEC, J. Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach. **Journal of Food Engineering**, v. 65, n. 4, p. 489-495, 2004.

BONNIN, G. A scheme for the transfer of technology concerning *Spirulina* production and utilization to developing countries. **Bulletin de l'Institut Océanographique**, p. 157-167, 1993.

BORJA, F. *Spirulina*. **Jornal Tamanduá**. Patos, jan. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília (DF); 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] União**. Brasília, Janeiro. Seção I, n. 7-E, p.45-53. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial [da] União**. Brasília, Setembro de 2003a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial [da] União**. 2003b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução nº 263, de 22 de setembro de 2005 – Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial [da] União**. 2005a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial [da] União**. 2005b.

BROWN, M. R.; MULAR, M.; MILLER, I.; FARMER, C.; TRENERRY, C. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 11, n. 3, p. 247–255, 1999.

BUBNOVICH, V.; REYES, A.; QUIJADA, E.; MAHN, A. Numerical simulation of lyophilization of carrot slices at atmospheric pressure in a fluidized bed. **Journal of food engineering**, v. 109, n. 4, p. 659-667, 2012.

CAMPANELLA, L.; CRESCENTINI, G.; AVINO, P. Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on *Spirulina*. **Analisis**, v. 27, n. 6, p. 533-540, 1999.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J Effect of the carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.6, n. 4, p 420-428, 2005.

CAPRISTE, G.H.; ROTSTEIN, E. Prediction of sorptional equilibrium data for starch containing food stuffs. **Journal of Food Science**, v. 47,n. 8, p. 1501-15507, 1982.

CARBALLO-CÁRDENAS, E. C.; TUAN, P. M.; JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H. Vitamin E (α -tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4, p. 139-147, 2003.

CARVAJAL, J. C. L. **Caracterização e modificações químicas da proteína da microalga *Spirulina* (*Spirulina maxima*)**. 2009. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

CARVALHO, A. P.; MALCATA, F. X. Kinetic modeling of the autotrophic growth of *Pavlova lutheri*: study of the combined influence of light and temperature. **Biotechnology Progress**, v. 19, n. 4, p. 1128-1135, 2003.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010. 51 p. (Documentos, Embrapa Cerrados, 276).

CHARPY, L.; LANGLADE, M. J.; VICENTE, N.; RIVA, A. Colloque international sur les cyanobactéries pour la santé, la science et le développement. **International symposium on cyanobacteria for health, science and development**. Île des Embiez Var, France, 2004.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteins alimentarias: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutritivo, modificaciones químicas**. Zaragoza: Acribia, 1989.

CHEVALLIER, S.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P.; BROYART, B.; TRYSTRAM, G. Structural and chemical modifications of short dough during baking. **Journal of Food Cereal Science**, v. 35, p. 1-10, 2002.

CHRONAKIS, I. S. Gelation of edible blue-green algae protein isolate (*Spirulina platensis* strain pacifica): thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 888-898, 2001.

COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 7, p. 1489-1493, 2007.

COLLA, L. M.; MUCCILLO-BAISCH, A. L.; COSTA, J. A. V. *Spirulina platensis* effects on the levels of total cholesterol, HDL and triacylglycerols in rabbits fed with a hypercholesterolemic diet. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 2, p. 405-411, 2008.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE – Ministério da Saúde (CNS-MS). **Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos** - Resolução 466/2012.

CONVERTI, C.; LODI, A.; BORGHI, A. D.; SOLISIO, C. Cultivation of *Spirulina* in a combined airlift-tubular reactor system. **Biochemical Engineering Journal**, v. 32, n.1, p. 13-18, 2006.

CORRÊA, P. C.; OLIVEIRA, G. H. H.; BOTELHO, F. M.; GONELI, A. L. D.; CARVALHO, F. M. Modelagem matemática e determinação das propriedades termodinâmicas do café (*Coffea arabica* L.) durante o processo de secagem. **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 595-601, 2010.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010.

COZZA, K. L.; COSTA, J. A. V. Lipídios em *Spirulina*. **Vetor, Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 10, n. 1, p. 69-80, 2000.

DARLEY, W. M. Algal biology: a physical approach. In: WILKINSON, J. F. **Basic Microbiology**. Blackwell Scientific Publications, 1982. v. 9, p. 30-52.

DESMORIEUX, H.; DECAEN, N. Convective drying of *Spirulina* in thin layer. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 4, p. 497-503, 2005.

DIAS, L. T.; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 692-700, 2006.

DILLON, J. C.; PHUC, A. P.; DUBACQ, J. P. Nutritional value of the *Spirulina*. In: SIMOPOULOS, A. P. **Word review of nutrition and dietics: plants in human nutrition**. V. 77. Basel: Karger, 1995. Cap. 5, p. 32-46.

DITTMAN, F. W.; COOK, E. M. Establishing the parameters for a spray dryer. **Chemical Engineering**, v. 84, n. 2, p. 108-112, 1977.

DONATO, N. R.; SILVA, J. A. D.; COSTA, M. J. D. C.; BARBOSA, M. Q.; BION, F. M.; CARVALHO FILHO, E. V. D.; MEDEIROS, I. A. D. Use of *Spirulina platensis* for recovering rats under protein restriction diet feeding. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 69-77, 2010.

DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L. G.; ESQUERDO, V. M.; PINTO, L. A. A. Equilibrium and thermodynamics of azo dyes biosorption onto *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 1, p. 13-21, 2013.

DUARTE, J.; LEGGEMANN, M.; OLIVEIRA, E.; CREXI, V.; PINTO, L. A. Índice de TBA e avaliação da cor da microalga *Spirulina platensis* desidratada em camada delgada. **XVII CIC, X ENPOS**, Universidade Federal de Pelotas, 2008

EL-BAKY, H. H. A. Over production of phycocyanin pigment in blue green alga *Spirulina* sp. and it's inhibitory effect on growth of enrich ascites carcinoma cells. **Journal of Medical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 314-324, 2003.

EL-BAKY, H. H. A.; EL-BAZ, F. K.; EL-BAROTY, G. S. Enhancement of antioxidant production in *Spirulina platensis* under oxidative stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 3, p. 623-631, 2009.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. Rio de Janeiro: ATHENEU, 1992.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116 p.

FASOLIN, L. H.; ALMEIDA, G. D.; CASTANHO, P. S.; NETTO-OLIVEIRA, E. R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 524-529, 2007.

FELLOWS, P. **Tecnologia del procesado de los alimentos: principios y practicas**. Zaragoza: Acribia, 1994. 549 p.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C. P.; AGUIRRE, J. M. Secagem por atomização de polpa de amora-preta usando maltodextrina como agente carreador. **Brazilian Journal of food Technology**, v. 15, n. 2, p. 157-165, 2012.

FIGUEIREDO, R. **Princípios de secagem de produtos biológicos**. 1. ed. João Pessoa: Ed. Universitária, 2004. 163 p.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 726, p. 497-509, 1957.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004. 307 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FURUTA, T.; HAYASHY, H.; OHASHI, T. Some criteria of spray dryer design for foodliquid. **Drying Technology**, v. 12, n. 1-2, p. 151-177, 1994.

GARCIA-CASAL, M.N.; RAMIREZ, J.; LEETS, I.; PEREIRA, A.C.; QUEIROGA, M. F. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva sp.*, *Sargassum sp.* and *Porphyra sp.*) in human subjects. **British Journal of Nutrition**, n. 101 p. 79–85, 2009.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. 1. ed. São Paulo: Nobel, 1998.

GERMANI, R.; BENASSI, V. T.; CARVALHO, J. L. V. **Métodos de avaliação de grão e farinha de trigo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1997. 84 p.

GONELI, A. L.; CORRÊA, P. C.; AFONSO JÚNIOR, P. C.; OLIVEIRA, G. H. H. Cinética de secagem dos grãos de café descascados em camada delgada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, n. 11, p. 64-73, 2009.

GUARIENTI, C.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Capacidade antioxidante da microalga *Spirulina* em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* submetidas ao estressor paraquat. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, 2010.

GUILHERME, F. F. P.; JOKL, L. Emprego de fubá de melhor qualidade protéica em farinhas mistas para produção de biscoitos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 63-71, 2005.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, W. L.; CHARLEY, M. H. **Culture of marine invertebrate animals**. New York: Plenum, p. 29-60. 1975.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Pre-column phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of aminoacids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n. 6, p. 912- 916, 1989.

HAIJ-ISA, N. M. A.; CARVALHO, E. S. Desenvolvimento de biscoitos, tipo salgado, enriquecidos pela adição de merluza. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 313-318, 2011.

HENRIKSON, R. **Microalga *Spirulina* superalimento del futuro**. 1 ed. Barcelona: Urano, 1994. 222 p.

HOFF, F. H.; SNELL, T. W. **Plankton culture manual**. 5. ed. Dade City: Aqua Farms, 1999. 226 p.

HOFFMANN, S. A.; KRUGER, R. L. Elaboração, análise sensorial e físico-química de biscoito rico em ferro com farinha de pulmão bovino. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 577-583, 2012.

HUANG, L.; LU, Z.; YUAN, Y.; LÜ, F.; BIE, X. Optimization of a protective medium for enhancing the viability of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* based on response surface methodology. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 1, p. 55-61, 2006.

HUESEMANN, M. H.; BENEMANN, J. R. Biofuels from microalgae: review of products, processes and potential, with special focus on *Dunaliella* sp.. In: BEN-AMOTZ, A.; POLLE JEW, S.; RAO, D. V. **The alga *Dunaliella*: biodiversity, physiology, genomics, and biotechnology**. Enfield: Science Publishers, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

JIMÉNEZ, C.; COSSÍO, B. R.; NIELL, F. X. Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. **Aquaculture**, v. 221, n. 1, p. 331-345, 2003.

KIM, M. Y.; CHEONG, S. H.; LEE, J. H.; KIM, M. J.; SOK, D. E.; KIM, M. R. *Spirulina* improves antioxidant status by reducing oxidative stress in rabbits fed a high-cholesterol diet. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 2, p. 420-426, 2010.

KIM, K.; HOH, D.; JI, Y.; DO, H.; LEE, B.; HOLZAPFEL, W. Impact of light intensity, CO₂ concentration and bubble size on growth and fatty acid composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) KMMCC CY-007. **Biomass and Bioenergy**, v. 49, p. 181-187, 2013.

KOCA, N.; KARADENIZ, F.; BURDURLU, H. S. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 609-615, 2007.

KORDOWSKA-WIATER, M.; WAŚKO, A.; POLAK-BERECKA, M.; KUBIK-KOMAR, A.; TARGOŃSKI, Z. *Spirulina* enhances the viability of *Lactobacillus rhamnosus* E/N after freeze-drying in a protective medium of sucrose and lactulose. **Letters in applied microbiology**, v. 53, n. 1, p. 79-83, 2011.

KROKIDA, M. K.; MAROULIS, Z. B. Effect of drying method on shrinkage and porosity. **Drying Technology**, v. 15, n. 10, p. 2441-2458, 1997.

KRUGER, C. C. H.; COMASSETTO, M. C. G.; CANDIDO, L. M. B.; BALDINI, V. L. S.; SANTTUCCI, M. C.; SGARBIERI, V. C. Biscoitos tipo Cookie e Snack enriquecidos, respectivamente com caseína obtida por coagulação enzimática e caseinato de sódio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 81-86, 2003.

KUDRA, T.; MUJUMDAR, A. S. **Advanced drying technologies**. CRC Press, 2009.

KUMAR, K. R.; MAHADEVASWAMY, M.; VENKATARAMAN, L. V. Storage quality of powdered cyanobacterium *Spirulina platensis*. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v. 201, n. 3, p. 289-292, 1995.

LACERDA, D.; SOARES, J. M. S.; ZACZUK B. P.; SANTOS S.B.; KOAKUZU, S. N. Qualidade de biscoitos elaborados com farelo de arroz extrusado em substituição à farinha

de trigo e fécula de mandioca. **Archivos Latino americanos de Nutricion**, v. 59, n. 2, p. 199-205, 2009.

LAROSA, G.; ROSSI, E. A.; BARBOSA, J. C.; CARVALHO, M. R. B. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de 'okara'. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 151-157, 2009.

LEEMA, J. M.; KIRUBAGARAN, R.; VINITHKUMAR, N. V.; DHEENAN, P. S.; KARTHIKAYULU, S. High value pigment production from *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultured in seawater. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 9221-9227, 2010.

LEMES, A. C.; TAKEUCHI, K. P.; CARVALHO, J. C. M. D.; DANESI, E. D. G. Fresh pasta production enriched with *Spirulina platensis* biomass. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 5, p. 741-750, 2012.

LEWICKI, P. P. Design of hot air drying for better foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 153-163, 2006.

LI, D. M.; QI, Y. Z. *Spirulina* industry in China: present status and future prospects. **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 1, p. 25-28, 1997.

LOURENÇO, S. O.; MARQUES JUNIOR, A. N. Produção primária marinha. In: PEREIRA, R. G.; SOARES-GOMES, A. **Biologia Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, p. 195-227. 2002.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. Rio de Janeiro: RiMa, 2006.

MACHADO, C. M. M.; **Processamento de hortaliças em pequena escala**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2006. 99 p.

MADEIRA, R. A. V. **Caracterização tecnológica de linhagens de trigo desenvolvidas para o cerrado mineiro**. 2014. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

MADHYASTHA, H. K.; VATSALA, T. M. Pigment production in *Spirulina fussiformis* in different photophysical conditions. **Biomolecular Engineering**, v. 24, n. 3, p. 301-305, 2007.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L.; KRAUSE, M. V. **Krause's food & the nutrition care process**. Elsevier Health Sciences, 2012.

MALHEIROS, G. C. **Estudo da alteração da cor e degradação da clorofila durante armazenagem de erva-mate tipo chimarrão**. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MARCÍLIO, R.; AMAYA-FARFAN, J.; SILVA, M. D.; SPEHAR, C. Avaliação da farinha de amaranto na elaboração de biscoito sem glúten do tipo cookie. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v. 8, p. 175-181, 2005.

MASTERS, K. **Spray drying: an introduction to principles, operational practice and applications**. London: Leonard Hill Books, 1972.

MAZOKOPAKIS, E. E.; KAREFILAKIS, C. M.; TSARTSALIS, A. N.; MILKAS, A. N.; GANOTAKIS, E. S. Acute rhabdomyolysis caused by *Spirulina (Arthrospira platensis)*. **Phytomedicine**, v. 15, n. 6, p. 525-527, 2008.

MAZOKOPAKIS, E. E.; STARAKIS, I. K.; PAPADOMANOLAKI, M. G.; MAVROEIDI, N. G.; GANOTAKIS, E. S. The hypolipidaemic effects of *Spirulina (Arthrospira platensis)* supplementation in a Cretan population: a prospective study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 3, p. 432-437, 2013.

MAZOKOPAKIS, E. E.; PAPADOMANOLAKI, M. G.; FOUSTERIS, A. A.; KOTSIRIS, D. A.; LAMPADAKIS, I. M.; GANOTAKIS, E. S. The hepatoprotective and

hypolipidemic effects of *Spirulina (Arthrospira platensis)* supplementation in a Cretan population with non-alcoholic fatty liver disease: a prospective pilot study. **Annals of gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology**, v. 27, n. 4, p. 387, 2014.

MEDEIROS, P. R. M. S. **Composição química e avaliação sensorial de biscoitos elaborados com polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) desidratada**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 25, p. 7266-7270, 2003.

MERCER, P.; ARMENTA, R. E. Developments in oil extraction from microalgae. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 5, p. 539-547, 2011.

MILLMAN, M. J.; LIAPIS, A. I.; MARCHELLO, J. M. An analysis of the lyophilization process using a sorption-sublimation model and various operational policies. **AIChE Journal**, v. 31, n. 10, p. 1594-1604, 1985.

MINGOTI, R.; HOLLER, W. A.; SPADOTTO, C. A. Produção potencial de trigo no Brasil. Campinas: **Embrapa Gestão Territorial**, 2014. 2 p.

MOHEIMANI, N. R. **The culture of coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation**. 2005. 247 f. Thesis (Ph. D.) Murdoch University, Australia, 2005.

MOHN, F. H.; SOEDER, C. J. Improved technologies for the harvesting and processing of microalgae and their impact on production costs. **Arch Hydrobiol, Beih Ergeb Limnol**, v. 1, p. 228-53, 1978.

MOHSEN, S. M.; FADEL, H. H.; BEKHIT, M. A.; EDRIS, A. E.; AHMED, M. Effect of substitution of soy protein isolate on aroma volatiles, chemical composition and sensory

quality of wheat *cookies*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 9, p. 1705-1712, 2009.

MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: características físico químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2006.

MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; ANDRADE, M. R.; TEIXEIRA, G. G.; BRUSCH, L. R. D. F.; COSTA, J. A. V. Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, v. 294, n. 1, p. 60-64, 2009.

MORAIS, M. G.; STILLINGS, C.; DERSCH, R.; RUDISILE, M.; PRANKE, P.; COSTA, J. A. V.; WENDORFF, J. Preparation of nanofibers containing the microalga *Spirulina* (*Arthrospira*). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 2872–2876, 2010.

MORETTO, E.; FETT, R. **Processamento e análise de biscoitos**. São Paulo: Livraria Varela, 1999. 97 p.

MORIST, A.; MONTESINOS, J. L.; CUSIDO, J. A.; GODIA, F. Recovery and treatment of *Spirulina* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 5, p. 535-547, 2001.

MOSQUERA, L. H.; MORAGA, G.; MARTINEZ-NAVARRETE, N. Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. **Food Research International**, v. 7, n. 2, p. 201-206, 2012.

MOURA, C. C.; PETER, N.; DE OLIVEIRA SCHUMACKER, B.; BORGES, L. R.; HELBIG, E. Biscoitos enriquecidos com farelo de linhaça marrom (*Linum usitatissimum* L.): valor nutritivo e aceitabilidade. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 9, n. 1, 2014.

MUJUMDAR, A. S. **Handbook of industrial drying**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 1312 p.

MUNIR, M.; SHARIF, N.; NAZ, S.; SALEEM, F.; MANZOOR, F. **Harvesting and processing of microalgae biomass fractions for biodiesel production**, 2013.

NAGAOKA, S.; SHIMIZU, K.; KANEKO, H.; SHIBAYAMA, F.; MORIKAWA, K.; KANAMARU, Y.; OTSUKA, A.; HIRAHASHI, T.; KATO, T. A novel protein C-phycoerythrin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *Spirulina* concentrate in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 135, n. 1, p. 2425–2430, 2005.

NIJDAM, J. J.; LANGRISH, T. A. J. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 4, p. 919-925, 2006.

OBÓN, J. M.; CASTELLAR, M. R.; ALACID, M.; FERNANDEZ-LOPEZ, J. A. Production of a red-purple foodcolorant from *Opuntia stricta* by spray drying and its application in four model systems. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 471-479, 2009.

O'HAGAN, P.; HASAPIDIS, K.; CODER, A.; HELSING, H.; POKRAJAC, G. Particlesize analysis of food powders. In: ONWULATA, C. **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. cap. 9, p. 215-246.

OLIVEIRA, M. A. C. L.; MONTEIRO, M. P. C.; ROBBS, P. G.; LEITE, S. G. F. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. **Aquaculture International**, v. 7, n. 4, p. 261-275, 1999.

OLIVEIRA, J. E. D.; MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais: aprendendo a aprender**. 2. ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2008.

OLIVEIRA, E. G.; ROSA, G. S.; MORAES, M. A.; PINTO, L. A. A. Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Process Engineering**, v. 31, n. 1, p. 34-50, 2008.

OLIVEIRA, E. G., ROSA, G. S., MORAES, M. A., PINTO, L. A. A. Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. **Biosource Technology**, v. 100, p. 1297-1303, 2009.

OLIVEIRA, E. G.; DUARTE, J. H.; MORAES, K.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. Optimisation of *Spirulina platensis* convective drying: evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 8, p. 1572-1578, 2010.

ONCEL, S.; SUKAN, F. V. Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). **Biorsource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4755-4760, 2007.

PELIZER, L. H.; DANESI, E. D. G.; RANGEL, O. C.; SASSANO, C. E. N.; CARVALHO, J. C. N.; SATO, S.; MORAES, I. O. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 371-375, 2003.

PEREZ, P. M. P.; GERMANI, R. Elaboração de biscoitos tipo salgado, com alto teor de fibra alimentar, utilizando farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 186-192, 2007.

PINEDO, R. A. **Manutenção dos atributos de qualidade do camu-camu (*Myrciaria dúbia* H. B. K. Mc Vaugh) desidratado, durante o armazenamento.** 2002. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2002.

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; CHUU, W. L.; HASHIM, M. *Spirulina* culture in digested starch factory waste water. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 5, p. 395-400, 2000.

PISSATO, A. **Desenvolvimento de um biscoito tipo cookie enriquecido com cálcio e vitamina D.** 2010. 93 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos,) Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos,, Curitiba, 2010.

POSSA, M. V.; MINAS, E. **Reologia no tratamento de minérios:** Tratamento de minérios. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2004. 568 p.

- RAHMAN, M. S. **Food Properties Handbook**. Boca Raton: CRC Press, 1995.
- RAMASWAMY, H.; MARCOTTE, M. **Food processing: principles and applications**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.
- RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, n. 4, p. 311-319, 2001.
- REC, W. Nutraceuticals: a brief review of historical and teleological aspects. In: WILDMAN, R. **Handbook of nutraceuticals and functional foods**. Boca Raton: CRC; 2001. p. 1-12.
- RICHMOND, A. E; SOEDER, C. J. Microalgae. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 349–438, 1986.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal mass culture**. Florida: CRC Press; 1990. 528 p.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycolgy**. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566 p.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycolgy**. John Wiley & Sons, 2008.
- RODRIGUES, M. D. A. A.; LOPES, G. S.; FRANÇA, A. S.; MOTTA, S. D. Desenvolvimento de formulações de biscoitos tipo cookie contendo café. **Ciências Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 162-169, 2007.
- RODRIGUES, J. P. M.; CALIARI, M.; ASQUIERI, C. E. R. Caracterização e análise sensorial de biscoitos de polvilho elaborados com diferentes níveis de farelo de mandioca. **Ciência Rural**, v. 41, n. 12, p. 2196-2202, 2011.
- ROSA, E. D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. Secagem por atomização na industria alimentícia: fundamentos e aplicações. In: JORNADA CIENTÍFICA DAS

FACULDADES ASSOCIADAS DE UBERABA, 2006. **Anais...** Uberaba: FAZU, 2006. CD-ROM.

ROSELL, C. M.; ROJAS, J. A.; BENEDITO, B. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 75–81, 2001.

SAMAPUNDO, S.; DEVLIEGHERE, F.; MEULENAER, B.; ATUKWASE, A.; LAMBONI, Y.; DEBEVERE, J. M. Sorption isotherms and isosteric heats of sorption of whole yellow dent corn. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 1, p. 168-175, 2007.

SANTOS, C. A.; RIBEIRO, R. C.; SILVA, E. V. C.; SILVA, N.; SILVA, B. A.; SILVA, G. F.; BARROS, B. D. C. V. Elaboração de biscoito de farinha de buriti (*Mauritia flexuosa L.*) com e sem adição de aveia (*Avena sativa L.*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1, 2011.

SANTOS, C. M.; LIMA, S. M. F.; GOMES, P. M.; MACHADO, A. V.; FERREIRA, D. Q. C. Avaliação da informação nutricional contida nos rótulos de biscoitos água e sal, sopas industrializadas. **Informativo técnico do semiárido**, v. 7, n. 1, p. 209-217, 2013a.

SANTOS, M. D. O. D.; MARTINS, M. A.; COIMBRA, J. S. D. R.; GATES, R. S.; CORRÊDO, L. D. P. Rheological behavior of *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. cultures in different biomass concentrations. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 5, p. 1063-1071, 2013b.

SASSANO, C. E. N.; GIOIELLI, L. A.; FERREIRA, L. S.; RODRIGUES, M. S.; SATO, S.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J. C. M. Evaluation of the composition of continuously-cultivated *Arthrospira* (*Spirulina*) using ammonium chloride as nitrogen source. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, n. 12, p. 1732-1738, 2010.

SCHWEDE, S.; KOWALCZYK, A.; GERBER, M.; SPAN, R. Influence of different cell disruption techniques on mono digestion of algal biomass. In: **World Renewable Energy Congress, Linköping**, Sweden. 2011. p. 8-13.

SHELEF, G.; SUKENIK, A.; GREEN, M. **Microalgae harvesting and processing: a literature review**. Haifa: Technion Research and Development Foundation Ltd., 1984.

SHEU, T. Y.; ROSENBERG, M. Microencapsulation by spray-drying ethylcaprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. **Journal of Food Science**, v. 60, n.1, p. 98-103, 1995.

SHEU, T. Y.; ROSENBERG, M. Micro estrutura de microcapsules of whey proteins and carbohydrates. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 3, p. 491-494, 1998.

SHIMAMATSU, H. Mass production of *Spirulina*, an edible microalga. **Hydrobiologia**, v. 512, n. 1, p. 39-44, 2004.

SHOW, K. Y.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Algal biomass dehydration. **Bioresource technology**, v. 135, p. 720-729, 2013.

SHOW, K. Y.; LEE, D. J.; TAY, J. H.; LEE, T. M.; CHANG, J. S. Microalgal drying and cell disruption—Recent advances. **Bioresource Technology**, 2014.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A New version of the Assistat-statistical assistance software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE 4., Orlando. **Anais...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p. 393-396.

SILVA, D. F.; SIQUEIRA, D. L.; PEREIRA, C. S.; SALOMÃO, C. C.; STHUIVING, T. B. Caracterização de frutos de 15 cultivares de mangueira na zona da mata mineira. **Ceres**, v. 56, n.6, p.783 – 789, 2009.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria* sap.). **Alimentação e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

SIMAS, K. N. **Resíduo do processamento da palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae*) orgânica: caracterização físico-química, aplicação em biscoitos fibrosos sem glúten e avaliação sensorial pelo consumidor celíaco**. 2008. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SIMAS, K. N.; VIEIRA, L. D. N.; PODESTÁ, R.; MÜLLER, C. M.; VIEIRA, M. A.; BEBER, R. C.; AMBONI, R. D. Effect of king palm (*Archontophoenix alexandrae*) flour incorporation on physicochemical and textural characteristics of gluten-free *cookies*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 3, p. 531-538, 2009.

SOEDER, C. J. Massive cultivation of microalgae: results and prospects. **Hydrobiologia**, v. 72, n. 1-2, p. 197-209, 1980.

SPIES, J. R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemists**, v. 39, n. 10, p. 1412-1415, 1967.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Pauline et al. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

SYAMALADEVI, R. M.; SABLANI, S. S.; TANG, J.; POWERS, J.; SWANSON, B.G. State diagram and water adsorption isotherm of raspberry (*Rubus idaeus*). **Journal of Food Engineering**, v. 99, n.3, p. 460-467, 2009.

TANG, J.; YANG, T. Dehydrated vegetables: principles and systems. **Handbook of Vegetable Preservation and Processing**, p. 335-372, 2003.

TANNOUS, K.; ROCHA, S. C. **Dinâmica de sistemas sólido-fluido**. Disponível em: www.ocw.unicamp.br/fileadmin/user_upload/cursos/EQ651/Capitulo_II.pdf. Acesso em: 01 nov. 2014.

TEIXEIRA NETO, R.O. Alterações da qualidade de frutas e hortaliças desidratadas durante a estocagem. In: AGUIRRE, J.M.; GASPARINO FILHO, J. **Desidratação de frutas e hortaliças**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001, p. 8.1-8.9.

THARWAT, A. A.; ALTURKI, S. M. *Spirulina platensis* production using date palm substances and low cost media in the climatic conditions of Saudi Arabia. **Advances in Environmental Biology**, v. 8, n. 7, 2014.

TÓTH, J.; PALLAI-VARSÁNYI, E. Drying of bovine serum albumin on inert particlesurface in msb dryer. In : INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 15., 2006, Budapeste, Hungria. **Proceedings...** Budapeste, 2006.

TOWNSEND, A.; NAKAI, S. Relationships between hydrophobicity and foaming characteristics on food proteins. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 2, p. 588-594, 1983.

TUCKER, K. L. High-risk nutrients in the aging population. In: **Handbook of Clinical Nutrition and Aging**. New York: Springer, 2015. p. 335-353.

VALGAS, L. **Influencia de variáveis de processamento sobre as propriedades elétricas de varistores de SnO₂ atomizados via “spray dryer”**. 2007. 68 f. Tese (Doutorado em do Programa Interdisciplinar de Pós-Graduação em Engenharia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

VANDERZANT, C.; SPILTTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington: APHA, 1992. 1219 p.

VÁZQUEZ-VELASCO, M.; GONZÁLEZ-TORRES, L.; LÓPEZ-GASCO, P.; BASTIDA, S.; BENEDÍ, J.; SÁNCHEZ-REUS, M. I.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J. Liver oxidation and inflammation in Fa/Fa rats fed glucomannan/*Spirulina*-surimi. **Food chemistry**, v. 159, p. 215-221, 2014.

VELLOZO, E. P.; FISBERG, M. The impact of food fortification on the prevention of iron deficiency. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 134-139, 2010.

VIEIRA, M. A.; TRAMONTE, K. C.; PODESTÁ, R.; AVANCINI, S. R.; AMBONI, R. D. D.; AMANTE, E. R. Physicochemical and sensory characteristics of *cookies* containing residue from king palm (*Archontophoenix alexandrae*) processing. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 9, p. 1534-1540, 2008.

VONSHAK, A. ***Spirulina (Arthrospira)*: physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor and Francis, 1997. 158 p.

WALTER, A.; CARVALHO, J. C. D.; SOCCOL, V. T.; FARIA, A. B. B. D.; GHIGGI, V.; SOCCOL, C. R. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 4, p. 675-682, 2011.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the waters pico-tag system for the aminoacids analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170-177, 1986.

YU, B.; WANG, J.; SUTER, P. M.; RUSSELL, R. M.; GRUSAK, M. A.; WANG, Y.; TANG, G. *Spirulina* is an effective dietary source of zeaxanthin to humans. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 4, p. 611-619, 2012.

APÊNDICE A

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Teste de Aceitação e Intenção de compra

Nome: _____ **Idade:** _____ **email:** _____

Fone: _____ **Escolaridade:** _____ **Data:** _____

Você está recebendo 04 amostras codificadas de preparações de biscoito obtidas a partir de *Spirulina*. Prove-as da esquerda para direita e escreva o valor da escala que você considera correspondente à amostra (código). Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 4 - desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)			
Aparência				
Cor				
Aroma				
Sabor				
Textura				
Avaliação Global				

Agora indique sua atitude ao encontrar estas preparações no mercado.

- 5 – compraria
- 4 – possivelmente compraria
- 3 – talvez comprasse/ talvez não comprasse
- 2 – possivelmente não compraria
- 1 – jamais compraria

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)			
Intenção de Compra				

Comentários: _____

OBRIGADA!

Figura A.1 - Formulário de avaliação sensorial – Teste de Aceitação e Intenção de compra.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Teste de Ordenação-Preferência

Nome: _____ Data _____

Você está recebendo 04 amostras codificadas de preparações de biscoito obtidas a partir de *Spirulina*. Por favor, prove as amostras, da esquerda para direita, e ordene-as em ordem decrescente de **preferência geral**. Espere 30 segundos antes de consumir a próxima amostra e utilize bolacha e água entre cada avaliação.

	Mais preferida	→		Menos preferida
Posto	1° Lugar	2° Lugar	3° Lugar	4° Lugar
Código				

Comentários: _____

Agora, por favor, responda as seguintes questões:

Qual característica sensorial você mais apreciou na amostra mais preferida?

Qual característica sensorial você não apreciou na amostra menos preferida?

Comentários: _____

Obrigada!

Figura A.2 - Formulário de avaliação sensorial – Teste de Ordenação-Preferência.

APÊNDICE B

Termo do Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre biscoito enriquecido com *Spirulina* e está sendo desenvolvida por Nilcimelly Rodrigues Donato, aluna de doutorado da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob a orientação dos Professores Dr. Alexandre José de Melo Queiroz e Dr^a Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo.

A realização desta pesquisa é justificada pela necessidade de avaliar a aceitação sensorial de preparações obtidas pelo enriquecimento de biscoito cokies, tendo em vista que o homem necessita de fontes de nutrientes sadias e úteis ao organismo e isso pode ser atingido satisfatoriamente, fazendo-se uso diário de algas (*Spirulina*), pois é comprovado que esta alga traz benefícios a saúde, como combate ao colesterol, diabetes e efeitos anticancerígenos.

Objetivos do estudo:

Analisar a composição físico-química da *Spirulina* in natura e desidratada por dois métodos de secagem, e avaliar a sua utilização na forma em pó para elaboração de produto alimentício enriquecido, do tipo biscoito, destinado ao consumo humano, com características nutricionais e organolépticas satisfatórias.

Para participar desta pesquisa o voluntário deverá atentar para um item abaixo relacionado à alergia ou intolerância a algum componente da formulação do biscoito que são: farinha de trigo, óleo de soja, ovo, sal, açúcar, bicarbonato, lecitina, essência de baunilha e a *Spirulina*.

Para tanto, V. Sa. receberá 04 preparações obtidas a partir da *Spirulina*, onde deverá avaliar a aceitação sensorial dos atributos aparência, cor, aroma, sabor, textura e fará uma avaliação da aceitação global dos produtos. Além disso, deverá expressar sua intenção de compra das referidas amostras. Por fim, deverá ordenar em ordem decrescente de **preferência geral** (amostra mais preferida para a amostra menos preferida) as amostras de biscoitos submetidas à avaliação sensorial.

Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde. Todavia, por as preparações serem elaboradas a partir de algas que são consideradas como alimentos perecíveis e, portanto, na ocasião da aplicação das análises sensoriais, as preparações deverão estar isentas de qualquer risco de contaminação para os provadores. Estas contaminações poderão também ser provenientes do processamento das amostras. Para amenizar este fator de contaminação, haverá todo um procedimento asséptico na elaboração dos produtos. Além disto, antes da aplicação das análises sensoriais as amostras serão submetidas às análises microbiológicas que deverão demonstrar a qualidade higiênico-sanitária dos produtos elaborados, sendo descartados e não submetidos aos testes sensoriais quando os resultados estiverem acima dos valores permitidos pela legislação específica.

Desta forma, o protocolo metodológico utilizado tanto durante o processo de elaboração das preparações, assim como antes da aplicação da análise sensorial, garantirá que o provador estará recebendo amostras sem nenhum risco de contaminação microbiológica.

Igualmente, os benefícios que a pesquisa poderá trazer para população, como a oferta de um alimento com propriedades nutritivas superam todos os possíveis riscos que possam ocorrer, mas que serão a todo o momento contornados e controlados.

Solicitamos a sua colaboração na avaliação sensorial, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos e publicar em revista científica, bem como da realização de imagens (fotos). Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Só deve participar desta pesquisa quem for consumidor de biscoitos.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a), que não sou alérgico ou intolerante a nenhum componente do biscoito e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa
ou Responsável Legal

Assinatura da Testemunha

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o(a) Pesquisador (a) Nilcimelly Rodrigues Donato
Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal de Campina Grande/ Centro de Educação e Saúde/ Curso de Nutrição/ Sítio Olho d'água da Bica, s/n, Cuité
Telefone: (83) 33721809

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante