

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**

**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**

**UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE**

**CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO**

**ALINE RODRIGUES NERIS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BOLO  
DE CHOCOLATE SEM GLÚTEN ENRIQUECIDO COM  
*Spirulina platensis***

**CUITÉ - PB**

**2018**

ALINE RODRIGUES NERIS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BOLO DE CHOCOLATE  
SEM GLÚTEN ENRIQUECIDO COM *Spirulina platensis***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentando à Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Nilcimelly Rodrigues Donato.

Coorientadora: Prof. Msc. Jéssica Lima de Moraes.

Cuité - PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

N446d      Neris, Aline Rodrigues.

Desenvolvimento e caracterização de bolo de chocolate sem glúten enriquecido com *Spirulina platinsis*. / Aline Rodrigues Neris. – Cuité: CES, 2018.

68 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2018.

Orientadora: Nilcimelly Rodrigues Donato.

Coorientadora: Jéssica Lima de Moraes.

1. Cianobactérias. 2. Alimentos fortificados. 3. Doença Celíaca. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 613.2

*Aos meus pais, Raimundo Neris da Silva, Célia Rodrigues da Silva Neris e a minha tia,  
Telma Maria Rodrigues Costa, que sempre estiveram ao meu lado, em presença ou não,  
apoando e vibrando pelas minhas decisões.*

***Dedico.***

## AGRADECIMENTOS

Sou grata primeiramente a Deus, por ter me dado a oportunidade da vida, pela capacidade de ir atrás dos meus objetivos e por ter me dado amparo naqueles momentos em que eu achava que não era capaz. Pela saúde, pelo meu acordar dia após dia, por meu(s) lar(es), por ter guiado meus passos e por ter auxiliado meus pais no meu sustento. Agradeço ainda por não ter me abandonado sequer por um momento, por ter me feito passar por todas as dificuldades com resiliência. Agradeço pelos momentos felizes e tristes, os quais contribuíram para meu crescimento e amadurecimento. É uma vitória e felicidade muito grande estar concretizado esta etapa, obrigada por tudo, obrigada pelo momento presente e desde já agradeço pelos momentos futuros.

Aos meus pais, Raimundo Neris da Silva e Célia Rodrigues da Silva Neris, meu muito obrigada por todo cuidado, obrigada pelos ensinamentos, pelo apoio, por sempre terem lutado para me dar a melhor educação possível, mesmo com algumas dificuldades. Obrigada por terem me incentivado e me acompanhado nessa mudança da Bahia para a Paraíba e mesmo estando distantes, nunca saíram do meu lado. Obrigada por todo amor incondicional que foi dado a mim desde o dia em que nasci, mesmo eu tendo inúmeras falhas e cometendo muitos erros. Vocês são o meu exemplo, meu alicerce, sem vocês eu não estaria onde estou. Agradeço a minha mãe por toda a dedicação e preocupação e a meu pai, que mesmo sendo muito calado, consegue expressar seu amor de uma forma que eu possa ler nas suas entrelinhas e no seu tom de voz. Cada um de vocês tem um jeito único e uma demonstração de amor que me faz ter orgulho de ser sua filha.

A minha tia, mulher de fé inabalável, muito mais do que palavras de afirmação, a emanção da suas orações sempre chegaram até mim, agradeço por me ensinar que é preciso colocar Deus à frente de qualquer coisa, embora haja algumas diferenças de opiniões, estamos ligadas por uma energia maior, que é a do amor a uma força superior que nos rege, nos guarda, protege e ilumina. A meu irmão Mozart, que sempre foi motivo de admiração, você representa muito pra mim, desde muito nova eu me orgulho ao dizer que sou sua irmã e hoje não é diferente, me lembro que você foi uma das primeiras pessoas a incentivar minha mudança pra cá e me foi muito essencial.

Agradeço aquelas que foram minhas companheiras de lar por um período de tempo muito grande dessa graduação. Nanda, com seu sorriso contagiante, sua alegria de viver, seu jeito desastrado/engraçado, sua forma de olhar o mundo, sua sensatez em algumas ideias e a sua demora de assimilação de algumas outras e Shirlyne, “mãe Shi”

como assim a chamamos, posso dizer que você veste perfeitamente esse papel, quem te conhece sabe, você é um exemplo de cuidado, carinho, atenção, o zelo que você sempre teve comigo e Nanda é impagável. Vocês duas são o perfeito oposto uma da outra que Deus colocou tão cuidadosamente e tão propositalmente para fazerem parte da minha rotina e do meu convívio diário. Nosso convívio era extremamente harmônico, apesar da diferença de personalidade entre cada uma, tenho a sensação de que foi tudo articulado e planejado. Com vocês eu pude ver que cada pessoa é um universo e como o universo de cada uma é lindo e único, eu pude perceber que irmandade independe de genética e que a vida é muito mais do que um diploma. Sempre irei guardar no meu coração os momentos que vivi com vocês na casa branca. A vocês, que sempre lutaram as minhas batalhas, choraram os meus choros e riram os meus risos, meu muito obrigada.

Por falar em companheira de casa, não poderia deixar de agradecer a Renata. Eu, que nunca havia saído da casa de meus pais, fui acolhida de uma forma tão linda por você, que me fez passar por essa migração com paciência, atenção, descontração. Que me auxiliou em todo esse processo, me incentivou, me deu abraço quando precisei e reclamações quando mereci. Eu te definiria como “irmã mais velha”, você, mais experiente do que eu, era o meu espelho, você me mostrou o lado de cá e me ensinou que nada vem fácil se a gente não corre atrás, me enche de orgulho ver quem você está se tornando. Eu admiro essa sua leveza de viver a vida, seu jeito espontâneo e até mesmo a sua forma de tirar as pessoas do sério. E por falar em leveza, nossas noites de sábado, regadas a filme, brigadeiro e pipoca me faziam esquecer de qualquer coisa ruim. Sinto saudades e agradeço por esse laço não ter sido rompido mesmo após tanto tempo.

Às minhas amigas e irmãs de alma, Amanda e Tamires. Tem sido cada vez mais rara a existência de amizades verdadeiras e a permanência das pessoas nas vidas das outras. Posso dizer o quanto sou abençoada por ter ao meu lado duas amigas tão especiais de longa data. Vocês são o exemplo de amizade verdadeira, qualquer palavra que eu utilizar será pequena e insuficiente perto da grandiosidade do meu sentimento e gratidão pela amizade de vocês. Mesmo não estando junta a vocês com tanta frequência, as sinto em meu coração constantemente, obrigada por nunca estarem ausentes. Meus agradecimentos também são entregues a Alvinho, você e Tamires contribuem de uma forma singular em minha vida, suas contribuições ultrapassam os limites do físico.

Meu muito obrigada à família Nogueira Aiello por terem aberto as portas da sua casa e da sua vida para que eu pudesse fazer parte, agradeço a todos os momentos dos quais pudemos compartilhar juntos, tenho um sentimento muito grande por cada um de

vocês e agradeço principalmente a Angelo, que embora não esteja presente na reta final dessa caminhada, esteve ao meu lado, caminhando e incentivando por um longo percurso.

Agradeço ao meu grupo, Sabrina, Mara, Sara, Alessandra e Leila. Uma amizade que começou desde as primeiras semanas de aula e que perdura até hoje, vocês tornaram esse meu trajeto mais leve, descontraído e alegre. Confesso que sem a companhia de vocês seria difícil conseguir passar por diversos obstáculos que encontrei durante esse caminho, obrigada pelos incentivos, pelos risos, pelos choros e inclusive pelas brigas. Sou grata a cada uma de vocês de maneira especial, pela contribuição no meu crescimento pessoal e acadêmico, desejo um caminho de sucesso e felicidade para todas. Destas, destaco Sabrina e Mara, é inegável que sempre tivemos uma afinidade maior e ao longo destes 4 anos pudemos reafirmar dia após dia essa amizade, o que eu sinto por vocês vai muito além de uma sala de aula, reconheço o quanto vocês sempre torceram por mim e agradeço de coração por fazerem parte da minha vida, sei que permanecerão por muito tempo.

A minha turma 2014.1, agradeço-os pelo convívio, pelas gargalhadas e também pelos desentendimentos, vocês sempre foram muitos e dessa forma pude aprender que é necessário respeito às diferenças de personalidade, opiniões, culturas e que cada um possui suas questões pessoais e estão inseridos em diferentes contextos sociais, aprendi qual a melhor e qual a pior forma de agir e principalmente, aprendi que é preciso ter sabedoria ao lidar com pessoas. Desta turma, além das meninas citadas no parágrafo anterior, agradeço especialmente a Sávio, um amigo muito especial do qual eu me orgulho tanto e sinto-me abençoada por sua amizade, Rônisson e Dany, pessoas de uma energia incomparável e que fazem bem só pelo fato de estarem por perto.

Meus agradecimentos aos moradores de Cuité que com muita hospitalidade me receberam tão bem em sua cidade, destes, destaco Fabinho, homem muito humilde, atencioso, prestativo e bondoso, que tem o dom de ajudar as pessoas sem exigir nada em troca, com quem pude perceber o valor do altruísmo.

Agradeço a meus professores pelo conhecimento compartilhado, em especial a Elieidy, um exemplo de mulher, guerreira, forte e que exala empatia, amorosidade e compaixão por onde passa. Suas virtudes não podem ser descritas em palavras, você é a pessoa mais linda que conheci até hoje e contigo aprendi que independente do que for, as coisas devem ser feitas com amor, obrigada pelo voto de confiança, pelas palavras, pelo incentivo e por me dar a oportunidade de ser uma pessoa melhor.

Aos companheiros de laboratório, Juliete, Heloísa, Carlos e Mônica. A minha banca examinadora Ana Cristina, que muito mais do que companheira, é uma amiga que sempre me deu todo o apoio e incentivo. A Jéssica, minha coorientadora, te agradeço imensamente, juntamente com Elieidy, você me iniciou nesse caminho de pesquisa e com muita paciência sempre me deu todo auxílio e ensinamento necessário, vejo pra você um caminho muito lindo como mestre.

A Melly, minha querida orientadora sempre muito solícita, acolheu com carinho as minhas ideias, colaborando na idealização e concretização desta pesquisa. Obrigada pela humildade em seus ensinamentos, considerações, orientação e principalmente no seu tratamento pessoal.

A Universidade Federal de Campina Grande pela oportunidade e ao Centro de Educação e Saúde pelo acolhimento, por ser a minha paz em meio ao caos. Sou grata ao misto de sensações que senti e sinto nesse local.

Gratidão.



## RESUMO

NERIS, A. R. **Utilização de *Spirulina platensis* em bolo de chocolate sem glúten**. 2018. 69 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2018.

A farinha de trigo é a matéria-prima principal para a elaboração de produtos consumidos diariamente, na forma de pães, biscoitos, bolos e massas. É a presença das proteínas do glúten presentes na farinha que a torna apropriada ao desenvolvimento de produtos de panificação, pois é a rede proteica do glúten que favorece as suas características tecnológicas. Alguns indivíduos possuem doença celíaca, uma patologia que os impede de consumir glúten, sendo o tratamento essencialmente dietético, essas pessoas necessitam retirar tais alimentos da sua dieta, tornando necessário o desenvolvimento de produtos isentos de glúten e que podem ser enriquecidos para melhoria do seu valor nutricional. Diante disso, este estudo objetivou o desenvolvimento e caracterização dos aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais de bolo de chocolate sem glúten adicionados de diferentes concentrações de *Spirulina platensis*. Foram elaboradas 4 bolos, B1, com glúten e sem *Spirulina*, B2, sem glúten e 5% de *Spirulina*, B3, sem glúten e 10% de *Spirulina* e B4 sem glúten e 15% de *Spirulina*. As características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais foram analisadas e observou-se que a medida que se aumentou a concentração de *Spirulina* também aumentou consideravelmente o conteúdo proteico, indo de 3,19% para 13,13%, influenciando na textura que foi melhor na amostra com maior quantidade de *Spirulina*. As análises microbiológicas demonstraram que as boas práticas de fabricação foram respeitadas e na análise sensorial foi constatada a aceitação pelos provadores. Diante dos resultados, foi observado que a utilização de *Spirulina* pode ser promissora na elaboração de bolo de chocolate sem glúten.

**Palavras-chave:** Cianobactérias. Alimentos fortificados. Doença celíaca.

## ABSTRACT

NERIS, A. R. *Spirulina platensis* utilization in gluten free chocolate cake. 2018. 69 f. Course Completion Work (Graduation in Nutrition) – Federal University of Campina Grande, Cuité, 2018.

The wheat flour is the main feedstock for elaboration of dairy products, in the forms of breads, cakes and pastas. It is the presence of gluten proteins in the flour which makes it proper to the baking products development, for it is the gluten protein net which further its technologic characteristics. Some individuals have celiac disease, a pathology which prevents them of gluten consumption, being the dietetic treatment essentially, these individuals require removing those foods of their diets, making necessary the development of gluten free products and that can be fortified in order to enhance its nutritional value. In this way, this study aimed the development and the physic-chemical aspects, microbiologic and sensorial characterization of gluten free chocolate cake added *Spirulina platensis*, a cyanobacteria rich in nutrients. Four cake formulations were elaborated, B1, with gluten and no *Spirulina*, B2, gluten free and 5% *Spirulina*, B3 gluten free and 10% *Spirulina* and B4 gluten free and 15% *Spirulina*. Physic-chemical, microbiologic and sensorial characteristics were analyzed and it was observed that, as *Spirulina* concentration was increased also increased protein content, from 3, 19% to 13, 13%, influencing the texture that presented to be better in the higher quantity *Spirulina* sample. Microbiologic analysis proved that good manufacturing practices were respected and in the sensorial analysis was contested acceptance by the provers. In the face of the results, it was observed that *Spirulina* utilization can be promising in the gluten free chocolate cake elaboration.

**Keywords:** Cyanobacteria. Fortified food. Celiac disease.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Formulações dos quatro tipos de bolos de chocolate com diferentes concentrações de <i>Spirulina platensis</i> .....	30
<b>Tabela 2 -</b> Valores médios das análises físicas e físico-químicas realizadas com bolos de chocolate com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> .....	35
<b>Tabela 3 –</b> Resultados das análises microbiológicas de controle higiênico-sanitário realizadas com bolos de chocolate.....	42
<b>Tabela 4 –</b> Escores médios dos testes de aceitação sensorial e de intenção de compra realizados com bolos de chocolate com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> .....	43
<b>Tabela 5 -</b> Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=70) na análise sensorial de bolos com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> .....	49

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Delineamento experimental.....	30
<b>Figura 2</b> – Fluxograma de processamento dos bolos de chocolate sem glúten adicionados de <i>Spirulina</i> .....	32
<b>Figura 3</b> – Fotografia das quatro amostras de bolos de chocolate.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Aa</b>	Atividade de Água
<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>BPF</b>	Boas Práticas de Fabricação
<b>CCS</b>	Centro de Ciências da Saúde
<b>CEP</b>	Comitê de Ética e Pesquisa
<b>CES</b>	Centro de Educação e Saúde
<b>DC</b>	Doença Celíaca
<b>DNP</b>	Desenvolvimento de Novos Produtos
<b>DSG</b>	Dieta Sem Glúten
<b>FAO</b>	<i>Food And Agriculture Organization</i>
<b>FDA</b>	<i>Food And Drug Administration</i>
<b>GRAS</b>	<i>Generally Recognized As Safe</i>
<b>HLA</b>	Antígeno Leucocitário Humano
<b>IAL</b>	Instituto Adolfo Lutz
<b>IDR</b>	Ingestão Diária Recomendada
<b>LABROM</b>	Laboratório de Bromatologia
<b>LASA</b>	Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos
<b>LATED</b>	Laboratório de Técnica Dietética
<b>NMP</b>	Número Mais Provável
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria Colegiada
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>UFPB</b>	Universidade Federal da Paraíba
<b>UFMG</b>	Universidade Federal de Campina Grande

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>g</b>	Gramma
<b>Kcal</b>	Quilocaloria
<b>Kg</b>	Quilos
<b>mL</b>	Mililitro
<b>n°</b>	Número
<b>°C</b>	Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	18
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBEJTIVOS ESPECÍFICOS.....	18
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
3.1 O GLÚTEN.....	19
3.1.1 <b>Trigo + glúten</b> .....	20
3.2 DOENÇA CELÍACA.....	20
3.3 DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS ENRIQUECIDOS.....	23
3.4 MICROALGAS/CIANOBACTÉRIAS.....	25
3.4.1 <i>Spirulina platensis</i> .....	26
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA.....	29
4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	29
4.2.1 <b>Local de Execução</b> .....	29
4.2.2 <b>Amostra</b> .....	29
4.2.3 <b>Delineamento Experimental</b> .....	30
4.2.3 <b>Processamento</b> .....	31
4.3 ANÁLISES FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS.....	32
4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	32
4.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	33
4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	34
4.7 ASPECTOS ÉTICOS.....	34
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	35
5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	41
5.3 ANÁLISE SENSORIAL.....	43
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	50
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	52
<b>APÊNDICES</b> .....	64

APÊNDICE A – Formulário de Teste de Aceitação e Intenção de Compra.....	65
APÊNDICE B – Formulário de Teste de Ordenação-Preferência.....	66
APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	67



# 1 INTRODUÇÃO

O glúten é o principal complexo estrutural proteico do trigo com proteínas tóxicas equivalentes encontradas em outros cereais, incluindo centeio e cevada. As frações de proteína incluem gliadinas e gluteninas (SAPONE et al., 2012). Essa proteína representa perigo quando presente na alimentação de indivíduos com doença celíaca, pela ativação do sistema imune, desencadeando uma série de processos que acarretam em lesão da mucosa intestinal.

A doença celíaca (DC) é uma patologia autoimune que acomete pessoas predispostas geneticamente, o que torna estes indivíduos sensíveis à ingestão de glúten, que após ser ingerido causa ataque às vilosidades intestinais, que são responsáveis pela absorção de nutrientes. O tratamento da doença celíaca é fundamentalmente dietético. Consiste na exclusão do glúten (ARAUJO et al., 2010). Com a dieta sem glúten observa-se rapidamente uma diminuição da lesão da mucosa intestinal e da má absorção com melhora sintomática (SIQUEIRA NETO et al., 2004).

De uns anos para cá, o que vem mudando é o aumento da demanda de produtos sem glúten, contrastando com uma oferta pequena. A população celíaca busca por alimentos que atinjam suas expectativas e que sejam atrativos, saborosos e nutritivos. Os atributos sensoriais são levados em conta ao se elaborar estes tipos de produtos, pelo fato de o glúten ser um dos principais responsáveis pelas características, por exemplo, de massas, bolos e pães, cujos são feitos na maioria das vezes, com farinhas contendo glúten, como a farinha de trigo.

Diante disso, busca-se elaborar algum produto sem glúten que seja semelhante ao produto padrão, para auxiliar e tornar menos difícil a adesão à dieta, além de enriquecê-lo com nutrientes, o que pode ser importante em se tratando de déficits nutricionais.

Dentro desse contexto, observa-se uma grande relevância da utilização da microalga *Spirulina plantensis* no enriquecimento de alimentos. Madkour (2012) constatou que a biomassa de *Spirulina* cultivada em diferentes condições apresentou quantidades de proteína de 37,79-52,95%, 13,20-24,5% de carboidratos, e 5.64-15.39% de lipídios. Ela também contém vitaminas, a cianocobalamina está entre mais abundantes (de 2 a 6 vezes mais rico do que o fígado bovino cru), 70% de B1 (Tiamina), 50% de vitamina B2 (Riboflavina), 12% de B3 (Niacina) e também uma boa fonte de tocoferol

(vitamina E). O uso de cianobactérias como uma fonte não convencional de alimentos e proteína parece promissor (MISHRA et al. 2014).

Levando todos esses fatos em consideração, é questionado se ao utilizar *Spirulina plantensis* em bolo de chocolate sem glúten, serão obtidos resultados positivos no que diz respeito à qualidade nutricional e microbiológica, bem como a aceitação deste produto por parte da população em geral. Podendo assim ser comercializado, atendendo as exigências dos consumidores, principalmente as do público alvo, os indivíduos celíacos. Tais questionamentos são levantados por conta da ausência de produtos enriquecidos com *Spirulina* que sejam sem glúten, por ser uma cianobactéria que vem sendo muito utilizada em alimentos, faz-se necessária a elaboração de mais produtos adicionados da mesma, uma vez que esta é rica em nutrientes, além disso, conhecendo o obstáculo da oferta pequena que o público celíaco sofre, pode-se afirmar que a pesquisa em questão tem relevância social.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar os aspectos físico-químicos, sensoriais e microbiológicos de bolo de chocolate sem glúten enriquecido com *Spirulina platensis*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver formulações bolo de chocolate sem glúten adicionado de diferentes concentrações de *Spirulina*;
- Elaborar fluxograma de processamento aplicável à população geral;
- Avaliar as características físicas e físico-químicas;
- Efetuar análises microbiológicas dos produtos;
- Caracterizar o perfil sensorial dos produtos elaborados.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 O GLÚTEN

O glúten é uma proteína insolúvel em água, proveniente dos cereais da família Poaceae, subfamília Festucoideae, que são: trigo, cevada, centeio e aveia. No trigo, é chamada de gliadina; na cevada, hordeína; no centeio, secalina; e na aveia, avenina (HABOUBI; TAYLOR; JONES, 2006). O glúten é composto por duas frações protéicas: a gliadina e a glutenina. A gliadina apresenta um peso molecular médio de 40.000, cadeia simples e é extremamente gomosa quando hidratada, apresentando pouca ou nenhuma resistência à extensão, e sendo, portanto, responsável pela coesividade da massa. A glutenina é formada por várias cadeias ligadas entre si, apresentando um peso molecular médio que varia de 100.000 a vários milhões, é elástica, mas não coesiva e fornece à massa a propriedade de resistência à extensão (HOSENEY et al., 1990).

Tanto gluteninas, como gliadinas são resistentes à atividade proteolítica gastrointestinal devido ao alto teor de prolina (15%) e glutamina (35%) em suas composições. O peptídeo 33-mer  $\alpha$ -2-gliadina é considerado o mais bioreativo peptídeo do glúten, reconhecido por linfócitos T a partir de HLA DQ (antígeno leucocitário humano) (CIESUNSKI; KOTZE; UTIYAMA, 2016). Em indivíduos saudáveis, cerca de 98% da proteína da dieta são digeridos por proteases gastrointestinais em aminoácidos, dipeptídeos e tripeptídeos. No entanto, as proteínas de glúten não são eficientemente digeridas pelo sistema digestivo humano, e alguns peptídeos, produtos de digestão incompleta, permanecem à luz digestiva (ARANDA; ARAYA, 2016).

As antigas variedades do trigo possuíam menos gliadina, sendo estas mais toleradas por pessoas com transtornos relacionados à sua ingestão (VAQUERO et al., 2015). Possivelmente a introdução de grãos contendo glúten, que ocorreu há cerca de 10 mil anos com o advento da agricultura, representou um desafio evolutivo que criou as condições para doenças humanas relacionadas à exposição ao glúten, das quais as mais conhecidas são mediadas pelo sistema imunológico adaptativo: Alergia ao trigo e doença celíaca. Em ambas as condições, a reação ao glúten é mediada pela ativação das células T na mucosa gastrointestinal (SAPONE, 2011).

### 3.1.1 Trigo + glúten

Os cereais possuem papel fundamental na alimentação humana, a âmbito de saúde, como fonte de nutrientes e fibras e, tecnologicamente, devido às variadas formas que podem ser utilizadas para o consumo humano. O trigo ocupa o primeiro lugar em volume de produção mundial, sendo aplicado a uma enorme diversidade de produtos. O trigo é matéria-prima para a elaboração de alimentos consumidos diariamente, como hábito alimentar, na forma de pães, biscoitos, bolos e massas (SCHEUER, 2011). O trigo é um dos grãos mais importantes do mundo, especialmente para alimentos, e uma variedade de farinha e produtos de trigo são consumidos em todo o mundo (TANABE, 2008). A Gliadina e glutenina compreendem cerca de 80% da proteína contida no trigo (EL-CHAMMAS; DANNER, 2011). As proteínas formadoras do glúten apresentam diferenças estruturais que interferem na função que as frações protéicas desempenham na massa obtida com a farinha de trigo (NASCIMENTO, 2008).

É a presença das proteínas do glúten na farinha de trigo que a torna apropriada à elaboração de produtos panificáveis levedados, pois é a rede proteica do glúten a responsável pela retenção de dióxido de carbono produzido durante o processo de fermentação, e de assamento nas massas levedadas, por isso, entender as propriedades mecânicas do glúten do trigo é entender o comportamento do processamento dos produtos elaborados com trigo (SCHEUER, 2011).

### 3.2 DOENÇA CELÍACA

A primeira alusão à doença celíaca remonta ao ano de 200 da era cristã, mas foi só em 1888 que Samuel Gee a descreveu nos termos atuais (NOBRE; SILVA; CABRAL, 2007). As principais características encontradas foram indigestão crônica especialmente em crianças entre 1 e 5 anos, porém, pessoas de todas as idades foram acometidas (AURICCHIO; TRONCONE, 1996). A DC é uma enteropatia caracterizada pela permanente intolerância do sistema imune ao glúten presente no trigo, centeio, cevada e aveia, podendo causar grande variedade de manifestações intra e extraintestinais. A doença acomete pessoas com pré-disposição genética e ambiental (KAGNOFF, 2005), nem todos os indivíduos com genética de risco que ingerem glúten desencadeiam a enfermidade. Por esta razão pode ser que outros fatores ambientais, além do glúten

estejam envolvidos no desencadeamento e aparição da DC. A introdução de alimentos que contém glúten antes dos 6 meses provoca um aumento da incidência da doença (VAQUERO et al., 2015).

A doença manifesta-se com má absorção de nutrientes, diarreia crônica, perda de peso e distensão abdominal. Outras manifestações incluem deficiência de ferro com ou sem anemia, dor abdominal recorrente, estomatite aftosa, baixa estatura, níveis elevados de aminotransferase, fadiga crônica (HATANAKA et al., 2015), e se caracteriza pela presença de uma combinação altamente variável de manifestações clínicas, presença de anticorpos específicos no sangue, principalmente anti-endomísio, anti-transglutaminase peptídeos anti-gliadina desamidados, e também dano variável da mucosa intestinal (HUSBY et al., 2012). Os anticorpos utilizados como marcadores serológicos para a DC tem uma sensibilidade relativamente alta e especificidade, e na maioria dos casos, uma biópsia do intestino delgado, revelando uma enteropatia é necessária para confirmar o diagnóstico de atrofia das vilosidades (GIERSIEN et al., 2012).

Uma cadeia de eventos, tanto no nível de resposta inata como adaptativa, vai culminar na lesão de mucosa intestinal característica da DC. A resposta inicial à presença de peptídeos na região subepitelial da mucosa é a elevada expressão de IL-15, responsável pela estimulação direta dos linfócitos intraepiteliais (CIESUNSKI, KOTZE, UTIYAMA, 2016).

Embora as principais células envolvidas na resposta imune adquirida sejam os linfócitos, as células apresentadoras de antígenos desempenham papel fundamental em sua ativação, apresentando peptídeos antígenos a moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC, major histocompatibility complex), glicoproteína existente em quase todos os vertebrados, localizada na superfície da membrana celular, recebendo a designação de antígeno leucocitário humano (HLA) nos seres humanos, onde será formado um complexo peptídeo-MHC, permitindo o reconhecimento do antígeno pelos linfócitos T, que irão diferenciar-se de acordo com o antígeno inicialmente associado à molécula de MHC (MAGALHÃES; BOGLKE; NEUBARTH, 2004). Os principais fatores de risco genético associados a DC são HLA de classe II Q2 e DQ8 (ONTIVEROS; HARDY; CABRERA-CHAVEZ., 2015). O glúten interage com os marcadores HLA, causando uma resposta imune anormal da mucosa e lesão tecidual (SILVA; FURLANETTO, 2010).

Atualmente, os estudos na busca de novos tratamentos para a DC iniciam-se na modificação dos grãos de trigo antes da sua incorporação em alimentos, e passam ainda

por todos os potenciais alvos da rota patogênica da doença, alcançando inclusive a atividade das células do sistema imune (SOLLID; KHOSLA, 2011). Até o momento, a dieta isenta de glúten permanece como única terapia efetiva disponível para a doença celíaca, embora resultados promissores tenham sido obtidos em vários experimentos. A dieta sem glúten permite uma restauração completa da mucosa intestinal na maioria dos casos, mas suas desvantagens como o alto custo dos alimentos para esta dieta, a curta vida de prateleira e as propriedades sensoriais inferiores têm grande impacto na vida dos pacientes, e continuam com baixa perspectiva de resolução (CIESUNSKI; KOTZE; UTIYAMA, 2016).

Os princípios do tratamento da DC não mudaram substancialmente desde os estudos pioneiros de Dicke e colaboradores, que se iniciaram na década de 30 e que permanecem até o presente momento. Dicke pode ser considerado o pioneiro da dieta sem glúten no tratamento da DC. Em 1934-36 iniciou experimentos com dieta sem trigo, publicando, em 1941, *A simple diet for Gee-Herter's syndrome*. Neste artigo comenta que, embora a literatura recomendasse a dieta de Haas à base de banana, e a dieta de Fanconi à base de frutas e vegetais, para o tratamento da DC, naquele momento em que acontecia a Segunda Guerra Mundial, estes alimentos não eram facilmente encontrados. Por este motivo, esse autor utilizou uma dieta simples que consistia na exclusão de pão e biscoitos, observando vantagens desta dieta naquele período de racionamento (SDEPANIAN MORAIS; FAGUNDES NETO, 1999).

No final da Segunda Guerra Mundial, quando os aviões suecos trouxeram pão para a Holanda, as crianças com DC voltaram a apresentar sintomas, o que o convenceu do papel do trigo na gênese da mesma. Em 1950 escreveu seu trabalho de tese, um estudo meticuloso que se iniciou em 1936 e que durou vários anos, onde relatou o caso de uma paciente que, quando hospitalizada, recebendo dieta estritamente isenta de glúten, apresentou desaparecimento dos sintomas, com ganho de peso e estatura. Entretanto, após alta hospitalar, como não conseguia manter a dieta sem glúten, observou-se declínio na curva de crescimento. Durante quatro admissões hospitalares foi verificado restabelecimento da velocidade de crescimento. Desta forma Dicke concluiu que, se certos tipos de cereais como o trigo e o centeio, fossem substituídos na dieta diária, a paciente apresentava evolução satisfatória e os episódios de diarreia desapareciam; porém, após um período de latência variável, posterior à reintrodução do glúten, havia reaparecimento dos episódios de diarreia e deterioração do estado geral do paciente (SDEPANIAN MORAIS; FAGUNDES NETO, 1999).

Nos últimos 60 anos, uma dieta sem glúten (DSG) provou ser eficaz no tratamento dos sintomas gastrointestinais como a diarreia, na resolução das deficiências nutricionais (de ferro e folato, por exemplo) e na normalização do crescimento e desenvolvimento. Demonstrou também ser segura e capaz de prevenir potenciais complicações da doença, incluindo o desenvolvimento de doenças autoimunes, osteoporose, infertilidade e linfoma intestinal (ZIMMER, 2011). As deficiências nutricionais são comuns nos doentes celíacos e uma DSG pode revelar-se pobre em fibras, ferro, folato, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina e vitamina B12) e vitamina D (FRIC; GABROVSKA; NEVORAL, 2011).

Além disso, o cumprimento rigoroso da dieta torna-se difícil por vários motivos: 1- uma DSG possui baixo paladar; 2- pode ocorrer contaminação com glúten durante a preparação e processamento dos alimentos; 3 – os produtos “sem glúten” são geralmente mais caros e não estão amplamente disponíveis; 4- diversos produtos comerciais “sem glúten” contêm de facto alguma quantidade de glúten; 5- apesar de ser aceite que a contaminação dos produtos “sem glúten” não pode ser totalmente evitada, não existe consenso sobre a quantidade de glúten que deve ser permitida nestes alimentos (LERNER, 2010).

Cabe ao nutricionista formular regimes alimentares nutricionalmente equilibrados, adequar os suplementos vitamínicos e minerais à dieta, avaliar os fatores que afetam a qualidade de vida do paciente e a adesão à dieta, incentivar a realização de atividade física e proporcionar outras fontes de informação e/ou recursos sobre a doença celíaca (ADA, 2009).

### 3.3 DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS ENRIQUECIDOS

O desenvolvimento de novos produtos (DNP) é uma atividade fundamental para a indústria global de alimentos, com todos os mercados em mutação significativa em curto período de tempo, por exemplo, novos produtos aparecendo, os produtos que tenham atingido o fim do seu ciclo de vida são retirados, produtos já existentes sofrem muitas modificações passando do seu processamento, formulação, ou embalagem, mesmo que não aparente para os consumidores. Mais comumente, as empresas de alimentos são movidas a mudar por exigências dos consumidores e as tendências do mercado. A demanda dos consumidores por produtos alimentícios é complexa, sensível a muitos fatores externos e mudanças de curto e longo prazo, às vezes imprevisível. Tais mudanças



na demanda do consumidor exigem respostas das empresas de alimentos, através de seus especialistas em marketing, para oportunidades de novos produtos alimentícios, que devem ser entregues seguidas pelas capacidades científicas e tecnológicas da empresa (ARENDDT; DAL BELLO, 2011).

O desenvolvimento de produtos sem glúten é uma categoria especializada de DNP, que difere em alguns aspectos-chave das atividades de DNP mais amplas em outro produto alimentar, muitos produtos no mercado são vistos pelos consumidores como sendo de inferior qualidade (especialmente sensorial), comparados com os seus tradicionais (ou seja, não sem glúten) (ARENDDT; DAL BELLO, 2011).

Pacientes com doença celíaca são incapazes de consumir alguns dos mais comuns produtos no mercado hoje, ou seja, pães, bolos, biscoitos e outros produtos alimentares feitos com farinha de trigo (LOVIS, 2003). Devido ao fato de que os produtos sem glúten geralmente não são enriquecidos / fortificados e frequentemente são feitos de farinha refinada ou amido, eles podem não conter os mesmos níveis de nutrientes que contêm os produtos com glúten em contrapartidas se destinam a substituir. Portanto, a incerteza ainda existe quanto ao fato de pacientes com doença celíaca que vivem em uma dieta livre de glúten estejam assegurados de uma dieta nutricionalmente equilibrada (GALLAGHER; GORMELEY; ARENDDT, 2004). A dieta baseada em produtos sem glúten é muitas vezes caracterizada por um baixo teor de alguns componentes nutricionais, como proteínas e componentes minerais, bem como componentes não nutricionais, mas fisiologicamente importantes, como fibra dietética (WRONKOWSKA et al., 2008).

Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), alimentos enriquecidos, fortificados e com vitaminas agregadas são termos semelhantes que podem ser utilizados como alternativa para a adição de uma ou mais vitaminas, minerais ou proteínas ao alimento. 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. Após este processo, o alimento é dito fortificado/enriquecido, ou simplesmente adicionado de nutrientes, conforme o teor de nutrientes acrescido (VELOZZO; FISBERG, 2010).

Logo, deve ficar claro que alimento fortificado/enriquecido é diferente de alimento adicionado. O alimento pronto para consumo em 100 mL ou 100 g deve fornecer, em relação à IDR (Ingestão Diária Recomendada), de referência: mínimo de 15% para alimentos líquidos e 30% no caso de alimentos sólidos, é considerado fortificado/enriquecido e podendo ser declarado no rótulo o dizer: "alto teor" ou "rico" (conforme o Regulamento Técnico de Informação Nutricional Complementar) (VELOZZO; FISBERG, 2010).

### 3.4 MICROALGAS/CIANOACTÉRIAS

Muitos estudos têm sido desenvolvidos para obtenção de proteínas por meio de microrganismos com propósito alimentício. Várias espécies de microalgas são cultivadas comercialmente em alguns países e a biomassa produzida tem sido utilizada como fonte de produtos para aplicação na indústria de alimentos (DERNER et al., 2006).

Microalgas são algas microscópicas cujas células possuem uma composição bioquímica variada (carboidrato, proteína, lipídios, ácidos graxos) e essa composição depende da natureza de cada espécie e também de fatores ambientais relacionados à região onde o cultivo está sendo realizado e ao meio de cultura utilizado (ZAMALLOA et al., 2011). As microalgas comestíveis são as algas verdes (*Chlorophyta*) e as cianobactérias. As microalgas contêm substâncias de elevado valor biológico, ácidos graxos, tais como: gorduras poliinsaturadas, proteínas, aminoácidos, antioxidantes, pigmentos, vitaminas e minerais. Elas são fontes promissoras para novos produtos e aplicações e podem ser usadas na dieta de seres humanos e animais como alimentos naturais com benefícios à saúde. Além disso, pode-se encontrar utilização na proteção do meio ambiente, bem como em produtos farmacêuticos, cosméticos e de produção de biocombustíveis (CHRISTAKI; FLOROU-PANERI; BONOS, 2011).

As microalgas *Chlorella* spp., *Dunaliella* spp., *Scenedesmus* spp., e a cianobactéria *Spirulina* spp., e *Aphanizomenon flos-aquae*, estão sendo usados como alimentos ricos em nutrientes e fontes de produtos químicos finos. Eles têm quantidades significativas de lipídios, proteínas, clorofila, carotenóides, vitaminas, minerais e pigmentos exclusivos. Eles também podem ter compostos probióticos potentes que melhoram a saúde (KAY; BARTON, 1991).

Muitos estudos têm sido desenvolvidos para obtenção de proteínas por meio de microrganismos com propósito alimentício. Várias espécies de microalgas são cultivadas

comercialmente em alguns países e a biomassa produzida tem sido utilizada como fonte de produtos para aplicação na indústria de alimentos (DERNER et al., 2006). Atualmente, há um cultivo em sistemas de grande escala das cianobactérias, representando fontes economicamente viáveis de proteínas nos alimentos, pois muitas vezes eles cumprem os requisitos deste nutriente na dieta e, além disso, através deles, pode-se obter outros produtos para consumo humano (ZEPKA et al., 2010).

Cianobactérias (algas verde-azuladas) são procariontes fotossintéticos utilizados como alimento por seres humanos. Elas também foram reconhecidas como uma excelente fonte de vitaminas e proteínas e são encontrados como tais em lojas de alimentos saudáveis em todo o mundo (SINGH; KATE; BANERJEE, 2005). Seu uso como um suplemento alimentar é devido à riqueza de nutrientes e digestibilidade, mais de 50% da cianobactérias marinhas são potencialmente utilizáveis para extrair substâncias bioativas (RAJA et al., 2016).

As microalgas são conhecidos há séculos, mas a sua produção em larga escala comercial começou há algumas décadas. Eles podem ser cultivadas em sistemas de cultura aberta: como lagos ou sistemas altamente controlados de cultura fechada, têm maior produtividade do que as culturas tradicionais e podem ser cultivadas em condições e regiões climáticas onde outras culturas não podem ser cultivadas, como o deserto e as áreas costeiras (CHRISTAKI; FLOROU-PANERI; BONOS, 2011).

#### 3.4.1 *Spirulina platensis*

O gênero bacteriano *Spirulina* é uma *Cyanobacterium* (CASTENHOLZ et al., 2001). Anteriormente *Cyanobacterium* era classificada como *Cyanophyta* ou grupo das algas verde-azuladas (TORTORA, 2007).

Esta cianobactéria pode ser cultivada, processada, e utilizada para fins alimentícios devido a sua composição. Algumas de suas propriedades que merecem destaque são: (a) um curto ciclo de vida; (b) uma alta taxa de crescimento específico; (c) boa eficiência na conversão de energia; (d) alto rendimento em proteínas de boa qualidade; e (e) substanciais quantidades de vitaminas, carotenoides e minerais que podem ser isolados. Ela possui filamentos arranjados na forma de uma espiral alongada, o que, normalmente, facilita sua “colheita” e filtração com grades. Devido a estes fatores torna-se viável a sua produção e comercialização. Os principais fatores que afetam o crescimento da biomassa de *Spirulina* são nutrientes, pH, efeito da temperatura, efeito da

distribuição e intensidade luminosa e o efeito da agitação. Quando os nutrientes, o pH e a temperatura não estão limitando o crescimento da biomassa, o efeito da intensidade/distribuição luminosa torna-se o fator dominante (SERENOTTI; CRESPI; TORRES, 2004).

As espécies *Arthrospira maxima* e *Arthrospira platensis*, que são cultivadas em nível industrial em diversas regiões do mundo, são freqüentemente referidas como *Spirulina maxima* e *Spirulina platensis*, e a biomassa destas cianobactérias é comercializada com a denominação de 'spirulina'. Esta denominação é ainda uma influência do tratado taxonômico publicado por Geitler em 1932, que propôs que todas as espécies da ordem *Oscillatoriales* que formam filamentos helicoidais fossem incluídas no gênero *Spirulina* (ARAÚJO; FACCHINETTI; SANTOS, 2003).

O gênero *Spirulina* é cultivado em grandes lagoas ao ar livre em vários países (MISHRA, 2014). O cultivo de *S. platensis* no sul do Brasil representa uma opção atraente para o desenvolvimento de suplementação nutricional, devido o elevado teor de proteínas e sais minerais, especialmente o ferro, presente na biomassa celular (MOREIRA et al., 2013). Do ponto de vista técnico, o Brasil apresenta as condições ideais para o cultivo de microalgas. Alta taxa de incidência solar, temperaturas médias acima dos 20 °C. Essas condições colocam o Brasil em uma posição bastante favorável, para o cultivo de microalgas (AZEREDO, 2012).

*Spirulina* é uma microalga certificada pelo FDA como GRAS (*Generally Recognized As Safe*), podendo ser utilizada como alimento ou fármaco sem oferecer riscos à saúde. As microalgas têm sido estudadas nos EUA, Japão, Índia e França para produção de alimentos no combate a desnutrição. No sul do Brasil, as margens da Lagoa Mangueira, um projeto piloto produz 50 kg/mês de *Spirulina* para enriquecimento de alimentos, distribuídos na merenda de crianças da região (MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2009)

Existem diversos usos da *Spirulina* ao redor do mundo: os comprimidos desta microalga são ingeridos em diversos países para tratamento de uma variedade de enfermidades. Em mais de 40 países, pessoas já estão familiarizadas com as pílulas, o pó e as cápsulas (HENRIKSON, 2009).

A *Spirulina* apresenta vitaminas A e C, importantes antioxidantes naturais, e ácido fólico (B9), o qual é necessário para a formação de células e bom funcionamento de alguns órgãos. Esta microalga destaca-se, sobretudo, pelo seu conteúdo de vitamina B12, difícil de encontrar em dietas vegetarianas, bem como pela presença dos minerais: zinco, magnésio, cromo, selênio e ferro em sua biomassa (BECKER, 2004). Além disso, o

gênero *Spirulina* contém dez vezes mais  $\beta$ -caroteno que qualquer outro alimento, incluindo cenouras (MOHAMMED; MOHD, 2011).

*S. platensis* é uma cianobactéria com a seguinte composição química: proteínas (50-70%), hidratos de carbono (15-25%), lipídios (6-8%), cinzas (7-13%), fibras (8-10%) e teor de umidade (3-7%). Madkour et al. (2012) constataram que a biomassa de *Spirulina* cultivada em diferentes condições de cultura consistiu de 37,79-52,95% de proteína, 13,20-24,5% de carboidratos e 5,64-15,39% de lipídios. *Spirulina* é valorizada pela variedade de nutrientes que contém, alguns dos quais não são sintetizados pelo corpo humano. Devido à sua riqueza de micro e macro nutrientes, é um alimento completo tanto qualitativamente, quanto quantitativamente se consumido em quantidades adequadas (MOREIRA et al., 2013). *Spirulina platensis* (SP) é bem reconhecida pela abundância em seus ácidos graxos insaturados, especialmente ácido  $\gamma$ -linolénico (WANG et al., 2015).

O conteúdo proteico da *Spirulina* atinge 60-70% do seu peso seco. Estas proteínas apresentam excelente qualidade com um índice balanceado de aminoácidos essenciais. As proteínas presentes possuem digestibilidade de 70%. Entre os aminoácidos não essenciais presentes na *Spirulina* estão: alanina, arginina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico, glicina, histidina, prolina, serina e tirosina. Entre os aminoácidos essenciais, estão a isoleucina, a leucina, a lisina, a metionina, a fenilalanina, a treonina e a valina. A fim de suprir as necessidades diárias de aminoácidos essenciais requeridas por um adulto saudável, seria necessário o consumo de 25 g/dia de *Spirulina* spp. (BELAY et al., 1993; HENRIKSON, 1995). Esta quantidade de *Spirulina* seria muito elevada para o consumo em cápsulas ou para a adição em produtos alimentícios sem alterações perceptíveis de sabor, devendo-se considerar, portanto, as demais fontes de aminoácidos essenciais, principalmente as oriundas de produtos cárneos e laticínios, consumidas por um adulto (AMBROSI et al., 2008).

Nesse contexto, a microalga *Spirulina platensis*, por ser bastante rica em nutrientes, surge como fonte alternativa viável de enriquecimento/fortificação no desenvolvimento de novos produtos sem glúten. Além de contribuir para que indivíduos celíacos possam eventualmente consumir alimentos que lhes foram proibidos, nesse caso um bolo de chocolate, cuja formulação padrão leva farinha de trigo, também poderão usufruir de nutrientes nele adicionados, como por exemplo, a proteína. Dessa forma, um estudo onde serão avaliados aspectos físico-químicos, sensoriais e microbiológicos, mostra-se relevante como forma de tornar a DSG mais fácil, saborosa, nutritiva.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa de laboratório de caráter experimental, descritiva, e explicativa que visa elaborar e analisar aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais de bolo de chocolate sem glúten enriquecido com *Spirulina platensis* elaborado com farinha de arroz e a partir das análises busca-se refutar ou confirmar as principais hipóteses levantadas. A pesquisa experimental caracteriza-se por manipular diretamente as variáveis relacionadas com o objeto do estudo. Nesse tipo de pesquisa, a manipulação das variáveis proporciona o estudo da relação entre as causas e os efeitos de determinado fenômeno. Uma pesquisa é descritiva quando o pesquisador apenas registra e descreve os fatos observados sem interferir neles e uma pesquisa explicativa é quando o pesquisador procura explicar os porquês das coisas e suas causas, por meio do registro, da análise, da classificação e da interpretação de fenômenos observados (PRODANOV; FREITAS, 2013).

### 4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

#### 4.2.1 Local de Execução

As análises foram realizadas no Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *campus* Cuité, PB. A elaboração do bolo de chocolate sem glúten enriquecido com *Spirulina platensis* foi executada no Laboratório de Técnica Dietética (LATED/CES/UFCG). As análises físico-químicas do produto foram conduzidas no Laboratório de Bromatologia (LABROM/CES/UFCG), as sensoriais no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos (LASA/CES/UFCG) e as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos (CCS/UFPB).

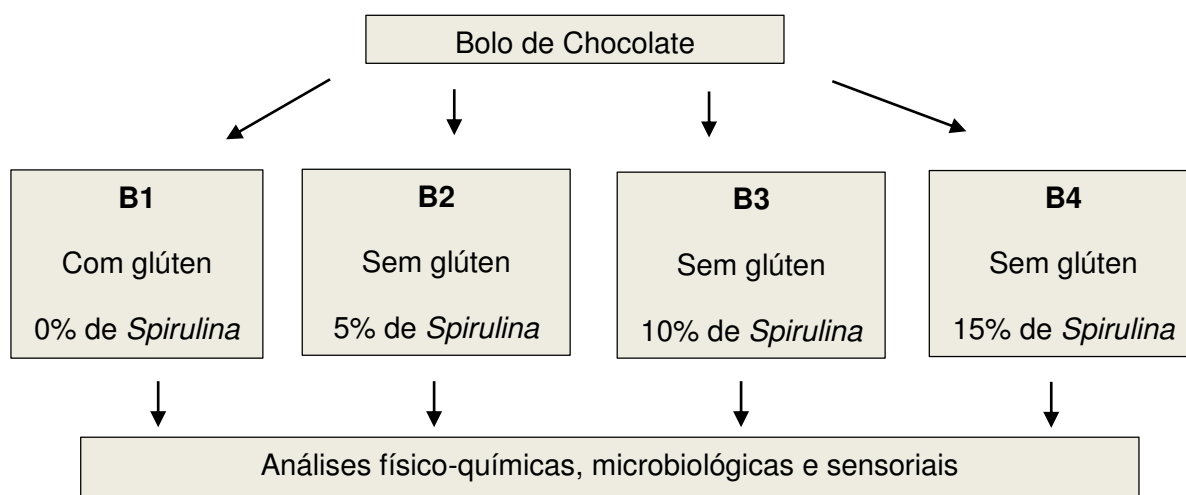
#### 4.2.2 Amostra

A biomassa de *Spirulina platensis* utilizada no procedimento foi disponibilizada pela Fazenda Tamanduá (Santa Terezinha, Paraíba, Brasil). Os demais ingredientes

necessários para elaboração do bolo de chocolate foram obtidos em redes de supermercados e lojas especializadas da cidade de Cuité-PB.

#### 4.2.3 Delineamento Experimental

**Figura 1** – Delineamento experimental.



Foram processadas quatro formulações de bolos de chocolate, a citar: B1 (bolo controle/padrão, com glúten e sem adição de *Spirulina*), B2 (bolo sem glúten adicionado de 5% de *Spirulina*), B3 (bolo sem glúten adicionado de 10% de *Spirulina*) e B4 (bolo sem glúten adicionado de 15% de *Spirulina*) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Formulações dos quatro tipos de bolos de chocolate.

Ingredientes	Formulações			
	B1 (0%)	B2 (5%)	B3 (10%)	B4 (15%)
<b>Farinha de Trigo</b>	100g	-----	-----	-----
<b>Farinha de Arroz</b>	-----	95g	90g	85g
<b>Açúcar Cristal</b>	100g	100g	100g	100g
<b>Margarina</b>	100g	100g	100g	100g
<b>Leite Integral</b>	100ml	100ml	100ml	100ml
<b>Ovos médios</b>	2 un	2 un	2 un	2 un
<b>Achocolatado</b>	36g	36g	36g	36g
<b>Cacau em pó</b>	6g	6g	6g	6g
<b>Fermento químico em pó</b>	16g	16g	16g	16g
<i>Spirulina</i>	-----	5g	10g	15g
<b>Sal</b>	3g	3g	3g	3g

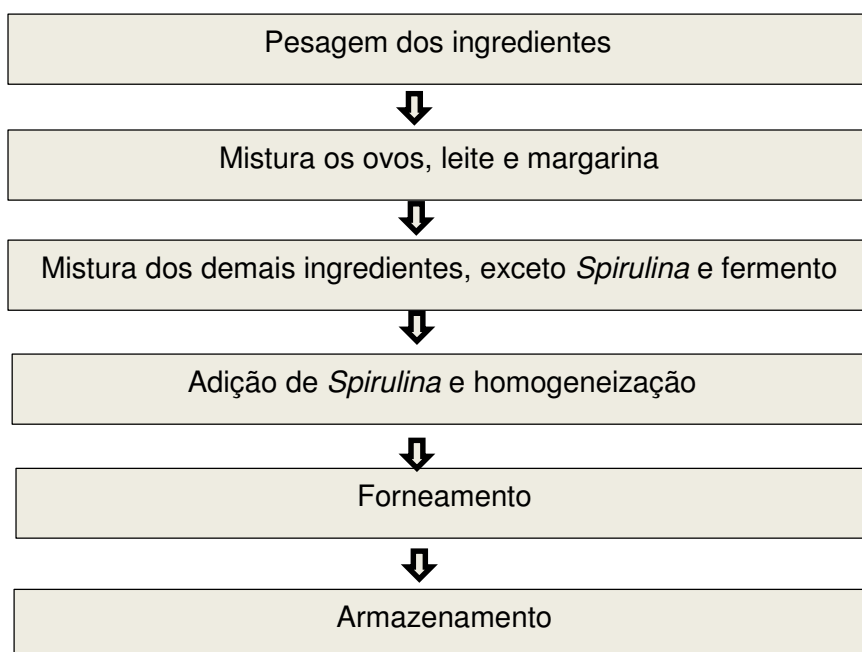
Para o cálculo dos percentuais de *Spirulina*, levou-se em consideração a quantidade de farinha de trigo utilizada na amostra controle, as 100g de farinha de trigo/farinha de arroz representam os 100%, sendo assim, quanto maior a quantidade da alga, menor a quantidade de farinha.

#### 4.2.3 Processamento

O processamento ocorreu no LATED/CES/UFCG. Inicialmente, foi realizada a pesagem de todos ingredientes e a higienização dos equipamentos, móveis e utensílios para minimizar riscos de contaminação. Para a elaboração dos bolos com *Spirulina*, utilizou-se uma batedeira para misturar os ovos, o leite e a margarina até a obtenção de um líquido, após isso, foram adicionados os demais ingredientes, farinha de arroz, açúcar cristal, cacau em pó, achocolatado, *Spirulina* em pó e sal, com exceção do fermento. Após a mistura e a formação de uma massa homogênea, o fermento foi adicionado e a massa foi submetida novamente a uma homogeneização rápida. A massa foi conduzida ao forneamento em forno médio (180°C) pré-aquecido e então o bolo foi assado por 45 minutos. Esse processo ocorreu da mesma forma com as amostras B2, B3 e B4, diferindo apenas nas concentrações de farinha de arroz e *Spirulina*. Para a amostra B1, cuja característica é de ser um bolo de chocolate tradicional e portanto, com glúten, a elaboração aconteceu da mesma maneira, porém, utilizou-se 100g de farinha de trigo ao invés de farinha de arroz e não houve acréscimo de *Spirulina*. Ao final do preparo de todas as amostras, houve o resfriamento em temperatura ambiente sob condições controladas, os bolos destinados à análise sensorial permaneceram sob as mesmas temperaturas, vedados com papel alumínio e as amostras destinadas as análises físico-químicas e microbiológicas, foram envasadas em potes plásticos esterilizados e mantidos sob refrigeração ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .), até o dia das análises (Figura 2).



**Figura 2** – Fluxograma de processamento dos bolos de chocolate sem glúten adicionados de *Spirulina*.



#### 4.3 ANÁLISES FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

Os bolos foram submetidos às análises físico-químicas em duplicata por meio da metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005) e Folch, Less e Sloane-Stanley (1957). Foram realizadas as seguintes análises: a umidade e extrato seco total por secagem em estufa estabilizada a 105 °C até obtenção de peso constante (métodos IAL, 012 IV); o teor de cinzas foi quantificado por carbonização seguida de incineração em forno mufla estabilizado a 550 °C (método IAL, 018 IV); a determinação de gordura foi realizada pelo método de Folch, Less e Stanley (1957); para proteína foi utilizado o método Micro-Kjedahl, com fator 6,38 multiplicado pela porcentagem de nitrogênio (método IAL, 467 IV) e para carboidratos foi efetuado o cálculo por diferença entre 100g do alimento e a somatória dos valores encontrados para umidade, cinzas, lipídios e proteínas.

#### 4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises para avaliação da qualidade microbiológica dos bolos de chocolate foram realizadas para analisar os seguintes micro-organismos: enumeração dos

coliformes totais e fecais, contagem em placas de bolores e leveduras. *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus*, *Clostridium* sulfato redutor a 46°C ou *Clostridium perfringens* e a pesquisa de *Salmonella* sp, segundo o Manual de Análise Bacteriológica da FDA, editado pela Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOACH).

#### 4.5 ANÁLISE SENSORIAL

As quatro formulações dos bolos foram analisados sensorialmente no LASA/CES/UFCG, por meio do teste de aceitação, intenção de compra e ordenação de preferência entre as amostras, para tanto, utilizou-se um número de 70 provadores não treinados, sendo estes, alunos da instituição com idade entre 17 e 26 anos, de ambos os sexos, que foram recrutados pelo campus conforme interesse e disponibilidade em participar da pesquisa, participaram aqueles indivíduos que não possuíam nenhuma deficiência física que pudesse interferir na análise, além de serem indivíduos saudáveis que não possuíam nenhuma condição patológica (doenças crônicas, alergias aos ingredientes da formulação) que impedisse o consumo dos produtos.

Antes de iniciar com as análises, os provadores foram instruídos a preencher um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice C), para maior confiabilidade da pesquisa e autorização da divulgação dos resultados, além disso, houve uma explicação breve de como deveriam preencher os formulários dos testes. Os testes de aceitação foram realizados utilizando-se uma escala hedônica de nove parâmetros (Apêndice A), com notas que variaram entre 9 (gostei muitíssimo) e 1 (desgostei muitíssimo), na qual avaliava-se os atributos sensoriais referentes a aparência, cor, aroma, sabor, textura e avaliação global.

Para o teste de intenção de compra (Apêndice A), foi utilizada uma escala com cinco parâmetros, onde as notas foram distribuídas entre 5 (compraria) e 1 (jamais compraria). A preferência entre as amostras foi julgada a partir do teste de ordenação (Apêndice B), na qual, os provadores pontuaram com notas entre 1 (amostra mais preferida) e 4 (amostra menos preferida), em uma escala decrescente de preferência geral. Para facilitar a interpretação dos resultados, os provadores ainda foram instruídos a relatarem qual característica eles mais apreciaram na amostra com a maior nota e qual característica eles menos apreciaram na amostra com menor nota. A avaliação da escala hedônica é convertida em escores numéricos e analisada estatisticamente, para determinar a diferença no grau de preferência entre amostras (ABNT, 1998).

As amostras foram padronizadas com o mesmo tamanho e posicionadas de forma aleatória em bandejas, após terem sido codificados com números de 3 dígitos. Nas bandejas, também estavam dispostos um copo com água e uma bolacha água e sal para serem ingeridos no intervalo entre uma amostra e outra, com o intuito de eliminar qualquer sabor residual que pudesse permanecer na boca. Para realização dos testes, foram obedecidos os critérios estabelecidos por Ferreira (2000), ele cita que o laboratório de análise sensorial deve conter: cabines individuais para aplicação dos testes deve ser limpo, livre de ruídos e odores e apresentar área com boa ventilação e iluminação.

#### 4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados das análises foram submetidos à análise de variância (ANOVA), realizando-se teste realizando-se teste de média de *Turkey* ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ). Para o cálculo dos dados, foi utilizado o programa – Sigma Stat 3.5 (*SigmaStat*, 2009).

#### 4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido à Plataforma Brasil para posteriormente ser analisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP), uma vez que foram realizadas análises sensoriais com seres humanos. Para isso, fez-se necessário um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice C), com o intuito de obter o consentimento dos provadores em participar desta etapa da pesquisa.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISES FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados das análises físicas e físico-químicas estão expressos na Tabela 2.

**Tabela 2** - Valores médios das análises físicas e físico-químicas realizadas com bolos de chocolate com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Variável (%)	BOLOS			
	B1	B2	B3	B4
Ph	7,76 ±0,00 <sup>c</sup>	8,13 ±0,04 <sup>a</sup>	7,67 ±0,04 <sup>c</sup>	7,89 ±0,01 <sup>b</sup>
Acidez Normal	1,04 ±0,02 <sup>b</sup>	0,99 ±0,01 <sup>a</sup>	0,99 ±0,01 <sup>a</sup>	1,05 ±0,01 <sup>b</sup>
Aw	0,90 ±0,06	0,90 ±0,01	0,903 ±0,06	0,909 ±0,01
Umidade	32,00 ±1,35	33,60 ±0,78	34,67 ±0,10	34,25 ±0,07
Cinzas	2,33 ±0,13 <sup>b</sup>	2,51 ±0,04 <sup>cb</sup>	2,74 ±0,01 <sup>ac</sup>	2,84 ±0,02 <sup>a</sup>
Proteínas	3,19 ±0,01 <sup>d</sup>	7,19 ±0,04 <sup>c</sup>	8,25 ±0,16 <sup>b</sup>	10,13 ±0,04 <sup>a</sup>
Lipídios	11,94 ±0,76	11,65 ±0,05	12,75 ±0,35	13,19 ±0,90
Carboidratos	50,54 ±0,45 <sup>a</sup>	45,06 ±0,72 <sup>b</sup>	41,60 ±0,28 <sup>c</sup>	39,59 ±0,89 <sup>c</sup>
Calorias (Kcal/100 g)	322,39 ±8,67	313,86 ±3,54	314,13 ±1,36	317,62 ±4,71

Médias ± desvio-padrão com letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

\*Extrato Seco Total

B1 – Bolo com 0% de *Spirulina*; B2– Bolo com 5% de *Spirulina*; B3 – Bolo com 10% de *Spirulina* e B4 – Bolo com 15% de *Spirulina*.

A qualidade dos bolos é determinada por características essenciais, como: textura macia, que deve permanecer inalterada ao longo da vida de prateleira do produto, superfície uniforme, homogeneidade do miolo, volume adequado, palatabilidade, sabor agradável e facilidade de processamento. Estes atributos estão diretamente relacionados à qualidade dos ingredientes e seu balanceamento, ao tipo de processamento (PAVANELLI; CICHELO; PALMA, 2000). A perda de umidade resulta em alterações indesejáveis na textura, enquanto que o ganho de umidade pode ocasionar o desenvolvimento microbiano (POTTER,;HOTCHKISS, 1998).

Em bolos industrializados, a umidade situa-se em valores próximos a 30%, a perda e o ganho de umidade vão ocorrer continuamente, de uma região para outra, como forma

de equilíbrio dinâmico entre os componentes e o meio (LABUZA et al., 1998). Esses valores se correlacionam com os valores de umidade encontrados nessa pesquisa (32-34,67%), porém, estão acima dos valores preconizados pela legislação vigente, de acordo com a RDC nº 263 de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o valor máximo de umidade em produtos de panificação é de 15% (BRASIL, 2005).

Segundo Esteller, Zancanaro e Lannes (2006), a umidade em excesso aumenta a atividade microbiana e deixa as massas “grudentas”, cabendo ao fabricante, portanto, o controle do teor de umidade, incluindo embalagens que protejam o produto da oxidação da gordura e perda de aroma e sabor. Sendo assim, deixa-se claro a importância de um melhoramento tecnológico na elaboração destes produtos, pois, além da influência nas modificações físicas e químicas, o conteúdo de umidade, assim como o de água livre e o pH também influenciam na multiplicação dos micro-organismos (ROCKLAND; BEUCHAT, 1987). Como consequência, o conhecimento dos valores de atividade de água (Aa), umidade e pH é fundamental, pois esses dados estão correlacionados, com o desenvolvimento das culturas adicionadas e com as suas atividades metabólicas (CHIRIFE; BUERA, 1996).

Ao se reduzir o teor de umidade, ocorre uma diminuição automática no valor de Aa, impedindo o desenvolvimento de outros microrganismos deteriorantes e a consequente alteração de suas características (ARNAU; HUGAS; MONFORT, 1987).

A água é de extrema importância para a sobrevivência dos micro-organismos, a água em sua forma disponível favorece a sua multiplicação e seu metabolismo. A água que está ligada a macromoléculas não está livre e não pode ser aproveitada pelos micro-organismos para participar de reações químicas ou agir como solvente, para tanto, a água precisa estar em sua forma livre e o parâmetro que mede a disponibilidade de água em um alimento chama-se “atividade de água”. Os micro-organismos tem um valor mínimo, um valor máximo e um valor ótimo de Aa para que possam se multiplicar, levando em consideração que a Aa da água pura é 1,00 e que não há multiplicação nessas circunstâncias, o limite máximo para o crescimento microbiano é ligeiramente menor q 1,00. Porém, esse comportamento é bastante variável, geralmente, a maioria das bactérias deteriorantes não se multiplica em Aa inferior a 0,91, enquanto que os fungos podem fazê-lo em Aa de até 0,80 e algumas bactérias patogênicas podem tolera Aa de até 0,86 (FRANCO, 2003).

De acordo com os valores de Aa de alguns alimentos estabelecidos por Banwart (1989), o bolos assados estiveram entre os alimentos com atividade de água alta, com Aa de 0,90 e 0,94. Carrascosa e Cornejo (1989), também menciona que a maioria dos micro-organismos, incluindo as bactérias patogênicas, se desenvolve rapidamente a níveis de aw entre 0,99 a 0,98, correspondendo dessa forma, com os resultados encontrados para os bolos dessa pesquisa (0,90), mostrando assim, que é necessário que haja o controle de outras variáveis para que se possa garantir a estabilidade microbiológica desses alimentos.

Porém, a capacidade de sobrevivência ou de multiplicação dos micro-organismos que estão presentes em um alimento depende de uma série de fatores. Entre esses fatores, estão aqueles relacionados com as características próprias dos alimentos (fatores intrínsecos) e os relacionados com o ambiente em que o alimento se encontra (fatores extrínsecos) (FRANCO, 2003).

A Aa limitante para que determinado micro-organismo cresça também depende de outros fatores intrínsecos que podem agir simultaneamente, o pH do meio é um deles, sendo assim, quando há um afastamento das condições ótimas para a multiplicação de determinado micro-organismo, mais alto será o valor de Aa necessária (FRANCO, 2003).

Da mesma forma como acontece com a atividade de água, os micro-organismos também possuem um valor de pH mínimo, máximo e ótimo para se multiplicarem. Observa-se q o pH mais próximo da neutralidade, entre 6,5 e 7,5 é o mais favorável para a maioria, porém, existem aqueles que são favorecidos pelo meio ácido, como por exemplo, as bactérias lácticas. De acordo com o pH, pode-se subdividir os alimentos em três categorias: os alimentos de baixa acidez (pH superior a 4,5), alimentos ácidos (pH entre 4,0 e 4,5) e alimentos muito ácidos (pH inferior a 4,0), sendo assim, alimentos de baixa acidez são mais susceptíveis a contaminação microbiana (FRANCO, 2003).

O bolo de chocolate é considerado um alimento de baixa acidez, por estar em uma faixa de pH entre 7,76 e 8,13 (pH superior a 4,5) e também por ter apresentando um valor muito baixo de acidez (0,99-1,04), o que o torna susceptível à multiplicação microbiana, porém, para que haja tal multiplicação, é necessário primeiramente que haja uma contaminação, a qual pode ser prevenida se houver respeito às Boas Práticas de Fabricação (BPF) durante todas as etapas do processamento, a elaboração dos produtos desta pesquisa foi conduzida de forma antisséptica, tornando-os mais seguros do ponto de vista higiênico-sanitário, o que pode ser confirmado com os resultados das análises microbiológicas.

Com relação às cinzas, foram encontrados valores entre 2,33 e 2,84. As cinzas são minerais presentes na matéria seca após a dessecação em mufla a 550°C, sendo estes indispensáveis para a realização de diversos processos vitais.

Já foi constatado em diversos estudos, a riqueza de nutrientes presentes na *Spirulina*, tanto os macro, quanto os micronutrientes. Henrikson (1994), ao avaliar amostras de *S. platensis* observou que ela apresentava em extrato seco, 65% de proteínas, 20% de carboidratos, 7% de minerais, 5% de lipídios e 3% de umidade. Dos minerais presentes, estão o cálcio, o fósforo, o magnésio, o ferro, o zinco, o cobre, o cromo, o manganês, o sódio e o potássio, sendo que os principais são o cálcio (1,3 a 1,4 g/Kg de *Spirulina*), o fósforo (6,7 a 9,0 g/ Kg de *Spirulina*) e o potássio (6,4 a 15,4 g/Kg de *Spirulina*).

Barros (2010), desenvolveu massas alimentícias adicionados de *Spirulina* e observou que quanto maior o percentual da alga, maior o conteúdo de cinzas, chegando a atingir em média 2,20% na concentração de 15% de *Spirulina* e 0,96% na menor concentração (5%), correlacionando-se assim, com os resultados dos bolos, cujos valores aumentaram a medida que se aumentou o teor da alga, havendo diferença significativa entre B2, com menor concentração de *Spirulina* (5%) e B4, com maior concentração (15%).

Os bolos são produtos assados, preparados à base de farinhas ou amidos, açúcar, fermento químico ou biológico, podendo conter leite, ovos e manteiga (POLLETO, 2015). Estes últimos são ingredientes que agregam algum teor lipídico ao produto e por falar em lipídios, a *Spirulina platensis* pode produzir um grande número de compostos com valor agregado, tais como os ácidos graxos essenciais, linoleico e  $\gamma$ -linolênico, presentes na fração lipídica desta microalga (CHAIKLAHAN et al., 2008). A sua abundância em ácidos graxos insaturados é de especialmente ácido  $\gamma$ -linolênico (WANG et al. 2015).

Milovanovic et al. (2012), investigaram a composição de ácidos graxos de várias cianobactérias estirpes provenientes da Sérvia. Os resultados mostraram ácidos graxos com cadeia de 16 e 18 carbonos. Segundo especialistas da organização mundial da saúde (OMS), a razão de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA)/ ácidos graxos saturados (SFA) para uma "dieta equilibrada" é acima de 0,4, e neste caso, todas as estirpes investigadas apresentaram uma relação favorável, variando de 1,65 a 3,71.

Não houve diferença significativa na variável lipídica, porém, houve uma tendência a um ligeiro aumento a medida que também se aumentou a quantidade de

*Spirulina*, apesar disso, é observado que as porcentagens da alga não influenciaram nesse aspecto. Conforme Becker (2007) a composição centesimal da microalga *Spirulina platensis* pode variar entre 46 a 63% de proteínas, 8 a 14% de carboidratos e 4 a 9% de lipídios, sendo o restante composto por minerais, umidade e fibras, quando cultivada em meio repleto de nutriente, sendo assim, a quantidade de lipídios na alga não é muito relevante quanto a quantidade de proteínas.

A composição lipídica dos bolos é determinada portanto, pela formulação dos mesmos e pode ser similar ou não quando comparada a outros bolos de chocolate comerciais. Nesse estudo, foram encontrados valores entre 11,94 e 13,19%, sendo estes, parecidos aos valores encontrados em bolo de chocolate comercial apresentado no estudo feito por Polleto (2015), que foi de 10,3%, porém, o autor elaborou um bolo modificado no qual não houve adição de gordura e por esse motivo apresentou valor de 4,74%. Por outro lado, ao comparar os teores de bolos de chocolate sem glúten a brownies de chocolate sem glúten, são encontrados valores lipídicos bem superiores, a exemplo do que foi encontrado por Simon (2014), 20,26%. As formulações de bolos e brownies são semelhantes, porém, o que difere são quantidades dos ingredientes, nos brownies há presença de maior quantidade de lipídios, por isso a diferença.

A variável proteica é uma das que mais chama atenção, uma vez que é conhecido o potencial valor de proteínas dessa microalga. A primeira análise realizada por Leonard e Compere (1967) mostrou que 45% da biomassa seca era composta de proteínas. Pesquisas recentes revelaram que o teor de proteína pode, de fato, ser maior, até 77% do peso seco, dependendo das condições externas (VOLKMANN et al., 2008; WANG et al., 2013). Segundo Becker (2007), a *Spirulina* é uma das mais ricas fontes proteicas de origem microbiana (46 a 63%). Somado a isto, este microrganismo apresenta conteúdo balanceado de aminoácidos de alta digestibilidade, contendo inclusive metionina, aminoácido ausente na maioria das outras microalgas (GARCÍA; FERNÁNDEZ; SEVILLA, 2012). Os aminoácidos mais abundantes são leucina (10,9%), valina (7,5%) e isoleucina (6,8%). Embora o conteúdo de cisteína e metionina seja o mais baixo de todos os aminoácidos presentes, ainda é maior em comparação com cereais ou vegetais (LUPATINI, 2016).

Segundo Becker (2007), a *Spirulina platensis* contém alguns aminoácidos essenciais nas proporções recomendadas pela FAO, podendo ainda ser comparada com proteínas padrões como as da carne, ovos ou leite e, muitas vezes podendo conter qualidade superior às proteínas vegetais. Conforme Misurcová et al. (2014) é evidente



que as proteínas de microalgas são importantes fontes de aminoácidos. De acordo com os dados apresentados, a histidina aparece como aminoácido limitante do concentrado proteico de *Spirulina platensis*, com escore químico de 0,49, seguido pela lisina com 0,50. A histidina, geralmente não é limitante na maioria dos alimentos, sendo que a lisina, treonina, triptofano e outros aminoácidos que contêm enxofre são frequentemente encontrados como limitantes (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Lupatini (2016) concluiu que, além de o concentrado proteico da microalga possuir adequada qualidade nutricional podendo contribuir como um suplemento alimentar, essas proteínas também são importantes do ponto de vista tecnológico podendo ser aplicada como ingredientes alimentares, contribuindo assim com o processamento e características funcionais de diferentes alimentos, sendo útil na indústria alimentícia como componente de emulsões, espumas ou géis. Damodaran (2010) já havia dito que a capacidade espumante de uma proteína está relacionada com a habilidade de formar uma fina e resistente película na interface gás-líquido, possibilitando que bolhas de gás sejam incorporadas e estabilizadas nesta interface; já a sua estabilidade refere-se a competência da proteína em estabilizar a espuma contra as tensões mecânicas e gravitacionais.

Nos produtos em questão, se vê a diferença significativa entre os teores proteicos das amostras, os valores aumentam quando também se aumentam as concentrações de *Spirulina*, a amostra B2 apresenta valor de 7,19% e a amostra B4, um valor de 10,13%. Ressalta-se a discrepância entre a amostra B1, com 0% da alga e a amostra B4 com 15%, destacando o potencial enriquecedor da mesma.

A *Spirulina* não interferiu na quantidade de carboidratos, visto que os valores glicídicos diminuíram com o aumento da sua concentração. O conteúdo de hidratos de carbono da *Spirulina* varia de 10 a 15% de biomassa seca, sendo em sua maioria polissacarídeos, principalmente ramnose e glicogênio (FURMANIAK et al., 2017). O teor de carboidratos dos bolos desta pesquisa é determinado principalmente pelas quantidades de açúcar, farinha e achocolatado, em especial a quantidade da farinha que foi diferente em cada uma das amostras, os demais ingredientes supracitados foram utilizados nas mesmas proporções, sendo assim, não foram relevantes nesse diferencial. A composição centesimal de carboidratos é basicamente a mesma na farinha de trigo utilizada na amostra controle (76 g) e na farinha de arroz (78 g) utilizada nas amostras de bolos sem glúten, a diferença está nas proporções de farinhas utilizadas em cada uma delas. As proporções de farinha foram inversamente proporcionais às proporções de

*Spirulina*, sendo assim, foram encontrados valores de carboidratos menores na amostra B4 e maiores na amostra B1, com 15% e 0% de *Spirulina*, respectivamente.

O valor calórico total de qualquer preparação culinária é proveniente da junção de calorias dos macronutrientes, ou seja, carboidratos, proteínas e lipídios. Assim como todo produto de confeitaria, os bolos de chocolate são alimentos altamente calóricos, devido ao perfil dos ingredientes utilizados, principalmente ingredientes ricos em carboidratos (açúcar e farinha) e lipídios (margarina), utilizados em maior proporção. Levando em consideração esses aspectos, foram obtidos valores calóricos entre 312,86 e 322,39, não havendo diferença significativa em nenhuma das amostras. Apesar de o valor proteico ter sido bem superior nas amostras com maior concentração de *Spirulina*, o valor glicídico foi menor, havendo dessa forma uma compensação do valor calórico, uma vez que ambos nutrientes possuem a mesma quantidade de calorias por grama (4 Kcal/g). Quanto ao valor lipídico, não foram observadas diferenças estatísticas entre as amostras, contribuindo também para que não tenha existido diferença entre as calorias, já que esse nutriente é o que mais interfere nas calorias finais, por ser o mais calórico (9 Kcal/g). Estes valores estão muito próximos aos encontrados Heisler et al. (2008) no seu estudo em que foi avaliada a viabilidade da substituição da farinha de trigo pela farinha de arroz na merenda escolar, foram elaborados bolos de chocolate com os dois tipos de farinhas, no bolo tradicional com farinha de trigo, as calorias estiveram em torno de 326,40 Kcal e o bolo sem glúten apresentou valor calórico de 342,21 Kcal.

## 5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados das análises microbiológicas estão expressos na Tabela 3, os mesmos revelam ausência dos micro-organismos analisados para todas as amostras, com exceção da amostra B1, que apresentou contagem de bolores e leveduras de  $4,8 \times 10^3$  UFC/g, porém, levando em consideração os critérios estabelecidos pela legislação brasileira para este tipo de produto, o mesmo está apto para consumo (BRASIL, 1978). Nota-se no entanto, ausência de bolores e leveduras nas demais amostras, nas quais há *Spirulina*.

**Tabela 3** – Resultados das análises microbiológicas de controle higiênico-sanitário realizadas com bolos de chocolate

ANÁLISES	BOLOS DE CHOCOLATE			
	B1	B2	B3	B4
<b>Enumeração de Coliformes Totais (35°C)</b>	Aus./g	Aus./g	Aus./g	Aus./g
<b>Enumeração de Coliformes Fecais (45°C)</b>	Aus./g	Aus./g	Aus./g	Aus./g
<b>Contagem em Placas de Bolores e Leveduras (UFC/g)</b>	4,8x10 <sup>3</sup>	Aus./g	Aus./g	Aus./g
<b>Contagem em Placas de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva (UFC/g)</b>	Aus./g	Aus./g	Aus./g	Aus./g
<b>Contagem em Placas de <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)</b>	Aus./g	Aus./g	Aus./g	Aus./g
<b>Contagem em Placas de <i>Clostridium</i> Sufito Redutor a 46°C (UFC/g)</b>	Aus./g	Aus./g	Aus./g	Aus./g

B1 – Bolo com 0% de *Spirulina*; B2 – Bolo com 5% de *Spirulina*; B3 – Bolo com 10% de *Spirulina* e B4 – Bolo com 15% de *Spirulina*.

UFC – Unidades Formadoras de Colônias; Aus – Ausência.

A contaminação fúngica é um problema sério durante a produção de alimentos, pois, algumas espécies representam um risco muito grave para os consumidores por causa da produção de metabólitos secundários que possuem efeito patogênico para humanos e animais de criação (HEIDTMANN-BEMVENUTI et al, 2011; TIAN et al, 2012). Por esse motivo, a indústria de alimentos está buscando o uso de agentes naturais antimicrobianos e antioxidantes, isolados de plantas, fungos e algas marinhas, para substituir os aditivos sintéticos em alimentos (CAO, 2009). Os ácidos fenólicos, encontrados nas microalgas e nas plantas, amplamente distribuídos em todo o reino vegetal e microbiano, podem apresentar várias atividades biológicas, a eles vem sendo atribuídas propriedades de atuarem como antioxidantes, antifúngicos, antimutagênicos, anticarcinogênicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, entre outras (SOUZA et al., 2011; XU et al, 2008).

A *Spirulina platensis* apresenta propriedades antioxidantes e antimutagênicas, devido a presença de compostos fenólicos, favorecendo o seu uso como alimento funcional, porém, há poucas evidências na literatura sobre sua atividade antifúngica (ABEDIN & TAHA, 2008; SOUZA et al., 2011; TANTAWY, 2011). Os compostos

fenólicos (ácidos caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e transcinâmico), tocoferol e pigmentos como carotenóides, ficocianina e clorofila, estão entre seus compostos com alegação de efeito funcional (COLLA et al., 2007). Os quais podem agir individualmente ou sinergicamente como compostos antifúngicos e antioxidantes em sistemas in vivo e in vitro (SOUZA et al., 2011).

Na literatura há mais relatos de inibição dos compostos fenólicos de microalgas contra o crescimento de bactérias, o que dificulta a comparação dos resultados obtidos em relação aos efeitos dos compostos fenólicos da *Spirulina platensis* no desenvolvimento fúngico (SOUZA, 2011). Apesar dessa constatação, no presente estudo levanta-se a hipótese de que a microalga pode ter interferido positivamente na qualidade higiênico-sanitária dos bolos, exercendo sua propriedade antifúngica, uma vez que a única amostra que apresentou contagem de bolores e leveduras foi a controle, na qual não há *Spirulina*.

### 5.3 ANÁLISES SENSORIAIS

Os resultados das análises sensoriais estão expressos na Tabela 4.

**Tabela 4** - Escores médios dos testes de aceitação sensorial e de intenção de compra realizados com bolos de chocolate com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Variável (%)	BOLOS			
	B1	B2	B3	B4
<b>Aparência</b>	8,26±0,74	7,93±1,09	8,07±1,01	8,14±0,90
<b>Cor</b>	8,26±0,79	7,97±0,95	8,10±1,01	8,10±0,90
<b>Aroma</b>	8,10±0,99 <sup>a</sup>	7,54±1,33 <sup>b</sup>	7,64±1,42 <sup>ab</sup>	7,81±1,18 <sup>ab</sup>
<b>Sabor</b>	8,10±0,87 <sup>a</sup>	6,93±1,46 <sup>c</sup>	7,41±1,46 <sup>bc</sup>	7,84±1,14 <sup>ab</sup>
<b>Textura</b>	8,30±0,86 <sup>a</sup>	7,59±1,21 <sup>b</sup>	7,70±1,24 <sup>b</sup>	7,80±1,32 <sup>ab</sup>
<b>Avaliação global</b>	8,26±0,74 <sup>a</sup>	7,27±1,37 <sup>c</sup>	7,56±1,30 <sup>bc</sup>	7,90±0,98 <sup>ab</sup>
<b>Intenção de compra</b>	4,57±0,67 <sup>a</sup>	3,69±1,14 <sup>c</sup>	4,13±0,83 <sup>b</sup>	4,19±0,92 <sup>ab</sup>

Médias ± desvio-padrão com letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

\*Extrato Seco Total

B1 – Bolo com 0% de *Spirulina*; B2– Bolo com 5% de *Spirulina*; B3 – Bolo com 10% de *Spirulina* e B4 – Bolo com 15% de *Spirulina*.

Nessa pesquisa, houve a reformulação de um produto que é amplamente conhecido e aceito pela população, a qual alterou algumas características do mesmo, podendo assim, ser aceito ou rejeitado pelos consumidores. Com isso, é de extrema importância que haja uma avaliação do nível de aceitação de um produto para saber se este está apto para ser comercializado, dessa forma, a análise sensorial é uma excelente ferramenta utilizada para o desenvolvimento de novos produtos ou reformulação daqueles já existentes no mercado, além de estudo de vida de prateleira, avaliação das preferências dos consumidores por determinado produto, determinação de diferenças e semelhanças entre produtos concorrentes, otimização e melhoria de qualidade (MEILGAARD; CIVILLE; CARB, 2007).

O corpo humano possui sistemas sensoriais: olfativo, gustativo, tátil, auditivo e visual. Esses sistemas avaliam os atributos sensoriais dos alimentos (ANZALDÚA-MORALES, 1994). Segundo Watts et al. (1992), não existe nenhum outro instrumento que possa reproduzir ou substituir a resposta humana e, portanto, a avaliação sensorial resulta em fator essencial para qualquer estudo com alimentos.

Um alimento não deve apenas ser nutritivo, mas também produzir satisfação e ser agradável ao consumidor, o que é resultado do equilíbrio de diferentes parâmetros sensoriais. Ao se desenvolver qualquer produto, deve-se garantir sua qualidade através de atributos, como aparência, cor, odor, sabor, textura, sendo assim, as percepções sensoriais dos alimentos são interações complexas que envolvem os cinco sentidos (GIESE, 1995).

Os testes de aceitabilidade são realizados quando se deseja estabelecer se há diferença entre duas ou mais amostras e, em alguns casos, a importância dessa diferença (ANZALDÚA-MORALES, 1994). Essa diferença pode ser devido à substituição de matéria-prima, alterações de processo devido à embalagem ou ao tempo de armazenamento (FERREIRA et al., 2000).

Ao se analisar os resultados dos testes de aceitabilidade realizados nessa pesquisa, observa-se que não houve diferença significativa para os atributos aparência e cor, cujas notas oscilaram entre 7 (gostei moderadamente) e 8 (gostei muito). Segundo Anzaldúa Morales (1994), a aparência geral é a primeira impressão que o consumidor irá ter de qualquer produto, representando assim, um papel chave no sucesso ou fracasso da venda, se um produto se apresentar com uma aparência desagradável irá influenciar na decisão de comprar ou até de provar. O primeiro contato que um consumidor tem com determinado produto é com a apresentação visual, na qual se destacam a cor e a aparência e esses atributos estão associados com as reações pessoais de aceitação, indiferença ou

rejeição. A apresentação se relaciona com à forma natural, tradicional, ou seja, uma forma comercial já consagrada culturalmente.

A substituição da farinha de trigo pela farinha de arroz não interferiu na apresentação dos bolos aos provadores, uma vez que os mesmos atribuíram aos bolos sem glúten notas semelhantes ao bolo controle. Tais valores se assemelham a notas dadas a *brownies* de chocolate sem glúten desenvolvidos por Simon (2014), nos quais se utilizou farinha de arroz e trigo sarraceno, com notas que estiveram entre 7,42 e 8,18.

A cor da superfície dos alimentos é um dos primeiros parâmetros de qualidade observados pelos consumidores, e por consequência, é uma característica muito importante para a aceitabilidade de um produto, antes mesmo de sua degustação (LEÓN et al., 2006). Ao se utilizar *Spirulina* em alimentos, é necessário se atentar quanto a cor, uma vez que trata-se de uma microalga muito pigmentada, de cor verde-azulada e que pode causar estranhamento aos consumidores. Morais (2006), desenvolveu biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina* e menciona que a cor é uma das principais características que deve ser levada em consideração em estudos com adição de microalgas, pois a depender da quantidade adicionada, o produto pode escurecer afetando assim a sua aparência e como consequência ser rejeitado pelos consumidores, com isso, a adição de chocolate pode ser uma alternativa para minimizar estes efeitos.

Assim como a aparência, as notas para cor estiveram entre 7 (gostei moderadamente) e 8 (gostei muito), este atributo agradou os provadores provavelmente pela adição do chocolate e cacau, os quais mascararam a cor verde característica. Esta cor característica origina-se dos pigmentos ficocianinas que possuem coloração azul, juntamente com a clorofila  $\alpha$ , que possui coloração verde (MINKOVA et al., 2003). A ficocianina é o pigmento fotossintético de maior concentração na microalga *Spirulina platensis*, constituindo até 20% do peso seco da proteína celular (SILVEIRA et al., 2007).

Com relação as suas características organolépticas, a biomassa de *Spirulina* seca apresenta odor de peixe e quando fresca, praticamente não tem odor, nem sabor. Ao ser adicionada em alimentos, ela pode potencializar ou não alterar o sabor do alimento, quando em pequenas proporções (BARROS, 2010). O aroma das amostras receberam notas que variaram entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”, apesar de ter havido diferença estatística entre as amostras B1 e B2, quando comparadas as 3 amostras de bolos contendo a microalga não foi constatada nenhuma diferença, trazendo a conclusão de que o odor de peixe não foi relevante nesta pontuação.

No quesito sabor, a amostra controle diferiu estatisticamente das amostras com 5 e 10% de *Spirulina*, porém, não foi observada diferença quando comparada com a amostra contendo 15% da microalga, demonstrando dessa forma, que ao aumentar os percentuais da biomassa, os bolos continuaram tão saborosos quanto aqueles que não apresentam esse ingrediente em sua formulação.

Os resultados encontrados para o atributo textura mostraram uma diferença significativa entre a amostra B1 e as amostras B2 e B3, o bolo controle recebeu maior nota do que os bolos com 5 e 10% de *Spirulina*, porém não diferiu da amostra B4, contendo 15% de *Spirulina*. O aumento da quantidade desta microalga na formulação influenciou na textura da amostra B4, a qual se apresentou muito similar com a amostra B1, mesmo sendo isenta de glúten. Ao se remover o glúten de produtos que normalmente contém essa proteína se obtém na maioria das vezes, uma massa líquida, com aspecto de cruá, o que pode ocasionar em um produto com textura quebradiça, devido à má formação da estrutura viscoelástica, dessa forma, produtos que não contém glúten necessitam que em sua formulação, haja substâncias que auxiliem nas propriedades viscoelásticas da massa para que se obtenha um produto com características similares a um produto com glúten. Para tanto, se faz necessária a incorporação de três ingredientes principais: amido, ingredientes à base de proteínas e hidrocolóides (ARENDRT et al., 2008; SIMON, 2014).

Estabilizantes (gomas e hidrocolóides) são ingredientes utilizados para melhorar a consistência de alimentos, pois hidratam quando se juntam com a água e nesse processo, as moléculas desses estabilizantes desagregam-se e dissolvem-se, o que leva à formação de enlances ou pontes de hidrogênio que através de todo o líquido causa a formação de uma rede que reduz a mobilidade da água restante não ligada. Ao adicionar tais estabilizantes, pode-se facilmente observar estes efeitos, resultando em alta viscosidade e formação de gel (CLARK; KAVANAGH; ROSS-MURPHY, 2001). A formação de gel representa uma importância na tecnologia de produtos sem glúten pelo fato de a geleificação gerar a formação de uma rede tridimensional viscoelástica, tal como é com o glúten em uma massa com farinha de trigo (BEMILLER, 2008).

Segundo Dickinson (2003), hidrocolóides são todos os polissacarídeos (do ponto de vista químico), gomam, carboximetilcelulose, amido e pectinas, ou proteínas como a gelatina, obtidos de plantas, algas marinhas e fontes microbianas. Os hidrocolóides são comumente utilizados como agentes estabilizantes de emulsões, de absorção de água, espessantes e geleificantes. A vantagem de sua utilização é que precisam ser utilizados

em pequenas concentrações e geralmente não contribuem para o sabor, aroma, ou valor nutricional dos alimentos em que forem adicionados (CUBERO et al., 2002).

Na elaboração de produtos de panificação, o amido apresenta certa relevância na contribuição da textura e aparência desses produtos com base em cereais. Estas características são observadas nas preparações de massas, nas quais o amido atua como agente de enchimento, já que absorve água (BLOKSMA, 1990). A farinha de arroz é um produto amiláceo mais comumente utilizado na substituição da farinha de trigo em produtos sem glúten, porém, a ausência da proteína do glúten faz com que haja dificuldade na formação de uma massa, por conta da capacidade de retenção de gás que é bastante lenta. Por esse motivo, produtos com essa farinha geralmente apresentam problemas de qualidades, tais como volume, textura, cor e estrutura do miolo. Devido à isto, muitas vezes juntamente com a farinha de arroz na fabricação de pães, bolos e massas, se faz necessária a adição de um fonte de proteína, no entanto, essas condições irão depender das características do produto desejado (TURABI; SUMMU; SAHIN, 2010).

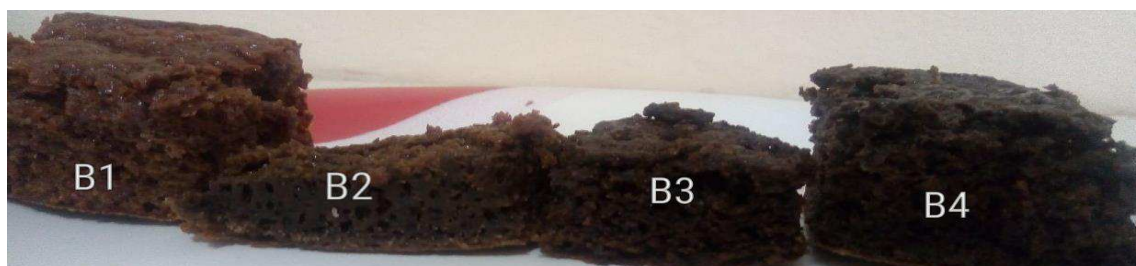
Partindo do pressuposto de que a *Spirulina* possui um elevado teor de proteínas, que segundo Pop (2014), a biomassa da alga contém independente do ambiente em que cresce, até 70-75% de proteínas de fácil assimilação. Na amostra B4 foram encontrados valores proteicos de 10,13% e na B2, valores de 7,19%, o aumento da concentração da alga na amostra B4 provavelmente influenciou na obtenção de um produto com melhor textura quando comparada com as amostras B2 e B3 com 5 e 10% de *Spirulina*, respectivamente.

Além da proteína, que pode fazer o papel do glúten, capaz de estabilizar as bolhas de ar e de formar uma rede proteica que retém o gás carbônico produzido na fermentação, de acordo com os autores Otero e Vincenzini (2003), a alga também possui ação geleificante e emulsificante, devido aos exopolissacarídeos produzidos pelas cianobactérias, estes polissacarídeos podem ser encontrados formando cápsulas ou como massa mucilaginosa ligada às células. Selmo (2014), desenvolveu pães sem glúten com farinha de arroz e ao adicionar *Spirulina*, percebeu que a microalga produziu mudanças significativas na estrutura da massa fermentada dos pães, tornando-a mais aberta e formando fibras, enquanto que a massa sem a *Spirulina* apresentou uma estrutura densa e compacta. A mesma influência da alga nos bolos de chocolate sem glúten pode ser observada na Figura 3, na qual o B2 com menor concentração apresentou essa estrutura



densa e compacta e o B4 com maior concentração apresentou estrutura semelhante ao bolo com glúten.

**Figura 3** – Fotografia das quatro amostras de bolos de chocolate com diferentes concentrações de *Spirulina platensis*.



A avaliação global representa a opinião geral dos consumidores sobre determinado produto, após levar em consideração todos os atributos analisados. Todas as amostras obtiveram notas acima de 7 (gostei moderadamente), indicando que os produtos agradaram a maioria dos consumidores, repercutindo dessa forma, nas notas referentes à intenção de compra, as quais ficaram entre “possivelmente compraria” e “compraria”, com exceção da amostra B2, que ficou entre “talvez comprasse/talvez não comprasse” e “possivelmente compraria”, se diferenciando assim das demais amostras, embora não seja algo tão relevante, uma vez que a mesma recebeu boas pontuações nos demais atributos.

Muito se sabe que as características sensoriais de muitos produtos elaborados com farinha de trigo são atribuídas à presença do glúten, por esse motivo, a maioria dos produtos isentos de glúten tem baixa aceitabilidade, porém, os resultados da avaliação global e intenção de compra mostram que os bolos de chocolate sem glúten com *Spirulina* apresentam tanto potencial mercadológico quanto um bolo de chocolate tradicional, representando boa capacidade de venda caso forem comercializados, o aumento da concentração da alga interferiu positivamente nesses resultados.

Na Tabela 4 estão distribuídas as notas referentes à ordenação de preferência geral dos provadores (n=70) na análise sensorial dos bolos com diferentes concentrações de *Spirulina platensis*.

**Tabela 4** - Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=70) na análise sensorial de bolos com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Formulações de bolos	Número de Provadores por				Somadas ordens**
	Ordem*				
	1	2	3	4	
B1 (0% de <i>Spirulina</i> )	04	07	17	42	237 <sup>a</sup>
B2 (5% de <i>Spirulina</i> )	29	19	18	04	137 <sup>b</sup>
B3 (10% de <i>Spirulina</i> )	17	26	12	15	165 <sup>b</sup>
B4 (15% de <i>Spirulina</i> )	20	17	23	10	163 <sup>b</sup>

\* 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, c – letras minúsculas sobrescritas indicam as diferenças significativas apresentadas entre os bolos (p<0,05) pelo teste de Friedman.

Os resultados obtidos com os testes de ordenação de preferência mostram que a amostra controle foi a mais preferida, o que já é esperado uma vez que o bolo de chocolate convencional é mais familiar ao paladar dos consumidores em geral, porém, nota-se que não houve diferença de preferência entre as 3 amostras de bolos contendo a *Spirulina*, levando à constatação de que ao se aumentar a concentração da alga em bolos de chocolate sem glúten, não haverá interferência na preferência geral.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adesão à dieta sem glúten pelo indivíduo celíaco pode ser difícil, devido a isso, é necessário que se aumente as opções de alimentos que podem ser consumidos por essas pessoas e que sejam de fácil acesso, porém, a maioria dos produtos comercializados e consumidos habitualmente são produzidos com farinha de trigo, que contém glúten. Então, se observa uma forte carência de alimentos que podem servir como substitutos para os mesmos, por esse motivo, as opções de produtos alimentícios acabam ficando escassas e as alternativas que restam são prepara-los em casa ou até mesmo deixar de consumi-los.

Diante disso, há uma necessidade de aumentar a disponibilidade mercadológica destes produtos e o apelo comercial se dá principalmente na manutenção das características sensoriais presentes nos produtos tradicionais, sendo imprescindível para que os produtos alternativos sejam bem aceitos. A substituição das farinhas desempenha um papel crucial nessa aceitabilidade, pois em muitos casos não se consegue atingir o mesmo patamar de qualidade sensorial dos produtos convencionais, além disso, a maioria das farinhas não contribuem na qualidade nutricional do produto final, sendo interessante e promissor o desenvolvimento de produtos enriquecidos.

Em virtude dos fatos mencionados, elaborou-se bolos de chocolate isentos de glúten enriquecidos com diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis* e a partir das análises sensoriais concluiu-se que todas as amostras foram bem aceitos em todos os atributos sensoriais. Ressalta-se a variável textura, na qual houve melhor aceitação para a amostra com maior porcentagem de *Spirulina*, identificando assim, uma provável atuação positiva dessa microalga na elaboração de produtos sem glúten, uma vez que é a característica que é mais modificada do ponto de vista negativo ao realizar uma substituição da farinha de trigo.

A alta concentração de proteínas é fortemente vinculada à *Spirulina*, esse fato pôde ser corroborado e fortalecido com os resultados das análises físico-químicas, mostrando um potencial enriquecedor da alga em todas as amostras, destacando a amostra B4, com a maior concentração de *Spirulina* que apresentou valor em torno de 10,13% de proteína versus 3,19% presentes no bolo tradicional que não foi enriquecido.

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que há um mercado bastante promissor para a utilização da *Spirulina* em um bolo de chocolate sem glúten, mostrando

que a concentração de 15% da alga não só interfere positivamente na qualidade nutricional do produto, como também na qualidade sensorial, principalmente na textura, cuja se apresentou similar ao produto convencional. Porém, se faz necessária a experimentação de outros tipos de produtos isentos de glúten enriquecidos com *Spirulina* para que haja a expansão mercadológica e o aperfeiçoamento dessa área de produção, o que pode facilitar o acesso do indivíduo celíaco a produtos sem glúten com qualidade sensorial e nutricional.

## REFERÊNCIAS

ABEDIN, R.M.A.; TAHA, H.M. Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae, evaluation of medium components by Plackett-Burmann Design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry**, v. 3, n. 1, p. 22-31, 2008.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14141: **escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro, 1998.

AMBROSI, M. A. et al. Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 109-117, 2008.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION - ADA. **Celiac Disease Evidence-Based Nutrition Practice Guideline**. Chicago. 2009. 14 p.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Acribia SA, 1994. 198 p.

ARANDA, A.; ARAYA, M. Tratamiento de la enfermedad celíaca.¿ Cómo medir adherencia a la dieta libre de gluten?. **Revista Chilena de Pediatría**, v. 87, n. 6, p. 442-448, 2016.

ARAÚJO, H. M. C. et al. Doença celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 467-474, 2010.

ARAÚJO, K. G. L.; FACCHINETTI, A. D.; SANTOS, C. P. Influência da ingestão de biomassas de *spirulina (arthrospira sp.)* sobre o peso corporal e consumo de ração em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 6-9, 2003.

ARENDRT, E. K. et al. Gluten-free breads. *In*: ARENDRT, E. K.; DAL BELLO, F. **Gluten-free cereal products and beverages**. Burlington: Academic/ Elsevier Science, 2008, cap. 13, p. 289 – 319.

ARENDRT, E.; DAL BELLO, F. **Gluten-free cereal products and beverages**. Cambridge: Academic Press, 2011. 464 p.

ARNAU, J.; HUGAS, M.; MONFORT, J. M. **El jamón curado**: Aspectos técnicos Girona, Itália, Grafis-Sant S.A. 1987, 352 p.

AURICCHIO, S.; TRONCONE, R. History of coeliac disease. **European Journal of Pediatrics**, v. 155, n. 6, p. 427-428, 1996.

AZEREDO, V. B. S. **Produção de biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil**. 2012. 171 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BANWART, G. J. Factors that affect microbial growth in food. In: **Basic Food Microbiology**. Springer US, 1989. p. 101-163.

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

BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 2, p. 207-210, 2007.

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

BELAY, A. et al. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 2, p. 235-241, 1993.

BEMILLER, J. N. Hydrocolloids. In: ARENDT E. K.; DAL BELLO, F. E. D. S. **Gluten-Free Cereal Products and Beverages**. p. 203-215, 2008.

BLOKSMA, A. W. Dough structure, dough rheology, and baking quality. **Cereal Foods World**, v. 35, n.2, p. 237-243, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº263 de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 986, de 21 de outubro de 1969. Aprova o regulamento técnico de padrões de qualidade e identidade para produtos de confeitaria. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 1978. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12\\_78\\_prod\\_confeita.htm](http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78_prod_confeita.htm)>. Acesso em: 02/03/2018

CARRASCOSA, A.V.; CORNEJO, I. Aspectos físico-químicos del curado del jamón serrano y su influencia sobre el desarrollo microbiano (revisión). **Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos**, n. 205, p. 27-33, 1989.

CASTENHOLZ; R.W. et al. Form-genus XIII, *Spirulina* Turpin 1829 ex Gomont 1892. In: BOONE, D.R.; CASTENHOLZ, R.W. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 2001. v.1, p. 557-559.

CAO, Li et al. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 801-805, 2009.

CAUVAIN, S.P. Improving the control of staling in frozen bakery products. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, n.2, p. 56-61, 1998.

CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; TRIRATANA, P.; LOHA, V.; TIA, S.; BUNNAG, B. Polysaccharide extration from *Spirulina* sp. and its antioxidant capacity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 58, p. 73-78, 2013.

CHIRIFE, J.; BUERA, M. P. Water activity, water glass dynamics, and the control of microbiological growth in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, n. 5, p. 465-513, 1996.

CHRISTAKI, E.; FLOROU-PANERI, P.; BONOS, E. *Microalgae*: a novel ingredient in nutrition. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 62, n. 8, p. 794-799, 2011.

CIESUNSKI, J. Z.; KOTZE, L. M. S.; UTIYAMA, S. R. R. Tratamento da doença celíaca: estado da arte. **GED – Gastroenterologia e Endoscopi Digestiva**, v. 35, n. 3, p. 114-121, 2016.

CLARK, A. H.; KAVANAGH, G. M.; ROSS-MURPHY, S. B. Globular protein gelation—theory and experiment. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 383-400, 2001.

COLLA, L. M.; BADIALE-FURLONG, E.; COSTA, J.A.V. Antioxidant Properties of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* Cultivated Under Different Temperatures and Nitrogen Regimes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 161-167, 2007.

CUBERO, N.; MONFERRER A.; VILLALTA J. **Aditivos Alimentarios**. Mundi-Prensa Libros, Madrid, 2002.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

DERNER, R. B. et al. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v.17, n.1, p.25-39, 2003.

EL-CHAMMAS,K.; DANNER, E. Gluten-free diet in nonceliac disease. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 26, n. 3, p. 294-299, 2011.

ESTELLER, M.S.; ZANCANARO, J.O.; LANNES, S.C.S. " Chocolate" pound cake with cupuassu and kefir. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 447-454, 2006.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. 127p.

FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE-STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FRANCO, B.D.G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.



FRIC, P.; GABROVSKA, D.; NEVORAL, J. Celiac disease, gluten-free diet, and oats. **Nutrition reviews**, v. 69, n. 2, p. 107-115, 2011.

FURMANIAK, M. A et al. Edible cyanobacterial genus arthrospira: actual state of the art in cultivation methods, genetics, and application in medicine. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1-21, 2017.

GALLAGHER, E.; GORMLEY, T. R.; ARENDT, E. K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. **Food Science and Technology**, v. 15, n. 3-4 p. 143-152, 2004.

GARCÍA, J. M. R.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; SEVILLA, J. M. F. Development of a process for the production of L-amino-acids concentrates from microalgae by enzymatic hydrolysis. **Bioresource technology**, v. 112, p. 164-70, 2012.

GIERSIEN, K. et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 54, n. 2, p. 229-241, 2012.

GIESE, J. Color measurement in foods as a quality parameter. **Food Technology**, v. 54, n. 2, p. 62-63, 2000.

HABIB, M. A. B. et al. A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. **Food and agriculture organization of the united nations**, 2008.

HABOUBI, N.Y.; TAYLOR, S.; JONES, S. Coeliac disease and oats: a systematic review. **Postgraduate Medical Journal**. v.82, p.672-678, 2006.

HATANAKA S. A et al. O efeito de uma dieta isenta de glúten em alanina aminotransferase (ALT) em pacientes com doença celíaca. **Revista Colombiana de Gastroenterologia**, v. 30, n. 4, 2015.

HEIDTMANN-BEMVENUTI, R. et al. Biochemistry and metabolism of mycotoxins: A review. **African Journal of Food Science**, v. 5, n.16, p. 861-869, 2011

HEISLER, G. E. R. et al. Viabilidade da substituição da farinha de trigo pela farinha de arroz na merenda escolar. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 3, p. 299-306, 2009.

HENRIKSON, R. **Earth food Spirulina**. 6. ed. California: Ronore Enterprises, 2009. 187 p.

HENRIKSON, R. **Microalga Spirulina: superalimento del futuro**. Barcelona: Ediciones Urano S.A., 1994. 222 p.

HOSENEY, R. C. et al. **Principles of cereal science and technology**. 3 ed. St Paul, USA: American Association of Cereal Chemists (AACC), 1994. 338 p.

HUSBY, S. et al. European society for pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 54, n. 1, p. 136-160, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas analíticas de Instituto Adolfo Lutz**. 4. ed. São Paulo: o Instituto, 2005. 1018 p.

KAGNOFF, M. F. Overview and pathogenesis of celiac disease. **Gastroenterology**, v. 128, n. 4, p. 10-18, 2005.

KAY, R. A.; BARTON, L. L. Microalgae as food and supplement. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 30, n. 6, p. 555-573, 1991.

LABUZA, T. P.; HYMAN, C. R. Moisture migration and control in multi-domain foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, n. 2, p. 47-55, 1998.

LEÓN, K. et al. Color measurement in L\* a\* b\* units from RGB digital images. **Food Research International**, v.39, n.10, p.1084 – 1091, 2006.

LERNER, A. New therapeutic strategies for celiac disease. **Autoimmunity Reviews**. v. 9, n. 3, p. 144-147, 2010.

LOVIS, L. J. Alternatives to wheat flour in baked goods. **Cereal Foods World**, v. 48, n. 2, p. 61, 2003.

LUPATINI, A. L. **Extração de proteínas e carboidratos da biomassa de Spirulina platensis e caracterização da fração proteica**. 2016. 119 f. Dissertação (Mestrado em

Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.

MADKOUR, F. F.; KAMIL, A. E. W.; NASR, H. S. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. **The egyptian journal of aquatic research**, v. 38, n. 1, p. 51-57, 2012.

MAGALHÃES, P. S.; BÖHLKE, M.; NEUBARTH, F. The Major Histocompatibility Complex (MHC): genetic codification, structural bases and clinical implications. **Revista de Medicina UCPEL**, v. 2, n. 1, p. 54-9, 2004.

MANGLAVAT, S. K. et al. effects of diverse factors on the biochemical composition of microalgae for biofuel production: A review. **The Institution of Engineers (India), MPSC**, p. 93, 2014.

MARCÍLIO, R. et al. Avaliação da farinha de amaranto na elaboração de biscoito sem glúten do tipo cookie. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n.2, p.175-181, 2005.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 4. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007.

MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. **Bioresource technology**, v. 97, n. 6, p. 841-846, 2006.

MILOVANOVIC, I. et al. Evaluation of protein and lipid content and determination of fatty acid profile in selected species of cyanobacteria. *In*: **Proceedings of the 6th Central European Congress on Food, CEFood2012**. 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

MINKOVA, K. M. et al. Purification of C-phycoyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*. **Journal of biotechnology**, v. 102, n. 1, p. 55-59, 2003.

MISHRA, P.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Spirulina and its nutritional importance: a possible approach for development of functional food. **Biochem. Pharmacol**, v. 3, p. e171, 2014.

MISURCOVÁ, L. et al. Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. **Food Chemistry**, v. 151, p. 120-125, 2014.

MOHAMMED, M. K.; MOHD, M. K. Production of carotenoids (antioxidants/colourant) in *Spirulina platensis* in response to indole acetic acid (IAA). **International Journal of Engineering Science and Technology (IJEST)**, v. 3, n. 6, p. 4973-4979, 2011.

MORAIS, M. G. et al. Desenvolvimento de nanofibras bioativas com incorporação da microalga *Spirulina*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 10. 2009. Foz do Iguaçu-PR. **Anais...** Foz do Iguaçu. 2009. p. 2.

MORAIS, M.G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A.V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: Características físicoquímicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2009.

MOREIRA, L. M. et al. *Spirulina platensis* biomass cultivated in Southern Brazil as a source of essential minerals and other nutrients. **African Journal of Food Science**, v. 7, n. 12, p. 451-455, 2013.

NASCIMENTO, I. S. B. **Partição da glutanina na farinha de trigo especial em sistemas aquosos bifásicos**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudeste da Bahia, Itapetinga, 2008.

NOBRE, S. R.; SILVA, T.; CABRAL, J. E. Doença celíaca revisitada. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 14, n. 4, p. 184-193, 2007.

ONTIVEROS, N.; HARDY, M. Y.; CABRERA-CHAVEZ, F. Assessing of celiac disease and nonceliac gluten sensitivity. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2015, p. 1-14, 2015.

OTERO, A.; VINCENZINI, M. Extracellular polysaccharide synthesis by Nostoc strains as affected by N source and light intensity, **Journal of Biotechnology**, v. 102, n. 2, p. 143-152, 2003.

PADILHA, V. M. et al. Perfil sensorial de bolos de chocolate formulados com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 735-40, 2010.

PELLEGRINI, N.; AGOSTONI, C. Nutritional aspects of gluten-free products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 12, p. 2380-2385, 2015.

POLLETO, B.O. et al. Avaliação físico-química do bolo de chocolate modificado. **Revista Científica FAEMA**, v. 6, n. 2, p. 77-91, 2015.

POP, G. C. et al. *Spirulina platensis* effect as protein supplement on rheological properties of dough and nutritional qualities of hot-dog rolls. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 20, n. 2, p. 171-177, 2014.

PRODANOV, C. C.; FREITAS, E. C. **Metodologia do Trabalho Científico: Métodos e Técnicas da Pesquisa e do Trabalho Acadêmico**. 2. ed. Editora Feevale, 2013. 277 p.

RAJA, R. et al. Recent developments in therapeutic applications of Cyanobacteria. **Critical reviews in microbiology**, v. 42, n. 3, p. 394-405, 2016.

ROCKLAND, L. B.; BEUCHAT, L. R. **Water Activity: Theory and Applications to Food**. Marcel Dekker, New York, Inc. 1987, 404 p.

SAPONE, A. et al. Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten. **BCM – Medicine**, n. 9, v.23, p. 1-11, 2011.

SAPONE, A. et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. **BMC Medicine**, v. 10, n. 13, p. 1-12, 2012.

SCHEUER, P. M. et al. Trigo: Características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 211-222, 2011.

SDEPANIAN, V. L.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES NETO, U. Doença celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 36, n. 4, p. 244-57, 1999.

SELMO, M. S. **Efeito da adição de metilcelulose, transglutaminase e *Spirulina* nas características tecnológicas e nutricionais de pães de farinha de arroz**. 2014. 126 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014

SERENOTTI, F.; CRESPI, B. A.; TORRES, L. G. Contribuição à modelagem da produção de *Spirulina maxima* em fotobioreatores. **Revista Universidade Rural**, v. 23, p. 8-17, 2004.

SILVA, T. S. G.; FURLANETTO, T. W. Diagnóstico de doença celíaca em adultos. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 56, n. 1, p. 122-126, 2010.

SILVEIRA, S. T. et al. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, n.8, p. 1629-1634, 2007.

SIMON, A. **Elaboração de brownie de chocolate sem glúten com a utilização de farinha de arroz e trigo sarraceno**. 2014. 71 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2014.

SINGH, S.; KATE, B. N.; BANERJEE, U. C. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. **Critical reviews in biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 73-95, 2005.

SIQUEIRA NETO, J. I. et al. Neurological manifestations of celiac disease. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 62, n. 4, p. 969-972, 2004.

SOLLID, L. M.; KHOSLA, C. Novel therapies for coeliac disease. **Journal of Internal Medicine**, v. 269, n. 6, p. 604-613, 2011.

SOUZA, M. M. et al. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1050-1058, 2011.

TANABE, S. Analysis of food allergen structures and development of foods for allergic patients. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 72, n. 3, p. 649-659, 2008.

TANTAWY, S. T.A. Biological potential of cyanobacterial metabolites against some soil pathogenic fungi. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 9, n. 1, p. 663- 666, 2011.

TEDRUS, G. A. S et al. Estudo da adição de vital glúten à farinha de arroz, farinha de aveia e amido de trigo na qualidade de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 20-25, 2001.

TIAN, J.; HUANG B.; LUO, X.; ZENG, H.; BAN, X.; HE, J.; WANG, Y. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand.-Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 520-527, 2012.

TORTORA, G. J. **Microbiology: an introduction**. 9. ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2007.

TURABI, E.; SUMMU, G.; SAHIN, S. Quantitative analysis of macro and microstructure of gluten-free rice cakes containing different types of gums baked in different ovens. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 8, p. 755-762, 2010.

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

VAQUERO, L et al. Revisión de las patologías relacionadas con la ingesta de gluten. **Nutrición Hospitalaria**, v. 31, n. 6, p. 2359-2371, 2015.

VELLOZO, E.P.; FISBERG, M. A contribuição dos alimentos fortificados na prevenção da anemia ferropriva. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 2, p. 140-147, 2010.

VOLKMANN, H. et al. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino-acid profile. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 98-101, 2008.

WANG, F. et al. Antineoplastic activity of  $\gamma$ -linolenic acid extract from *Spirulina platensis* on HepG2 cells and its inhibition effect on platelet aggregation. **Food and Agricultural Immunology**, v. 26, n. 1, p. 97-108, 2015.

WANG, H. et al. Identification of differentially expressed proteins of *Arthrospira (Spirulina) platensis*-YZ under salt-stress conditions by proteomics and qRT-PCR analysis. **Proteome science**, v. 11, n. 6, p. 1-14, 2013.

WATTS, B. M.; YLIMAKI, G. L.; JEFFERY, L. E.; ELIAS, L. **Métodos Sensoriales Básicos**: para la evolución de alimentos. Ottawa: International Development Research Centre, 1992.

WRONKOWSKA, M. et al. Effects of buckwheat flour (*Fagopyrum esculentum Moench*) on the quality of gluten-free bread. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 58, n. 2, p. 211-216, 2008.

XU, G.; YE, X.; LIU, D.; MA, Y.; CHEN, J. Composition and distribution of phenolic acids in Ponkan (*Citrus poonensis* Hort. ex Tanaka) and Huyou (*Citrus paradisi* Macf. Changshan Huyou) during maturity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 382– 389, 2008.

ZAMALLOA, C. et al. The techno-economic potential of renewable energy through the anaerobic digestion of microalgae. **Bioresource technology**, v. 102, n. 2, p. 1149-1158, 2011.

ZEPKA, L.Q. et al. Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece microscopica* Nägeli. **Bioresource technology**, v. 101, n. 18, p. 7107-7111, 2010.

ZIMMER, K. P. Nutrition and Celiac Disease. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**. v. 41, n. 9, p. 244-247, 2011.



## APÊNDICES

APÊNDICE A – Formulário de Teste de Aceitação e Intenção de Compra.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE**

**Teste de Aceitação e Intenção de compra**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ e-mail: \_\_\_\_\_  
Fone: \_\_\_\_\_ Escolaridade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Você está recebendo 04 amostras codificadas de bolos de chocolate sem glúten adicionados 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 bolacha e da água.

- 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)			
<b>Aparência</b>				
<b>Cor</b>				
<b>Aroma</b>				
<b>Sabor</b>				
<b>Consistência</b>				
<b>Avaliação Global</b>				

Agora indique sua atitude de compra 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)			
<b>Intenção de Compra</b>				

Comentários: \_\_\_\_\_

**OBRIGADA!**

**APÊNDICE B – Formulário de Teste de Ordenação-Preferência.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG**  
**Teste de Ordenação-Preferência**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Você está recebendo 04 amostras codificadas de bolos de chocolate sem glúten adicionados de *Spirulina*. Por favor, prove as amostras, da esquerda para direita, e ordene-as em ordem decrescente de **preferência geral (escreva o código da amostra no espaço reservado)**. Espere 30 segundos antes de consumir a próxima amostra e utilize bolacha e água entre cada avaliação.

	Mais preferida	→		Menos preferida
Posto	1º Lugar	2º Lugar	3º Lugar	4º Lugar
Amostra				

Comentários: \_\_\_\_\_

**Agora, por favor, responda as seguintes questões:**

Qual característica sensorial você mais apreciou na amostra mais preferida?

\_\_\_\_\_

característica sensorial você não apreciou na amostras menos preferida?

\_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Obrigada!**

## APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

### Termo do Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre avaliação sensorial de Bolos de chocolate sem glúten adicionados de *Spirulina* e está sendo desenvolvida por Aline Rodrigues Neris, aluna de Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Campina Grande/CES, sob a orientação da Professora Dra. Nilcimelly Rodrigues Donato.

A realização desta pesquisa é justificada pela necessidade de avaliar as características sensoriais e intenção de compra de diferentes formulações de bolos de chocolate sem glúten obtidos pelo enriquecimento com *Spirulina*, pelo fato de existir uma escassez de produtos sem glúten no mercado e que sejam ricos em nutrientes, como é o caso dos produtos em questão, uma vez que é comprovado cientificamente as propriedades desta microalga.

Objetivos do estudo:

Avaliar as características sensoriais de bolos de chocolates adicionados de *Spirulina*, bem como analisar sua composição físico-química e as condições higiênico-sanitárias dos mesmos.

Para tanto, V. Sa. receberá 04 formulações obtidas com *Spirulina*, onde deverá avaliar a aceitação sensorial dos atributos aparência, cor, aroma, sabor, consistência e fará uma avaliação da aceitação global dos produtos. Além disso, deverá expressar sua intenção de compra das referidas amostras e também ordenar em ordem decrescente de preferência geral das amostras.

Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde. Todavia, na ocasião da aplicação das análises sensoriais, as preparações deverão estar isentas de qualquer risco de contaminação para os provadores. Estas contaminações poderão ser provenientes, principalmente, do processamento das amostras, condições de armazenamento e manipulação. Para avaliar este fator de contaminação, antes da aplicação das análises sensoriais as amostras serão submetidas às análises microbiológicas que deverão demonstrar a qualidade higiênico-sanitária dos produtos comercializados, 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 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 os consumidores em potencial, como a oferta de um alimento com propriedades nutritivas e boas características sensoriais, 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 da área de saúde 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 bolos.

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) 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 a Pesquisadora Aline Rodrigues Neris

Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal de Campina Grande-UFCG. Centro de Educação e Saúde. Unidade Acadêmica de Saúde. Rua Olho D'Água da Bica, s/n. Cuité/PB.

Telefone: (74) 99157-5278

Atenciosamente,

---

Assinatura do Pesquisador Responsável

---

Assinatura do Pesquisador Participante