



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

DESENVOLVIMENTO DE SNACK ENRIQUECIDO COM *Spirulina*

BÁRBARA FRANCO LUCAS

Engenheira de Alimentos

PROF. DR. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA

Orientador

DR^a. THAISA DUARTE SANTOS

Coorientadora

RIO GRANDE, RS
2017

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

DESENVOLVIMENTO DE *SNACK* ENRIQUECIDO COM *Spirulina*

BÁRBARA FRANCO LUCAS

Engenheira de Alimentos

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Engenharia
e Ciência de Alimentos.

PROF. DR. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA

Orientador

DR^a. THAISA DUARTE SANTOS

Coorientadora

RIO GRANDE, RS
2017

Ficha catalográfica

L933d Lucas, Bárbara Franco.
Desenvolvimento de *Snack* enriquecido com *Spirulina* / Bárbara Franco Lucas. – 2017.
128 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2017.

Orientador: Dr. Jorge Alberto Vieira Costa.

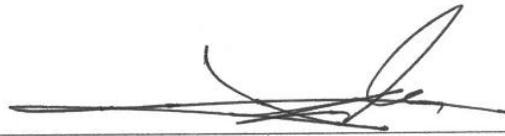
Coorientadora: Dr^a. Thaisa Duarte Santos.

1. Avaliação sensorial 2. Extrusados 3. Extrusão 4. Microalga
5. Microestrutura 6. Nutrientes I. Costa, Jorge Alberto Vieira II. Santos, Thaisa Duarte III. Título.

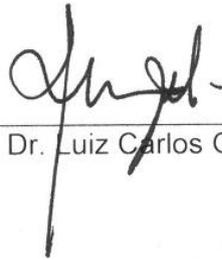
CDU 664

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Bárbara Franco Lucas e aprovada em 17 de março de 2017, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa – FURG



Prof. Dr. Luiz Carlos Gutkoski – UPF



Profa. Dra. Myriam de las M. Salas Mellado – FURG



Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto – FURG

AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço pela vida, pelas inúmeras vitórias, por me dar saúde para levantar e trabalhar todos os dias e ao voltar para casa ainda ter forças para cuidar do meu filho. Ao meu filho Felipe que é a pessoa mais importante na minha vida, que eu mais amo no mundo, que me acompanhou em mais esta jornada com amor, companheirismo, paciência, carinho e incentivo.

À minha família, em especial meu pai Lauro Lopes Lucas Júnior, minha avó Terezinha Afonso Lucas e meu avô Lauro Lopes Lucas que não estão aqui mas sei que se orgulhariam muito desta conquista.

À minha mãe Cristina, meu irmão Caio, ao Rosalvo, minha tia Érika e meu tio Sérgio que mesmo estando longe sempre me incentivaram.

Ao meu orientador Jorge que confiou em mim desde o primeiro momento e que mesmo sem me conhecer aceitou me orientar, além de me incentivar e fornecer todo suporte necessário.

A minha orientadora e grande amiga Thaisa, que me ajudou e me deu orientação desde os primeiros dias em que cheguei ao laboratório e além disso foi uma grande amiga em todos os momentos, sempre disposta a ajudar no meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Laboratório de Engenharia Bioquímica pelo ambiente de trabalho e por fornecer todas as ferramentas necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

A minha grande e incansável amiga Jessica Duarte que sempre esteve ao meu lado dentro e fora do laboratório, que me ajudou em tudo que eu precisei e que posso considerar uma irmã. A professora Sueli Ohata que mesmo distante nunca deixou de se preocupar comigo, sempre disposta a me ajudar.

As minhas amigas Marli e Paula que me receberam como parte de suas famílias nesta cidade quando eu não conhecia ninguém.

Aos meus amigos Cristiane, Luiza, Gabriel, Jessica Corá, Aline, Joice, Susan, Mariano, Islanda, Roque, Denise e Kricelle que sempre estiveram dispostos a ajudar seja dentro ou fora do laboratório.

Aos professores Luiz Pinto, Michele Moraes, Márcio Schmiele, Susana Kalil, Janaina Burkert, Rodolfo Carapelli e Myriam Salas-Mellado que contribuíram, respondendo aos meus questionamentos.

Aos laboratórios LTA, MIBI, BIOTEC, Bioprocessos, CEMESUL, LABCER da Unicamp, Cerealchocotec do ITAL que sempre estiveram de portas abertas e contribuíram para execução deste trabalho.

A melhor maneira de prever o futuro é criá-lo

Peter Drucker

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Espécies de microalgas, seus respectivos biocompostos e aplicações	32
Tabela 2 – Microalgas, empresas produtoras, biocompostos extraídos e atividade exercida na saúde.....	33

CAPÍTULO III

ARTIGO 1 - Efeito da adição de *Spirulina* nas propriedades físico-químicas e estruturais de *snacks* extrusados

Tabela 1 – Matriz dos ensaios gerada para o delineamento composto central rotacional 2 ³ com seus níveis codificados e reais.	54
Tabela 2 – Parâmetros físicos avaliados nos <i>snacks</i> extrusados com proporções 1:2 (A), 1:1 (B) e 2:1 (C) de farinhas de arroz e de milho orgânicas.....	58
Tabela 3 - Características físico-químicas dos <i>snacks</i> extrusados	59
Tabela 4 - Equações dos modelos de regressão, coeficiente de determinação (R ²) e teste F para as respostas dos extrusados.....	60
Tabela 5 – Parâmetros de cor para os ensaios (9, 15 e 10) contendo 0,4, 1,8 e 3,2 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18, respectivamente.	65

ARTIGO 2 - *Spirulina* para enriquecimento de *snacks*: avaliações nutricional, física e sensorial

Tabela 1 – Composição de biocompostos de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.	85
Tabela 2 – Composição nutricional dos <i>snacks</i> controle (C) e adicionados de 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).....	86
Tabela 3 – Parâmetros físicos avaliados nos <i>snacks</i> controle (C) e adicionados de 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).....	88
Tabela 4 – Parâmetros de cor para os <i>snacks</i> controle (C) e adicionados de 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).....	90
Tabela 5 – Avaliação microbiológica dos <i>snacks</i> controle (C) e adicionados de 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).....	93
Tabela 6 – Avaliação sensorial dos <i>snacks</i> controle (C) e adicionados de 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).....	93

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1 – Microfotografia de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18	34
Figura 2 - Representação esquemática de configuração de rosca utilizada no desenvolvimento de extrusados.	39

CAPÍTULO III

ARTIGO 1- Efeito da adição de *Spirulina* nas propriedades físico-químicas e estruturais de *snacks* extrusados

Figura 1 – Saída da extrusora dupla rosca co-rotativa (matriz de 3,8 mm).....	53
Figura 2 - <i>Snacks</i> extrusados nas proporções 1:2 (A), 1:1 (B) e 2:1 (C) de farinhas de arroz e de milho orgânicas.....	57
Figura 3 - <i>Snacks</i> elaborados com farinha de arroz orgânica, farinha de milho orgânica e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18, para cada ensaio experimental (Tabela 1).	59
Figura 4 - Efeito das variáveis independentes temperatura e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (A), umidade e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (B) e temperatura e umidade (C) na dureza dos <i>snacks</i> extrusados.	62
Figura 5 - Efeito das variáveis independentes temperatura e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (A), umidade e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (B) e temperatura e umidade (C) no IAA dos <i>snacks</i> extrusados.	64
Figura 6 – Microfotografia de <i>snacks</i> extrusados com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.	66
Figura 7 – Espessura das paredes de <i>snacks</i> extrusados com diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.	66

ARTIGO 2- *Spirulina* para enriquecimento de *snacks*: Avaliações nutricional, física e sensorial

Figura 1 - <i>Snacks</i> controle (C) e com 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).....	90
Figura 2 – Microfotografia dos <i>snacks</i> controle (C) e adicionados de 2,6 % de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (SP).	92

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Efeito das variáveis independentes temperatura e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (A) e umidade e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (B) na concentração de proteína (%) dos <i>snacks</i> extrusados.....	121
APÊNDICE 2 – Efeito das variáveis independentes <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 e umidade (A) e temperatura e umidade (B) no índice de expansão dos <i>snacks</i> extrusados.	121
APÊNDICE 3 – Efeito das variáveis independentes <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 e umidade (A) e temperatura e umidade (B) na densidade aparente dos <i>snacks</i> extrusados.....	122
APÊNDICE 4 – Efeito das variáveis independentes umidade e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (A) e temperatura e <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (B) na ΔE dos <i>snacks</i> extrusados.....	122
APÊNDICE 5 – Ficha de avaliação sensorial dos <i>snacks</i> extrusados	123
APÊNDICE 6 – Parecer nº 49/2016 do comitê de ética em pesquisa.	124
APÊNDICE 7 – Termo de consentimento para avaliação sensorial	125

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	19
RESUMO GERAL.....	21
ABSTRACT.....	23
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	25
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 Objetivo geral.....	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
CAPÍTULO II.....	29
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	31
3.1 Saúde nutricional.....	31
3.2 Microalgas.....	32
3.2.1 <i>Spirulina</i>	33
3.3 Alimentos com <i>Spirulina</i>	35
3.4 Extrusão.....	36
3.4.1 Mecanismo.....	37
3.4.2 Fatores que influenciam o processo.....	38
3.5 <i>Snacks</i>	40
3.6 Histórico do Laboratório de Engenharia Bioquímica.....	41
CAPÍTULO III.....	43
DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	44
ARTIGO 1 - EFEITO DA ADIÇÃO DE <i>Spirulina</i> NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E ESTRUTURAIS DE <i>SNACKS</i> EXTRUSADOS.....	47
RESUMO.....	49
ABSTRACT.....	49
1 INTRODUÇÃO.....	50
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
2.1 Matéria-prima e composição centesimal.....	51
2.2 Preparo das amostras.....	51
2.3 Pré-testes de extrusão.....	52
2.4 Extrusão.....	52
2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	53
2.6 Análises físico-químicas dos <i>snacks</i>	55
2.6.1 Proteína.....	55
2.6.2 Índice de expansão.....	55
2.6.3 Densidade aparente.....	55
2.6.4 Análise de cor.....	55
2.6.5 Análises de textura.....	56
2.6.6 Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA).....	56
2.6.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	56
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1 Composição da matéria-prima.....	56
3.2 Pré-testes de extrusão.....	57
3.3 Características físico-químicas dos <i>snacks</i>	58
3.3.1 Proteína.....	60
3.3.2 Índice de Expansão.....	60
3.3.3 Densidade aparente.....	61

3.3.4 Dureza.....	62
3.3.5 Índice de Absorção de Água e Índice de Solubilidade em Água	63
3.3.6 Cor	64
3.4 Microestrutura.....	65
3.5 Melhor condição	67
4 CONCLUSÃO	67
AGRADECIMENTOS.....	68
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ARTIGO 2 - <i>Spirulina</i> PARA ENRIQUECIMENTO DE <i>SNACKS</i> : AVALIAÇÕES	
NUTRICIONAL, FÍSICA E SENSORIAL	73
RESUMO.....	75
ABSTRACT.....	75
1 INTRODUÇÃO	76
2 MATERIAL E MÉTODOS	77
2.1 Matéria-prima	77
2.2 Composição de biocompostos em <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.	78
2.2.1 Carotenoides	78
2.2.2 Ficocianina.....	78
2.2.3 Minerais	78
2.3 Preparo das amostras para extrusão	79
2.4 Extrusão	79
2.5 Aromatização	80
2.6 Análises dos <i>snacks</i>	80
2.6.1 Composição proximal.....	81
2.6.2 Carotenoides	81
2.6.3 Digestibilidade proteica <i>in vitro</i>	81
2.6.4 Índice de expansão.....	82
2.6.5 Densidade aparente	82
2.6.6 Dureza.....	83
2.6.7 Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA).....	83
2.6.8 Análise de cor	83
2.6.9 Análise de microestrutura	84
2.6.10 Análises microbiológicas	84
2.6.11 Avaliação sensorial	84
2.6.12 Análise estatística	85
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
3.1 Composição de biocompostos da biomassa microalgal.....	85
3.2 Composição Nutricional dos <i>Snacks</i>	86
3.3 Análises Físicas	88
3.4 Cor	89
3.5 Microestrutura.....	91
3.6 Avaliação Microbiológica	93
3.7 Análise Sensorial	93
4. CONCLUSÃO	94
AGRADECIMENTOS.....	95
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
CAPÍTULO IV.....	
CONCLUSÃO GERAL.....	103
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	105

CAPÍTULO V	107
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
APÊNDICES	121

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL

A demanda por alimentos extrusados de consumo prático “snacks”, está em crescimento devido à variedade de formas, texturas e sabores, além da praticidade no consumo. Entretanto, a maioria dos *snacks* disponíveis comercialmente possui valor nutricional reduzido. Devido à sua composição química com elevada concentração de nutrientes como proteína altamente digerível, aminoácidos essenciais e minerais, a microalga *Spirulina* tem sido utilizada como enriquecimento nutricional no desenvolvimento de alimentos. Dentro deste contexto, o presente estudo teve como objetivo determinar a melhor condição de extrusão, nas condições do trabalho, para o desenvolvimento de *snack* enriquecido com *Spirulina* sp. LEB 18, a fim de obter produto de elevado valor nutricional e aceitação sensorial. As matérias-primas utilizadas foram farinhas orgânicas de milho e de arroz e *Spirulina* sp. LEB 18. Os ensaios de extrusão foram realizados em extrusora dupla rosca co-rotativa. Foram extrusados 17 ensaios de acordo com Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2³, o qual teve como variáveis independentes a concentração de *Spirulina* sp. LEB 18, a umidade de alimentação e a temperatura no último estágio da extrusora. As variáveis dependentes avaliadas nos *snacks* foram concentração de proteína, densidade aparente, índice de expansão, dureza, índice de absorção de água, índice de solubilidade em água e cor. A partir dos resultados foi determinada a melhor condição para obtenção do *snack* adicionado de *Spirulina*. Após, realizou-se a extrusão do ensaio obtido na melhor condição e do ensaio controle utilizando os mesmos parâmetros de processo. O *snack* adicionado da microalga e o controle foram avaliados quanto ao conteúdo nutricional (proteínas, lipídios, cinzas, carboidratos, carotenoides e digestibilidade proteica *in vitro*), propriedades físicas (índice de expansão, densidade aparente, dureza, índice de absorção em água, índice de solubilidade em água e parâmetros de cor) e sensoriais (aroma, cor, sabor, textura, aceitação global e intenção de compra), além de avaliações na microestrutura e análise microbiológica. Os resultados obtidos no delineamento experimental mostraram que todas as variáveis independentes influenciaram as variáveis respostas. Maiores conteúdos de umidade de alimentação aumentaram a dureza, a densidade aparente e o índice de absorção de água dos *snacks*. Maiores concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18 produziram *snacks* com maior conteúdo proteico (11,3 %), variação total de cor e estrutura mais compacta. A melhor condição para desenvolvimento dos *snacks* foi utilizando concentração 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18, umidade de alimentação 16,2 % e 143 °C no último estágio da extrusora. A avaliação nutricional do *snack* extrusado na melhor condição indicou aumento de 22,6 % em conteúdo proteico, além do incremento de 46,4 % em minerais quando comparado ao controle. Os parâmetros de cor foram influenciados significativamente ($p < 0,05$) pela adição de *Spirulina* sp. LEB 18. A avaliação da microestrutura mostrou paredes finas, variando de 16,13 a 20,12 μm para o *snack* com microalga. O índice de aceitação sensorial para o *snack* enriquecido com *Spirulina* sp. LEB 18 foi 82 %. Conclui-se que *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser utilizada na concentração de 2,6 %, resultando em *snacks* com maior conteúdo nutricional e de elevada aceitação sensorial.

Palavras-chave: Avaliação sensorial. Extrusados. Extrusão. Microalga. Microestrutura. Nutrientes.

Development of *snack* enriched with *Spirulina*

ABSTRACT

The demand for extruded food of practical consumption “snacks” is growing due to the variety of shapes, textures and flavors, as well as practicality in consumption. However, most of commercially available *snacks* has reduced nutritional value. Due to its chemical composition with high concentration of nutrients such as highly digestible protein, essential amino acids and minerals, the microalga *Spirulina* has been used as nutritional enrichment in the development of food. In this context, the present study aimed to determine the best extrusion condition, in the working conditions, for the development of *snack* enriched with *Spirulina* sp. LEB 18, in order to obtain a product with high nutritional value and high sensorial acceptance. The raw materials used were organic flour of corn and rice and *Spirulina* sp. LEB 18. Extrusion tests were performed on a co-rotating twin screw extruder. Seventeen trials were extrudate according to Central Composite Rotational Design (CCRD) 2³, which had as independent variables concentration of *Spirulina* sp. LEB 18, feed moisture and temperature in the last zone of the extruder. The dependent variables evaluated were protein concentration, bulk density, expansion index, hardness, water absorption index, water solubility index and color parameters. From the results, it was determined the best condition to obtain *snack* added of *Spirulina*. Afterwards, the trial obtained in the best condition and the control trial was extruded using the same process parameters. The *snack* added of microalga and its respective control were evaluated in relation to nutritional content (protein, lipid, ash, carbohydrate, carotenoid and protein digestibility *in vitro*), physical properties (expansion index, bulk density, hardness, water absorption index, water solubility index and color parameters) and sensory properties (flavor, color, taste, texture, overall acceptance and purchase intention), in addition to microstructure evaluations and microbiological analysis. The results obtained in the experimental design showed that all the independent variables influenced the response variables. Higher moisture content increased the hardness, bulk density and water absorption index of the *snacks*. Higher concentrations of *Spirulina* sp. LEB 18 produced *snacks* with higher protein content (11.3 %), total color variation and more compact structure. The best condition for the development of the *snacks* was using a concentration of 2.6 % *Spirulina* sp. LEB 18, 16.2% of feed moisture and 143 °C in the last stage of the extruder. The nutritional evaluation of the extruded *snack* in the best condition indicated an increase of 22.6 % in protein content, in addition to a increase of 46.4% in minerals when compared to the control. The color parameters were significantly influenced ($p < 0.05$) by the addition of *Spirulina* sp. LEB 18. The microstructure evaluation showed thin cell walls, ranging from 16.13 to 20.12 μm for the *snack* added microalga. The sensory acceptance index for the *snack* enriched with *Spirulina* sp. LEB 18 was 82%. It was concluded that *Spirulina* sp. LEB 18 can be used in concentration of 2.6%, resulting in *snacks* with higher nutritional content and with high sensorial acceptance.

Keywords: Extruded. Extrusion. Microalga. Microstructure. Nutrients. Sensory evaluation.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os alimentos extrusados possuem elevada aceitabilidade e estão em crescimento no mundo inteiro, como resultado do aumento da demanda por alimentos de conveniência e praticidade. Entretanto, os *snacks* extrusados comerciais geralmente possuem conteúdo limitado de nutrientes, sendo denominados *junk food* (ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; SUMARGO et al., 2016). A limitação de micronutrientes na alimentação humana pode causar doenças, além de afetar o desenvolvimento de crianças. A carência de nutrientes ocorre especialmente entre crianças de países em desenvolvimento (UNICEF, 2003).

Como alternativa no fornecimento de nutrientes em formulações alimentícias, tem-se a microalga *Spirulina*. Esta microalga possui elevada concentração de proteína digerível (MORAIS et al., 2008), além de ser fonte de ácidos graxos essenciais, vitaminas, minerais e pigmentos, podendo ser utilizada no desenvolvimento de produtos médicos, farmacêuticos e para enriquecer nutricionalmente os alimentos (SPOLAORE et al., 2006; VOLK; FURKERT, 2006).

Spirulina utiliza eficientemente energia solar e CO₂ para acumular biocompostos em sua biomassa, além disso, não necessita de terras agricultáveis para seu cultivo e demanda menor quantidade de água quando comparada à produção de outros alimentos (HENRIKSON, 2009; MATOS et al., 2016). Esta microalga recebeu certificação GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*), e tem seu consumo autorizado como alimento ou suplemento alimentar (FDA, 2002a). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) autoriza o consumo de *Spirulina* e a recomendação diária máxima é de 1,6 g (BRASIL, 2005), valor inferior ao estimado pelo FDA para consumo diário (FDA, 2002a).

Estudos relataram incremento nutricional em biscoitos (MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006), macarrão (DE MARCO et al., 2014) e extrusados (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014) adicionados desta microalga. No desenvolvimento de alimentos extrusados, as propriedades físicas como expansão, dureza e densidade aparente são parâmetros importantes em termos de aceitação do consumidor. Estas propriedades são influenciadas pelas condições de operação como umidade de alimentação, temperatura dos estágios da extrusora, taxa de alimentação e pela matéria-prima utilizada (DING et al., 2005; MENG et al., 2010; STOJCESKA et al., 2009).

A influência dos parâmetros de extrusão bem como da matéria-prima utilizada tem sido investigada no desenvolvimento de *snacks* (LAZOU; KROKIDA, 2010; PASTOR-

CAVADA et al., 2011; RATHOD; ANNAPURE, 2016). Contudo, pouca informação a respeito da influência de *Spirulina* neste processo está disponível (MORSY et al., 2014; JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

O Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) realiza desde 1996 trabalhos de pesquisa em torno das propriedades e condições de cultivo da microalga *Spirulina*. Além disso, desenvolve produtos alimentícios adicionados de biomassa desta microalga, como massas, sopas instantâneas, bebida isotônica, biscoito de chocolate, biscoito de limão, achocolatado, pudim, bolo de chocolate, bolo de limão e barra de cereal.

Em 2014, um convênio foi firmado com o MCTI (Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação) com intuito de promover um sistema de produção de microalgas economicamente viável e sustentável a partir do desenvolvimento de alimentos utilizando *Spirulina* sp. LEB 18 para serem inseridos na merenda escolar. Dentro deste contexto, a incorporação de *Spirulina* em *snacks* extrusados à base de cereais, pode disponibilizar alimentos de conveniência e praticidade, com elevada qualidade nutricional.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a melhor condição de extrusão para o desenvolvimento de *snack* enriquecido com *Spirulina*, a fim de obter produto de elevado valor nutricional e aceitação sensorial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar nutricionalmente a biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18;
- Avaliar os efeitos da concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 e das condições de extrusão (temperatura no último estágio da extrusora e umidade de alimentação) nas propriedades físico-químicas e estruturais de *snacks*;
- Determinar a melhor condição para desenvolvimento do extrusado enriquecido com *Spirulina* sp. LEB 18;
- Analisar o *snack* enriquecido com *Spirulina* sp. LEB 18 obtido na melhor condição quanto aos parâmetros nutricionais, físicos, microbiológicos e sensoriais;

CAPÍTULO II

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 SAÚDE NUTRICIONAL

A agricultura enfrenta o desafio de produzir alimentos para suprir a necessidade da população mundial. Estima-se que nos próximos 35 anos ocorra aumento de cerca de 1,8 bilhões de pessoas no planeta, principalmente em países em desenvolvimento (FAO, 2009).

A desnutrição é um grave problema de saúde pública, que afeta milhares de crianças todos os dias. Dietas com baixa concentração de nutrientes como proteína, vitaminas e minerais essenciais, contribuem para o aumento de doenças (MULLER; KRAWINKEL, 2005; WHO, 2014), podendo causar cegueira, deficiência mental e até morte prematura (UNICEF, 2003). Estima-se que a subnutrição seja responsável por quase metade de todas as mortes de crianças menores de 5 anos de idade, aproximadamente 2,8 milhões por ano (WHO, 2014).

A carência de proteínas e outros nutrientes é prejudicial em qualquer idade, sendo agravada em crianças, gestantes, lactantes e lactentes. Portanto, governos devem intervir a partir de estratégias baseadas na diversificação das dietas, assim como foi realizada a estratégia mundial de fortificação de sal com iodo (MULLER; KRAWINKEL, 2005).

Neste contexto, governos como o do Brasil, têm concentrado esforços para melhorar a nutrição de sua população. Dados disponibilizados pela FAO (2012) mostram que o Brasil vem alcançando resultados promissores no combate à desnutrição, em que, houve redução do percentual de subnutridos de 14,9 % entre 1990 e 1992, para 6,9 % no período de 2010 a 2012.

Em 2014 durante a Segunda Conferência Internacional de Nutrição, cerca de 170 países incluindo o Brasil, firmaram compromisso e asseguraram investimentos destinados a garantir que todas as pessoas tenham acesso a dietas alimentares mais saudáveis e sustentáveis. A Declaração de Roma sobre a nutrição teve como objetivo assegurar o direito de todos a terem acesso a alimentos seguros e nutritivos, comprometendo os governos a prevenir a desnutrição em todas as suas formas, incluindo a fome, as deficiências de micronutrientes e a obesidade. Os países que acordaram devem alcançar resultados concretos até 2025, incluindo metas existentes para melhorar a nutrição de crianças (WHO, 2014).

3.2 MICROALGAS

As microalgas são micro-organismos fotossintetizantes, em sua maioria unicelulares, que crescem em água doce ou salgada, possuem variadas formas e cores (METTING JR, 1996; TOMASSELI, 2004) e diâmetro ou comprimento de cerca de 3-30 μm (GRIMA; FERNANDEZ; MEDINA, 2004). Estes micro-organismos sintetizam biocompostos de alto valor agregado como ácidos graxos essenciais, vitaminas, minerais e pigmentos (FERREIRA; SOARES; COSTA, 2013; MORAIS; COSTA, 2008). Além disso, estes micro-organismos desempenham papel essencial nos ecossistemas aquáticos, pois realizam aproximadamente 50 % da fotossíntese do planeta (RADMER, 1996).

As algas comestíveis verde-azuladas incluindo as espécies dos gêneros *Nostoc*, *Arthrospira* (*Spirulina*) e *Aphanizomenon*, têm sido utilizadas para a alimentação há milhares de anos (JENSEN; GINSBERG; DRAPEAU, 2001). Acredita-se que o primeiro uso de microalgas por seres humanos ocorreu há 2.000 anos pelos chineses, que consumiam *Nostoc* (SPOLAORE et al., 2006). Há também relatos de que *Spirulina* foi cultivada e utilizada pela população asteca (PULZ; GROSS, 2004).

Existem inúmeras aplicações comerciais para as microalgas (Tabela 1), como no desenvolvimento de produtos médicos, farmacêuticos, cosméticos e para aumentar o valor nutricional de produtos alimentícios e rações para animais (SPOLAORE et al., 2006; VOLK; FURKERT, 2006).

Tabela 1 – Espécies de microalgas, seus respectivos biocompostos e aplicações.

Espécies de microalgas	Biocomposto	Aplicação
<i>Spirulina platensis</i>	Ficocianina, biomassa	Alimentos saudáveis, cosméticos
<i>Chlorella vulgaris</i>	Biomassa	Alimentos saudáveis, suplemento alimentar, alimentação animal
<i>Dunaliella salina</i>	Carotenoides, β -caroteno	Alimentos saudáveis, suplemento alimentar
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Carotenoides, astaxantina	Alimentos saudáveis, produtos farmacêuticos, alimentação animal
<i>Odontella aurita</i>	Ácidos graxos	Produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentação infantil

Fonte: Adaptado de Pulz e Gross (2004)

Microalgas para alimentação humana são comercializadas de diversas formas, tais como pó, comprimidos, cápsulas e líquidos. Além disso, podem ser incorporadas em massas, doces, gomas, bebidas (LIANG et al., 2004) e *snacks* (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

Neste mercado microalgal, *Spirulina* (*Arthospira*) e *Chlorella* estão entre as microalgas com maior produção anual (MASOJÍDEK; PRÁŠIL, 2010; PULZ; GROSS, 2004).

Tabela 2 – Microalgas, empresas produtoras, biocompostos extraídos e atividade exercida na saúde.

Microalga	Empresa	Biocomposto	Atividade exercida
<i>Spirulina</i>	Panmol/Madaus	Vitamina B12	Tratamento do sistema imunológico
<i>Chlorella</i>	OceanNutrition	Extrato de Carboidrato	Sistema imunológico, antigripal
<i>Haematococcus</i>	MERA	Astaxantina	Anti-inflamatório, tratamento de dor muscular
<i>Odontella</i>	InnovalG	EPA*	Anti-inflamatório
<i>Cryptocodinium</i>	Martek/Omegatec	DHA**	Desenvolvimento do cérebro
<i>Ulkenia</i>	Nutrinova/Celanese	DHA**	Tratamento do cérebro, coração e transtorno mental

Legenda: *Ácido graxo eicosapentaenóico; **Ácido graxo Docosahexaenóico

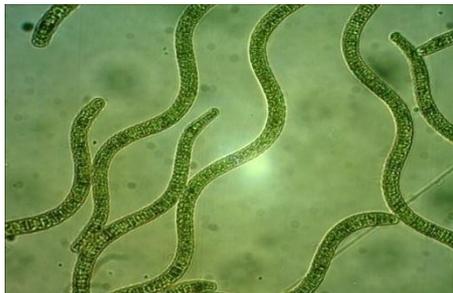
Fonte: Adaptado de Pulz e Gross (2004)

Os biocompostos produzidos pelas microalgas podem apresentar ações antifúngica, antiviral, antibiótica, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, com potencialidade para a redução e prevenção de doenças (SKULBERG, 2004; VOLK; FURKERT, 2006), como mostra a Tabela 2. Outros efeitos de promoção da saúde também foram observados nas microalgas, como a eficácia em tratamento de úlceras gástricas, feridas, desnutrição infantil, tratamento de constipação intestinal, ação preventiva contra a aterosclerose, hipercolesterolemia e ação antitumoral (HENRIKSON, 2009; LI et al., 2012; YAMAGUCHI, 1997).

3.2.1 *Spirulina*

Spirulina é uma cianobactéria verde-azulada microscópica (Figura 1), fotossintética, filamentosa, de aspecto espiral, que cresce em águas alcalinas (BRANGER et al., 2003). Uma vantagem do cultivo desta cianobactéria, é que seu crescimento é favorecido pelo pH alcalino, que resulta em baixa susceptibilidade a contaminação por micro-organismos que não se desenvolvem em condições alcalinas (MORAIS et al., 2009; RADMER, 1996).

Figura 1 – Microfotografia de *Spirulina* sp. LEB 18.



Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica - FURG

Segundo Henrikson (2009), a possibilidade de ser cultivada em terras não agricultáveis está entre as vantagens de *Spirulina*, assim como de outras microalgas. Além de utilizar áreas menores em seu cultivo e menor quantidade de água quando comparado a outras fontes de proteínas geralmente consumidas como soja, milho e carne.

Entre as diversas fontes de alimentos com altas concentrações de proteína, a microalga *Spirulina* possui importância nutricional. *Spirulina* vem sendo utilizada como fonte de proteína durante séculos por diferentes populações (HENRIKSON, 2009; JOSHI; BERA; PANESAR, 2014), e possui em média 50 a 70 % de proteína em base seca (MORAIS et al., 2015), sendo de 78 a 86 % digerível (MORAIS et al., 2008) e contendo todos os aminoácidos essenciais (BECKER, 2004; MORSY et al., 2014). A alta digestibilidade de *Spirulina* é devido à ausência de celulose em sua parede celular, diferente da maioria das algas, o que facilita a utilização para o consumo humano (TOMASELLI, 2004).

Spirulina é fonte de vitaminas, minerais e γ -linolênico, ácido graxo essencial precursor das prostaglandinas (HENRIKSON, 2009; MATOS et al., 2016). Os minerais presentes em maior quantidade na microalga *Spirulina* são: cálcio, fósforo, sódio e potássio, e em menor quantidade, ferro, magnésio, zinco, cobre, cromo e manganês (HENRIKSON, 2009). As vitaminas presentes nesta microalga são: vitamina A na forma de beta caroteno, vitamina C, vitaminas do complexo B (B1, B2, B6 e B12), vitamina E, biotina, ácido fólico, além do ácido pantotênico (BECKER, 2004). Entre os pigmentos presentes estão ficocianina, clorofila e carotenoides (HENRIKSON, 2009).

A microalga *Spirulina* apresenta possíveis efeitos promotores da saúde, como a redução da hiperlipidemia (EL-SHEEKH; HAMAD; GOMAA, 2014), supressão da hipertensão (ICHIMURA et al., 2013), proteção de células renais (FAROOQ et al., 2004), promoção do crescimento de *Lactobacillus* intestinal e supressão de nível elevado de glicose

(BELAY et al., 1993). Além disso, há indícios de que possua capacidade anti-inflamatória (REMIREZ et al., 2002) e atividade antioxidante (BIERHALS et al., 2009).

Spirulina também oferece importantes benefícios à saúde de crianças desnutridas. O beta-caroteno presente nesta microalga pode auxiliar no tratamento de doenças oculares causadas por deficiência de vitamina A. Além disso, o complexo de proteínas e de vitamina B resulta em contribuição nutricional importante na dieta de crianças (HENRIKSON, 2009; MORSY et al., 2014; UNICEF, 2003). Diante disso, pesquisas utilizando *Spirulina* para o tratamento de crianças desnutridas vêm sendo realizadas em diversos países e efeitos positivos têm sido observados (HENRIKSON, 2009).

Estudos realizados por Sall et al. (1999) em crianças gravemente desnutridas mostraram que *Spirulina* administrada na dose de 10 g d⁻¹ durante 60 dias aumentou os níveis de hemoglobina e proporcionou melhora dos parâmetros clínicos, antropométricos e biológicos das crianças. Li et al. (2012) suplementaram as refeições de grupos de crianças (6 a 11 anos) com até 4 g d⁻¹ de *Spirulina*, durante 10 semanas, e observaram aumento de β -caroteno e vitamina A no organismo destas.

Esta microalga foi aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como alimento seguro, sem efeitos toxicológicos para a saúde humana, recebeu certificação GRAS (*Generally Recognized As Safe*), e tem seu mercado legalizado como alimento ou suplemento alimentar (FDA, 2002a). No Brasil, *Spirulina* é reconhecida como alimento pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e tem seu consumo autorizado. A recomendação de consumo do produto com *Spirulina*, não deve resultar na ingestão acima de 1,6 g d⁻¹ desta microalga (BRASIL, 1999, 2005). Apesar de autorizada, a quantidade diária de *Spirulina* permitida no Brasil ainda é inferior a quantidade estimada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para consumo (6 g d⁻¹) (FDA, 2002a).

3.3 ALIMENTOS COM *Spirulina*

Nos últimos anos, diversos estudos utilizando microalgas em alimentos têm sido realizados. Dados existentes na literatura comprovam o efeito nutricional positivo do uso de *Spirulina* em alimentos. Fradique et al. (2010) incorporaram biomassa de *Spirulina maxima* em macarrão e verificaram aumento nos parâmetros de qualidade nutricional quando comparado com a amostra controle (sem microalga), bem como elevada aceitação sensorial. Barros (2010) também adicionou *Spirulina platensis* em formulações de macarrão e observou que o aumento da concentração da microalga no produto, ocasionou o aumento no conteúdo

de proteínas e minerais, enquanto De Marco et al. (2014) observaram que além do aumento no teor de proteína houve incremento em compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Navacchi et al. (2012) produziram bolo de mandioca adicionado de biomassa de *Spirulina platensis*. Ao final, os autores observaram aumento na concentração de minerais e proteína quando comparado à amostra controle (sem microalga), além de apresentar elevada aceitação por crianças. Moraes, Miranda e Costa (2006) também acrescentaram *Spirulina platensis* em alimento (biscoitos) e obtiveram em torno de 7 % de incremento proteico em relação à amostra controle, sem adição da microalga. Além disso, os autores obtiveram aumento na digestibilidade dos biscoitos. Em outro estudo, Figueira et al. (2011) utilizaram a microalga *Spirulina platensis* para enriquecer pão sem glúten e observaram incremento de até 39 % em conteúdo proteico.

Alimentos para atletas também foram enriquecidos com biomassa microalgal. Carvalho (2010) demonstrou que recuperador muscular para praticantes de atividades físicas pode ser adicionado de *Spirulina* sp. LEB 18 e ainda apresentar média de aceitação global de 6,5, superior à média encontrada para o recuperador muscular comercial (4,4). Além disso, verificou-se conteúdo de 4 % de cinzas no repositor hidroeletrólítico adicionado de *Spirulina* sp. LEB 18 enquanto o repositor sem adição de *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou 3,6 % de cinzas, indicando que a microalga elevou o conteúdo de minerais da formulação.

Embora a adição de *Spirulina* em alimentos seja estudada com frequência, estudos avaliando o enriquecimento de extrusados com *Spirulina* ainda são limitados. Joshi, Bera e Panesar (2014) adicionaram 7,5 % de *Spirulina* em formulação de *snack* extrusado a partir de farinha de milho e obtiveram aumento nos conteúdos de proteína, carotenoides e zinco.

Em outro estudo, Morsy et al. (2014) produziram diversas formulações de *snacks* com até 10 % de *Spirulina* na composição. Os autores também observaram que o aumento da concentração da microalga foi diretamente proporcional ao aumento de proteína na composição do produto. Além disso, há relatos de *Spirulina* utilizada em conjunto com soro de leite para enriquecimento de extrusados, em que, os autores observaram incremento em proteína, ferro e cálcio quando comparado à amostra controle (VIJAYARANI; PONNALAGHU; RAJATHIVYA, 2012).

3.4 EXTRUSÃO

O processo de extrusão é um tratamento térmico associado à umidade e trabalho mecânico, que modifica a estrutura das matérias primas (THYMI et al., 2005) e resulta em produtos expandidos (MOSCICKI; ZUILICHEM, 2011). A extrusão tem sido cada vez mais

utilizada para desenvolvimento de produtos alimentícios, tais como: *snacks* (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014; MORSY et al., 2014), cereais matinais (OLIVEIRA; ROSELL; STEEL, 2015), massas (DE MARCO et al., 2014), produtos de confeitaria, amidos modificados, alimentos infantis e alimentos instantâneos (RIAZ, 2000).

Durante o processamento térmico sob condições HTST (*High Temperature Short Time*), a matéria-prima é cozida pela combinação de umidade, pressão, temperatura e cisalhamento mecânico (ASCHERI, 2007; RIAZ, 2000), e tem sua estrutura modificada, resultando em novos formatos e texturas. Além disso, ocorrem alterações nas propriedades físicas, sensoriais e na digestibilidade de certos compostos (HAGENIMANA; DING; FANG, 2006; HAYTER; SMITH, 1988; PAULA; CONTI-SILVA, 2014).

Em relação às transformações físico-químicas que ocorrem pode-se citar: gelatinização de amidos, desnaturação de proteínas, formação de complexos entre amilose e lipídios, reações de degradação de vitaminas e pigmentos, destruição de micro-organismos, compactação, aglomeração, plastificação da mistura, expansão e formação de poros (ASCHERI, 2007; BHATTACHARYA; DAS; BOSE, 1993; ILO; BERGHOFER, 1999; RIAZ, 2000). A gelatinização é uma das mudanças mais importantes e ocorre a partir do aquecimento das moléculas do amido em excesso de água, que sofrem transição irreversível, com o rompimento, expansão e hidratação de sua estrutura granular (TROMBINI, 2010). De acordo com Riaz (2000), para maximizar a gelatinização, é necessário maior período de condicionamento para que a umidade adicionada se equilibre com o grânulo do amido antes da extrusão.

A extrusão se mostra vantajosa quando comparada aos processos convencionais, devido ao menor tempo e custo de processo, menor espaço físico necessário e maior flexibilidade, resultando em produtos variados (FELLOWS, 2006; RIAZ, 2000; VIJAYARANI; PONNALAGHU; RAJATHIVYA, 2012). Além disso, de acordo com Fellows (2006), o cozimento rápido por extrusão, seguido de resfriamento após a saída da matriz, mantém biocompostos como vitaminas e aminoácidos essenciais na composição dos alimentos.

3.4.1 Mecanismo

O equipamento utilizado para desenvolvimento de *snacks* denomina-se extrusora. As extrusoras são classificadas de acordo com o método de operação (a frio ou a quente) e construção (rosca única ou dupla rosca). Quando se utiliza temperaturas superiores a 100 °C tem-se a extrusão a quente. Em contrapartida, a extrusão a frio é utilizada comumente para

misturar e modelar alguns alimentos e a temperatura utilizada permanece próxima à ambiente (FELLOWS, 2006).

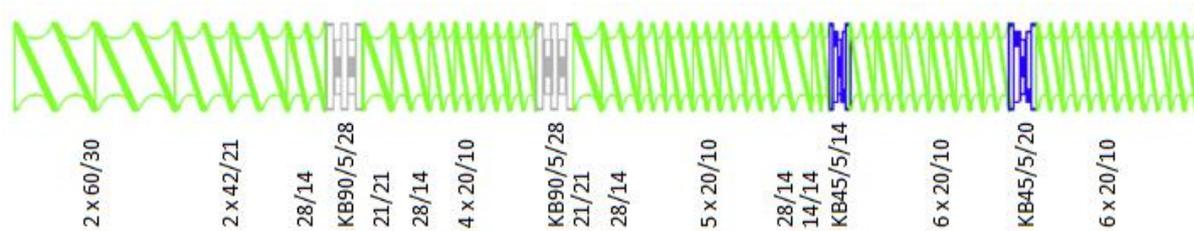
As extrusoras de rosca única têm menor custo de investimento e operação quando comparado à dupla rosca e são utilizadas em aplicações de cozimento simples. Enquanto as extrusoras dupla rosca possuem maior flexibilidade de operação com diferentes matérias-primas com vários tamanhos de partículas (de pós a grãos), e tem a produção independente da taxa de alimentação, o que permite melhor controle de transferência de calor. Além disso, as extrusoras dupla rosca podem ser classificadas em co-rotativas e contra-rotativas, sendo que, quando estão entrelaçadas em co-rotação são auto-limpantes e comumente utilizadas no processamento de alimentos (FELLOWS, 2006).

No processo de extrusão, a mistura à base de cereais, previamente condicionada com água, é alimentada na extrusora e as roscas a transportam ao longo do equipamento. Na parte posterior do canhão, o passo da rosca diminui, reduzindo o volume e aumentando a resistência ao movimento do alimento. À medida que ocorre este transporte, a rosca trabalha o material, que se torna uma mistura plástica viscosa semi-sólida, sendo transportada à seção seguinte do canhão de menor passo, onde se tem pressão e cisalhamento ainda maiores (FELLOWS, 2006; HAYTER; SMITH, 1988). A mistura cozida é forçada contra a matriz de diâmetro desejado. Desta forma, a queda de pressão repentina ocasiona evaporação instantânea de parte da umidade na forma de vapor, gerando estrutura porosa, expandida, quebradiça e com baixa densidade aparente (FELLOWS, 2006; HAYTER; SMITH, 1988; RIAZ, 2000; SCHMIELE, 2009).

3.4.2 Fatores que influenciam o processo

A qualidade tecnológica do produto extrusado pode variar com o tipo de extrusora, configuração da rosca (Figura 2), velocidade de rotação da rosca e taxa de alimentação da matéria-prima (BORAH; MAHANTA; KALITA, 2016; DING et al., 2005; THYMI et al., 2005). De acordo com o produto pretendido, diferentes temperaturas, umidade, cisalhamento e velocidade de rotação da rosca podem ser utilizados (FARAJ; VASANTHAN; HOOVER, 2004). Sendo assim, controlar as variáveis do processo, como temperatura de extrusão e umidade de alimentação na extrusora é essencial para se obter extrusados com a qualidade tecnológica desejada (STOJCESKA et al., 2009; THYMI et al., 2005).

Figura 2 – Representação esquemática de configuração de rosca utilizada no desenvolvimento de extrusados.



Fonte: Oliveira, Schmiele e Steel (2017)

A umidade da mistura a ser extrusada está entre os principais fatores que influenciam a qualidade dos extrusados. Estudos realizados por Oliveira, Schmiele e Steel (2017), Rathod e Annapure (2016) e por Stojceska et al. (2009) verificaram que a umidade influenciou a densidade aparente e o índice de expansão dos extrusados. O maior conteúdo de umidade pode resultar na diminuição do cisalhamento da massa plastificada no interior da extrusora, reduzindo a gelatinização do amido e afetando as propriedades físicas dos produtos expandidos (STOJCESKA et al., 2009; SUMARGO et al., 2016).

Diversos estudos também comprovaram que o aumento na concentração de proteína na matéria-prima, ocasiona redução da expansão, aumento da dureza e da densidade aparente de extrusados (JEYAKUMARI et al., 2016; SUMARGO et al., 2016). A proteína hidrofílica tende a competir com o amido pela água durante a extrusão, reduzindo a gelatinização e resultando em menor expansão e maior dureza destes alimentos (SCHMIELE, 2009; SUMARGO et al., 2016).

Extrusados desenvolvidos em diversas condições de extrusão e com diferentes matérias-primas são frequentemente avaliados por microscopia eletrônica de varredura. Estas avaliações permitem verificar a influência dos parâmetros escolhidos na compactação da estrutura, tamanho de bolha e na espessura das paredes dos extrusados (LAZOU; KROKIDA, 2010; WANI; KUMAR, 2016).

Na elaboração de *snacks*, além das propriedades nutricionais, as características físicas, tais como a expansão, dureza e densidade aparente também devem ser avaliadas, pois estão relacionadas à textura do extrusado e influenciam diretamente na aceitação do consumidor (BRNČIĆ et al., 2006; MORSY et al., 2014). Ding et al. (2005) observaram durante a produção de *snacks* que o aumento na temperatura de extrusão de 100 °C para 140 °C aumentou a expansão dos *snacks*, reduziu a densidade aparente, aumentou o índice de solubilidade em água e a crocância dos *snacks*. Os autores observaram também que o aumento da umidade de alimentação de 14 % para 22 % resultou em menor expansão, maior índice de

absorção de água, menor índice de solubilidade em água, redução da crocância e aumento da dureza, produzindo *snacks* com maior densidade aparente. Lazou e Krokida (2010) durante a extrusão de *snacks* a base de milho e lentilha observaram que taxas de alimentação elevadas e maior conteúdo de proteína na matéria-prima resultam em maior densidade aparente, além de estruturas mais rígidas e compactadas.

3.5 SNACKS

A demanda por alimentos extrusados de consumo prático, como os alimentos *snacks* está em crescimento no mundo inteiro. Estes alimentos fazem parte da alimentação de grande parte da população (POTTER; STOJCESKA; PLUNKETT, 2013; RATHOD; ANNAPURE, 2016) e estão entre os produtos que apresentam elevada aceitabilidade por crianças. Salgadinhos extrusados (*snacks*) possuem variedade de formas (bastões, esferas, roscas, tiras, helicóides ou conchas) (FELLOWS, 2006), texturas e sabores. A aceitabilidade desse tipo de produto está diretamente relacionada aos atributos sensoriais (aparência, textura, sabor, cor e aroma) (BRNČIĆ et al., 2006), sendo a textura considerada um dos mais importantes (JEYAKUMARI et al., 2016; MAZUMDER; ROOPA; BHATTACHARYA, 2007; PAMIES et al., 2000).

Snacks extrusados são predominantemente desenvolvidos a partir de farinha de cereais, como o milho, trigo e arroz (ONWULATA et al., 2001), devido às suas características de expansão (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014). Segundo Rosell e Marco (2008) e Silva, Ascheri e Ascheri (2016), a vantagem do uso da farinha de arroz na elaboração destes alimentos está na sua elevada digestibilidade e propriedades hipoalergênicas.

Apesar da praticidade e da variedade, as formulações de *snacks* disponíveis comercialmente tendem a ter baixa concentração de nutrientes como proteína, aminoácidos essenciais e vitaminas (ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; BASTO et al., 2016; SUMARGO et al., 2016; TANGKANAKUL; TUNGTRAKUL; MESOMYA, 1999). Além disso, são comumente elaborados a partir de cereais transgênicos e apresentam elevada concentração de sódio.

Como opção ao uso de farinhas de cereais transgênicos tem-se as farinhas orgânicas. Os produtos orgânicos possuem elevada importância no preparo de alimentos processados mais saudáveis, pois, segundo Brasil (2003) estes produtos são livres de contaminantes intencionais, trazem benefícios à saúde de seus consumidores, sustentabilidade e proteção ao meio ambiente. Como alternativa ao fornecimento de nutrientes, os *snacks* podem ser enriquecidos pelo uso de diferentes matérias-primas contendo elevado valor

nutricional como farinha de lentilha (LAZOU; KROKIDA, 2010), feijão (SUMARGO et al., 2016) e biomassa de microalgas (CIAN et al., 2014; JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

Diversos estudos realizaram a avaliação da qualidade nutricional de *snacks* após o enriquecimento com diferentes matérias-primas. Carvalho et al. (2012) caracterizando *snacks* de farinha de quirera de arroz e bandinha de feijão obtiveram 11,27 % de proteína, 0,09 % de lipídios, 78,14 % de carboidratos, 3,27 % de cinzas e 7,23 % de umidade. Limberguer et al. (2009) obtiveram 8,58 % proteína, 8,07 % de lipídios, 2,27 % de cinzas e 5,11 % de umidade para salgadinhos extrusados de quirera de arroz e 8,47 % proteína, 8,26 % de lipídios, 2,35 % de cinzas e 7,23 % de umidade para salgadinhos comerciais de milho. Cian et al. (2014) obtiveram incremento nos conteúdos de proteína, cinzas e lipídios ao utilizar alga vermelha para desenvolver extrusados. No estudo o conteúdo nutricional do extrusado enriquecido foi 9,60 % de proteína, 0,57 % de cinzas e 0,31 % de lipídios, sendo o incremento proteico de 7,6 % quando comparado ao controle sem alga.

Joshi, Bera e Panesar (2014) utilizaram extrusora dupla rosca co-rotativa e desenvolveram extrusados adicionados de 5 %, 7,5 %, 10 %, 12,5 % e 15 % de *Spirulina* utilizando temperatura no último estágio da extrusora entre 80 °C e 120 °C e umidade entre 13 % e 17 %. Os autores obtiveram produto otimizado com 7,5 % de *Spirulina*, o que resultou em 14,63 % de conteúdo proteico e 138,83 mg kg⁻¹ de carotenoides total. Morsy et al. (2014) produziram *snacks* em extrusora monorosca adicionados de 2,5 %, 5 %, 7,5 % e 10 % de *Spirulina* e obtiveram concentrações de até 18,11 % de proteína nos extrusados, superior ao encontrado em *snacks* comerciais (9,28 %) e no *snack* controle, sem a microalga (9,43 %).

3.6 HISTÓRICO DO LABORATÓRIO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA

O Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) foi criado em 1996 e iniciou suas pesquisas em torno do cultivo de microalgas. Desde então foram estudadas configurações de fotobiorreatores, modos de cultivo (REINEHR; COSTA, 2006), taxa de renovação de meio, concentração de corte, iluminância, temperatura, composição dos nutrientes e utilização de substratos alternativos na suplementação do meio de cultivo (ANDRADE; COSTA, 2007).

A biomassa produzida a partir dos cultivos de microalgas foi extensivamente avaliada quanto à concentração de macro e micronutrientes. Pesquisas realizadas pelo grupo também relataram o desenvolvimento de biossurfatantes (ZILIO, 2017), bioetanol (MARGARITES, 2014) e biogás (ANDRADE, 2009) utilizando microalgas, além de bioprodutos obtidos a partir da nanobiotecnologia (LISBOA, 2013).

Entre os projetos desenvolvidos no Laboratório de Engenharia Bioquímica, a biofixação de CO₂ por microalgas (DUARTE et al., 2017) e o desenvolvimento de alimentos adicionados de *Spirulina* também resultaram em diversas pesquisas. Desde 2003 são desenvolvidos produtos alimentícios adicionados da biomassa de *Spirulina*. Em 2014, um convênio com o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação foi firmado objetivando desenvolver sistema de cultivo de microalgas economicamente viável e sustentável para produção de alimentos com *Spirulina* sp. LEB 18, a serem destinados para a merenda escolar.

Dentre os alimentos desenvolvidos até o momento estão massas, sopas instantâneas, bebida isotônica, biscoito de chocolate (MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006), biscoito de limão, achocolatado, pudim, bolo de chocolate, bolo de limão, barra de cereal, alimentos para praticantes de atividades físicas e alimento tipo *shake* para idosos (SANTOS et al., 2016). Neste contexto, o desenvolvimento de *snacks* enriquecidos com *Spirulina* sp. LEB 18 vem contribuir oferecendo à população, especialmente para as crianças, alimentos de consumo prático com propriedades nutricionais, funcionais e elevada aceitação sensorial.

CAPÍTULO III

DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O presente trabalho foi desenvolvido em 2 etapas, em que, na primeira foram realizados 17 ensaios de extrusão dos *snacks* adicionados de *Spirulina* sp. LEB 18, a partir de um delineamento experimental 2³. Os ensaios foram avaliados quanto às propriedades físico-químicas e estruturais. A segunda etapa consistiu na extrusão do ensaio obtido na melhor condição e do seu respectivo controle (sem *Spirulina* sp. LEB 18) para fins de comparação quanto às propriedades nutricionais, físicas, estruturais e sensoriais, demonstrando a viabilidade da aplicação da microalga no desenvolvimento de *snacks*. Cada etapa originou um artigo para posterior submissão em periódicos de alto fator de impacto.

ARTIGO 1: EFEITO DA ADIÇÃO DE *Spirulina* NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E ESTRUTURAS DE SNACKS EXTRUSADOS.

ARTIGO 2: *Spirulina* PARA ENRIQUECIMENTO DE SNACKS: AVALIAÇÕES NUTRICIONAL, FÍSICA E SENSORIAL.

ARTIGO 1

**EFEITO DA ADIÇÃO DE *Spirulina* NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E
ESTRUTURAIS DE SNACKS EXTRUSADOS**

Efeito da adição de *Spirulina* nas propriedades físico-químicas e estruturais de *snacks* extrusados

RESUMO

A demanda por alimentos de consumo prático tem aumentado, contudo a maioria das formulações comerciais possui valor nutricional reduzido. Devido à sua composição química com elevada concentração de proteínas, a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 tem sido utilizada no desenvolvimento de diversos alimentos. Dentro deste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 e das condições de extrusão sobre as propriedades físico-químicas e estruturais de *snacks*. A concentração de proteína e as propriedades físicas como índice de expansão, densidade aparente, dureza, índice de absorção de água, índice de solubilidade em água e cor foram determinadas. Os resultados mostraram que *Spirulina* sp. LEB 18, a temperatura no último estágio da extrusora e a umidade de alimentação influenciaram as respostas do produto. O aumento da umidade de alimentação aumentou a dureza, a densidade aparente e o índice de absorção de água dos *snacks*. Maiores concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18 produziram *snacks* com maior conteúdo proteico, diferença total de cor (ΔE) e estrutura compactada. Foi demonstrado que a adição de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser realizada para produzir *snacks* com até 11,3 % de proteína e com propriedades físicas e estruturais adequadas para o consumo. Sendo assim, *snacks* contendo *Spirulina* são alternativa para a demanda de alimentos saudáveis de consumo prático.

Palavras-chave: Extrusão. Microalga. Microestrutura. Nutrição. *Snack*.

Effect of *Spirulina* addition on the physicochemical and structural properties of extruded snacks

ABSTRACT

The demand for food of practical consumption has increased, however, most commercial formulations have reduced nutritional value. Due to its chemical composition with high protein concentration, the microalga *Spirulina* sp. LEB 18 has been used in the development of various food. Within this context, the present study aimed to evaluate the effects of *Spirulina* sp. LEB 18 and the extrusion conditions on the physicochemical and structural properties of *snacks*. Protein concentration and physical properties such as expansion index, bulk density, hardness, water absorption index, water solubility index and color were determined. The results showed that *Spirulina* sp. LEB 18, temperature in the last stage of the extruder and feed moisture influenced the product responses. The increase in feed moisture increased the hardness, bulk density and water absorption index of the *snacks*. Higher concentrations of *Spirulina* sp. LEB 18 produced *snacks* with higher protein content, total color difference (ΔE) and compacted structure. It was demonstrated that the addition of 2.6% *Spirulina* sp. LEB 18 can be made to produce *snacks* up to 11.3% protein and with adequate physical and structural properties for consumption. Therefore, *snacks* containing *Spirulina* are an alternative to a demand for healthy foods of practical consumption.

Keywords: Extrusion. Microalga. Microstructure. Nutrition. *Snack*.

1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos extrusados “snacks” tem aumentado devido à variedade de formas, texturas e sabores, além da praticidade no consumo. Esta classe de produtos alimentícios apresenta elevada aceitabilidade por crianças. Contudo, a maioria das formulações possui valor nutricional reduzido, com baixa concentração de nutrientes como proteína, aminoácidos e vitaminas (ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; BASTO et al., 2016). Além disso, são fabricados a partir de cereais transgênicos e possuem elevados teores de sódio.

Diante dos desafios de suprir a demanda nutricional da população em crescimento e com altos índices de desnutrição, principalmente acometendo crianças, torna-se imprescindível a utilização de novas fontes de nutrição. Como alternativa no fornecimento de nutrientes, tem-se a microalga *Spirulina*, que possui elevada concentração de proteína digerível (MORAIS et al., 2008), além de ser fonte de ácidos graxos essenciais, vitaminas, minerais e pigmentos.

A microalga *Spirulina* apresenta possíveis efeitos que beneficiam a saúde, como melhoria do perfil lipídico (PARIKH; MANI; IYER, 2001), supressão da hipertensão (ICHIMURA et al., 2013), além de se mostrar eficiente no tratamento de desnutrição infantil (LI et al., 2012; SALL et al., 1999). *Spirulina* não necessita de terras agricultáveis para seu cultivo e demanda menor quantidade de água quando comparada à produção de outros alimentos como soja, leite, ovos e carne (HENRIKSON, 2009).

Spirulina foi aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como alimento seguro, sem efeitos toxicológicos para a saúde humana e recebeu certificação GRAS (*Generally Recognized As Safe*) (FDA, 2002a). Estudos realizados utilizando esta microalga relataram aumento da qualidade nutricional em alimentos (DE MARCO et al., 2014; MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006).

Embora o efeito de diferentes fontes de proteína tenha sido extensivamente investigado para aumentar o valor nutricional de extrusados (GOES et al., 2015; JOZINOVIĆ et al., 2016; LAZOU; KROKIDA, 2010; ONWULATA et al., 2001; PASTOR-CAVADA et al., 2011; RATHOD; ANNAPURE, 2016), existe pouca informação disponível sobre *snacks* extrusados adicionados de microalga. Alguns estudos utilizando *Spirulina* obtiveram

incremento nutricional na composição de extrusados (MORSY et al., 2014; JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 e das condições de extrusão nas propriedades físico-químicas e estruturais de *snacks*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A microalga utilizada foi *Spirulina* sp. LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira (MORAIS et al., 2008) e produzida na Planta Piloto do Laboratório de Engenharia Bioquímica, localizada em Santa Vitória do Palmar, extremo sul do Rio Grande do Sul (33°30'13''S e 53°08'59''W). As farinhas utilizadas foram farinha de milho orgânica comercial (Indústria e Comércio Salet, Coronel Bicaco, RS) e farinha de arroz orgânica comercial (Volkman Alimentos Ltda, Camaquã, RS).

A quantificação da concentração total de proteínas da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 e das farinhas foi realizada conforme método de determinação de nitrogênio total micro-Kjeldahl n° 960.52 (AOAC, 1995). Para a microalga utilizou-se 5,95 como fator de conversão de nitrogênio (LÓPEZ et al., 2010) e para as farinhas de milho e arroz foram utilizados fator de conversão 6,25 e 5,95, respectivamente.

O teor de lipídios totais para *Spirulina* sp. LEB 18 foi determinado a partir do método gravimétrico de Folch (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957), e, para as farinhas foi utilizado o método de extração Soxhlet n° 920.39C (AOAC, 1995). As cinzas foram determinadas pelo método gravimétrico n° 923.03 em mufla (550-600 °C), segundo AOAC (1995). O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico n° 925.10 em estufa conforme AOAC (1995).

A concentração de carboidratos na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 foi determinada a partir do método fenol-sulfúrico utilizando curva padrão de glicose (DUBOIS et al., 1956). Para as farinhas, os carboidratos foram determinados por diferença.

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Os ingredientes foram homogeneizados com água filtrada utilizando misturador planetário (Kitchen Aid Professional, Modelo K45SS, Cameron Park, Australia). O teor de umidade de cada formulação foi ajustado conforme planejamento experimental (Tabela 1).

Correções de desvios na umidade foram realizadas a partir de balanço de massa. As amostras foram acondicionadas em embalagens de polipropileno, seladas e mantidas a 7° C por 24 h, para assegurar o nível de hidratação uniforme.

2.3 PRÉ-TESTES DE EXTRUSÃO

A fim de determinar a melhor proporção de farinhas orgânicas de arroz e de milho a ser utilizada na formulação do *snack*, foram extrusados 3 ensaios com as proporções 1:1, 1:2 e 2:1 de farinhas orgânicas de arroz e de milho respectivamente, sem o acréscimo da microalga. Os experimentos foram realizados utilizando concentração de umidade 15 % e 140 °C no último estágio da extrusora.

Em seguida, os *snacks* foram avaliados quanto a propriedades físicas. A diferença entre as amostras foi analisada pelo teste de Tukey, com intervalo de confiança 95 % ($p < 0,05$) (MONTGOMERY, 2009). A proporção de farinhas que resultou em melhores resultados foi utilizada na extrusão dos *snacks* adicionados de diferentes concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18, conforme delineamento experimental (Tabela 1).

2.4 EXTRUSÃO

Os experimentos foram realizados em extrusora dupla rosca co-rotativa (Werner Pfleiderer Co., Modelo ZSK-30, Ramsey, USA). A geometria do parafuso foi 872 mm de comprimento e 30 mm de diâmetro (proporção L/D = 29,07).

Foi utilizada taxa de alimentação de 12,6 kg h⁻¹. A configuração da rosca iniciando a partir da extremidade de alimentação até a extremidade da matriz, considerando o número de elementos (n:a/b, KB c/d/a, a/b LH ou KB c/d/a LH) foi: 2:60/30; 2:42/21; 1:28/14; 1:KB 90/5/28; 1:21/21; 1:28/14; 4:20/10; 1:KB 90/5/28; 1:21/21; 1:28/14; 5:20/10; 1:28/14; 1:14/14; 1:KB 45/5/14LH; 4:20/10; 1:28/14; 1:10/10LH; 3:20/10; 1: KB45/5/20; 3:20/10, em que "a" é o comprimento do elemento (mm); "b" é a distância entre uma crista e outra (mm); "KB" (bloco de amassamento) é um elemento de amassar; "c" é o ângulo formado por cristas adjacentes, "d" é o número das cristas do elemento de amassamento e "LH" é o inversor de fluxo que cria um bloqueio e gera uma zona de alta pressão.

A velocidade de rotação do parafuso foi fixada em 250 rpm e, na saída da extrusora foi utilizada matriz com diâmetro de abertura de 3,8 mm (Figura 1). As temperaturas do 1º, 2º e 3º estágio foram 75 °C, 100 °C e 120 °C, respectivamente

(OLIVEIRA; ROSELL; STEEL, 2015). Os níveis de temperatura no 4º estágio foram variados de 120 a 160 °C, conforme planejamento experimental (Tabela 1).

Figura 1 – Saída da extrusora dupla rosca co-rotativa (matriz de 3,8 mm).



Após a extrusão, os *snacks* foram secos em estufa com circulação e renovação de ar a 85° C (Tecnal, Modelo TE-394/2, Piracicaba, Brasil) até umidade abaixo de 6 % (BRASIL, 1998). Os *snacks* produzidos foram acondicionados em embalagens laminadas de polipropileno biorientado e armazenados a 18°C até a realização das análises.

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento utilizado foi o planejamento experimental 2^3 , com 3 variáveis independentes, incluindo 6 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 ensaios a partir de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) (MONTGOMERY, 2009). As variáveis independentes foram: concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 na formulação, umidade de alimentação e temperatura no último estágio da extrusora (Tabela 1).

Para a definição da concentração máxima de *Spirulina* utilizada (nível $+\alpha$) considerou-se que os *snacks* serão consumidos em porções de 50 g e que a legislação permite o consumo de até 1,6 g d⁻¹ de *Spirulina* (BRASIL, 2005). Assim, a concentração máxima de *Spirulina* utilizada no delineamento experimental foi 3,2 %.

As variáveis dependentes avaliadas foram concentração de proteína, índice de expansão, densidade aparente, dureza, índice de absorção de água, índice de solubilidade em água e variação total de cor (ΔE). As respostas foram avaliadas a partir de ajuste linear e quadrático (Equação 1) (JEYAKUMARI et al., 2016; MONTGOMERY, 2009).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^K \beta_i X_i + \sum_{i=1}^K \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^K \sum_{j=i+1}^K \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Em que, Y é a variável resposta; β_0 representa a constante e β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes de regressão linear, quadrático e efeito de interação, respectivamente. X_i e X_j são os valores codificados das variáveis independentes. Os modelos de regressão foram obtidos a partir dos termos estatisticamente significativos ($p < 0,10$), em que, a adequação ao modelo foi avaliada a partir do coeficiente de determinação ($R^2 > 0,70$) (BORAH; MAHANTA; KALITA, 2016; JEYAKUMARI et al., 2016; SUMARGO et al., 2016).

Tabela 1 – Matriz dos ensaios gerada para o delineamento composto central rotacional 2^3 com seus níveis codificados e reais.

Ensaio	Concentração de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (%)	Umidade de alimentação (%)	Temperatura do último estágio (°C)
1	-1 (1,0)	-1 (16,2)	-1 (128)
2	+1 (2,6)	-1 (16,2)	-1 (128)
3	-1 (1,0)	+1 (19,8)	-1 (128)
4	+1 (2,6)	+1 (19,8)	-1 (128)
5	-1 (1,0)	-1 (16,2)	+1 (152)
6	+1 (2,6)	-1 (16,2)	+1 (152)
7	-1 (1,0)	+1 (19,8)	+1 (152)
8	+1 (2,6)	+1 (19,8)	+1 (152)
9	-1,68 (0,4)	0 (18)	0 (140)
10	+1,68 (3,2)	0 (18)	0 (140)
11	0 (1,8)	-1,68 (15)	0 (140)
12	0 (1,8)	+1,68 (21)	0 (140)
13	0 (1,8)	0 (18)	-1,68 (120)
14	0 (1,8)	0 (18)	+1,68 (160)
15	0 (1,8)	0 (18)	0 (140)
16	0 (1,8)	0 (18)	0 (140)
17	0 (1,8)	0 (18)	0 (140)

$$\alpha = (2^n)^{1/4}; n = \text{número de variáveis independentes}; \text{sendo } \alpha = 1,68$$

Foi selecionado apenas um modelo com melhor ajuste para cada resposta, a fim de determinar a melhor condição de processo. Os resultados foram submetidos à análise de regressão múltipla.

2.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS *SNACKS*

2.6.1 Proteína

A concentração de proteína dos *snacks* foi determinada a partir do nitrogênio total micro-Kjeldahl segundo método nº 960.52 da AOAC (1995), com fator de conversão de nitrogênio 6,25.

2.6.2 Índice de expansão

O índice de expansão (IE) foi calculado de acordo com Gujska e Khan (1990), conforme Equação 2, em que D_{ex} é o diâmetro do extrusado (cm) e D_0 é o diâmetro do orifício da matriz (cm). A análise foi realizada com o auxílio do paquímetro.

$$IE = \frac{D_{ex}}{D_0} \quad (2)$$

2.6.3 Densidade aparente

A densidade aparente (g cm^{-3}) foi determinada de acordo com Alvarez-Martinez, Kondury e Harper (1988), a partir da Equação 3, em que m é a massa das amostras (g), D é o diâmetro (cm) e L é o comprimento do extrusado (cm).

$$\text{Densidade aparente} = \frac{4 \times m}{\pi \times D^2 \times L} \quad (3)$$

2.6.4 Análise de cor

A cor dos extrusados foi avaliada utilizando colorímetro (Konica Minolta, modelo Chroma meter CR-400, Tokyo, Japão) e expressada em L^* [preto (0)/branco (100)], a^* [verde (-60)/vermelho (+60)] e b^* [azul (-60)/amarelo(+60)]. A variação total de cor (ΔE) foi calculada conforme a Equação 4, em que, os subscritos “0” indicam os valores dos extrusados sem adição de *Spirulina* sp. LEB 18, obtidos a partir dos pré-testes de extrusão. Também foram calculados Chroma (C^*) e ângulo hue (h), segundo as Equações 5 e 6, respectivamente.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (4)$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (5)$$

$$h^{\circ} = \tan^{-1}\left(\frac{b^{*}}{a^{*}}\right) \quad (6)$$

2.6.5 Análises de textura

As medições de dureza foram determinadas a partir de texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA-XTplus, Surrey, UK). A dureza foi calculada como a força máxima requerida para o probe cilíndrico de 20 mm penetrar até 50 % do extrusado e medida em Newton (N). A velocidade foi de 1 mm s⁻¹, à distância de 25 mm da amostra.

2.6.6 Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA)

Índice de absorção de água (Equação 7) e índice de solubilidade em água (Equação 8) foram determinados de acordo com o método desenvolvido por Anderson et al. (1969) para cereais.

$$IAA \left(\frac{g}{g}\right) = \frac{M_{RC}}{M_A - M_{RE}} \quad (7)$$

$$ISA (\%) = \frac{M_{RE}}{M_A} \times 100 \quad (8)$$

Em que, M_A= Massa da amostra (g), M_{RC} = Massa do resíduo de centrifugação (g) e M_{RE}= Massa de resíduo da evaporação (g).

2.6.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As seções transversais das amostras foram cortadas em espessura de aproximadamente 4-5 mm, alocadas em suporte metálico e revestidas com ouro a partir de pulverização catódica (Denton Vacuum, model Desk-V-Standard, Moorestown, USA). A microestrutura dos *snacks* foi examinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (JEOL Ltd., modelo JSM-6610LV, Tokyo, Japão) em voltagem de aceleração de 15 kV.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A farinha de arroz orgânica apresentou 8,6 % de proteína, 1,6 % de lipídios, 89,2 % de carboidratos e 0,6 % de cinzas. A composição da farinha de milho orgânica foi 9,7 % de

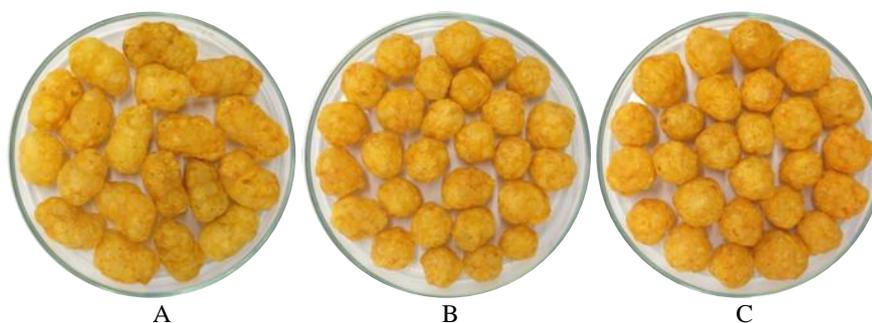
proteína, 3,8 % de lipídios, 85,7 % de carboidratos e 0,8 % de cinzas. Os resultados foram expressos em base seca.

A biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou em sua composição 59,5 % de proteína, 7,0 % de lipídios, 17,2 % de carboidratos e 16,5 % de cinzas, em base seca. A elevada concentração de proteína demonstra a viabilidade da aplicação desta microalga como enriquecimento nutricional de alimentos. Este conteúdo proteico é superior ao encontrado em outras fontes de proteína geralmente consumidas, como soja (35 %), leite em pó (35 %) e ovos (12 %) (HENRIKSON, 2009).

3.2 PRÉ-TESTES DE EXTRUSÃO

Os ensaios A, B e C, extrusados com diferentes proporções de farinhas de arroz e de milho, sem adição da microalga, estão apresentados na Figura 2. O *snack* produzido na proporção 2:1 de farinhas de arroz e milho, respectivamente, obteve melhor aparência e uniformidade de tamanho.

Figura 2 – *Snacks* extrusados nas proporções 1:2 (A), 1:1 (B) e 2:1 (C) de farinhas de arroz e de milho orgânicas.



Ao comparar os ensaios A, B e C estatisticamente, quanto aos parâmetros físicos, observou-se que houve diferença significativa entre os ensaios, exceto no parâmetro dureza (Tabela 2). O ensaio C apresentou densidade aparente inferior ao citado por Ding et al. (2005) em *snacks* extrusados à base de arroz, em que obteve valores entre 0,10 e 0,43 g cm⁻³, utilizando diferentes temperaturas e umidade de alimentação.

A expansão é a propriedade física mais importante dos *snacks* (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014). Os *snacks* com maior expansão apresentaram estrutura menos densa, proporcionando maior crocância. O ensaio C apresentou maior índice de expansão, superior ao encontrado por Ding et al. (2005) que desenvolveu extrusados de arroz e obteve índice de expansão entre 2,02 e 3,87. O menor índice de expansão no ensaio A com maior concentração de farinha de milho pode estar relacionado ao maior conteúdo de lipídios em sua composição.

Segundo Basto et al. (2016) os lipídios formam complexos com a amilose, reduzindo a concentração de amido disponível para hidratação.

Tabela 2 – Parâmetros físicos avaliados nos *snacks* extrusados com proporções 1:2 (A), 1:1 (B) e 2:1 (C) de farinhas de arroz e de milho orgânicas.

Parâmetros ¹	A	B	C
Densidade aparente (g cm ⁻³)	0,104±0,003 ^a	0,096±0,002 ^b	0,092±0,006 ^b
Índice de expansão (cm cm ⁻¹)	3,520±0,095 ^c	3,717±0,050 ^b	3,954±0,013 ^a
Dureza (N)	21,34±0,12 ^a	21,22±0,29 ^a	19,78±0,14 ^a
IAA (g g ⁻¹)	8,20±0,11 ^b	8,37±0,17 ^b	9,18±0,06 ^a
ISA (%)	46,64±1,85 ^a	35,18±2,45 ^b	26,87±0,29 ^c
<i>L</i> *	56,69±0,98 ^b	60,56±0,73 ^a	62,06±1,21 ^a
<i>a</i> *	12,33±0,93 ^b	16,29±0,64 ^a	15,37±0,71 ^a
<i>b</i> *	41,66±0,71 ^b	45,49±0,55 ^a	45,65±0,23 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).

¹ – IAA = Índice de absorção de água; ISA = Índice de solubilidade em água; *L** = luminosidade; *a** e *b** = coordenadas cromáticas (+*a** = vermelho e -*a** = verde; +*b** = amarelo e -*b** = azul).

O IAA está relacionado à capacidade de absorção e retenção de água pelos constituintes da matéria-prima, podendo ser utilizado como índice de gelatinização. O ensaio C obteve maior valor de IAA, de 9,18. O maior índice de gelatinização é considerado satisfatório no processo de extrusão, resultando em maior expansão do produto final. O ISA é utilizado como indicador de degradação de componentes moleculares, considerado uma medida da despolimerização mecânica do amido, que libera polissacarídeos livres durante a extrusão (SETH et al., 2013; SUMARGO et al., 2016). Os menores valores de ISA nos ensaios com maiores proporções de arroz podem ser explicados, segundo Ding et al. (2005), pelo elevado conteúdo de amilopectina na farinha de arroz.

Os *snacks* com maiores concentrações de farinha de arroz obtiveram maiores valores de *L**, indicando que esta propriedade foi afetada pela presença desta matéria-prima. Observou-se que o ensaio C apresentou as melhores propriedades físicas, com menor densidade aparente, maior expansão e maior *L** e, portanto, a proporção 2:1 de farinhas de arroz e milho, respectivamente foi selecionada para ser extrusada com diferentes concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18, a partir do delineamento experimental (Tabela 1).

3.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS *SNACKS*

Após extrusar os 17 ensaios conforme delineamento experimental (Tabela 1), *snacks* com diferentes propriedades físicas foram obtidos (Figura 3). A Tabela 3 mostra os resultados médios para cada resposta (variável dependente).

Figura 3 – *Snacks* elaborados com farinha de arroz orgânica, farinha de milho orgânica e *Spirulina* sp. LEB 18, para cada ensaio experimental (Tabela 1).



Modelos de regressão foram obtidos após avaliar a influência das variáveis independentes sobre as respostas. Foram considerados os valores de F calculado três vezes maior que F tabelado (Tabela 4).

Tabela 3 – Características físico-químicas dos *snacks* extrusados.

Ensaio	Proteína (%)	IE (cm cm ⁻¹)	D.ap (g cm ⁻³)	Dureza (N)	IAA (g g ⁻¹)	ISA (%)	ΔE
1	10,00	4,30	0,072	22,34	8,24	28,20	27,72
2	11,34	4,22	0,075	26,44	7,62	38,18	31,14
3	9,94	3,90	0,098	28,46	9,14	31,78	26,15
4	11,07	3,80	0,102	32,84	8,30	35,73	32,55
5	9,80	4,50	0,080	21,87	9,06	28,81	26,83
6	10,95	4,44	0,083	25,89	8,59	33,32	30,84
7	9,95	3,70	0,089	22,55	9,08	33,20	28,33
8	10,90	3,63	0,103	27,89	9,02	37,10	31,98
9	9,35	4,36	0,071	19,35	8,99	23,00	26,42
10	10,93	3,07	0,119	21,76	8,47	33,00	36,54
11	9,46	3,90	0,088	14,13	8,40	25,09	29,96
12	9,94	2,49	0,185	31,66	8,84	24,75	31,00
13	10,33	2,77	0,124	23,18	8,66	26,11	29,73
14	10,20	3,64	0,091	23,47	8,58	32,49	31,38
15	10,40	3,90	0,077	15,38	8,63	28,05	29,66
16	10,53	3,83	0,085	15,32	8,63	28,60	29,98
17	10,07	3,86	0,079	16,29	8,62	30,57	29,63

IE = índice de expansão; D.ap = Densidade aparente; IAA = índice de absorção em água (g gel.g⁻¹); ISA = Índice de solubilidade em água; ΔE = Variação total de cor.

O coeficiente de determinação para o índice de solubilidade em água (ISA) indicou falta de ajuste do modelo aos dados, sendo assim não foram geradas superfícies e modelo de regressão para esta resposta.

Tabela 4 – Equações dos modelos de regressão, coeficiente de determinação (R^2) e teste F para as respostas dos extrusados.

Resposta	Modelo de Regressão	R^2	Teste F
Proteína	Proteína = 10,45045 + 0,57113S	0,89	22,78
IE	IE = 4,007182 – 0,303750U	0,80	10,90
Densidade aparente	D.ap. = 0,085727 + 0,010250U	0,71	6,44
Dureza	Dureza = 15,43922 + 2,48322S ² + 3,27234U + 3,31230U ² + 3,46466T ²	0,71	3,93
IAA	IAA = 8,629336 - 0,249775S + 0,252475U + 0,306750T + 0,119400ST – 0,142300UT	0,97	10,74
ΔE	ΔE = 29,50115 + 2,18515S	0,89	20,97

R^2 = Coeficiente de determinação; Teste F = $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$; IE = índice de expansão; IAA = índice de absorção em água (g gel.g^{-1}); ΔE = Variação total de cor; S = Concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 na formulação (%), U = umidade de alimentação (%) e T = temperatura na última zona de extrusão ($^{\circ}\text{C}$).

3.3.1 Proteína

O modelo mostrou que a variável *Spirulina* sp. LEB 18 influenciou significativamente ($p < 0,0001$) no aumento do conteúdo proteico, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,89 (Tabela 4). A concentração de proteína das formulações variou de 9,4 a 11,3 %, (Tabela 3) sendo que, os ensaios adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 obtiveram maior incremento proteico (APÊNDICE 1).

Outros estudos também observaram aumento na concentração de proteína em alimentos adicionados de *Spirulina*. De Marco et al. (2014), após incorporarem biomassa de *Spirulina* em macarrão obtiveram aumento no teor de proteína, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Morais, Miranda e Costa (2006) desenvolveram biscoitos adicionados de *Spirulina* sp. LEB 18 e observaram aproximadamente 7 % de incremento em conteúdo proteico, quando comparado à amostra controle sem adição da microalga.

3.3.2 Índice de Expansão

Os valores de índice de expansão dos extrusados variaram de 2,5 a 4,5. Os *snacks* com maior índice de expansão apresentam estrutura menos densa, proporcionando maior crocância. A expansão obtida neste trabalho apresentou resultados similares aos encontrados por Sumargo et al. (2016) que desenvolveram extrusados de arroz e feijão e obtiveram valores

entre 3,5 e 4,2 e aos determinados por Ding et al. (2005) para extrusados à base de arroz (entre 2,02 e 3,87).

A umidade exerceu efeito significativo ($p < 0,001$) e negativo sobre o índice de expansão dos *snacks*, em todas as temperaturas e concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18 avaliadas (APÊNDICE 2). Estudos anteriores que também utilizaram arroz como matéria-prima observaram comportamento similar da umidade sobre a expansão de extrusados (BORAH; MAHANTA; KALITA, 2016; SUMARGO et al., 2016). A explicação para esta influência, de acordo com Ding et al. (2005) é que o aumento do teor de umidade de alimentação durante a extrusão reduz a dissipação de energia mecânica na extrusora, tornando a massa menos viscosa, reduzindo o grau de gelatinização do amido e resultando em menor expansão.

3.3.3 Densidade aparente

A densidade aparente considera a expansão em todas as direções, sendo uma avaliação muito importante em *snacks* extrusados (JEYAKUMARI et al., 2016; RATHOD; ANNAPURE, 2016). Estudos geralmente avaliam a influência dos parâmetros de extrusão e composição da matéria-prima nesta propriedade, sendo que, menores valores são desejados, pois resultam em produto mais crocante.

Ding et al. (2005) quando desenvolveram *snacks* extrusados à base de arroz, obtiveram valores de densidade aparente entre 0,10 e 0,43 g cm⁻³. Jeyakumari et al. (2016) produziram *snacks* a base de arroz, milho e hidrolisado proteico de camarão e observaram valores entre 0,045 e 0,082 g cm⁻³. Os resultados são próximos aos encontrados neste estudo (0,071 a 0,185 g cm⁻³).

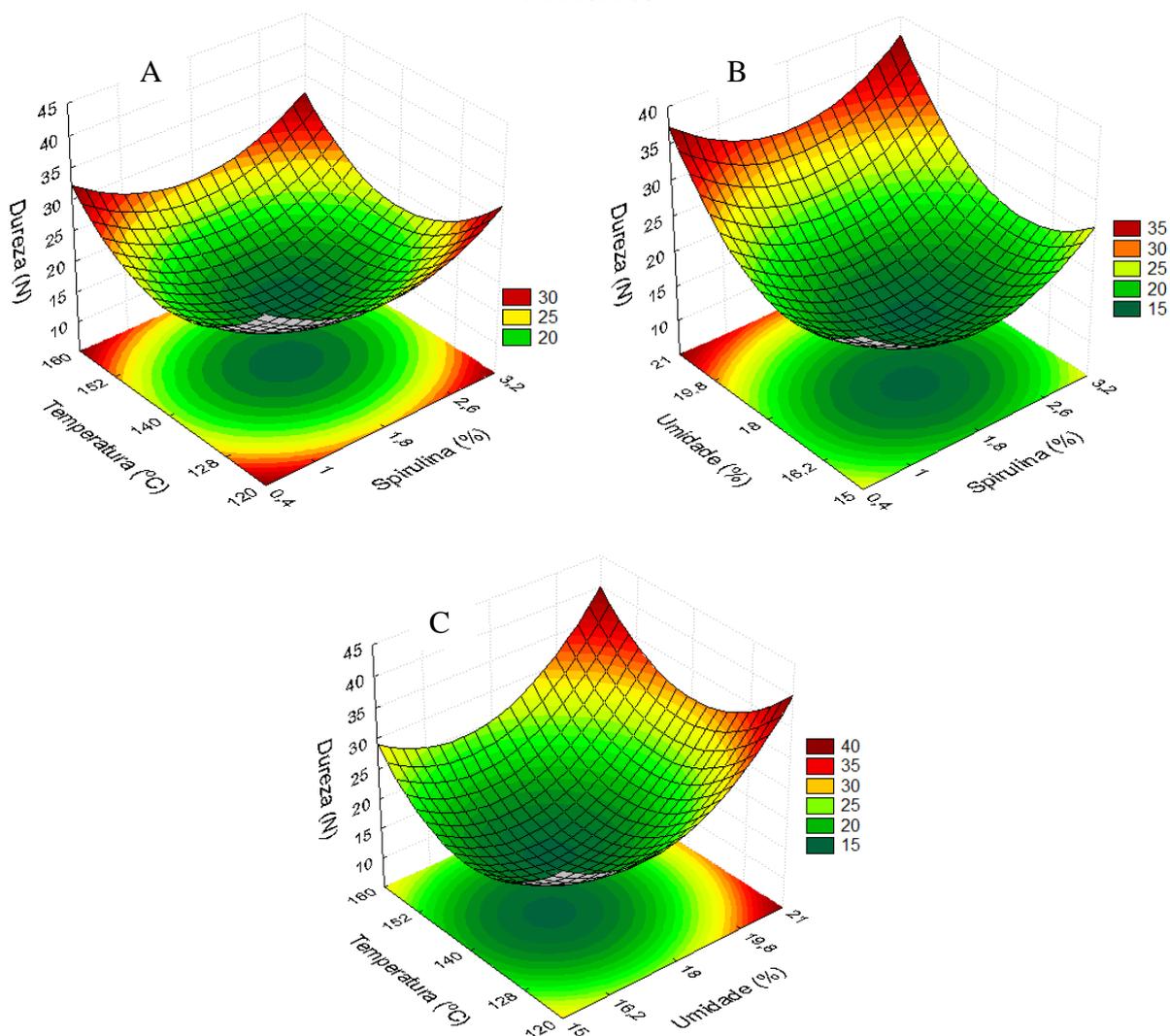
Os resultados mostraram que o modelo linear foi ajustado a partir do efeito da umidade ($p < 0,01$) com coeficiente de determinação (R^2) de 0,71 (APÊNDICE 3). Maiores valores de umidade de alimentação levaram ao aumento da densidade aparente do extrusado em todos os níveis de temperatura e concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18.

A umidade também foi o principal fator que influenciou a densidade aparente de extrusados desenvolvidos por Oliveira, Schmiele e Steel (2017) e por Stojceska et al. (2009), o que é consistente com este estudo. Isto ocorre provavelmente devido à evaporação parcial do conteúdo de umidade da mistura, resultando em produtos menos expandidos e com maior densidade aparente.

3.3.4 Dureza

Todas as variáveis estudadas apresentaram efeito significativo sobre a dureza dos *snacks* (Figura 4A-C). Os resultados obtidos mostraram que o modelo quadrático foi melhor ajustado aos dados experimentais, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,71.

Figura 4 – Efeito das variáveis independentes temperatura e *Spirulina* sp. LEB 18 (A), umidade e *Spirulina* sp. LEB 18 (B) e temperatura e umidade (C) na dureza dos *snacks* extrusados.



O incremento da umidade de alimentação resultou em aumento significativo ($p < 0,01$) da dureza do extrusado. Este efeito deve-se ao fato de que maior conteúdo de umidade diminui o cisalhamento da massa plastificada dentro da extrusora, reduzindo o amido gelatinizado e impedindo o crescimento de bolhas (STOJCESKA et al., 2009; SUMARGO et al., 2016). No presente estudo, a dureza dos *snacks* variou entre 14,1 e 32,8 N. Resultados

similares (16,2 a 43,4 N) foram relatados por Joshi, Bera e Panesar (2014) em extrusados de milho adicionados de microalga.

A influência de *Spirulina* sp. LEB 18 no aumento de dureza ocorre devido à elevada concentração de proteína presente na composição desta microalga (59,5 %). A proteína hidrofílica tende a competir com o amido pela água durante a extrusão, reduzindo a gelatinização e resultando em menor expansão e maior dureza dos extrusados. Além disso, a maior concentração de proteína também pode resultar em diferenças na pressão e temperatura da massa no interior da extrusora, influenciando as propriedades texturais (SUMARGO et al., 2016). Resultados semelhantes foram observados por Lazou e Krokida (2010), Sumargo et al. (2016) e por Onwulata et al. (2001), que obtiveram aumento da dureza quando elevaram a concentração de proteína em suas formulações.

No presente estudo, o maior resultado de dureza foi obtido no ensaio contendo 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18, 19,8 % de umidade e 128 °C no último estágio da extrusora. Este resultado confirma que elevados níveis de proteína (*Spirulina* sp. LEB 18) e umidade de alimentação não devem ser utilizados em conjunto com menores temperaturas, pois resultam na redução da qualidade tecnológica dos *snacks*.

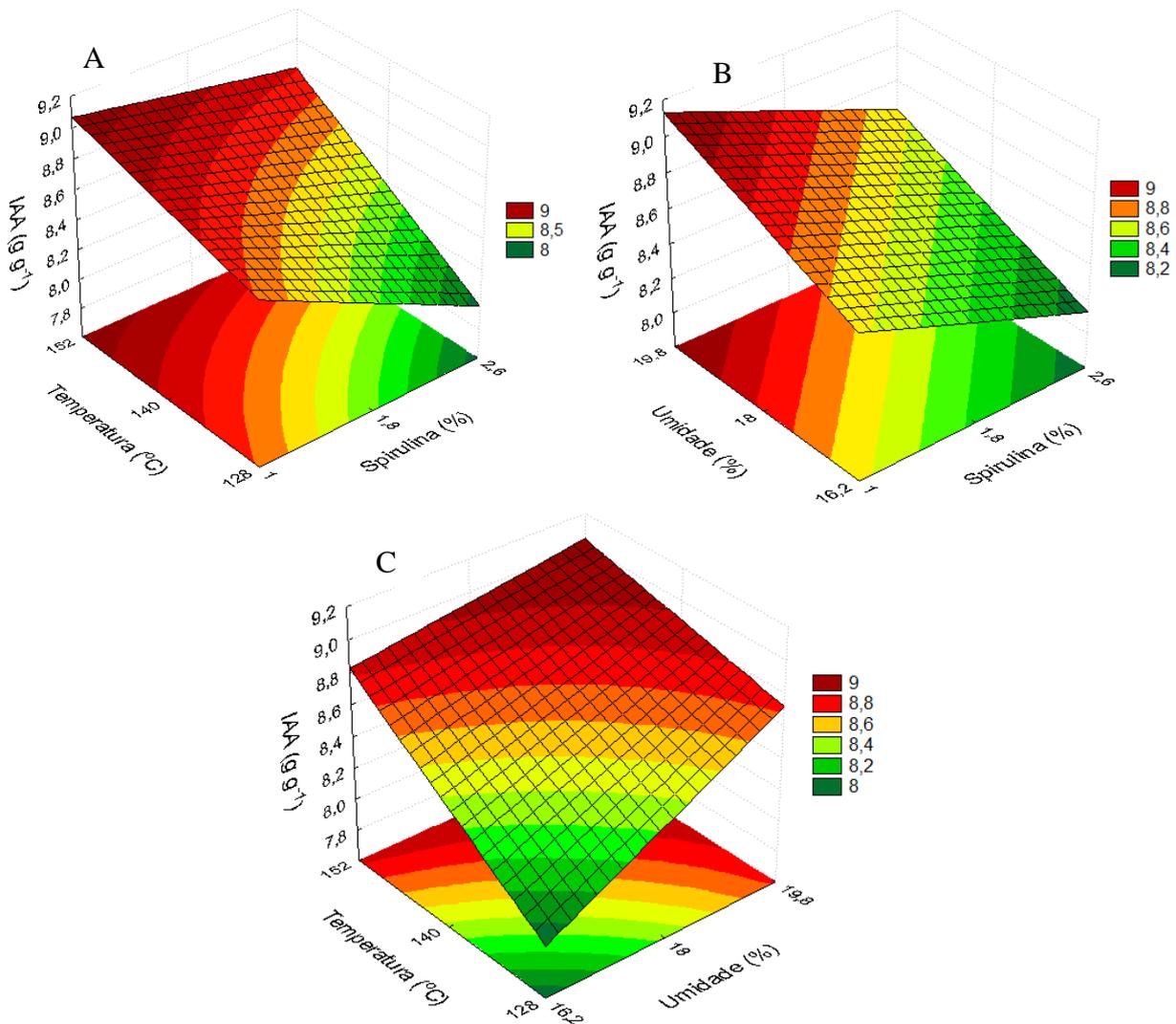
3.3.5 Índice de Absorção de Água e Índice de Solubilidade em Água

O IAA está relacionado à capacidade de absorção e retenção de água pelos constituintes da matéria-prima, podendo ser utilizado como índice de gelatinização (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014). Como pode ser observado na Figura 5 (A-C), o aumento de umidade de alimentação influenciou positivamente ($p < 0,01$) o IAA.

A variável concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 também apresentou efeito significativo ($p < 0,01$), resultando na redução do índice de absorção de água dos extrusados. Este decréscimo pode estar associado à redução da concentração de farinhas em substituição à *Spirulina* sp. LEB 18, que resultou em menor gelatinização do amido no interior da extrusora.

Comportamento semelhante foi observado em outras pesquisas que incluíram matérias-primas com elevada concentração de proteína na elaboração de extrusados. Sumargo et al. (2016) relataram desempenho similar exercido pelo feijão durante a extrusão. Apesar disso, os resultados obtidos no presente estudo (7,6 a 9,1 g g⁻¹) foram superiores aos encontrados em outros estudos que utilizaram farinha de arroz (DING et al., 2005), microalga e farinha de milho como matéria-prima (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

Figura 5 – Efeito das variáveis independentes temperatura e *Spirulina* sp. LEB 18 (A), umidade e *Spirulina* sp. LEB 18 (B) e temperatura e umidade (C) no IAA dos *snacks* extrusados.



O ISA é uma medida da despolimerização mecânica do amido, que libera polissacarídeos livres durante a extrusão (SETH et al., 2013; SUMARGO et al., 2016). Os resultados obtidos para o ISA variaram entre 23,0 e 38,2 % (Tabela 3), e foram próximos a outro estudo que obteve valores entre 21,5 e 32,7 % em *snacks* a base de arroz (DING et al., 2005). Contudo, o coeficiente de determinação foi $R^2=0,46$ e nenhuma variável exerceu efeito significativo sobre esta resposta ($p>0,10$).

3.3.6 Cor

A cor é um atributo importante na aceitabilidade de alimentos, sendo indicador de qualidade, estado de conservação, expectativa de sabor e valor comercial (FRADIQUE et al., 2010). Os resultados de ΔE variaram entre 26,2 e 36,5. Os valores obtidos para a mudança total de cor (ΔE) mostraram que o modelo linear foi ajustado a partir do efeito da

concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 ($p < 0001$) (APÊNDICE 4), com coeficiente de determinação (R^2) de 0,89. *Snacks* à base de arroz e milho apresentam coloração próxima à amarela ($+b^*$) e elevada luminosidade (L^*). Entretanto, a cor verde proporcionada pela adição de *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser um atrativo em produtos desenvolvidos para crianças.

Tabela 5 – Parâmetros de cor para os ensaios (9, 15 e 10) contendo 0,4, 1,8 e 3,2 % de *Spirulina* sp. LEB 18, respectivamente.

Parâmetros	Ensaio		
	9	15	10
L^*	61,5±0,6 ^a	49,9±0,4 ^b	41,7±1,8 ^c
a^*	1,9±0,2 ^a	1,8±0,1 ^b	-0,8±0,1 ^c
b^*	22,7±0,7 ^a	22,3±0,3 ^a	20,0±1,1 ^b
C^*	22,8±0,7 ^a	22,3±0,3 ^a	20,0±1,1 ^b
h	85,1±0,5 ^c	85,5±0,2 ^b	92,4±0,3 ^a
ΔE	26,4±0,8 ^c	29,7±0,1 ^b	36,5±1,4 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).

L^* = luminosidade; a^* e b^* = coordenadas cromáticas ($+a^*$ = vermelho e $-a^*$ = verde; $+b^*$ = amarelo e $-b^*$ = azul); C^* = Chroma; h = ângulo Hue e ΔE = Variação total de cor.

Maiores valores para ΔE foram obtidos com o aumento de *Spirulina* sp. LEB 18, em todos os níveis de temperatura e umidade utilizados. Este comportamento é devido aos pigmentos presentes na biomassa desta microalga (clorofila, carotenoides e ficocianina) (FRADIQUE et al., 2010). A influência exercida pela microalga nos parâmetros de cor pode ser observada na Tabela 5, em que foram comparados ensaios extrusados nas mesmas condições, porém com diferentes concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18.

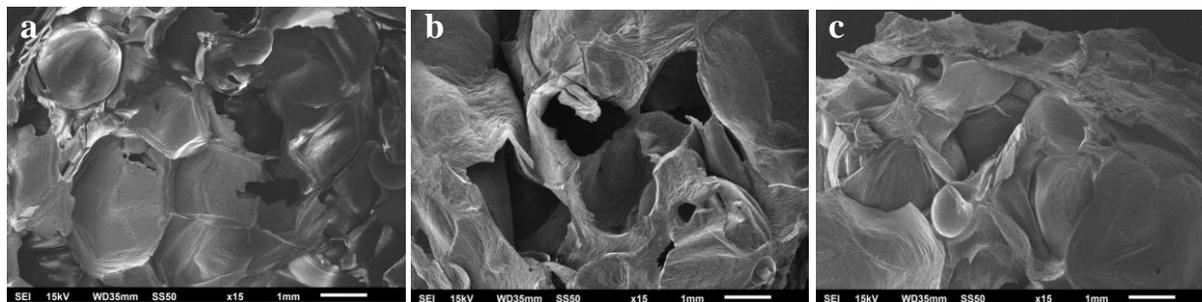
A adição de maiores concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18 nos *snacks* extrusados ocasionou redução de a^* , b^* , C^* e da luminosidade (L^*). Além disso, os ensaios com maiores conteúdos de microalga obtiveram aumento nos valores do ângulo Hue (h), o que era esperado devido à coloração verde da microalga, que tende a ficar mais próxima ao ângulo de 180°. Os resultados foram similares aos obtidos em outros estudos que avaliaram a influência da adição de *Spirulina* na cor dos alimentos (FRADIQUE et al. 2010; JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

3.4 MICROESTRUTURA

Após a obtenção dos extrusados, os efeitos causados pelas condições de extrusão e concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18 puderam ser observados por microfotografias utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV). Estruturas não-homogêneas e bolhas

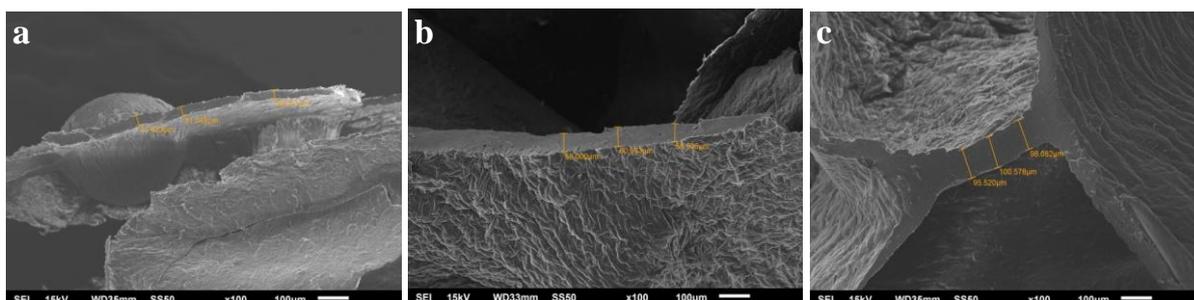
de ar de variadas dimensões foram observadas (Figura 6). Os *snacks* apresentaram paredes com espessura entre 30,3 μm e 114,6 μm .

Figura 6 – Microfotografia dos *snacks* extrusados com (a) 0,4 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (ensaio 9); (b) 1,8 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (ensaio 16) e (c) 3,2 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (ensaio 10).



Estruturas mais compactadas, com menor tamanho de bolha e paredes mais espessas (Figura 7) foram associadas ao aumento da concentração de *Spirulina* sp. LEB 18, que influenciou significativamente a variável dureza. De acordo com Schmiele (2009), isto ocorre, pois determinadas proteínas são hidrofílicas e tendem a competir com o amido pelo vapor de água, impedindo a hidratação do mesmo, resultando em paredes mais espessas e em estruturas com maior dureza.

Figura 7 – Espessura das paredes dos *snacks* extrusados com (a) 0,4 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (ensaio 9); (b) 1,8 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (ensaio 16) e (c) 3,2 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (ensaio 10).



As paredes dos ensaios contendo 0,4, 1,8 e 3,2 % de *Spirulina* sp. LEB 18 apresentaram espessuras médias de 30,25 μm , 58,02 μm e 98,06 μm , respectivamente. Lazou e Krokida (2010), ao aumentarem a quantidade de farinha de lentilha com elevada concentração de proteína em *snacks* observaram influência similar na microestrutura. Os autores também obtiveram o espessamento das paredes dos extrusados, bem como redução na quantidade de bolhas de ar formadas na extrusão, resultando em estruturas mais rígidas.

Apesar da influência nos parâmetros físicos, a utilização de maiores concentrações de *Spirulina* sp. LEB 18 é interessante para o enriquecimento nutricional de alimentos, pois

esta microalga possui elevado conteúdo de biocompostos como proteína, vitaminas e minerais (HENRIKSON, 2009) em sua biomassa. Diversos estudos realizados a partir da adição de *Spirulina* em alimentos relataram melhorias em diferentes parâmetros nutricionais (DE MARCO et al., 2014; FRADIQUE et al., 2010; MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006).

A avaliação da microestrutura contribuiu para demonstrar a influência de *Spirulina* sp. LEB 18 no processo, o que pode ser interessante para se associar com as respostas quantitativas (por exemplo: dureza, densidade aparente, índice de expansão). Este tipo de análise tem se tornado cada vez mais frequente em *snacks* extrusados, proporcionando entendimento da estrutura do produto.

3.5 MELHOR CONDIÇÃO

A melhor combinação de concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 e das condições de extrusão foi selecionada para obter a melhor condição de desenvolvimento dos *snacks*. Buscou-se maiores valores de concentração de proteína, de índice de expansão e de ΔE e menores valores de densidade aparente e dureza dos *snacks*. A partir destes critérios, pela interpretação das superfícies apresentadas (Figura 4, Figura 5, APÊNDICES 1, 2, 3 e 4), foi obtida a melhor condição de processo com 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18, 16,2 % de umidade de alimentação e temperatura do último estágio da extrusora de 143 °C.

As respostas previstas para esta condição foram: concentração de proteína de 11,02 %, índice de expansão de 4,31, densidade aparente de 0,075 g cm⁻³, dureza de 18,18 N, índice de absorção de água de 8,27 g g⁻¹ e ΔE de 31,69. Comparando a concentração de proteína prevista e a composição da matéria-prima, observa-se que o *snack* obtido na melhor condição proporcionará incremento de aproximadamente 22 % em proteína.

4 CONCLUSÃO

A melhor condição para o desenvolvimento dos *snacks* foi 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18, 16,2 % de umidade de alimentação e 143 °C no último estágio da extrusora. O aumento da umidade de alimentação prejudicou a extrusão, dificultando a expansão na saída da matriz e proporcionando *snacks* com estruturas mais rígidas, compactadas e com maior densidade aparente.

A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser incorporada como incremento proteico em *snacks* extrusados e ainda resultar em produto com propriedades físicas e estruturais adequadas para o consumo. A adição de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18

proporcionou *snacks* com até 11,3 % de proteína. Sendo assim, os *snacks* enriquecidos com *Spirulina* sp. LEB 18 são alternativa para a demanda de alimentos saudáveis de consumo prático.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) pelo apoio financeiro, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas e à Inflex – Indústria e Comércio de Embalagens (Dourados, Brasil) pela doação das embalagens.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDURY, K. P.; HARPER, J. M. A general model for expansion of extruded products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 609-615, 1988.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN, E. L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 1, p. 4-7, 1969.
- ANTON, A. A.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded *snacks* with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. **Food Chemistry**, v. 113, p. 989–996, 2009.
- AOAC - THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Virgínia: AOAC International, 1995.
- BASTO, G. J.; CARVALHO, C. W. P.; SOARES, A. G.; COSTA, H. T. G. B.; CHÁVEZ, D. W. H.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Physicochemical properties and carotenoid content of extruded and non-extruded corn and peach palm (*Bactris gasipaes*, Kunth). **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 312-318, 2016.
- BORAH, A.; MAHANTA, C. L.; KALITA, D. Optimization of process parameters for extrusion cooking of low amylose rice flour blended with seeded banana and carambola pomace for development of minerals and fiber rich breakfast cereal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 221-232, 2016.
- BRASIL. Portaria nº 36, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos à Base de Cereais para Alimentação Infantil. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan. 1998.
- BRASIL. **Lista de Novos Ingredientes Aprovados**. [S.l]: 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm. Acesso em: 20 de ago. 2016, 16:40:00.

DE MARCO, E. R.; STEFFOLANI, M. E.; MARTINEZ, C. S.; LEÓN, A. E. Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102-108, 2014.

DING, Q.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 283-289, 2005.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.3, p. 350-356, 1956.

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

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **GRAS Notification for *Spirulina* microalgae**. [S.l]: 2002a. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/UCM265861>. Acesso em: 08 de ago. 2016, 10:12:00.

FRADIQUE, M.; BATISTA, A. P.; NUNES, M. C.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; RAYMUNDO, A. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: preparation and evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1656-1664, 2010.

GOES, E. S. R.; SOUZA, M. L. R.; CAMPELO, D. A. V.; YOSHIDA, G. M.; XAVIER, T. O.; MOURA, L. B.; MONTEIRO, A. R. G. Extruded *snacks* with the addition of different fish meals. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 683-689, 2015.

GUJSKA, E.; KHAN, K. Effect of temperature on properties of extrudates from high starch fraction of navy, pinto and garbanzo beans. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 466-469, 1990.

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

ICHIMURA, M.; KATO, S.; TSUNEYAMA, K.; MATSUTAKE, S.; KAMOGAWA, M.; HIRAO, E.; MIYATA, A.; MORI, S.; YAMAGUCHI, N.; SURUGA, K.; OMAGARI, K. Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome. **Nutrition Research**, v. 33, p. 397-405, 2013.

JEYAKUMARI, A.; DAS, M. S. R.; BINDU, J.; JOSHY, C. G.; ZYNUDHEEN, A. A. Optimisation and comparative study on the addition of shrimp protein hydrolysate and shrimp powder on physicochemical properties of extruded *snack*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 1578-1585, 2016.

JOSHI, S. M. R.; BERA, M. B.; PANESAR, P. S. Extrusion cooking of maize/*Spirulina* mixture: factors affecting expanded product characteristics and sensory quality. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 2, p. 655-664, 2014.

JOZINOVIC, A.; ŠUBARIĆ, D.; AČKAR, D.; BABIĆ, J.; MILIČEVIĆ, B. Influence of spelt flour addition on properties of extruded products based on corn grits. **Journal of Food Engineering**, v. 172, p. 31-37, 2016.

LAZOU, A.; KROKIDA, M. Structural and textural characterization of corn–lentil extruded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 392-408, 2010.

LI, L.; ZHAO, X.; WANG, J.; MUZHINGI, T.; SUTER, P. M.; TANG, G.; YIN, S. *Spirulina* can increase total-body vitamin A stores of chinese school-age children as determined by a paired isotope dilution technique. **Journal of Nutritional Science**, v. 1, n. 19, p. 1-7, 2012.

LÓPEZ, C. V. G.; GARCÍA, M. C. C.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; BUSTOS, C. S.; CHISTI, Y.; SEVILLA, J. M. F. Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7587–7591, 2010.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 8. ed. Arizona: John Wiley & Sons, Inc, 2009. 730 p.

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

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

MORSY, O. M.; SHAROBA, A. M.; EL-DESOUKY, A. I.; BAHLOL, H. E. M.; ABD EL MAWLA, E. M. Production and evaluation of some extruded food products using *Spirulina* algae. **Annals Of Agricultural Science Moshtohor**, v. 52, n. 4, p. 329-342, 2014.

OLIVEIRA, L. C.; ROSELL, C. M.; STEEL, C. J. Effect of the addition of whole-grain wheat flour and of extrusion process parameters on dietary fibre content, starch transformation and mechanical properties of a ready-to-eat breakfast cereal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 6, p. 1504-1514, 2015.

OLIVEIRA, L. C.; SCHMIELE, M.; STEEL, C. J. Development of whole grain wheat flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 261-270, 2017.

ONWULATA, C. I.; SMITH, P. W.; KONSTANCE, R. P.; HOLSINGER, V. H. Incorporation of whey products in extruded corn, potato or rice *snacks*. **Food Research International**, v. 34, n. 8, p. 679-687, 2001.

PARIKH, P.; MANI, U.; IYER, U. Role of *Spirulina* in the Control of Glycemia and Lipidemia in Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of Medicinal Food**, v. 4, n. 4, p. 193-199, 2001.

PASTOR-CAVADA, E.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; JUAN, R.; PASTOR, J. E.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J. Effects of the addition of wild legumes (*Lathyrus annuus* and *Lathyrus clymenum*) on the physical and nutritional properties of extruded products based on whole corn and brown rice. **Food Chemistry**, v. 128, p. 961–967, 2011.

RATHOD, R. P.; ANNAPURE, U. S. Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 114-123, 2016.

SALL, M. G.; DANKOKO, B.; BADIANE, M.; EHUA, E.; KUAKUWI, N. Resultats d'un essai de rehabilitation nutritionnelle avec la *Spiruline* a Dakar. **Médecine d'Afrique Noire**, v. 46, n. 3, p. 143-146, 1999.

SCHMIELE, M. **Caracterização das frações com diferentes granulometrias de milho dentado e duro e avaliação na qualidade de extrusados expandidos**. 2009. [s.n.]. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SETH, D.; BADWAIK, L. S.; GANAPATHY, V. Effect of feed composition, moisture content and extrusion temperature on extrudate characteristics of yam-corn-rice based snack food. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1830-1838, 2013.

STOJCESKA, V.; AINSWORTH, P.; PLUNKETT, A.; IBANOGLU, S. The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat *snacks* made from food by-products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 226-232, 2009.

SUMARGO, F.; GULATI, P.; WEIER, S. A.; CLARKE, J.; ROSE, D. J. Effects of processing moisture on the physical properties and *in vitro* digestibility of starch and protein in extruded brown rice and pinto bean composite flours. **Food Chemistry**, v. 211, p. 726–733, 2016.

THYMI, S.; KROKIDA, M. K.; PAPPA, A.; MAROULIS, Z. B. Structural properties of extruded corn starch. **Journal of Food Engineering**, v. 68, n. 4, p. 519–526, 2005.

ARTIGO 2

Spirulina PARA ENRIQUECIMENTO DE SNACKS: AVALIAÇÕES NUTRICIONAL,
FÍSICA E SENSORIAL

***Spirulina* para enriquecimento de *snacks*: Avaliações nutricional, física e sensorial**

RESUMO

Alimentos extrusados de consumo prático “snacks”, possuem vantagens como a conveniência e elevada aceitabilidade entre adultos e crianças. Entretanto, a maioria dos produtos disponíveis comercialmente é considerada *junk food*, devido ao baixo valor nutricional de suas formulações. A microalga *Spirulina* possui elevada concentração de nutrientes como proteína altamente digerível. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi adicionar *Spirulina* sp. LEB 18 para o enriquecimento nutricional de *snacks*. Foram desenvolvidas duas formulações: SP com 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 e C (0 % *Spirulina*). Em seguida, os extrusados foram avaliados quanto ao conteúdo nutricional (proteína, lipídios, cinzas, carboidratos, carotenoides e digestibilidade proteica *in vitro*), propriedades físicas (índice de expansão, densidade aparente, dureza, índice de absorção em água, índice de solubilidade em água e parâmetros de cor) e sensoriais (aroma, cor, sabor, textura, avaliação global e intenção de compra), além de avaliações na microestrutura e análises microbiológicas. A adição de *Spirulina* sp. LEB 18 aumentou o conteúdo proteico do extrusado em 22,6 %, além da concentração de minerais e carotenoides, sem alterar significativamente ($p > 0,05$) parâmetros físicos como índice de expansão e dureza. Os parâmetros de cor foram influenciados significativamente ($p < 0,05$) pela adição da microalga. A análise de microestrutura da formulação SP mostrou bolhas de ar de tamanhos diferenciados e paredes finas ($18,50 \pm 1,50 \mu\text{m}$). Os *snacks* com microalga obtiveram índice de aceitação sensorial de 82 %. Conclui-se que *Spirulina* sp. LEB 18 pode ser utilizada na concentração de 2,6 % e resultar em *snacks* com elevado conteúdo nutricional e aceitação sensorial.

Palavras-chave: Avaliação sensorial. Extrusão. Microalga. Microestrutura. Nutrientes.

***Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluation**

ABSTRACT

Extruded foods for practical consumption "snacks", have advantages such as convenience and high acceptability between adults and children. However, most commercially available products are considered junk food because of the low nutritional value of their formulations. *Spirulina* microalga has a high concentration of nutrients such as digestible protein. In this context, the objective of this work was to added *Spirulina* sp. LEB 18 for nutritional enrichment of *snacks*. Two formulations were developed: SP with 2.6 % *Spirulina* sp. LEB 18 and C (0 % *Spirulina*). Then, the extrudates were evaluated for nutritional content (protein, lipids, ashes, carbohydrates, carotenoids and protein digestibility *in vitro*), physical properties (expansion index, bulk density, hardness, water absorption index, water solubility index and color parameters) and sensory evaluations (flavor, color, taste, texture, overall evaluation and purchase intention), as well as microstructure and microbiological evaluations. The addition of 2.6 % of *Spirulina* sp. LEB 18 increased the protein content of the extrudate by 22.6 %, in addition to the concentration of minerals and carotenoids, without significantly altering ($p > 0.05$) physical parameters such as expansion index and hardness. The color parameters were significantly influenced ($p < 0.05$) by addition of the microalga. The microstructure analysis of the SP formulation showed air bubbles of different sizes and thin cell walls (18.50 ± 1.50

μm). The *snacks* added microalga obtained a sensory acceptance index of 82 %. It was concluded that *Spirulina* sp. LEB 18 can be used in the concentration of 2.6 % and also result in *snacks* with high nutritional content and sensory acceptance.

Keywords: Extrusion. Microalga. Microstructure. Nutrients. Sensory evaluation.

1 INTRODUÇÃO

As microalgas têm sido utilizadas para a alimentação há milhares de anos (SPOLAORE et al., 2006). Devido ao elevado valor nutricional de suas moléculas como ácidos graxos essenciais, aminoácidos essenciais, ficocianina e carotenoides, algumas microalgas são de interesse para o desenvolvimento de produtos médicos, farmacêuticos, cosméticos e para aumentar o conteúdo de nutrientes em produtos alimentícios (SPOLAORE et al., 2006; VOLK; FURKERT, 2006).

Microalgas são capazes de acumular carboidratos, proteínas, lipídios e substâncias de elevado valor nutricional a partir da utilização eficiente da energia solar e CO_2 atmosférico (MATOS et al., 2016). Dentre estas, destaca-se a microalga *Spirulina*, que recebeu certificação GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e tem seu consumo autorizado como alimento ou suplemento alimentar (FDA, 2002a).

No Brasil, *Spirulina* foi autorizada como alimento pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e a recomendação para seu consumo é de até $1,6 \text{ g d}^{-1}$ (BRASIL, 2005). Contudo, a quantidade permitida no Brasil ainda é inferior à citada pelo FDA para consumo diário (FDA, 2002a). Diversos estudos utilizando *Spirulina* em alimentos têm sido realizados. Pesquisas relataram o aumento da qualidade nutricional em biscoitos (MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006) e em *snacks* (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014).

Nos últimos anos, a demanda por *snacks* com propriedades nutricionais e funcionais tem aumentado (RATHOD; ANNAPURE, 2016), devido à elevada praticidade, conveniência e aceitabilidade destes alimentos, principalmente entre crianças (POTTER; STOJCESKA; PLUNKETT, 2013). Usualmente, os extrusados disponíveis no mercado apresentam valor nutricional reduzido, com baixas concentrações de proteína e biocompostos (ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; SUMARGO et al., 2016). Assim, o desenvolvimento de *snacks* enriquecidos com *Spirulina* sp. LEB 18 pode aliar a versatilidade e conveniência do extrusado com a qualidade nutricional da microalga.

O processo de extrusão utilizado na fabricação de *snacks* apresenta vantagens como processamento rápido, menor custo e maior flexibilidade, possibilitando a mínima degradação de nutrientes e a inativação de compostos indesejáveis (ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; ONWULATA; MCALOON, 2011; SUMARGO et al., 2016). Este processo utiliza elevada temperatura durante curto tempo (HTST) para modificar as matérias-primas, alterando as propriedades mecânicas, sensoriais e a digestibilidade de alguns compostos (LAZOU; KROKIDA, 2010; PASTOR-CAVADA et al., 2011).

Na elaboração de extrusados, as propriedades físicas como expansão, dureza e densidade aparente são parâmetros importantes em termos de aceitação sensorial do consumidor. Dentre os atributos sensoriais, a textura desempenha papel principal na avaliação dos extrusados (JEYAKUMARI et al., 2016; PAMIES et al., 2000).

Diversos estudos têm investigado a influência de diferentes fontes alimentícias no enriquecimento de *snacks* (BASTO et al., 2016; CIAN et al., 2014; MORSY et al., 2014; POTTER; STOJCESKA; PLUNKETT, 2013), entretanto existe pouca informação com relação ao efeito da microalga *Spirulina* na qualidade nutricional e sensorial destes produtos (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014; MORSY et al., 2014). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi adicionar *Spirulina* sp. LEB 18 para o enriquecimento nutricional de *snacks*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

A microalga utilizada foi *Spirulina* sp. LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira (MORAIS et al., 2008) e produzida na Planta Piloto do Laboratório de Engenharia Bioquímica, localizada em Santa Vitória do Palmar, extremo sul do Rio Grande do Sul (33°30'13''S e 53°08'59''W). As farinhas orgânicas utilizadas foram farinha de milho (Indústria e Comércio Salet, Coronel Bicaco, RS) e farinha de arroz (Volkman Alimentos Ltda, Camaquã, RS).

A biomassa foi obtida seca, mantida sob congelamento e após, moída em moinho de bolas (Modelo Q298, Quimis, Brasil) e peneirada até granulometria de 0,3 mm. A biomassa moída foi então, embalada a vácuo (Modelo Supervac 400, Sulpack, Brasil) e armazenada sob refrigeração (7 °C) até sua análise e utilização.

2.2 COMPOSIÇÃO DE BIOCOMPOSTOS EM *Spirulina* sp. LEB 18.

A composição centesimal da matéria-prima utilizada foi determinada no Artigo 1. No presente estudo, foi analisada a concentração de biocompostos (carotenoides, ficocianina, ferro e cálcio) presentes na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18.

2.2.1 Carotenoides

Os carotenoides totais foram extraídos a partir de metodologia proposta por Fanning et al. (2009) e modificada por Ahmed et al. (2014), utilizando éter de petróleo como solvente (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). O excesso de água dos sobrenadantes foi retirado com sulfato de sódio (MICHELON et al., 2012).

A determinação da concentração de carotenoides totais foi realizada em espectrofotômetro (UVmini-1240, Shimadzu, Quioto-Japão) a 450 nm (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A quantificação foi realizada conforme Equação 1 (DAVIES, 1976) e os resultados expressos em termos de seu carotenoide majoritário β -caroteno (PIGNOLET et al., 2013) em éter de petróleo, com coeficiente de absorvidade molar de 2592 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}) = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times m} \quad (1)$$

Em que, A= Absorbância a 450nm, V = volume de éter (mL), $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$, m = massa da amostra (g).

2.2.2 Ficocianina

A extração de ficocianina foi realizada segundo metodologia descrita por Silveira et al. (2007) modificada por Prates (2015). A quantificação foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm e 652 nm (UVmini-1240, Shimadzu, Quioto-Japão). O conteúdo total de ficocianina foi determinado segundo método de Bennett e Bogorad (1973).

2.2.3 Minerais

Ferro (Fe) e cálcio (Ca) foram determinados a partir de espectrometria de absorção atômica por chama (ContrAA 700, Analytik Jena, Alemanha), com prévia digestão

ácida assistida por micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Austria), conforme Soares et al. (2012).

2.3 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA EXTRUSÃO

Duas amostras diferentes foram preparadas: C e SP. A amostra controle (C) foi formulada com a proporção de 2:1 de farinhas de arroz e de milho orgânicas, respectivamente, definida a partir de pré-testes de extrusão. A amostra (SP) foi preparada pela adição de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 na formulação controle.

A concentração de *Spirulina* sp. LEB 18 adicionada na formulação SP foi definida no Artigo 1 e atendeu aos requisitos da Resolução ANVS/MS n.º 16 que aprova o regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, publicada no DOU em 3/12/99 e permite o consumo de até 1,6 g d⁻¹ desta microalga (BRASIL, 1999, 2005). Os ingredientes foram pesados e homogeneizados com 16,2 % de água filtrada, utilizando misturador planetário (Kitchen Aid Professional, Modelo K45SS, Cameron Park, Austrália). Após, as amostras foram acondicionadas em embalagens de polipropileno, seladas e mantidas em refrigerador a 7° C, durante 24 h, para assegurar o nível de hidratação uniforme na mistura.

2.4 EXTRUSÃO

Os ensaios de extrusão foram realizados no Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos, no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, utilizando extrusora dupla rosca co-rotativa (Werner Pfleiderer Co., Modelo ZSK-30, Ramsey, USA). A geometria do parafuso geral foi 872 mm de comprimento e 30 mm de diâmetro (proporção L/D = 29,07).

Taxa de alimentação de amostra de 12,6 kg h⁻¹ foi utilizada. A configuração de rosca iniciando a partir da extremidade de alimentação até a extremidade da matriz, considerando o número de elementos (n:a/b, KB c/d/a, a/b LH ou KB c/d/a LH) foi: 2:60/30; 2:42/21; 1:28/14; 1:KB 90/5/28; 1:21/21; 1:28/14; 4:20/10; 1:KB 90/5/28; 1:21/21; 1:28/14; 5:20/10; 1:28/14; 1:14/14; 1:KB 45/5/14LH; 4:20/10; 1:28/14; 1:10/10LH; 3:20/10; 1:KB45/5/20; 3:20/10, em que "a" é o comprimento do elemento (mm); "b" é a distância entre uma crista e outra (mm); "KB" (bloco de amassamento) é um elemento de amassar; "c" é o ângulo formado por cristas adjacentes, "d" é o número das cristas do elemento de

amassamento e “LH” é o inversor de fluxo que cria um bloqueio e gera uma zona de alta pressão.

A velocidade de rotação do parafuso foi fixada em 250 rpm e o diâmetro de abertura da matriz de saída foi 3,8 mm. As temperaturas do 1º, 2º, 3º e 4º estágio foram 75 °C, 100 °C, 120 °C e 143 °C, respectivamente. Todos os parâmetros de extrusão necessários para operação do equipamento, incluindo umidade de alimentação e temperaturas nos estágios da extrusora foram definidos no Artigo 1.

Após a extrusão, os *snacks* foram secos em estufa com circulação e renovação de ar a 85° C (Tecnal, Modelo TE-394/2, Piracicaba, Brasil) de modo a obter produto com umidade inferior a 6 % (BRASIL, 1998).

2.5 AROMATIZAÇÃO

A aromatização dos *snacks* foi realizada na Planta Piloto de Produtos Drageados, pertencente ao Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolates do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). A proporção dos ingredientes e o aroma utilizado na formulação foram definidos a partir de pré-testes de aromatização.

Os *snacks* foram aromatizados em drageadeira de 10 L (Siaht, modelo Siaht 10L, Jundiaí, Brasil), em que foram aspergidos sobre estes 5 % de óleo de girassol, utilizando pistola pneumática. Após, foi adicionado aos extrusados a mistura de 2 % de sal micronizado, 0,7 % de glutamato monossódico micronizado e 2 % de aroma em pó de cebola e salsa. Os *snacks* foram homogeneizados até obtenção de toda a superfície aromatizada.

Em seguida, os extrusados foram acondicionados em embalagens flexíveis de polipropileno biorientado metalizado, com barreira à luz e umidade, em porções de 50 g. As embalagens foram seladas em seladora à vácuo (Tec Maq, modelo AP450, Brasil) e armazenadas a 18 °C para posterior realização das análises.

2.6 ANÁLISES DOS SNACKS

As análises foram realizadas para verificar a influência da adição de *Spirulina* sp. LEB 18 nas propriedades de *snacks* extrusados à base de arroz e milho. As amostras SP e C foram caracterizadas quanto às propriedades nutricionais, físicas, sensoriais e microestrutura.

2.6.1 Composição proximal

A composição proximal foi determinada segundo métodos descritos na metodologia oficial da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995). A quantificação da concentração de proteína foi realizada segundo metodologia de nitrogênio total micro-Kjeldahl (n° 960.52), com fator de conversão 6,25. Para a determinação de lipídios foi utilizado método de Soxhlet (n° 920.39C) de extração via solvente. Cinzas e umidade foram determinadas pelos métodos gravimétricos em mufla (n° 923.03) e em estufa (n° 925.10), respectivamente. Carboidratos foram quantificados por diferença.

2.6.2 Carotenoides

Os carotenoides totais foram extraídos e determinados conforme metodologia proposta por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004), com adaptações. A amostra (20 g) foi pesada e hidratada com água destilada (100 mL), durante 30 min. Após, foram adicionados 5 g de celite e 50 mL de acetona gelada, seguido de homogeneização e repouso (15 min). Posteriormente, as amostras foram maceradas e filtradas à vácuo. Este procedimento foi realizado 4 vezes com a fração sólida restante no filtro.

O extrato obtido foi transferido para funil de separação contendo éter de petróleo (100 mL). Em seguida, foi adicionada água destilada (300 mL) à mistura. Nova adição de água destilada (300 mL) foi realizada no mínimo três vezes, sem agitação. O extrato etéreo foi filtrado em funil de vidro contendo algodão e sulfato de sódio anidro.

A determinação da concentração de carotenoides totais foi realizada em espectrofotômetro (UVmini-1240, Shimadzu, Quioto-Japão) a 450 nm (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). A quantificação foi realizada conforme Equação 1 (DAVIES, 1976) e os resultados expressos em termos de seu carotenoide majoritário β -caroteno (PIGNOLET et al., 2013) em éter de petróleo, com coeficiente de absorvidade molar de 2592 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

2.6.3 Digestibilidade proteica *in vitro*

A digestibilidade proteica *in vitro* foi determinada segundo metodologia descrita por Akeson e Stahmann (1964), com modificações. Alíquotas de 500 mg dos extrusados foram suspensas em 10 mL de solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 1 mg mL⁻¹ de pepsina e incubadas sob agitação a 37 °C por 3 h. Após, a hidrólise foi interrompida pela adição de 10 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 660 x g por 15 min

e filtradas. O filtrado foi armazenado a 4 °C em refrigerador durante 24 h para posterior análise.

Ao precipitado não filtrado foi adicionado 10 mL de solução tampão fosfato de sódio 0,2 mol L⁻¹ (pH 8,0) contendo 2 mg mL⁻¹ de pancreatina e foi mantido sob agitação durante 24 h a 37 °C. Transcorrido o tempo de incubação, foi adicionado ácido tricloroacético 30 % para inibir a atuação da pancreatina. Além disso, foi utilizado ácido tricloroacético 5 % para completar 50 mL e as amostras foram centrifugadas a 660 x g durante 15 min. Os sobrenadantes obtidos a partir da hidrólise com pepsina e pancreatina foram quantificados quanto à proteína solúvel pelo método de Folin-Lowry (LOWRY et al., 1951) utilizando curva padrão de tirosina como referência. A digestibilidade proteica foi calculada conforme Equação 2.

$$\text{DPIV}(\%) = \frac{\text{PS}}{\text{P}_{\text{Total}}} \times 100 \quad (2)$$

Em que PS é a concentração de proteína solúvel após digestão enzimática determinada por Folin-Lowry utilizando curva padrão de tirosina (mg mL⁻¹); P_{Total} é a concentração de proteína total da amostra determinada pelo método micro-Kjeldahl (AOAC, 1995).

2.6.4 Índice de expansão

O índice de expansão (IE) foi calculado conforme Gujska e Khan (1990) (Equação 3), utilizando paquímetro, em que D_{ex} é o diâmetro do extrusado (cm) e D_o é o diâmetro do orifício da matriz (cm).

$$\text{IE} = \frac{D_{\text{ex}}}{D_{\text{o}}} \quad (3)$$

2.6.5 Densidade aparente

A densidade aparente (g cm⁻³) foi determinada pela medição das dimensões dos extrusados, segundo Alvarez-Martinez, Kondury e Harper (1988), a partir da Equação 4.

$$\text{Densidade aparente} = \frac{4 \times m}{\pi \times D^2 \times L} \quad (4)$$

Em que, m é a massa das amostras (g), D é o diâmetro (cm) e L é o comprimento do extrusado (cm).

2.6.6 Dureza

As medições de dureza foram determinadas a partir de texturômetro (TA-XTplus Texture Analyzer, Stable micro systems, Surrey, Reino Unido). O analisador foi equipado com célula de carga de 50 kg. A dureza foi calculada como a força máxima requerida para o probe cilíndrico de 20 mm penetrar até 50 % do extrusado e medida em Newton (N). A velocidade foi 1 mm s^{-1} à distância de 25 mm da amostra.

2.6.7 Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA)

O índice de absorção de água (Equação 5) e o índice de solubilidade em água (Equação 6) foram determinados de acordo com o método desenvolvido por Anderson et al. (1969) para cereais.

$$\text{IAA} \left(\frac{\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{M_{\text{RC}}}{M_{\text{A}} - M_{\text{RE}}} \quad (5)$$

$$\text{ISA} (\%) = \frac{M_{\text{RE}}}{M_{\text{A}}} \times 100 \quad (6)$$

Em que, M_{A} = Massa da amostra (g), M_{RC} = Massa do resíduo de centrifugação (g) e M_{RE} = Massa de resíduo da evaporação (g).

2.6.8 Análise de cor

A cor do produto extrusado foi determinada a partir de colorímetro (Chroma meter CR-400, Konica minolta, Tóquio, Japan). A cor da amostra foi denotada por L^* [preto (0)/branco (100)], a^* [verde (-60)/vermelho (+60)] e b^* [azul (-60)/amarelo(+60)].

A variação total de cor entre as amostras (ΔE) foi calculada conforme a Equação 7, em que L , a e b são os valores Hunter Lab da amostra SP e, L_0 , a_0 e b_0 são os valores da amostra controle (C). Também foram calculados Chroma (C^*) e ângulo hue (h), segundo as Equações 8 e 9, respectivamente.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (7)$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (8)$$

$$h^\circ = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (9)$$

2.6.9 Análise de microestrutura

As seções transversais das amostras de *snacks* foram cortadas com lâmina, até espessura aproximada de 4-5 mm. Após, as amostras foram alocadas em suporte metálico e recobertas com ouro a partir de pulverização catódica (Desk-V-Standard, Denton Vacuum, LLC, Moorestown, N.J, USA). As estruturas dos extrusados foram examinadas utilizando voltagem de aceleração de 15kV em microscópio eletrônico de varredura (JSM-6610LV, JEOL Ltd., Japão), pertencente ao Centro de Microscopia Eletrônica da Metade Sul - CEME SUL, da Universidade Federal do Rio Grande.

2.6.10 Análises microbiológicas

Os *snacks* foram analisados microbiologicamente a partir dos métodos descritos em *Bacteriological Analytical Manual* (BAM) (FDA, 2002b, 2007). As análises realizadas foram Coliformes a 45 °C e *Salmonella* sp., conforme exigido pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

2.6.11 Avaliação sensorial

As amostras foram submetidas à avaliação sensorial dos atributos (aroma, cor, textura, sabor) e avaliação global, utilizando escala hedônica de 9 pontos variando de desgostei muitíssimo (1) até gostei muitíssimo (9). Além disso, foi realizado teste de intenção de compra utilizando escala hedônica estruturada de 5 pontos variando de certamente não compraria (1) até certamente compraria (5) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). O índice de aceitação utilizado para avaliar os *snacks* foi calculado conforme a Equação 10, em que X é a média das notas obtidas para avaliação global (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

$$IA (\%) = \frac{X}{9} \times 100 \quad (10)$$

Os *snacks* foram avaliados por 100 julgadores não treinados, entre funcionários e estudantes da Universidade Federal do Rio Grande. As amostras codificadas foram apresentadas de forma monádica e randomizada, acompanhada de água mineral e ficha de

avaliação do produto (APÊNDICE 5). A avaliação sensorial foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande (Parecer nº 49/2016, Processo 23116.002572/2016-05) (APÊNDICE 6). Além disso, todos os julgadores concordaram e assinaram termo de consentimento antes da realização do estudo (APÊNDICE 7).

2.6.12 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A diferença entre as amostras foi analisada pelo teste de Tukey, com intervalo de confiança de 95 % ($p < 0,05$) (MONTGOMERY, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de extrusão bem como a formulação (farinhas de arroz e de milho na proporção 2:1 e 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18), foram definidos no Artigo 1. Esta condição foi considerada a melhor para o desenvolvimento dos *snacks*.

3.1 COMPOSIÇÃO DE BIOCOMPOSTOS DA BIOMASSA MICROALGAL

A Tabela 1 apresenta a composição de biocompostos na biomassa de *Spirulina* sp LEB 18. Henrikson (2009) descreve quantidades de ferro de 1 mg g^{-1} e Hoseini, Khosravi-Darani e Mozafari (2013) citam conteúdo entre 0,58 e $1,80 \text{ mg g}^{-1}$ para *Spirulina*, o que é consistente com este trabalho. Além disso, o conteúdo de ferro obtido foi superior ao encontrado em outras fontes alimentícias como a cevada ($0,60 \text{ mg g}^{-1}$) e o trigo ($0,60 \text{ mg g}^{-1}$) (HENRIKSON, 2009).

Tabela 1 – Composição de biocompostos de *Spirulina* sp. LEB 18.

Composição	Concentração (mg g^{-1})
Ferro	$0,97 \pm 0,01$
Cálcio	$1,94 \pm 0,13$
Ficocianina	$41,76 \pm 0,47$
Carotenoides	$2,71 \pm 0,09$

Média \pm desvio padrão ($n = 3$).

O conteúdo de cálcio se mostrou similar ao citado por Soares et al. (2012) para a microalga *Chlorella* ($2,24 \text{ mg g}^{-1}$) que também é considerada GRAS e ao citado por Hoseini, Khosravi-Darani e Mozafari (2013), de 1,3 a 14 mg g^{-1} para *Spirulina*. Os autores explicam que variações nos conteúdos de minerais são devido ao tipo de cultivo realizado para

obtenção da biomassa. O conteúdo de minerais obtido no presente estudo torna *Spirulina* sp. LEB 18 interessante para a aplicação em alimentos.

Spirulina possui diversidade de pigmentos, os quais têm sido amplamente utilizados em diversas áreas, como na elaboração de alimentos, nutracêuticos, fármacos e cosméticos (SPOLAORE et al., 2006). A ficocianina obtida desta microalga é um dos pigmentos de interesse para aplicação em alimentos. Este composto foi relacionado a possíveis efeitos promotores da saúde, como supressão da hipertensão (ICHIMURA et al., 2013) e proteção de células renais (FAROOQ et al., 2004). Os valores encontrados no presente estudo foram próximos aos relatados por Prates (2015) e por Larrosa et al. (2016) que obtiveram 46,36 mg g⁻¹ e 42,05 mg g⁻¹, ambos para *Spirulina* sp. LEB 18.

Com relação aos carotenoides, o resultado (2,71 mg g⁻¹) foi similar aos citados por Joshi, Bera e Panesar (2014) de 2,05 mg g⁻¹ e ao citado por Gershwin e Belay (2008), para β-caroteno (2,11 mg g⁻¹). Estes pigmentos também estão entre os pigmentos de *Spirulina* sp. LEB 18 que desempenham papel fundamental na saúde ocular, devido à sua atividade de pró- vitamina A. Além disso, possuem atividade antioxidante, reduzindo os danos causados por espécies reativas de oxigênio (MORAIS et al., 2015).

3.2 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DOS SNACKS

Os resultados da composição nutricional dos *snacks* são mostrados na Tabela 2. O incremento nutricional obtido após a adição da microalga foi 22,6 % em conteúdo proteico, 28,1 % em teor de lipídios e 46,4 % em concentração de minerais. Este aumento é devido à concentração de proteína, lipídios e cinzas presentes na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18, que representam 59,5 %, 7,0 % e 16,5 %, respectivamente.

Tabela 2 – Composição nutricional dos *snacks* controle (C) e adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).

Composição	C	SP
Proteína (N x 6,25) (g 100g ⁻¹)	8,38±0,09 ^b	10,27±0,06 ^a
Digestibilidade proteica (%)	88,77±1,10 ^a	89,99±0,45 ^a
Lipídios (g 100g ⁻¹)	0,57±0,03 ^b	0,73±0,06 ^a
Cinzas (g 100g ⁻¹)	0,69±0,01 ^b	1,01±0,01 ^a
Umidade (g 100g ⁻¹)	4,83±0,08 ^a	3,89±0,02 ^b
Carboidratos (g 100g ⁻¹)	85,53±0,15 ^a	84,09±0,09 ^b
Carotenoides (µg g ⁻¹)	1,57±0,02 ^b	14,68±0,03 ^a

Média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (p<0,05).

Cian et al. (2014) também obtiveram incremento nos conteúdos de proteína, cinzas e lipídios ao utilizar alga vermelha para desenvolver extrusados. No estudo, o conteúdo nutricional do extrusado enriquecido foi 9,60 % de proteína, 0,57 % de cinzas e 0,31 % de lipídios, sendo o incremento proteico de 7,6 % quando comparado ao controle sem alga. Além disso, os resultados de concentração de proteína obtidos no presente estudo se mostraram superiores ao conteúdo proteico em *snacks* comerciais populares entre crianças, que de acordo com Potter, Stojceska e Plunkett (2013) representam apenas 2,7 a 5,5 %.

A digestibilidade proteica é um dos parâmetros utilizados para determinar a qualidade da proteína do alimento (FAO, 1985; PASTOR-CAVADA et al., 2013). Os resultados obtidos para as amostras SP e C foram satisfatórios e mostraram elevado conteúdo de proteína digerível. Estes resultados foram próximos aos obtidos por Pastor-Cavada et al. (2013) que também utilizaram extrusão para elaborar *snacks* e obtiveram valores de digestibilidade proteica *in vitro* de 81,8 e 84,1 % para extrusados de milho e arroz, respectivamente. Além disso, Cian et al. (2014) encontraram 91,21 % para digestibilidade proteica de *snacks* adicionados de algas vermelhas, o que é consistente com o presente trabalho.

A concentração de lipídios é um fator importante a ser considerado no processo, pois estes atuam como lubrificante para massa durante a extrusão, reduzindo o grau de cozimento e conseqüentemente, o índice de expansão (PASTOR-CAVADA et al., 2013; WANI; KUMAR, 2016). Os resultados de concentração de lipídios obtidos para a amostra SP são considerados satisfatórios, pois o incremento de 28,1 % no teor de lipídios não afetou de maneira significativa ($p > 0,05$) a expansão dos extrusados (Tabela 3). Lipídios de microalgas são biocompostos de interesse principalmente porque contêm ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), como eicosapentaenóico (EPA), docosahexanóico (DHA) e gama linolênico (GLA) (VIDYASHANKAR et al., 2015). Estes ácidos graxos auxiliam na prevenção e tratamento de doenças, contudo não podem ser sintetizados pelo organismo humano (MATOS et al., 2016).

Os conteúdos de carotenoides e minerais também foram superiores na amostra SP. O total de carotenoides obtido foi próximo aos valores encontrados por Basto et al. (2016) que extrusaram mistura de farinha de milho com 15 % de farinha de pupunha e obtiveram $9,43 \mu\text{g g}^{-1}$. Os autores verificaram em seus estudos que não houve redução no conteúdo de carotenoides ao utilizar 130°C no último estágio da extrusora, o que é consistente com este trabalho, no qual foi utilizada temperatura de 143°C no último estágio. Segundo os pesquisadores, este resultado é devido à extrusão ser um processo curto de cozimento. Portanto, este tempo não foi suficiente para degradar estes pigmentos.

O aumento de minerais foi demonstrado a partir da concentração de cinzas nos *snacks*. Carvalho (2010) observou comportamento similar no desenvolvimento de recuperador muscular adicionado de *Spirulina* sp. LEB 18. No estudo, o autor obteve 4 % de cinzas no repositores hidroeletrolítico adicionado de *Spirulina* sp. LEB 18, superior ao conteúdo na amostra controle (3,6 %). Sendo assim, o presente estudo demonstrou que no desenvolvimento de *snacks*, a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 contribui positivamente para aumentar o conteúdo de nutrientes da formulação.

3.3 ANÁLISES FÍSICAS

A expansão é a propriedade física mais importante em *snacks* (JOSHI; BERA; PANESAR, 2014). Esta propriedade está diretamente relacionada à microestrutura e conseqüentemente à crocância, sendo fator determinante para a qualidade tecnológica dos extrusados. Ao comparar as amostras, observou-se que não houve diferença significativa no índice de expansão (Tabela 3), demonstrando que a adição da microalga não reduziu a qualidade física do *snack* neste aspecto. Os resultados obtidos estão de acordo com os relatados por Morsy et al. (2014), que variaram de 3,860 a 4,890 cm cm⁻¹ para *snacks* de milho e *Spirulina*.

Tabela 3 – Parâmetros físicos avaliados nos *snacks* controle (C) e adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).

Parâmetros ¹	C	SP
Índice de expansão (cm cm ⁻¹)	4,61±0,09 ^a	4,57±0,09 ^a
Densidade aparente (g cm ⁻³)	0,070±0,006 ^b	0,077±0,003 ^a
Dureza (N)	24,26±1,94 ^a	25,43±1,08 ^a
IAA (g g ⁻¹)	9,43±0,05 ^a	8,69±0,65 ^a
ISA (%)	29,82±1,44 ^a	29,98±0,68 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 95 % de confiança (p < 0,05).

¹ – IAA = Índice de absorção de água; ISA = Índice de solubilidade em água.

Assim como o índice de expansão, a densidade aparente permite avaliar a qualidade da extrusão, os parâmetros de processo utilizados e a influência da matéria-prima na qualidade tecnológica do *snack*. Segundo Jeyakumari et al. (2016), esta medida considera a expansão em todas as direções. A amostra SP apresentou maior densidade aparente, demonstrando que a adição da microalga exerceu influência nesta propriedade, provavelmente devido ao maior conteúdo de proteína em sua composição.

Segundo Schmiele (2009), isto ocorre devido à hidroflicidade de determinadas proteínas que tendem a competir com o amido pelo vapor de água, impedindo a hidratação do

mesmo, resultando no aumento da densidade aparente. Comportamento semelhante foi observado por Lazou e Krokida (2010) em extrusados, ao incorporarem farinha de lentilha contendo elevada concentração de proteína. Além disso, os resultados foram próximos aos obtidos por Jeyakumari et al. (2016) para *snacks* de arroz e milho adicionados de hidrolisado proteico e pó de camarão (0,045 e 0,082 g cm⁻³) e inferiores aos obtidos por Stojceska et al. (2009) e Ding et al. (2005) que obtiveram 0,13 g cm⁻³ em extrusados a base de milho e 0,10 g cm⁻³ em *snacks* à base de arroz, respectivamente.

As amostras SP e C não diferiram estatisticamente entre si com relação à dureza. Este resultado pode ser considerado positivo, indicando que apesar da adição de *Spirulina* sp. LEB 18 ter ocasionado o aumento significativo da densidade aparente, este incremento de microalga não foi suficiente para afetar significativamente a dureza. Os resultados obtidos estão entre os citados no estudo de Joshi, Bera e Panesar (2014) que obtiveram dureza variando de 16,2 a 43,4 N em *snacks* a base de milho e *Spirulina*.

O IAA é utilizado para mensurar o volume ocupado pelo amido após a absorção e retenção de água, podendo ser usado como índice de gelatinização (DING et al., 2005; JOSHI; BERA; PANESAR, 2014). No presente estudo, apesar da amostra SP ter sido acrescida de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 em substituição às farinhas de arroz e de milho, este acréscimo não foi suficiente para influenciar significativamente ($p < 0,05$) o IAA dos *snacks* quando comparado ao controle.

As amostras avaliadas não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) em relação ao índice de solubilidade em água (ISA). O ISA mede a quantidade de componentes solúveis libertados durante a extrusão, e é utilizado frequentemente como indicador de degradação do amido. Este processo de degradação resulta em moléculas menores e mais solúveis em água (DING et al., 2005; RATHOD; ANNAPURE, 2016). Resultados similares foram relatados por Ding et al. (2005) em extrusados de arroz (21,5 a 32,7 %) e por Rathod e Annapure (2016) em *snacks* à base de farinha de lentilha (até 28,6 %).

3.4 COR

A cor é um atributo que melhora a qualidade dos alimentos, contribuindo para atrair o consumidor (JEYAKUMARI et al., 2016). Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras SP e C foram observadas para todos os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h), demonstrando que *Spirulina* sp. LEB 18 afetou de maneira significativa a coloração dos extrusados (Tabela 4).

Tabela 4 – Parâmetros de cor para os *snacks* controle (C) e adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).

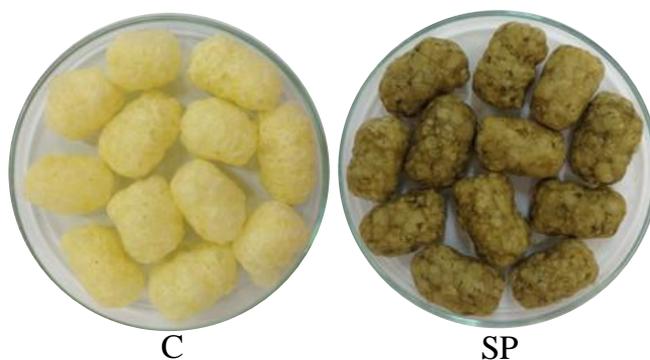
Parâmetros ¹	C	SP
L^*	63,39±0,42 ^a	34,13±1,11 ^b
a^*	-2,67±0,06 ^b	0,45±0,05 ^a
b^*	18,58±0,79 ^a	10,65±1,00 ^b
C^*	18,77±0,78 ^a	10,66±0,99 ^b
h	98,19±0,36 ^a	87,58±0,38 ^b
ΔE	*	30,50±0,98

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de 95 % de confiança ($p < 0,05$).

¹ – L^* = luminosidade; a^* e b^* = coordenadas cromáticas ($+a^*$ = vermelho e $-a^*$ = verde; $+b^*$ = amarelo e $-b^*$ = azul); C^* = Chroma; h = ângulo Hue e ΔE = Variação total de cor.

* = Padrão (L^*_0 , a^*_0 ; b^*_0) no cálculo de ΔE da amostra SP.

A adição de *Spirulina* sp. LEB 18 nos extrusados ocasionou a redução de L^* , b^* e C^* , evidenciando o escurecimento dos *snacks* (Figura 1). Resultados semelhantes foram observados por Figueira et al. (2011) em pão sem glúten enriquecidos com a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 e Fradique et al. (2010) que comparou massas adicionadas de microalgas (*Spirulina* e *Chlorella*) com amostras controle (sem microalga) e verificou menores valores de L^* para as amostras contendo microalga.

Figura 1 – *Snacks* controle (C) e com 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).

Segundo Goes et al. (2015) a redução da luminosidade está relacionada com o aumento no conteúdo proteico. Os autores observaram redução dos valores de luminosidade ao adicionar resíduos de diferentes pescados em *snacks* como incremento nutricional. Os valores de L^* variaram de 61,5 a 71,8 e foram inferiores à amostra controle (79,1).

O ângulo hue (h°) do ensaio C apresentou resultados no segundo quadrante (98,19±0,36) situando-se entre amarelo ($+b^*$) e verde ($-a^*$), o que era esperado devido à utilização de farinhas de arroz e de milho, que tendem à coloração amarela ($+b$). O ensaio SP situou-se no primeiro quadrante ($h^\circ < 90^\circ$), entre vermelho ($+a^*$) e amarelo ($+b^*$). Esta

coloração se deve aos pigmentos da matéria-prima como os carotenoides, que se mantiveram estáveis mesmo após o processo de extrusão (BASTO et al., 2016).

O pigmento ficocianina, presente na microalga *Spirulina* sp. LEB 18 (Tabela 1) parece não ter exercido influência na coloração dos *snacks* devido à sua instabilidade térmica. Larrosa et al. (2016) avaliaram a estabilidade térmica de ficocianina de *Spirulina* sp. LEB 18 e verificaram que em temperaturas superiores a 55 °C, a concentração degradada deste pigmento ultrapassa 70 %. Portanto, pressupõe-se que as temperaturas utilizadas nos 4 estágios da extrusora resultaram na degradação deste pigmento.

A variação total de cor (ΔE) entre as amostras foi considerada elevada, pois segundo Jozinović et al. (2016), valores acima de 3 podem ser percebidos pela maioria da população e valores acima de 6 demonstram que as amostras estão em grupos diferentes de cores. Maior ΔE entre as amostras é interessante quando se deseja obter produto de coloração diferenciada dos *snacks* encontrados comercialmente. Além disso, a cor proporcionada pela adição da microalga pode ser um atrativo em *snacks* destinados a crianças.

3.5 MICROESTRUTURA

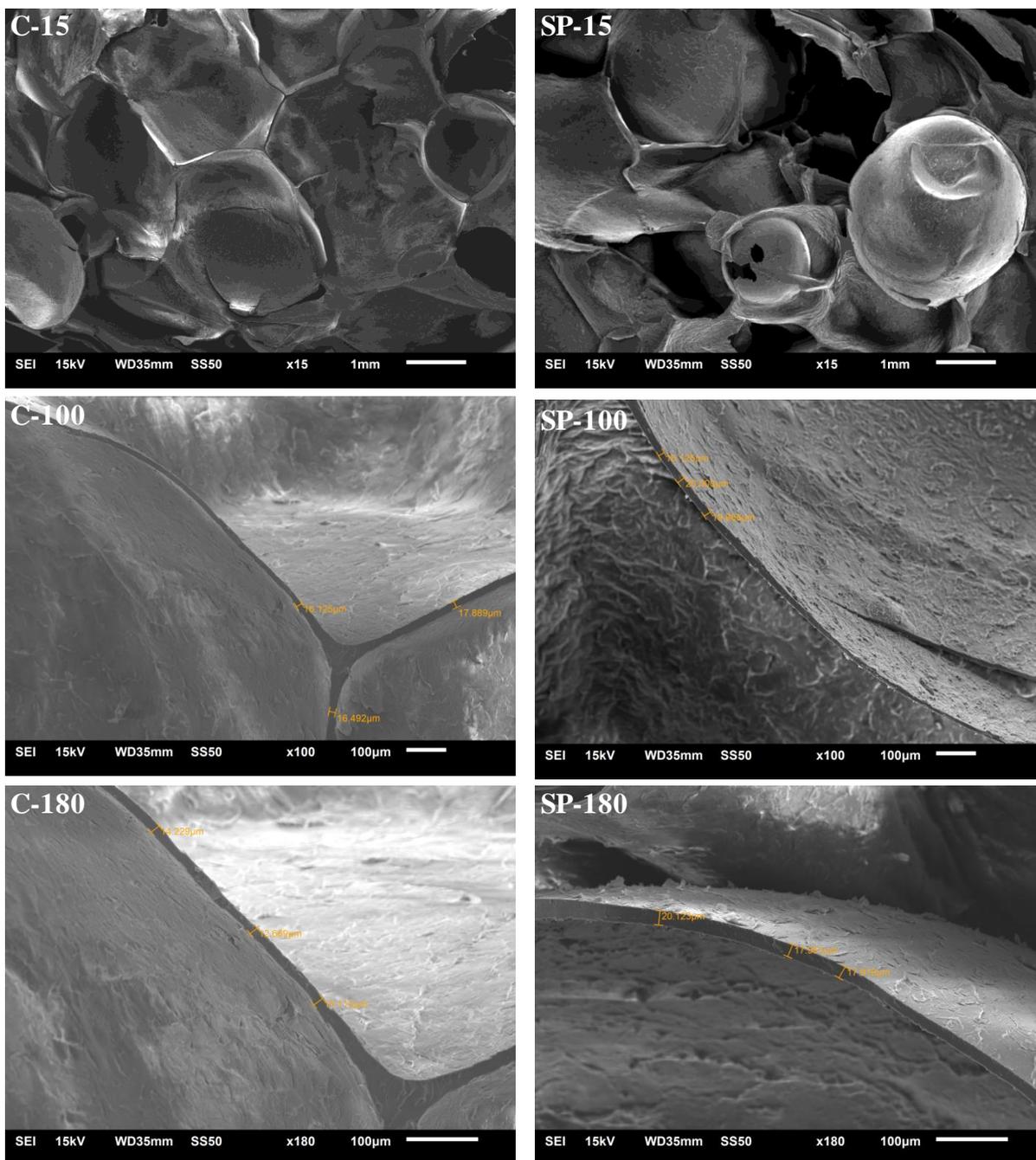
Os efeitos causados pela adição de *Spirulina* sp. LEB 18 puderam ser observados a partir de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 2). Os *snacks* apresentaram paredes com espessura entre 12,67 μm e 20,12 μm .

A Figura 2 mostra que o *snack* C apresentou estrutura homogênea, com bolhas de tamanhos semelhantes e paredes com espessura média de $15,42 \pm 1,83 \mu\text{m}$. Estruturas com tamanho de poros não homogêneos contendo paredes de espessura média de $18,50 \pm 1,50 \mu\text{m}$ foram associadas à adição de proteína na formulação. *Spirulina* sp. LEB 18 possui elevada concentração proteica que tende a absorver parte da umidade do processo, reduzindo a hidratação e a gelatinização do amido presente na mistura (SUMARGO et al., 2016). Como resultado deste processo tem-se a formação de algumas bolhas de ar menores e estrutura não homogênea.

Resultados similares foram obtidos por Lazou e Krokida (2010), quando elaboraram *snacks* a base de farinha de milho com concentrações de 10 a 50 % de farinha de lentilha com elevada concentração de proteína. Os autores observaram o espessamento das paredes dos extrusados, bem como redução na quantidade de bolhas de ar formadas na extrusão. Embora a utilização de *Spirulina* sp. LEB 18 tenha exercido influência no aumento da densidade aparente e no espessamento das paredes dos *snacks*, estes resultados foram próximos aos obtidos na literatura para alimentos extrusados. Além disso, a utilização de

Spirulina sp. LEB 18 foi interessante do ponto de vista nutricional, pois houve aumento significativo da concentração de nutrientes no ensaio SP quando comparado ao C.

Figura 2 – Microfotografia dos *snacks* controle (C) e adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).



Legenda: microestrutura dos *snacks* (C-15) = controle visualizado com aumento x 15; (C-100) = controle visualizado com aumento x 100; (C-180) = controle visualizado com aumento x 180; (SP-15) = adicionado de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 visualizado com aumento x 15; (SP-100) = adicionado de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 visualizado com aumento x 100; (SP-180) = adicionado de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 visualizado com aumento x 180.

Estudos utilizando a biomassa microalgal para enriquecimento de alimentos comprovaram melhorias em diferentes parâmetros nutricionais. A adição de *Spirulina* resultou

em aumento no teor de proteína, compostos fenólicos e atividade antioxidante de macarrão (DE MARCO et al., 2014), incremento em conteúdo proteico de biscoitos (MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006) e de pão sem glúten (FIGUEIRA et al., 2011).

3.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Os resultados da avaliação microbiológica (Tabela 5) mostraram que os *snacks* foram processados sob condições higiênico-sanitárias adequadas. As amostras foram consideradas aptas para o consumo, de acordo com a Resolução RDC nº 12, publicada em 02 de janeiro de 2001. A legislação estabeleceu o valor máximo de 5×10 NMP g^{-1} para coliformes a 45 °C e ausência de *Salmonella* spp em 25 g de amostra como parâmetro de controle microbiológico em alimentos extrusados prontos para o consumo (BRASIL, 2001).

Tabela 5 – Avaliação microbiológica dos *snacks* controle (C) e adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).

Parâmetro	C	SP
Coliformes a 45°C (NMP g^{-1})	< 3	< 3
<i>Salmonella</i> spp	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g

3.7 ANÁLISE SENSORIAL

As médias das notas dos atributos sensoriais dos extrusados são apresentadas na Tabela 6. As avaliações estatísticas mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras SP e C, exceto quanto ao atributo cor ($p < 0,05$). Em geral, os *snacks* receberam notas entre 7 e 8 (gostei moderadamente / gostei muito) para os atributos avaliados.

Tabela 6 – Avaliação sensorial dos *snacks* controle (C) e adicionados de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 (SP).

Atributo	C	SP
Aroma	7,2±1,4 ^a	7,2±1,4 ^a
Cor	7,6±1,0 ^a	5,5±2,0 ^b
Textura	7,5±1,4 ^a	7,8±1,3 ^a
Sabor	7,6±1,3 ^a	7,7±1,2 ^a
Avaliação global	7,5±1,2 ^a	7,4±1,0 ^a
Intenção de compra	3,8±0,9 ^a	3,8±0,8 ^a

Média ± desvio padrão ($n = 100$). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

A influência significativa ($p < 0,05$) de *Spirulina* sp. LEB 18 sobre a cor era esperada, pois se verificou elevada variação total de cor ($\Delta E = 30,50$) entre as amostras (Tabela 4). Embora os *snacks* SP tenham obtido menores notas para o atributo cor (5,5±2,0), a

avaliação global não foi influenciada ($7,4\pm 1,0$), não diferindo significativamente ($p>0,05$) da amostra C.

De acordo com Jeyakumari et al. (2016) e Pamies et al. (2000), a textura é o atributo mais importante na avaliação de extrusados. No presente estudo, a média obtida para textura foi considerada satisfatória, pois manteve-se entre (7) gostei moderadamente e (8) gostei muito, sobretudo para a amostra SP que apresentou valor médio de 7,8. Médias elevadas para textura eram esperadas para os *snacks* desenvolvidos com e sem microalga, pois, as avaliações instrumentais de índice de expansão e dureza (Tabela 3) indicaram propriedades texturais adequadas. Estas propriedades foram confirmadas a partir da análise de microestrutura (Figura 2), em que, foram observadas estruturas com paredes finas, com espessura média de $15,42\pm 1,83$ μm e $18,50\pm 1,50$ μm , para as amostras C e SP, respectivamente.

Cian et al. (2014) também obtiveram elevada aceitação sensorial ao desenvolver *snacks* adicionados de alga vermelha *Porphyra columbina* em que as notas obtidas foram de até 8,3 para textura e os autores concluíram que a adição de 3,5 % da alga resultou em *snacks* com boas características sensoriais. No presente estudo, a intenção de compra da amostra SP também mostrou resultados satisfatórios ($3,8\pm 0,8$), situando-se entre talvez compraria e provavelmente compraria. Além disso, os resultados do índice de aceitação (IA) das amostras C e SP foram de 83,33 % e 82,22 %, respectivamente. Segundo Queiroz e Treptow (2006), para que um produto seja aceito quanto suas características sensoriais é necessário que seu índice de aceitação seja, no mínimo, de 70 %, o que é consistente com o presente estudo. A partir destes resultados pode-se concluir que extrusados com boa aceitabilidade podem ser produzidos utilizando farinhas de arroz e de milho orgânicas e *Spirulina* sp. LEB 18.

4. CONCLUSÃO

Spirulina sp. LEB 18 mostrou potencial para o enriquecimento de alimentos de consumo prático *snacks*. A adição de 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18 resultou em incremento de 22,6 % de conteúdo proteico, além de carotenoides e minerais, sem afetar significativamente as propriedades físicas (índice de expansão, dureza, IAA e ISA).

A partir da análise de microestrutura foi observado que os *snacks* enriquecidos com *Spirulina* sp. LEB 18 apresentaram paredes finas (18,5 μm). A avaliação sensorial indicou que *Spirulina* sp. LEB não influenciou as características sensoriais (aroma, textura, sabor e avaliação global) e ainda resultou em *snacks* com elevado índice de aceitação (82 %).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) pelo apoio financeiro, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas, à Inflex – Indústria e Comércio de Embalagens Flexíveis (Dourados, Brasil) pela doação das embalagens e a Duas Rodas (Jaraguá do Sul, Brasil) pelo fornecimento do aroma utilizado no estudo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, F.; FANNING, K.; NETZEL, M.; TURNER, W.; LI, Y.; SCHENK, P. M. Profiling of carotenoids and antioxidant capacity of microalgae from subtropical coastal and brackish waters. **Food Chemistry**, v. 165, p. 300-306, 2014.

AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, v. 83, p. 257-261, 1964.

ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDURY, K. P.; HARPER, J. M. A general model for expansion of extruded products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 609-615, 1988.

ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN, E. L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 1, p. 4-7, 1969.

ANTON, A. A.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded *snacks* with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. **Food Chemistry**, v. 113, p. 989–996, 2009.

AOAC - THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Virgínia: AOAC International, 1995.

BASTO, G. J.; CARVALHO, C. W. P.; SOARES, A. G.; COSTA, H. T. G. B.; CHÁVEZ, D. W. H.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Physicochemical properties and carotenoid content of extruded and non-extruded corn and peach palm (*Bactris gasipaes*, Kunth). **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 312-318, 2016.

BENNETT, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, v. 58, n. 2, p. 419-435, 1973.

BRASIL. Portaria n° 36, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos à Base de Cereais para Alimentação Infantil. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan. 1998.

BRASIL. Resolução n° 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 dez. 1999.

BRASIL. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. **Lista de Novos Ingredientes Aprovados**. [S.l]: 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm. Acesso em: 20 de ago. 2016, 16:40:00.

CARVALHO, L. F. **Desenvolvimento de novos alimentos para praticantes de atividade física adicionados ou não de *Spirulina***. 2010. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2010.

CIAN, R. E.; CABALLERO, M. S.; SABBAG, N.; GONZÁLEZ, R. J.; DRAGO, S. R. Bio-accessibility of bioactive compounds (ACE inhibitors and antioxidants) from extruded maize products added with a red seaweed *Porphyra columbina*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 51-58, 2014.

DAVIES, B. H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**, 2.ed. London: Academic Press, 1976.

DE MARCO, E. R.; STEFFOLANI, M. E.; MARTINEZ, C. S.; LEÓN, A. E. Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102-108, 2014.

DING, Q.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 283-289, 2005.

FANNING, K. J.; MARTIN, I.; WONG, L.; KEATING, V.; PUN, S.; O'HARE, T. Screening sweetcorn for enhanced zeaxanthin concentration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 91-96, 2009.

FAROOQ, S. M.; ASOKAN, D.; SAKTHIVEL, R.; KALAISELVI, P.; VARALAKSHMI, P. Salubrious effect of C-phycoerythrin against oxalate-mediated renal cell injury. **Clinica Chimica Acta**, v. 348, n. 1, p. 199-205, 2004.

FIGUEIRA, F. S.; CRIZEL, T. M.; SILVA, C. R.; SALAS-MELLADO, M. M. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 308-316, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Factors affecting energy and protein requirements**. [S.l.]: 1985. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/003/aa040e/AA040E08.htm#ch7.3>. Acesso em: 15 dez. 2016, 09:05:00.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **GRAS Notification for *Spirulina* microalgae**. [S.l.]: 2002a. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/UCM265861>. Acesso em: 08 de ago. 2016, 10:12:00.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Bacteriological Analytical Manual: Chapter 4 - Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria**. [S.l.]: 2002b.

Disponível em:

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>. Acesso em: 02 de nov. 2016, 09:53:00.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Bacteriological Analytical Manual:**

Chapter 5 - Salmonella. [S.l]: 2007. Disponível em:

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>. Acesso em: 02 de nov. 2016, 09:32:00.

FRADIQUE, M.; BATISTA, A. P.; NUNES, M. C.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; RAYMUNDO, A. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: preparation and evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1656-1664, 2010.

GERSHWIN, M. E.; BELAY, A. ***Spirulina in human nutrition and health***. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 313 p

GOES, E. S. R.; SOUZA, M. L. R.; CAMPELO, D. A. V.; YOSHIDA, G. M.; XAVIER, T. O.; MOURA, L. B.; MONTEIRO, A. R. G. Extruded *snacks* with the addition of different fish meals. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 683-689, 2015.

GUJSKA, E.; KHAN, K. Effect of temperature on properties of extrudates from high starch fraction of navy, pinto and garbanzo beans. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 466-469, 1990.

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

HOSEINI, S. M.; KHOSRAVI-DARANI, K.; MOZAFARI, M. R. Nutritional and Medical Applications of *Spirulina* Microalgae. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 1231-1237, 2013.

ICHIMURA, M.; KATO, S.; TSUNNEYAMA, K.; MATSUTAKE, S.; KAMOGAWA, M.; HIRAO, E.; MIYATA, A.; MORI, S.; YAMAGUCHI, N.; SURUGA, K.; OMAGARI, K. Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome. **Nutrition Research**, v. 33, p. 397-405, 2013.

JEYAKUMARI, A.; DAS, M. S. R.; BINDU, J.; JOSHY, C. G.; ZYNUDHEEN, A. A. Optimisation and comparative study on the addition of shrimp protein hydrolysate and shrimp powder on physicochemical properties of extruded *snack*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 1578–1585, 2016.

JOSHI, S. M. R.; BERA, M. B.; PANESAR, P. S. Extrusion cooking of maize/*Spirulina* mixture: factors affecting expanded product characteristics and sensory quality. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 2, p. 655-664, 2014.

JOZINOVIĆ, A.; ŠUBARIĆ, D.; AČKAR, D.; BABIĆ, J.; MILIČEVIĆ, B. Influence of spelt flour addition on properties of extruded products based on corn grits. **Journal of Food Engineering**, v. 172, p. 31-37, 2016.

LARROSA, A. P. Q.; COMITRE, A. A.; VAZ, L. B.; PINTO, L. A. A. influence of air temperature on physical characteristics and bioactive compounds in vacuum drying of *Arthrospira Spirulina*. **Journal of Food Process Engineering**, v. 0, p. 1-9 , 2016.

LAZOU, A.; KROKIDA, M. Structural and textural characterization of corn–lentil extruded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 392-408, 2010.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MATOS, A. P.; FELLER, R.; MOECKE, E. H. S.; OLIVEIRA, J. V.; JUNIOR, A. F.; DERNER, R. B.; SANT'ANNA, E. S. Chemical Characterization of Six Microalgae with Potential Utility for Food Application. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, p. 963-972, 2016.

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

MICHELON, M.; BORBA, T. M.; RAFAEL, R. S.; BURKERT, A. V.; BURKERT, J. F. M. Extraction of Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: A Comparison between different techniques of cell disruption. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n.1, p.1-8, 2012.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 8. ed. Arizona: John Wiley & Sons, Inc, 2009. 730 p.

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

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

MORAIS, M. G.; VAZ, B. S.; MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V. **Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae**. *BioMed Research International*, v. 2015. p. 1-15, 2015.

MORSY, O. M.; SHAROBA, A. M.; EL-DESOUKY, A. I.; BAHLOL, H. E. M.; ABD EL MAWLA, E. M. Production and evaluation of some extruded food products using *Spirulina* algae. **Annals Of Agricultural Science Moshtohor**, v. 52, n. 4, p. 329-342, 2014.

ONWULATA, C. I.; MCALOON, A. J. Cost estimates of twin-screw extruded products: texturized whey protein *snacks* and corn–soy blend used for emergency feeding. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 35, p. 665-676, 2011.

PAMIES, B. V.; ROUDAUT, G.; DACREMONT, C.; MESTE, M. L.; MITCHELL, J. R. Understanding the texture of low moisture cereal products: mechanical and sensory measurements of crispness. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1679–1685, 2000.

PASTOR-CAVADA, E.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; JUAN, R.; PASTOR, J. E.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J. Effects of the addition of wild legumes (*Lathyrus annuus* and *Lathyrus clymenum*) on the physical and nutritional properties of extruded products based on whole corn and brown Rice. **Food Chemistry**, v. 128, p. 961–967, 2011.

PASTOR-CAVADA, E.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; JUAN, R.; PASTOR, J. E.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J. Physical and nutritional properties of extruded products based on whole grain with the addition of wild legumes (*Vicia lutea* subsp. *lutea* var. *hirta* and *Vicia sativa* subsp. *sativa*). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1949–1955, 2013.

PIGNOLET, O.; JUBEAU, S.; VACA-GARCIA, C.; MICHAUD, P. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 40, n. 8, p. 781–796, 2013.

POTTER, R.; STOJCESKA, V.; PLUNKETT, A. The use of fruit powders in extruded *snacks* suitable for Children's diets. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 537-544, 2013.

PRATES, D. F. **Foto-estimulação de microalgas para produção de ficocianina e outras biomoléculas utilizando diodos emissores de luz (LEDs)**. 2015. 128f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande, RS: Editora da FURG, 2006. 268p.

RATHOD, R. P.; ANNAPURE, U. S. Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 114-123, 2016.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: ILSI PRESS, 2001. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington, DC: HarvestPlus, 2004, 59p.

SCHMIELE, M. **Caracterização das frações com diferentes granulometrias de milho dentado e duro e avaliação na qualidade de extrusados expandidos**. 2009. [s.n.]. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; BURKERT, C. A. V.; KALIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 8, p. 1629-1634, 2007.

SOARES, B. M.; VIEIRA, A. A.; LEMÕES, J. S.; SANTOS, C. M. M.; MESKO, M. F.; PRIMEL, E. G.; D'OCA, M. G. M.; DUARTE, F. A. Investigation of major and trace element distribution in the extraction – transesterification process of fatty acid methyl esters from microalgae *Chlorella sp.* **Bioresource Technology**, v. 110, p. 730–734, 2012.

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

STOJCESKA, V.; AINSWORTH, P.; PLUNKETT, A.; IBANOGLU, S. The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat *snacks* made from food by-products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 226-232, 2009.

SUMARGO, F.; GULATI, P.; WEIER, S. A.; CLARKE, J.; ROSE, D. J. Effects of processing moisture on the physical properties and *in vitro* digestibility of starch and protein in extruded brown rice and pinto bean composite flours. **Food Chemistry**, v. 211, p. 726–733, 2016.

VIDYASHANKAR, S.; SIREESHA, E.; CHAUHAN, V. S.; SARADA, R. Evaluation of microalgae as vegetarian source of dietary polyunsaturated fatty acids under autotrophic growth conditions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 11, p. 7070-7080, 2015.

VOLK, R. B.; FURKERT, F. H. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. **Microbiological Research**, v. 161, n. 2, p. 180-186, 2006.

WANI, S. A.; KUMAR, P. Effect of extrusion on the nutritional, antioxidant and microstructural characteristics of nutritionally enriched *snacks*. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, p. 166-173, 2016.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÃO GERAL

A biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizada no presente estudo apresentou elevado conteúdo proteico (59,5 %), além de biocompostos como ficocianina (41,76 mg g⁻¹) e carotenoides (2,71 mg g⁻¹). A partir da extrusão dos 17 ensaios verificou-se que a adição de 2,6 % desta biomassa na formulação proporcionou *snacks* com até 11,3 % de proteína.

O aumento da umidade de alimentação prejudicou a extrusão, dificultando a expansão na saída da matriz e resultando em *snacks* com estruturas mais rígidas, compactadas e com maior densidade aparente. Após avaliar as variáveis respostas, foi obtida a melhor condição para o desenvolvimento dos *snacks* utilizando 2,6 % de *Spirulina* sp. LEB 18, 16,2 % de umidade de alimentação e temperatura do último estágio da extrusora de 143 °C.

O ensaio obtido na melhor condição resultou em incremento de 22,6 % de conteúdo proteico, além da presença de carotenoides e minerais, sem afetar significativamente as propriedades físicas (índice de expansão, dureza, IAA e ISA). A análise de microestrutura mostrou que os *snacks* enriquecidos com *Spirulina* sp. LEB 18 apresentaram paredes finas (18,5 µm). Foi verificado que a adição da microalga não influenciou as características sensoriais (aroma, textura, sabor e avaliação global) e ainda resultou em *snacks* com elevado índice de aceitação (82 %). Sendo assim, *Spirulina* sp. LEB 18 mostrou potencial para o enriquecimento de alimentos extrusados como alternativa para a demanda de alimentos saudáveis de consumo prático.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Comparar as propriedades nutricionais, físicas, estruturais e sensoriais dos *snacks* desenvolvidos no presente estudo com *snacks* comerciais.

Realizar avaliação sensorial utilizando crianças como julgadores.

Verificar a estabilidade térmica dos biocompostos de *Spirulina* frente ao processo de extrusão para produção de *snacks*.

Avaliar os custos para produção dos *snacks* extrusados enriquecidos com *Spirulina* sp. LEB 18.

Utilizar *Spirulina* sp. LEB 18 para o desenvolvimento de outros alimentos extrusados de consumo prático.

CAPÍTULO V

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, F.; FANNING, K.; NETZEL, M.; TURNER, W.; LI, Y.; SCHENK, P. M. Profiling of carotenoids and antioxidant capacity of microalgae from subtropical coastal and brackish waters. **Food Chemistry**, v. 165, p. 300-306, 2014.
- AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, v. 83, p. 257-261, 1964.
- ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDURY, K. P.; HARPER, J. M. A general model for expansion of extruded products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 609-615, 1988.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN, E. L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 1, p. 4-7, 1969.
- ANDRADE, M. R. **Biosistema para produção de biomassa microalgal e biometano**. 2009. 168f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Mixotrophic cultivation of microalga **Spirulina platensis** using molasses as organic substrate. **Aquaculture**, v. 264, p. 130-134, 2007.
- ANTON, A. A.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded *snacks* with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. **Food Chemistry**, v. 113, p. 989–996, 2009.
- AOAC - THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Virgínia: AOAC International, 1995.
- ASCHERI, J. L. R. **Extrusão**. [S.l]: EMBRAPA, 2007. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000fid5s gie02wyiv80z4s473wy7guo3.html. Acesso em: 14 de mai. 2015, 15:30:00.
- BARROS, K. K. S. **Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para alimentação humana**. 2010. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.
- BASTO, G. J.; CARVALHO, C. W. P.; SOARES, A. G.; COSTA, H. T. G. B.; CHÁVEZ, D. W. H.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S. Physicochemical properties and carotenoid content of extruded and non-extruded corn and peach palm (*Bactris gasipaes*, Kunth). **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 312-318, 2016.
- BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. 1.ed. Oxford: Blackwell, 2004. cap. 18.
- BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 2, p. 235-241, 1993.

BENNETT, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, v. 58, n. 2, p. 419-435, 1973.

BHATTACHARYA, S.; DAS, H.; BOSE, A. N. Effect of extrusion process variables on the product texture of blends of minced fish and wheat flour. **Journal of Food Engineering**, v. 19, n. 3, p. 215-235, 1993.

BIERHALS, V. S.; MACHADO, V. G.; ECHEVENGUÁ, W. O.; COSTA, J. A. V.; FURLONG, E. B. Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antifúngica de multimisturas enriquecidas com a microalga *Spirulina platensis*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 42-48, 2009.

BORAH, A.; MAHANTA, C. L.; KALITA, D. Optimization of process parameters for extrusion cooking of low amylose rice flour blended with seeded banana and carambola pomace for development of minerals and fiber rich breakfast cereal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 221-232, 2016.

BRANGER, B.; CADUDAL, J. L.; DELOBEL, M.; OUOBA, H.; YAMEOGO, P.; OUEDRAOGO, D.; GUERIN, D.; VALEA, A.; ZOMBRE, C.; ANCEL, P. La *Spiruline* comme complément alimentaire dans la malnutrition du nourrisson au Burkina-Faso. **Archives de pédiatrie**, v. 10, n. 5, p. 424-431, 2003.

BRASIL. Portaria nº 36, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos à Base de Cereais para Alimentação Infantil. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan. 1998.

BRASIL. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 dez. 1999.

BRASIL. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 dez. 2003.

BRASIL. **Lista de Novos Ingredientes Aprovados**. [S.l]: 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm. Acesso em: 20 de ago. 2015, 16:40:00.

BRNČIĆ, M.; TRIPALO, B.; JEŽEK, D.; SEMENSKI, D.; DRVAR, N.; UKRAINCZYK, M. Effect of twin-screw extrusion parameters on mechanical hardness of direct-expanded extrudates. **Sadhana**, v. 31, n. 5, p. 527-536, 2006.

CARVALHO, A. V.; BASSINELO, P. Z.; MATTIETTO, R. A.; CARVALHO, R. N.; RIOS, A. O.; SECCADIO, L. L. Processamento e caracterização de *snack* extrudado a partir de farinhas de quirera de arroz e de bandinha de feijão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 72-83, 2012.

CARVALHO, L. F. **Desenvolvimento de novos alimentos para praticantes de atividade física adicionados ou não de *Spirulina***. 2010. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2010.

CIAN, R. E.; CABALLERO, M. S.; SABBAG, N.; GONZÁLEZ, R. J.; DRAGO, S. R. Bio-accessibility of bioactive compounds (ACE inhibitors and antioxidants) from extruded maize products added with a red seaweed *Porphyra columbina*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 51-58, 2014.

DAVIES, B. H. Carotenoids. In: GOODWIN, T.W. **Chemistry and biochemistry of plant pigments**, 2.ed. London: Academic Press, 1976.

DE MARCO, E. R.; STEFFOLANI, M. E.; MARTINEZ, C. S.; LEÓN, A. E. Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102-108, 2014.

DING, Q.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 283-289, 2005.

DUARTE, J. H.; MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO₂ mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 472-475, 2017.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.3, p. 350-356, 1956.

EL-SHEEKH, M. M.; HAMAD, S. M.; GOMAA, M. Protective effects of *Spirulina* on the liver function and hyperlipidemia of rats and human. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 57, n. 1, p. 77-86, 2014.

FANNING, K. J.; MARTIN, I.; WONG, L.; KEATING, V.; PUN, S.; O'HARE, T. Screening sweetcorn for enhanced zeaxanthin concentration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 91-96, 2009.

FARAJ, A.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R. The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. **Food Research International**, v. 37, p. 517-525, 2004.

FAROOQ, S. M.; ASOKAN, D.; SAKTHIVEL, R.; KALAISELVI, P.; VARALAKSHMI, P. Salubrious effect of C-phycoyanin against oxalate-mediated renal cell injury. **Clinica Chimica Acta**, v. 348, n. 1, p. 199-205, 2004.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos : princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERREIRA, S. P.; SOARES, L. S.; COSTA, J. A. V. Microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.

FIGUEIRA, F. S.; CRIZEL, T. M.; SILVA, C. R.; SALAS-MELLADO, M. M. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 308-316, 2011.

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Factors affecting energy and protein requirements**. [S.l.]: 1985. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/003/aa040e/AA040E08.htm#ch7.3>. Acesso em: 15 dez. 2016, 09:05:00.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **How to Feed the World in 2050**. [S.l.]: 2009. Disponível em: http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf. Acesso em: 25 de set. 2015, 09:31:00.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Quase 870 milhões de pessoas no mundo estão subnutridas**. [S.l.]: 2012. Disponível em: <https://www.fao.org.br/q870mpmesnrsf.asp>. Acesso em: 20 de jul. 2016, 11:24:00.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **GRAS Notification for *Spirulina* microalgae**. [S.l.]: 2002a. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/UCM265861>. Acesso em: 08 de ago. 2015, 10:12:00.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Bacteriological Analytical Manual: Chapter 4 - Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria**. [S.l.]: 2002b. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>. Acesso em: 02 de nov. 2016, 09:53:00.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Bacteriological Analytical Manual: Chapter 5 - *Salmonella***. [S.l.]: 2007. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>. Acesso em: 02 de nov. 2016, 09:32:00.

FRADIQUE, M.; BATISTA, A. P.; NUNES, M. C.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; RAYMUNDO, A. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: preparation and evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1656-1664, 2010.

GERSHWIN, M. E.; BELAY, A. ***Spirulina* in human nutrition and health**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 313 p

GOES, E. S. R.; SOUZA, M. L. R.; CAMPELO, D. A. V.; YOSHIDA, G. M.; XAVIER, T. O.; MOURA, L. B.; MONTEIRO, A. R. G. Extruded *snacks* with the addition of different fish meals. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 683-689, 2015.

GRIMA, E. M.; FERNANDEZ, F. G. A.; MEDINA, A. R. Downstream processing of cell-mass and products. In: RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. 1.ed. Oxford: Blackwell, 2004. cap. 10.

GUJSKA, E.; KHAN, K. Effect of temperature on properties of extrudates from high starch fraction of navy, pinto and garbanzo beans. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 466-469, 1990.

HAGENIMANA, A.; DING, X.; FANG, T. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 1, p. 38-46, 2006.

HAYTER, A. L.; SMITH, A. C. The mechanical properties of extruded food foams. **Journal of Materials Science**, v. 23, p. 736-743, 1988.

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

HOSEINI, S. M.; KHOSRAVI-DARANI, K.; MOZAFARI, M. R. Nutritional and Medical Applications of *Spirulina* Microalgae. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 1231-1237, 2013.

ICHIMURA, M.; KATO, S.; TSUNEYAMA, K.; MATSUTAKE, S.; KAMOGAWA, M.; HIRAO, E.; MIYATA, A.; MORI, S.; YAMAGUCHI, N.; SURUGA, K.; OMAGARI, K. Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome. **Nutrition Research**, v. 33, p. 397-405, 2013.

ILO, S.; BERGHOFER, E. Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits. **Journal of Food Engineering**, v. 39, n. 1, p. 73-80, 1999.

JENSEN, G. S.; GINSBERG, D. I.; DRAPEAU, C. Blue-green algae as an immuno-enhancer and biomodulator. **Journal of the American Nutraceutical Association**, v. 3, n. 4, p. 24-30, 2001.

JEYAKUMARI, A.; DAS, M. S. R.; BINDU, J.; JOSHY, C. G.; ZYNUDHEEN, A. A. Optimisation and comparative study on the addition of shrimp protein hydrolysate and shrimp powder on physicochemical properties of extruded *snack*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 1578–1585, 2016.

JOSHI, S. M. R.; BERA, M. B.; PANESAR, P. S. Extrusion cooking of maize/*Spirulina* mixture: factors affecting expanded product characteristics and sensory quality. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 2, p. 655-664, 2014.

JOZINOVIĆ, A.; ŠUBARIĆ, D.; AČKAR, D.; BABIĆ, J.; MILIČEVIĆ, B. Influence of spelt flour addition on properties of extruded products based on corn grits. **Journal of Food Engineering**, v. 172, p. 31-37, 2016.

LARROSA, A. P. Q.; COMITRE, A. A.; VAZ, L. B.; PINTO, L. A. A. influence of air temperature on physical characteristics and bioactive compounds in vacuum drying of *Arthrospira Spirulina*. **Journal of Food Process Engineering**, v. 0, p. 1-9 , 2016.

LAZOU, A.; KROKIDA, M. Structural and textural characterization of corn–lentil extruded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 392-408, 2010.

LI, L.; ZHAO, X.; WANG, J.; MUZHINGI, T.; SUTER, P. M.; TANG, G.; YIN, S. *Spirulina* can increase total-body vitamin A stores of chinese school-age children as determined by a paired isotope dilution technique. **Journal of Nutritional Science**, v. 1, n. 19, p. 1-7, 2012.

LIANG, S.; LIU, X.; CHEN, F.; CHEN, Z. Current microalgal health food R&D activities in China. **Hydrobiologia**, v. 512, p. 45-48, 2004.

LIMBERGER, V.M.; COMARELA, C.G.; PATIAS, L.D.; BRUM, F.B.; EMANUELLI, T.; SILVA, L.P. Produção de salgadinho extrusado de quirera de arroz para uso na indústria de alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.9, p.2590-2594, 2009.

LISBOA, C. R. **Produção de nanopartículas contendo peptídeos bioativos de microalgas**. 2013. 154f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2013.

LÓPEZ, C. V. G.; GARCÍA, M. C. C.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; BUSTOS, C. S.; CHISTI, Y.; SEVILLA, J. M. F. Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7587–7591, 2010.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MARGARITES, A. C. F. **Síntese de carboidratos por microalgas e produção de bioetanol**. 2014. 93f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

MASOJÍDEK, J.; PRÁŠIL, O. The development of microalgal biotechnology in the Czech Republic. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 37, n. 12, p. 1307-1317, 2010.

MATOS, A. P.; FELLER, R.; MOECKE, E. H. S.; OLIVEIRA, J. V.; JUNIOR, A. F.; DERNER, R. B.; SANT'ANNA, E. S. Chemical Characterization of Six Microalgae with Potential Utility for Food Application. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, p. 963-972, 2016.

MAZUMDER, P.; ROOPA, B. S.; BHATTACHARYA, S. Textural attributes of a model *snack* food at different moisture contents. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 2, p. 511-516, 2007.

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

MENG, X.; THREINEN, D.; HANSEN, M.; DRIEDGER, D. Effects of extrusion conditions on system parameters and physical properties of a chickpea flour-based *snack*. **Food Research International**, v. 43, p. 650–658, 2010.

METTING JR, F. B. Biodiversity and application of microalgae. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 17, n. 5, p. 477-489, 1996.

- MICHELON, M.; BORBA, T. M.; RAFAEL, R. S.; BURKERT, A. V.; BURKERT, J. F. M. Extraction of Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: A Comparison between different techniques of cell disruption. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n.1, p.1-8, 2012.
- MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 8. ed. Arizona: John Wiley & Sons, Inc, 2009. 730 p.
- MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1245-1251, 2008.
- MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2006.
- MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; ANDRADE, M. R.; TEIXEIRA, G. G.; BRUSCH, L. R. F.; COSTA, J. A. V. Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, v. 294, p. 60–64, 2009.
- MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **Z. Naturforsch.** v. 63c, p. 144-150, 2008.
- MORAIS, M. G.; VAZ, B. S.; MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V. **Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae**. *BioMed Research International*, v. 2015. p. 1-15, 2015.
- MORSY, O. M.; SHAROBA, A. M.; EL-DESOUKY, A. I.; BAHLOL, H. E. M.; ABD EL MAWLA, E. M. Production and evaluation of some extruded food products using *Spirulina* algae. **Annals Of Agricultural Science Moshtohor**, v. 52, n. 4, p. 329-342, 2014.
- MOSCICKI, L.; ZUILICHEM, D. J M. Extrusion-cooking and related technique. In: MOSCICKI, L. **Extrusion-cooking techniques, applications, theory and sustainability**. 1.ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2011. cap. 1.
- MULLER, O.; KRAWINKEL, M. Malnutrition and health in developing countries. **Canadian Medical Association Journal**, v. 173, n. 3, p. 279-286, 2005.
- NAVACCHI, M. F. P.; CARVALHO, J. C. M.; TAKEUCHI, K. P.; DANESI, E. D. G. Development of cassava cake enriched with its own bran and *Spirulina platensis*. **Acta Scientiarum Technology**, v. 34, n. 4, p. 465-472, 2012.
- OLIVEIRA, L. C.; ROSELL, C. M.; STEEL, C. J. Effect of the addition of whole-grain wheat flour and of extrusion process parameters on dietary fibre content, starch transformation and mechanical properties of a ready-to-eat breakfast cereal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 6, p. 1504-1514, 2015.
- OLIVEIRA, L. C.; SCHMIELE, M.; STEEL, C. J. Development of whole grain wheat flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. *LWT - Food Science and Technology*, v. 75, p. 261-270, 2017.

- ONWULATA, C. I.; MCALOON, A. J. Cost estimates of twin-screw extruded products: texturized whey protein *snacks* and corn–soy blend used for emergency feeding. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 35, p. 665-676, 2011.
- ONWULATA, C. I.; SMITH, P. W.; KONSTANCE, R. P.; HOLSINGER, V. H. Incorporation of whey products in extruded corn, potato or rice *snacks*. **Food Research International**, v. 34, n. 8, p. 679-687, 2001.
- PAMIES, B. V.; ROUDAUT, G.; DACREMONT, C.; MESTE, M. L.; MITCHELL, J. R. Understanding the texture of low moisture cereal products: mechanical and sensory measurements of crispness. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1679–1685, 2000.
- PARIKH, P.; MANI, U.; IYER, U. Role of *Spirulina* in the Control of Glycemia and Lipidemia in Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of Medicinal Food**, v. 4, n. 4, p. 193-199, 2001.
- PASTOR-CAVADA, E.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; JUAN, R.; PASTOR, J. E.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J. Effects of the addition of wild legumes (*Lathyrus annuus* and *Lathyrus clymenum*) on the physical and nutritional properties of extruded products based on whole corn and brown Rice. **Food Chemistry**, v. 128, p. 961–967, 2011.
- PASTOR-CAVADA, E.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; JUAN, R.; PASTOR, J. E.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J. Physical and nutritional properties of extruded products based on whole grain with the addition of wild legumes (*Vicia lutea* subsp. *lutea* var. *hirta* and *Vicia sativa* subsp. *sativa*). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1949–1955, 2013.
- PAULA, A. M.; CONTI-SILVA, A. C. Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded *snacks*. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 9-14, 2014.
- PIGNOLET, O.; JUBEAU, S.; VACA-GARCIA, C.; MICHAUD, P. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 40, n. 8, p. 781–796, 2013.
- POTTER, R.; STOJCESKA, V.; PLUNKETT, A. The use of fruit powders in extruded *snacks* suitable for Children’s diets. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 537-544, 2013.
- PRATES, D. F. **Foto-estimulação de microalgas para produção de ficocianina e outras biomoléculas utilizando diodos emissores de luz (LEDs)**. 2015. 128f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 6, p. 635-648, 2004.
- QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande, RS: Editora da FURG, 2006. 268p.
- RADMER, R. J. Algal diversity and commercial algal products. **Bioscience**, v. 46, n. 4, p. 263-270, 1996.

- RATHOD, R. P.; ANNAPURE, U. S. Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 114-123, 2016.
- REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Repeated batch cultivation of the microalga *Spirulina platensis*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 9, p. 937-943, 2006.
- REMIREZ, D.; GONZALEZ, R.; MERINO, N.; RODRIGUEZ, S.; ANCHETA, O. Inhibitory effects of *Spirulina* in zymosan-induced arthritis in mice. **Mediators of Inflammation**, v. 11, n. 2, p. 75-79, 2002.
- RIAZ, M. N. **Extruders in food applications**. Boca Raton: CRC Press, 2000.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: ILSI PRESS, 2001.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington, DC: HarvestPlus, 2004, 59p.
- ROSELL, C. M.; MARCO, C. Rice. In: ARENDT, E. K.; DAL BELLO, F. **Gluten free cereal products and beverages**. eds. Academic Press: London, 2008, cap 4.
- SALL, M. G.; DANKOKO, B.; BADIANE, M.; EHUA, E.; KUAKUWI, N. Resultats d'un essai de rehabilitation nutritionnelle avec la *Spiruline* a Dakar. **Médecine d'Afrique Noire**, v. 46, n. 3, p. 143-146, 1999.
- SANTOS, T. D.; FREITAS, B. C. B.; MOREIRA, J. B.; ZANFONATO, K.; COSTA, J. A. V. Development of powdered food with the addition of *Spirulina* for food supplementation of the elderly population. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 37, p. 216-220, 2016.
- SETH, D.; BADWAIK, L. S.; GANAPATHY, V. Effect of feed composition, moisture content and extrusion temperature on extrudate characteristics of yam-corn-rice based snack food. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1830-1838, 2013.
- SCHMIELE, M. **Caracterização das frações com diferentes granulometrias de milho dentado e duro e avaliação na qualidade de extrusados expandidos**. 2009. [s.n.]. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- SILVA, E. M. M.; ASCHERI, J. L. R.; ASCHERI, D. P. R. Quality assessment of gluten-free pasta prepared with a brown rice and corn meal blend via thermoplastic extrusion. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 698-706, 2016.
- SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; BURKERT, C. A. V.; KALIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 8, p. 1629-1634, 2007.
- SKULBERG, O. M. Bioactive Chemicals in Microalgae. In: RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. 1.ed. Oxford: Blackwell, 2004. cap. 30.

SOARES, B. M.; VIEIRA, A. A.; LEMÕES, J. S.; SANTOS, C. M. M.; MESKO, M. F.; PRIMEL, E. G.; D'OCA, M. G. M.; DUARTE, F. A. Investigation of major and trace element distribution in the extraction – transesterification process of fatty acid methyl esters from microalgae *Chlorella sp.* **Bioresource Technology**, v. 110, p. 730–734, 2012.

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

STOJCESKA, V.; AINSWORTH, P.; PLUNKETT, A.; IBANOGLU, S. The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat *snacks* made from food by-products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 226–232, 2009.

SUMARGO, F.; GULATI, P.; WEIER, S. A.; CLARKE, J.; ROSE, D. J. Effects of processing moisture on the physical properties and *in vitro* digestibility of starch and protein in extruded brown rice and pinto bean composite flours. **Food Chemistry**, v. 211, p. 726–733, 2016.

TANGKANAKUL, P.; TUNGTRAKUL, P.; MESOMYA, W. Nutrient contents of commercial *snack* food products. **Kasetsart Journal**, v. 33, p. 270–276, 1999.

THYMI, S.; KROKIDA, M. K.; PAPPAS, A.; MAROULIS, Z. B. Structural properties of extruded corn starch. **Journal of Food Engineering**, v. 68, n. 4, p. 519–526, 2005.

TOMASELLI, L. The microalgal cell. In: RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. 1.ed. Oxford: Blackwell, 2004. cap. 1.

TROMBINI, F. R. M. **Caracterização de produtos extrusados de misturas de farinha de soja, fécula e farelo de mandioca**. 2010. 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.

UNICEF. **Micronutrients - Iodine, Iron and Vitamin A**. [S.l]: 2003. Disponível em: http://www.unicef.org/nutrition/index_iodine.html. Acesso em: 16 de set. 2015, 14:48:00.

VIDYASHANKAR, S.; SIREESHA, E.; CHAUHAN, V. S.; SARADA, R. Evaluation of microalgae as vegetarian source of dietary polyunsaturated fatty acids under autotrophic growth conditions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 11, p. 7070–7080, 2015.

VIJAYARANI, D.; PONNALAGHU, S.; RAJATHIVYA, J. Development of value added extruded product using *Spirulina*. **International Journal of Health Sciences and Research**, v. 2, n. 4, p. 42–47, 2012.

VOLK, R. B.; FURKERT, F. H. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. **Microbiological Research**, v. 161, n. 2, p. 180–186, 2006.

ZILIO, R. L. **Produção de biossurfactantes de bactérias e microalgas e biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos**. 2017. 150f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2017.

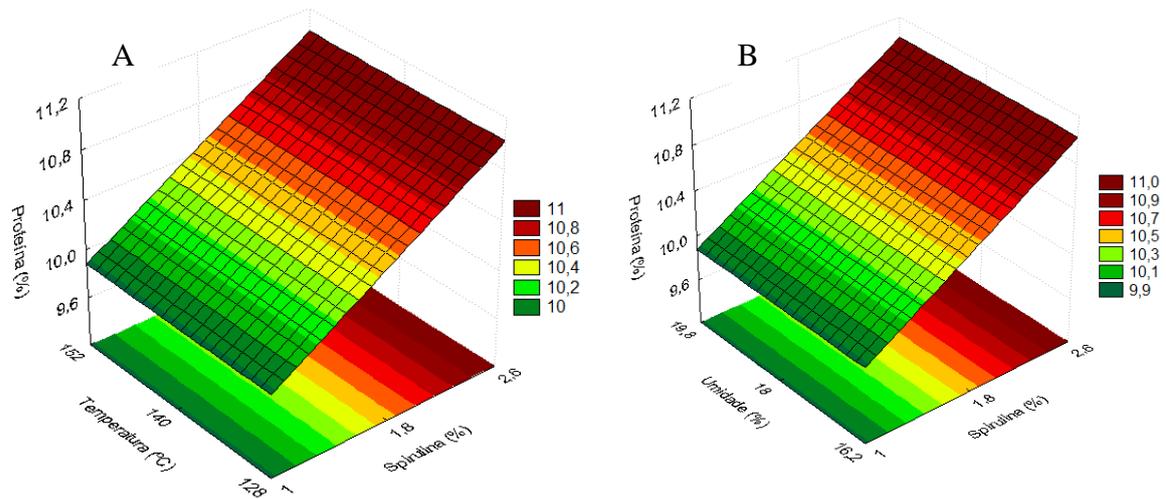
WANI, S. A.; KUMAR, P. Effect of extrusion on the nutritional, antioxidant and microstructural characteristics of nutritionally enriched *snacks*. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, p. 166-173, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Countries vow to combat malnutrition through firm policies and actions**. Roma: 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/icn2-nutrition/en/>. Acesso em: 18 de set. 2015, 13:25:00.

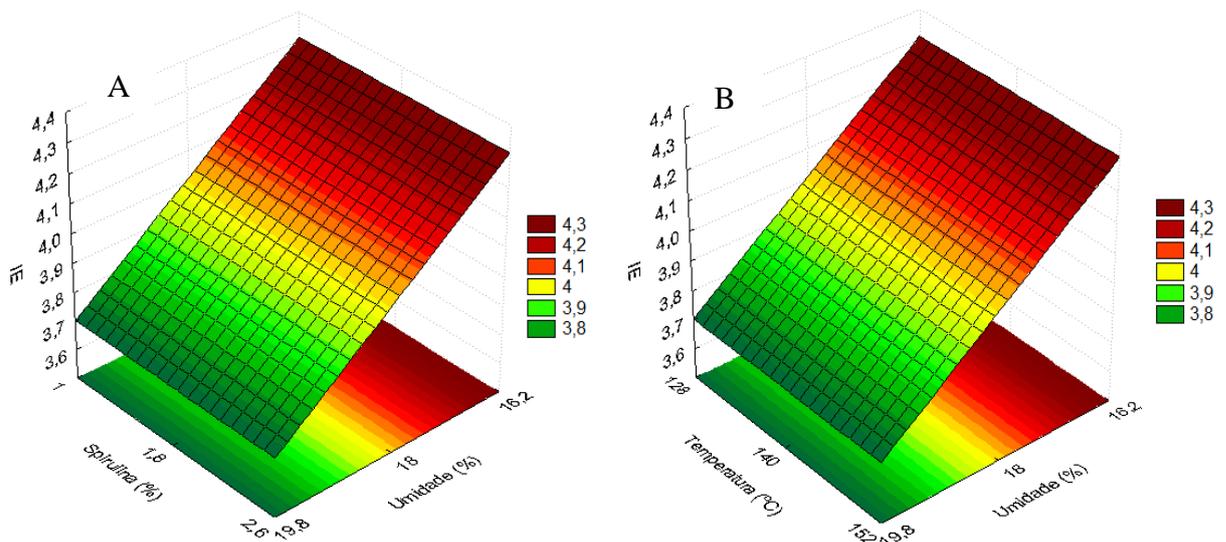
YAMAGUCHI, K. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review. **Journal of Applied Phycology**, v. 8, p. 487-502, 1997.

APÊNDICES

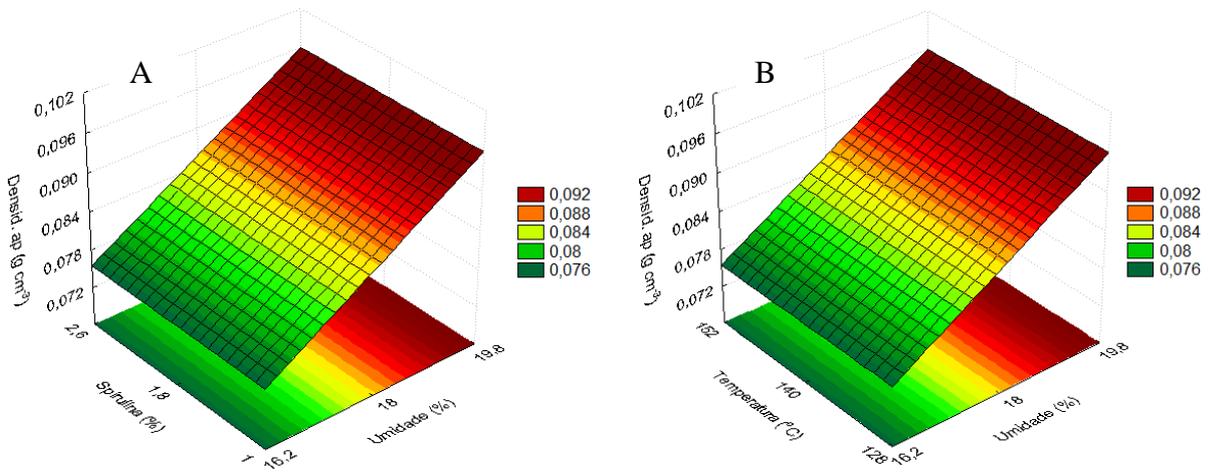
APÊNDICE 1 – Efeito das variáveis independentes temperatura e *Spirulina* sp. LEB 18 (A) e umidade e *Spirulina* sp. LEB 18 (B) na concentração de proteína (%) dos *snacks* extrusados.



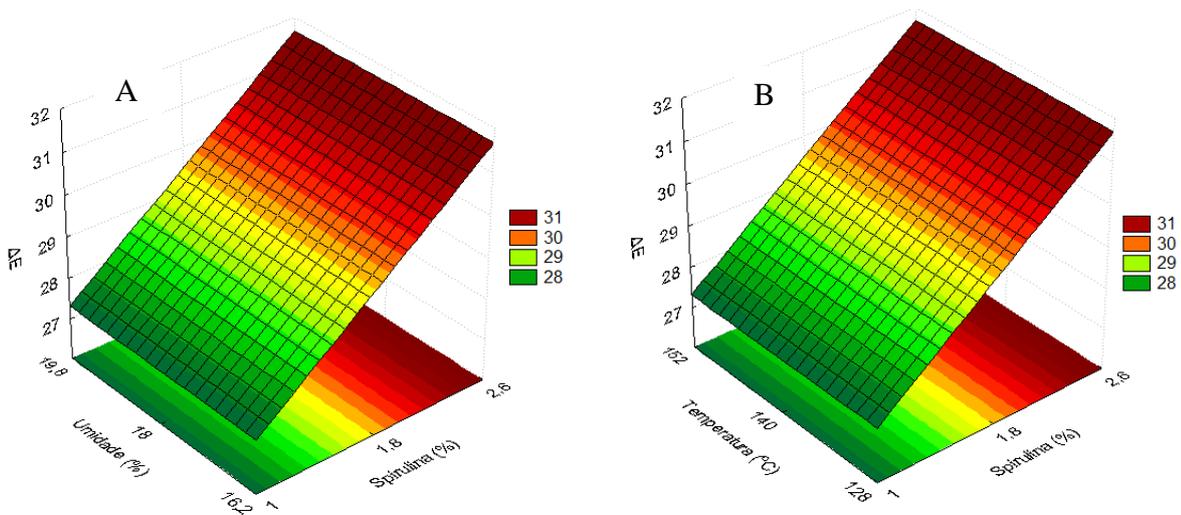
APÊNDICE 2 – Efeito das variáveis independentes *Spirulina* sp. LEB 18 e umidade (A) e temperatura e umidade (B) no índice de expansão dos *snacks* extrusados.



APÊNDICE 3 – Efeito das variáveis independentes *Spirulina* sp. LEB 18 e umidade (A) e temperatura e umidade (B) na densidade aparente dos *snacks* extrusados.



APÊNDICE 4 – Efeito das variáveis independentes umidade e *Spirulina* sp. LEB 18 (A) e temperatura e *Spirulina* sp. LEB 18 (B) na ΔE dos *snacks* extrusados.



APÊNDICE 5 – Ficha de avaliação sensorial dos *snacks* extrusados.

Nome: _____ Sexo: ()F ()M Data: __/__/__ Idade: _____
 Você gosta de snacks? ()Sim ()Não

Você está recebendo amostra de snack extrusado. Avalie a amostra quanto a AROMA, COR, SABOR, TEXTURA e AVALIAÇÃO GLOBAL e, após indique na escala abaixo o quanto você gostou ou desgostou da amostra.

Amostra: _____

	NOTA
AROMA:	_____
COR:	_____
SABOR:	_____
TEXTURA:	_____
AVALIAÇÃO GLOBAL:	_____

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

Se este produto estivesse no mercado, você:
 () Certamente compraria
 () Provavelmente compraria
 () talvez compraria/talvez não compraria
 () Provavelmente não compraria
 () Certamente não compraria

Comentários: _____

APÊNDICE 6 – Parecer nº 49/2016 do comitê de ética em pesquisa.

CEPAS/FURG
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA NA ÁREA DA SAÚDE
Universidade Federal do Rio Grande - FURG
www.cepas.furg.br

PARECER Nº 49/2016**CEPAS 17/2016**

CAAE: 54807815.9.1001.5324
Processo: 23116.002572/2016-05

Título da Pesquisa: Cultivo de microalgas no Brasil: Segurança Alimentar, Desenvolvimento Sustentável e Alternativas de Trabalho e Renda.
Pesquisador Responsável: Jorge Alberto Vieira Costa

PARECER DO CEPAS:

O Comitê, considerando tratar-se de um trabalho relevante, o que justifica seu desenvolvimento, bem como o atendimento à pendência informada no parecer 37/2016, emitiu o parecer de **APROVADO** para o projeto "**Cultivo de microalgas no Brasil: Segurança Alimentar, Desenvolvimento Sustentável e Alternativas de Trabalho e Renda.**"

Está em vigor, desde 15 de novembro de 2010, a Deliberação da CONEP que compromete o pesquisador responsável, após a aprovação do projeto, a obter a autorização da instituição coparticipante e anexá-la ao protocolo do projeto no CEPAS. Pelo exposto, o pesquisador responsável deverá verificar se seu projeto está obedecendo a referida deliberação da CONEP.

Segundo normas da CONEP, deve ser enviado relatório **final** de acompanhamento ao Comitê de Ética em Pesquisa, conforme modelo disponível na página <http://www.cepas.furg.br>.

Data de envio do **relatório final**: 31/12/2017.

Rio Grande, RS, 23 de maio de 2016.


Profª. Eli Sinnott Silva

Coordenadora do CEPAS/FURG

APÊNDICE 7 – Termo de consentimento para avaliação sensorial.

Universidade Federal do Rio Grande
Universidade Federal da Bahia

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(para maiores de 18 anos)

Título do projeto:

Cultivo de microalgas no Brasil: segurança alimentar, desenvolvimento sustentável e alternativas de trabalho e renda.

Objetivo:

Contribuir para o desenvolvimento de um sistema de produção de microalgas social, ambiental e economicamente viável e sustentável, através da introdução de alimentos enriquecidos com *Spirulina* na alimentação escolar.

Descrição dos procedimentos:

Uma ficha de avaliação contendo duas perguntas será entregue para saber o quanto a Sra. (Sr.) gostou do produto e se a Sra. (Sr.) compraria o produto. Para avaliação do quanto a Sra. (Sr.) gostou do produto será utilizada uma escala de nove pontos, tendo em um extremo a qualificação “desgostei muitíssimo” e na outra extremidade “gostei muitíssimo”. A escala utilizada para avaliar a intenção de compra será de cinco pontos, variando de “certamente compraria” a “certamente não compraria” o produto.

Cada participante receberá uma amostra do produto enriquecido com *Spirulina* e será solicitado aos julgadores que provem cada amostra e deem sua opinião. O procedimento terá o tempo de duração de aproximadamente 10 minutos para a degustação da amostra. Além da ficha de avaliação, o julgador receberá água mineral para lavagem da cavidade oral e neutralização do paladar.

Durante a sua participação, você poderá recusar a responder a qualquer pergunta.

Benefícios, desconfortos e riscos:

A participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Ao participar desta pesquisa os julgadores receberão informações sobre o produto que irão avaliar, ficando claro que é enriquecido com microalga *Spirulina*. A *Spirulina* é uma fonte proteica alternativa muito usada como complemento alimentar humano, pois apresenta alta digestibilidade e alto teor proteico (65% em base seca). Essa microalga também é composta por lipídios, ácidos graxos essenciais (ômega 3 e 6), ficocianina, carotenoides, minerais, vitaminas, biopeptídeos, aminoácidos essenciais e compostos fenólicos. O maior benefício desta pesquisa será disponibilizar, na alimentação escolar, alimentos enriquecidos com *Spirulina* que possam melhorar o estado nutricional das crianças.

Os procedimentos usados oferecem riscos mínimos, sendo o principal a indisposição de algum participante na cabine de provadores. Caso o julgador sinta algum desconforto estomacal como náusea ou apresente outros problemas, como alergia a proteína do glúten ou intolerância a lactose, solicita-se que informe à equipe de pesquisa, para que possa ser conduzido por um dos avaliadores ao ambulatório do Campus Carreiros, que está localizado na Avenida Itália, km 08, CEP 96201-900. Se necessário, após atendimento no ambulatório do Campus Carreiros, o avaliador irá acompanhar o julgador ao Pronto Atendimento do Hospital Universitário da FURG, Rua Visconde de Paranaguá, 102 - Centro, Rio Grande - RS, CEP 96200-190.

Garantia de acesso:

Caso tenha qualquer dúvida, em qualquer etapa do estudo, solicite esclarecimentos ao entrevistador, e/ou à Coordenação do projeto – Prof. Jorge Alberto Vieira Costa, Universidade Federal do Rio Grande, Avenida Itália, km 8, CEP: 96.201-900 - Fone (53) 3233.6908/ e-mail: jorgealbertovc@gmail.com.

Retirada de consentimento:

É garantida, a qualquer momento, a liberdade da retirada de consentimento de participar do estudo, sem que ocorra qualquer prejuízo ao Sr (Sra.).

Confidencialidade:

Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores e/ou coordenador do projeto (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo até que os resultados dessa pesquisa sejam publicados.

Informações sobre o andamento do projeto:

O Sr (Sra.) tem o direito de acompanhar os resultados parciais obtidos na pesquisa. Os responsáveis da pesquisa estarão à disposição para apresentar os resultados.

Despesas e compensações:

Não haverá despesas pessoais para os participantes em qualquer fase do estudo. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação.

Compromisso do pesquisador

O pesquisador se compromete a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa, bem como, em utilizar ingredientes de qualidade segura e em desenvolver os alimentos em condições de processamento de acordo com as especificações de Boas Práticas de Fabricação.



Universidade Federal do Rio Grande
Universidade Federal da Bahia



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG _____, declaro ter sido informado (a) e estar devidamente esclarecido (a) sobre os objetivos e intenções deste estudo que é contribuir para a análise sensorial dos alimentos enriquecidos com *Spirulina*, a partir de testes de aceitação e intenção de compra. Recebi garantia total de sigilo e de obter esclarecimentos sempre que o desejar. Sei que minha participação está livre de despesas. Concordo em participar voluntariamente deste estudo e sei que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo ou perda de qualquer natureza.

Assinatura _____

Local: _____, _____ de _____ de 201__

PESQUISADOR RESPONSÁVEL

Eu, Jorge Alberto Vieira Costa, responsável pelo projeto, ou o meu representante declaramos que obtivemos espontaneamente o consentimento deste participante para realizar este estudo.

Assinatura _____ / ____/ _____

Professor Jorge Alberto Vieira Costa, Universidade Federal do Rio Grande, Avenida Itália, km 8, CEP: 96.201-900 - Fone (53) 3233.6908/ e-mail: jorgealbertovc@gmail.com.

Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande (CEPAS/FURG), Rua Visconde de Paranaguá 102, Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Júnior 1º Andar, CEP: 96201-900, telefone (53) 32374652.