



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PLANTA INDUSTRIAL PARA PRODUÇÃO DE *Spirulina*: VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS,
RESPOSTAS BIOLÓGICAS E APLICAÇÃO DE NORMAS DE GARANTIA DA
QUALIDADE

ENG^a LÍVIA DA SILVA UEBEL

PROF.^a DR.^a MICHELE GREQUE DE MORAIS
Orientadora

PROF. DR. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Coorientador

RIO GRANDE, RS

2017

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

PLANTA INDUSTRIAL PARA PRODUÇÃO DE *Spirulina*: VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS,
RESPOSTAS BIOLÓGICAS E APLICAÇÃO DE NORMAS DE GARANTIA DA
QUALIDADE

ENG^a LÍVIA DA SILVA UEBEL

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

PROF.^a DR.^a MICHELE GREQUE DE MORAIS
Orientadora

PROF. DR. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Coorientador

RIO GRANDE, RS

2017

Ficha catalográfica

U22p Uebel, Livia da Silva.
Planta industrial para produção de *Spirulina*: variáveis físico-químicas, respostas biológicas e aplicação de normas de garantia de qualidade / Livia da Silva Uebel. – 2017.
142 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2017.
Orientadora: Dr^a. Michele Greque de Moraes.
Coorientador: Dr. Jorge Alberto Vieira Costa.

1. Alimentação 2. Cultivo 3. Nutracêutico 4. Nutrientes 5. *Raceway*
I. Moraes, Michele Greque de II. Costa, Jorge Alberto Vieira II. Título.

CDU 664

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Livia da Silva Uebel e aprovada em 17 de fevereiro de 2017, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:

Michele Greque de Moraes

Profa. Dra. Michele Greque de Moraes – FURG

Vanessa Sacramento Cerqueira

Profa. Dra. Vanessa Sacramento Cerqueira – UFPEL

Ana Priscila C. Rosa

Profa. Dra. Ana Priscila Centeno da Rosa – FURG

Thaís Duarte Santos

Dra. Thaís Duarte dos Santos – FURG

Dedico aos meus pais, à minha irmã, avó e ao meu namorado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Solon e Mara, à minha irmã Amanda e avó Marlei pelo amor, apoio e por serem minha fonte de inspiração diária.

Ao meu namorado, Cássio, por todo amor e dedicação que tem demonstrado ao longo desses anos.

Aos tios, tias, primas, primos, amigas e amigos pelo incentivo e os bons momentos que passamos juntos.

À amiga e parceira de apartamento, Maiara, obrigada pela acolhida.

A presença de todos em minha vida proporcionou que eu concluísse mais uma etapa, e ainda, é um estímulo para eu buscar novos objetivos.

À minha orientadora e professora Michele e ao coorientador e professor Jorge pelo suporte fornecido para o desenvolvimento do trabalho e todo o conhecimento transmitido desde a minha graduação.

Ao pessoal da Olson Nutrição; Adriana, Eliane, Luiz e Maristela; pela acolhida e ajuda (principalmente nos dias das minhas coletas). A participação de todos foi fundamental para a realização do trabalho.

Aos integrantes e os empréstimos de equipamentos do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica, Laboratório de Engenharia Bioquímica, Laboratório de Biotecnologia, Laboratório de Engenharia de Bioprocessos, Laboratório de Análise Sensorial e Controle de Qualidade, Laboratório Tecnologia de Alimentos e Laboratório Micotoxinas e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

À FURG e aos funcionários que contribuíram para que a dissertação fosse desenvolvida.

À CAPES pela bolsa de estudos no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos.

“O mundo está nas mãos daqueles que têm a coragem de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos.”

Paulo Coelho

RESUMO

As microalgas são organismos microscópios unicelulares que requerem, principalmente, água, dióxido de carbono e luz solar para o crescimento. O produto do cultivo desses micro-organismos pode ser utilizado na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. O objetivo do trabalho foi estudar o comportamento das variáveis físico-químicas, respostas biológicas e aplicar normas de garantia da qualidade em planta industrial para produção da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18. O projeto foi desenvolvido na indústria Olson Nutrição, em Camaquã, Rio Grande do Sul, Brasil, onde foram aplicadas as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). O cultivo em meio Zarrouk foi desenvolvido em fotobiorreator tipo *raceway*, disposto em estufa sob condições não controladas. O acompanhamento foi realizado, diariamente, de fevereiro a dezembro de 2016 por meio da determinação de pH, temperaturas do ambiente e do meio de cultivo, luminosidade, concentração de biomassa e parâmetros cinéticos. As concentrações de carbono total, fosfato e nitrato no meio de cultivo foram avaliadas a cada 5 d. A biomassa foi caracterizada quanto ao teor de carboidratos, proteínas, umidade, cinzas, lipídios, ácidos graxos, ficocianina, aminoácidos e metais pesados. Além disso, foi realizada análise microbiológica do meio de cultivo e da biomassa. O pH do cultivo manteve-se entre 9,4 e 11,5. As temperaturas mínimas e máximas dentro da estufa foram 17,9 e 50,1 °C, respectivamente. As temperaturas mínimas e máximas do cultivo foram 15,1 e 40,0 °C, respectivamente. A luminosidade manteve-se entre 0,62 e 79,3 klux. A concentração de carbono total no meio de cultivo variou de 0,55 a 3,65 g/L, enquanto a de fosfato variou de 0,11 a 0,89 g/L e a de nitrato de 0,02 a 0,11 g/L. A velocidade específica máxima de crescimento (0,133 1/d), o tempo mínimo de geração (5,2 d) e a produtividade máxima (14,9 g/m².d) foram obtidos nos primeiros 9 d de crescimento da microalga. A concentração de biomassa máxima (1,64 g/L) foi obtida no mês de março, em 37 d de cultivo. Os maiores teores obtidos de carboidratos, proteínas e lipídios na biomassa foram 10,6; 57,0 e 11,7 %, respectivamente. Os menores teores de umidade e cinzas obtidos na biomassa foram 4,4 e 10,7 %, respectivamente. Quanto aos ácidos graxos presentes na biomassa, houve predominância do palmitoleico, seguido pelo esteárico, oleico e palmítico. O maior teor do pigmento ficocianina detectado na biomassa foi 25,1 mg/g. Os aminoácidos essenciais leucina, treonina, isoleucina e metionina encontrados na biomassa apresentaram quantidades maiores que às necessárias para a dieta de um adulto de acordo com padrão *Food and Agriculture Organization*. A determinação de arsênio, chumbo e cádmio na biomassa apresentou concentrações menores que os limites máximos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. A análise microbiológica do meio de cultivo e da biomassa forneceu valores de baixa contaminação. O acompanhamento na planta industrial demonstrou que o cultivo sob condições não controladas produz biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 de alta qualidade para aplicação na saúde e no desenvolvimento humano, seguindo normas de BPF e a APPCC.

Palavras-chave: Alimentação. Cultivo. Nutracêutico. Nutrientes. *Raceway*.

INDUSTRIAL PLANT FOR *Spirulina* PRODUCTION: PHYSICAL-CHEMICAL VARIABLES, BIOLOGICAL RESPONSES AND APPLICATION OF QUALITY ASSURANCE STANDARDS

ABSTRACT

Microalgae are unicellular microscopic organisms that require mainly water, carbon dioxide and sunlight for growth. The product of the cultivation of these microorganisms can be used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. The objective of this work was to study the behavior of physico-chemical variables, biological responses and to apply quality assurance standards in an industrial plant for the production of *Spirulina* sp. LEB 18. The project was developed in the Olson Nutrition industry, in Camaquã, Rio Grande do Sul, Brazil, where Good Manufacturing Practices (GMP) and Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) were applied. Cultivation in Zarrouk medium was developed in a raceway photobioreactor, set in a greenhouse under uncontrolled conditions. Monitoring was carried out daily from February to December 2016 by means of determination of pH, temperatures of the environment and the culture medium, luminosity, biomass concentration and kinetic parameters. The concentrations of total carbon, phosphate and nitrate in the culture medium were evaluated every 5 d. Biomass was characterized as carbohydrates, proteins, moisture, ashes, lipids, fatty acids, phycocyanin, amino acids and heavy metals. In addition, a microbiological analysis of the culture medium and biomass was carried out. The pH of the culture remained between 9.4 and 11.5. The minimum and maximum temperatures inside the greenhouse were 17.9 and 50.1 °C, respectively. The minimum and maximum culture temperatures were 15.1 and 40.0 °C, respectively. The luminosity remained between 0.62 and 79.3 klux. The total carbon concentration in the culture medium ranged from 0.55 to 3.65 g/L, while that of phosphate varied from 0.11 to 0.89 g/L and that of nitrate from 0.02 to 0.11 g/L. The maximum specific growth rate (0.133 l/d), minimum generation time (5.2 d) and maximum yield (14.9 g/m².d) were obtained in the first 9 d of microalga growth. The maximum biomass concentration (1.64 g/L) was obtained in March, in 37 d of cultivation. The highest levels of carbohydrates, proteins and lipids in the biomass were 10.6; 57.0 and 11.7%, respectively. The lowest moisture content and ashes obtained in the biomass were 4.4 and 10.7%, respectively. As for the fatty acids present in the biomass, there was predominance of palmitoleic, followed by stearic, oleic and palmitic. The highest content of the phycocyanin pigment detected in the biomass was 25.1 mg/g. The essential amino acids leucine, threonine, isoleucine and methionine found in biomass presented higher amounts than those required for the diet of an adult according to the Food and Agriculture Organization standard. The determination of arsenic, lead and cadmium in the biomass presented concentrations lower than the maximum limits established by the National Sanitary Surveillance Agency. Microbiological analysis of the culture medium and biomass provided low contamination values. The monitoring in the industrial plant showed that the cultivation under uncontrolled conditions produces *Spirulina* sp. LEB 18 for application in human health and development, following GMP and HACCP standards.

Keywords: Cultivation. Feeding. Nutraceutical. Nutrients. Raceway.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Adições de meio de cultivo Zarrouk	36
Tabela 2 - Velocidades específicas de crescimento (μ , 1/d), tempos de geração (tg, d) e produtividades (P, g/m ² .d) do cultivo de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 na planta industrial.....	49
Tabela 3 - Composição centesimal da biomassa de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 da planta industrial.....	51
Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos da biomassa de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 da planta industrial	53
Tabela 5 - Composição de aminoácidos.....	56
Tabela 6 - Concentração de metais pesados	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microfotografia da microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18	24
Figura 2 - Cultivo da microalga <i>Spirulina</i> em Santa Vitória do Palmar (a), Candiota (b), Ribeirão Preto (c) e Camaquã (d)	32
Figura 3 - Sequência de desenvolvimento e implantação da APPCC	41
Figura 4 - Variação da concentração de biomassa de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 na planta industrial ...	43
Figura 5 - Variação de pH ao longo do cultivo de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 na planta industrial.....	44
Figura 6 - Variação de temperatura mínima e máxima da estufa (a,b) e do cultivo (c,d) de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 na planta industrial	45
Figura 7 - Variação de luminosidade ao longo do cultivo de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 na planta industrial.....	47
Figura 8 - Variação da concentração de carbono total (a), fosfato (b) e nitrato (c) ao longo do cultivo de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 na planta industrial	48
Figura 9 - Planta baixa da Olson Nutrição	64
Figura 10 - Organograma da Olson Nutrição	119
Figura 11 - Fluxograma do processo produtivo da Olson Nutrição	121

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Equipe de boas práticas	63
Quadro 2 - Monitorização do POP 01.....	74
Quadro 3 - Verificação do POP 01	75
Quadro 4 - Registos do POP 01.....	75
Quadro 5 - Procedimentos POP 01	76
Quadro 6 - Procedimentos POP 01	77
Quadro 7 - Reservatórios de água da Olson Nutrição.....	89
Quadro 8 - Monitorização do POP 02.....	89
Quadro 9 - Verificação do POP 02	90
Quadro 10 - Registos do POP 02.....	90
Quadro 11 - Monitorização do POP 03.....	96
Quadro 12 - Verificação do POP 03	98
Quadro 13 - Registos do POP 3.....	98
Quadro 14 - Monitorização do POP 04.....	100
Quadro 15 - Verificação do POP 04	101
Quadro 16 - Registos do POP 04.....	101
Quadro 17 - Monitorização do POP 05.....	103
Quadro 18 - Verificação do POP 05	104
Quadro 19 - Registos do POP 05.....	104
Quadro 20 - Monitorização do POP 06.....	108
Quadro 21 - Verificação do POP 06	109
Quadro 22 - Registos do POP 06.....	109
Quadro 23 - Monitorização do POP 07.....	114
Quadro 24 - Verificação do POP 07	114
Quadro 25 - Registos do POP 07.....	114
Quadro 26 - Monitorização do POP 08.....	117
Quadro 27 - Verificação do POP 08	117
Quadro 28 - Registos do POP 08.....	117
Quadro 29 - Registro de coleta, extrusão, secagem, moagem e envase.....	118
Quadro 30 - Equipe de APPCC	119
Quadro 31 - Descrição dos produtos.....	120
Quadro 32 - Definição dos pontos críticos de controle.....	122
Quadro 33 - Plano de APPCC	123

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1 MICROALGAS	23
3.2 FOTOSSÍNTESE	23
3.3 <i>Spirulina</i>	24
3.4 REQUERIMENTOS NUTRICIONAIS PARA O CULTIVO DE <i>Spirulina</i>	25
3.5 PRINCIPAIS FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM NO CULTIVO MICROALGAL	26
3.5.1 Luminosidade	26
3.5.2 Temperatura	26
3.5.3 pH	27
3.5.4 Agitação	28
3.6 BIORREATORES PARA O CULTIVO MICROALGAL	28
3.7 MICROALGAS NA ALIMENTAÇÃO	29
3.8 CULTIVO DE <i>Spirulina</i> DO LABORATÓRIO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA DE PLANTA INDUSTRIAL EM ESCALA PILOTO	31
3.9 CULTIVO DE <i>Spirulina</i> EM ESCALA COMERCIAL	33
3.10 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE	33
4 METODOLOGIA	35
4.1 MICRO-ORGANISMO E MEIO DE CULTIVO	35
4.2 FOTOBIORREATORES E CONDIÇÕES DE CULTIVO	35
4.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	36
4.4 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS	37
4.5 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA	37
4.5.1 Carboidratos e proteínas	37
4.5.2 Umidade e cinzas	38
4.5.3 Lipídios e perfil de ácidos graxos	38
4.5.4 Ficocianina	38
4.5.5 Composição de aminoácidos	39
4.5.6 Metais pesados	39
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	40
4.8 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 ACOMPANHAMENTO DO CULTIVO	43
5.1.1 Concentração de biomassa	43
5.1.2 pH	44
5.1.3 Temperaturas	45
5.1.4 Luminosidade	46
5.1.5 Concentração de carbono, fosfato e nitrato	47
5.2 PARÂMETROS CINÉTICOS	49
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA	51
5.3.1 Composição centesimal	51
5.3.2 Perfil de ácidos graxos	53

5.3.3 Ficocianina.....	55
5.3.4 Composição de aminoácidos	56
5.3.5 Metais pesados.....	57
5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	58
5.5 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE	59
5.5.1 Informações gerais da empresa	59
5.5.2 Termos e definições	60
5.5.3 Equipe de boas práticas	63
5.5.4 Qualificação dos colaboradores em segurança dos alimentos	63
5.5.5 Visitantes	64
5.5.6 Características das instalações.....	64
5.5.6.1 Vestiários e instalações sanitárias	65
5.5.6.2 Limpeza	65
5.5.6.3 Cozinha	66
5.5.6.4 Almoxarifado produtos.....	66
5.5.6.5 Almoxarifado insumos	66
5.5.6.6 Laboratório.....	66
5.5.6.7 Escritório.....	67
5.5.6.8 Produção	67
5.5.6.9 Estufa	67
5.5.7 Equipamentos, utensílios e matéria-prima.....	68
5.5.8 Higiene pessoal	68
5.5.8.1 Orientações comportamentais	68
5.5.8.2 Uso de uniformes.....	69
5.5.9 Sistema de segurança	70
5.5.9.1 Proteção contra incêndios	70
5.5.9.2 Controle integrado de pragas e roedores	70
5.5.10 Produção.....	70
5.5.11 Armazenamento e transporte dos produtos	71
5.5.12 Rastreabilidade, reclamação, troca e devolução de produtos.....	71
POP 01 HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES, EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS	73
POP 02 CONTROLE DE POTABILIDADE DE ÁGUA	87
POP 03 HIGIENE E SAÚDE DOS MANIPULADORES.....	93
POP 04 MANEJO DE RESÍDUOS.....	99
POP 05 MANUTENÇÃO PREVENTIVA E CALIBRAÇÃO DE EQUIPAMENTOS.....	102
POP 06 CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS.....	105
POP 07 CONTROLE DO RECEBIMENTO DE NUTRIENTES, FRASCOS, CÁPSULAS, RÓTULOS E EMBALAGENS	113
POP 08 CONTROLE DE RASTREABILIDADE DOS PRODUTOS.....	115
5.5.13 Formação da equipe de APPCC	119
5.5.14 Descrição dos produtos	120
5.5.15 Fluxograma.....	121
5.5.16 Definição dos pontos críticos de controle.....	121
5.5.17 Plano de APPCC	123
6 SUGESTÕES PARA A PLANTA INDUSTRIAL.....	125
7 CONCLUSÃO	127
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	129
ANEXO	139

1 INTRODUÇÃO

As microalgas produzem biomassa altamente nutritiva contendo proteínas, carboidratos, sais minerais, vitaminas e ácidos graxos essenciais (PULZ; GROSS, 2004). O mercado de alimentos que utiliza microalgas tem se desenvolvido na França, Peru, México, Índia, Estados Unidos, China e Tailândia (JIBRIL et al., 2016).

A versatilidade dos sistemas de cultivo de microalgas, em grande escala, torna possível relacionar diferentes aplicações com importância econômica no mesmo processo, como o tratamento de águas residuais, produção de suplementos alimentícios, rações, biopolímeros, fármacos, pigmentos e produtos químicos. Os cultivos podem ser realizados em sistemas abertos ou fechados e são ferramentas para a elucidação de processos ecológicos, fisiológicos, bioquímicos e comportamentais (LOURENÇO, 2006; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

A utilização da fotossíntese para a produção primária de energia, produtos químicos e alimentos, através do cultivo microalgal, torna-se uma opção interessante devido à eficiência de conversão de energia solar em biomassa (BUCY; BAUMGARDNER; MARCHESE, 2012). A microalga *Spirulina*, pertencente ao grupo de cianobactérias filamentosas, é encontrada naturalmente em lagos e/ou lagoas alcalinas (MORAIS et al., 2008) e apresenta capacidade de ser cultivada em grande escala sob condições ambientais não controladas. Esta microalga possui certificado *Generally Recognized as Safe* (GRAS) emitido pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (PARRY NUTRACEUTICALS, 2012), podendo ser utilizada como alimento sem oferecer riscos à saúde. A microalga *Spirulina* vem sendo cultivada para a produção e comercialização de biomassa, em pó, tabletes, cápsulas, líquida ou incorporada a outros alimentos, para aplicação na alimentação humana e animal. Além disso, esta tem apresentado propriedades terapêuticas, como a capacidade antioxidante e de auxiliar no tratamento de doenças do coração, hipertensão, obesidade e alcoolismo (PANDEY et al., 2014; SPOLAORE et al., 2006).

Desde 1996, o Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) desenvolve pesquisas sobre o cultivo de *Spirulina* com trabalhos de iniciação científica, de conclusão de curso, dissertações e teses. Diversos estudos foram realizados como cultivos descontínuos e semicontínuos, em fotobiorreatores abertos e fechados (REICHERT; REINEHR; COSTA, 2006), efeito de fatores como temperatura (COLLA; BERTOLIN; COSTA, 2004), iluminação (ANDRADE; COSTA, 2007), aeração, taxa de renovação e concentração de corte (REICHERT; REINEHR; COSTA, 2006), perfil de ácidos graxos de microalgas (MORAIS; COSTA, 2008b), fontes de nutrientes alternativas, como a água da Lagoa Mangueira (ANDRADE; COSTA, 2008), custos de produção, potencial hipocolesterolêmico de *Spirulina platensis* (COLLA; MUCCILLO-BAISCH; COSTA, 2008), isolamento de cepa nativa de *Spirulina* da lagoa Mangueira (MORAIS

et al., 2008), modelagem matemática do crescimento de *Spirulina* (COSTA et al., 2002), cultivo de *Spirulina* com injeção de dióxido de carbono (CARDIAS et al., 2013), produção de biossurfactantes e nanoemulsões a partir de *Spirulina* (CARVALHO, 2014), formulação de produtos alimentícios adicionados da biomassa de *Spirulina* (MORAIS; COSTA; MIRANDA, 2006; CARVALHO, 2010) e desde 2007 o desenvolvimento de nanofibras contendo biomassa microalgal (MORAIS et al., 2010; SCHMATZ et al., 2016).

Além da obtenção de biomassa de *Spirulina* que apresenta propriedades nutritivas, é importante adotar procedimentos no cultivo microalgal como as Boas Práticas de Fabricação (BPF) que asseguram a qualidade dos produtos alimentícios e compreendem as normas básicas de comportamento e higiene. Assim como, deve ser adotada a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) que é realizada nas etapas do processo de produção dos alimentos e fornece informações sobre os perigos de contaminação (ALMEIDA, 2005).

De forma a seguir a linha de pesquisa do LEB sobre o cultivo microalgal, em parceria com a indústria Olson Nutrição, em Camaquã, torna-se importante estudar o comportamento da microalga *Spirulina* em escala maior que a laboratorial. A composição da biomassa microalgal pode variar conforme as condições de luminosidade, temperatura e nutrientes fornecidas ao cultivo. No entanto, as respostas cinéticas do crescimento e biológicas da microalga *Spirulina* frente às condições não controladas ainda são pouco estudadas. Sendo assim, com auxílio das normas de garantia da qualidade será possível aprimorar o processo de produção, em grande escala, da biomassa para comercialização em pó ou encapsulada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o comportamento das variáveis físico-químicas, respostas biológicas e aplicar normas de garantia da qualidade em planta industrial para produção da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o acompanhamento anual do pH, temperaturas, luminosidade, concentração de biomassa, parâmetros cinéticos e concentração de nutrientes no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 em planta industrial;

- Analisar o teor de carboidratos, proteínas, umidade, cinzas, lipídios, ácidos graxos, ficocianina, aminoácidos e metais pesados na biomassa microalgal;

- Realizar análise microbiológica no meio de cultivo e na biomassa;

- Aplicar as BPF e a APPCC no processo de cultivo microalgal da indústria Olson Nutrição, localizada em Camaquã, Rio Grande do Sul, Brasil.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 MICROALGAS

As denominações microalgas e macroalgas são utilizadas para diferenciar as dimensões das algas. As microalgas constituem o fitoplâncton e são importantes para estruturação de ecossistemas costeiros e oceânicos. As microalgas apresentam grande diversidade de espécies, distinguindo-se principalmente em relação a pigmentação e estrutura celular (DERNER et al., 2006; LOURENÇO, 2006).

O termo microalgas inclui organismos procarióticos (*Cyanophyta* e *Prochlorophyta*) ou eucarióticos (*Chlorophyta*, *Euglenophyta* e *Rhodophyta*), estes micro-organismos unicelulares possuem capacidade fotossintética e, requerem, principalmente, água, dióxido de carbono e luz solar para o crescimento. A biomassa gerada através do cultivo microalgal pode ser utilizada na indústria alimentícia, energética, farmacêutica e de cosméticos (ANDRADE; COSTA, 2008; FERREIRA; SOARES; COSTA, 2013).

3.2 FOTOSSÍNTESE

As algas são organismos presentes em sistemas aquáticos com fornecimento de luz solar, sua importância na natureza refere-se à participação de 40 % do balanço global da fotossíntese. A fotossíntese é o processo físico-químico que promove a manutenção da vida na terra por meio da síntese de matéria orgânica, na presença de luz solar. A fotossíntese tem a capacidade de reabastecer o oxigênio na atmosfera e converter a energia solar em energia química disponível às funções metabólicas dos organismos vivos, como plantas, algas e alguns tipos de bactérias (VONSHAK, 1997). O carbono orgânico gerado, a partir da fotossíntese, disponibiliza o esqueleto carbônico para a biossíntese de proteínas e lipídios, e é fonte de energia metabólica, que direciona os processos bioquímicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

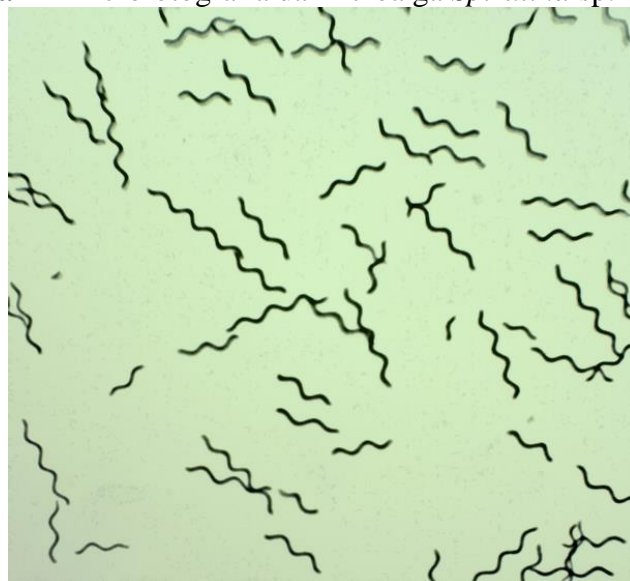
A fotossíntese ocorre em duas fases distintas, as reações da fase clara envolvem a captação da energia luminosa e conversão de adenosina trifosfato (ATP) com redução de energia realizada pelo transporte de elétrons da água para o NADP^+ . As reações que envolvem o transporte de elétrons ocorrem nas membranas tilacoides dispersas nas células. As reações da fase escura, de natureza enzimática, utilizam a energia gerada das reações da fase clara para converter dióxido de carbono (CO_2) em carboidratos. Estas reações são conduzidas fora do cloroplasto, em células eucarióticas, e no citoplasma, no caso das cianobactérias, como a microalga *Spirulina* (VONSHAK, 1997).

3.3 *Spirulina*

A microalga *Spirulina* (consumida na África por Kanembous e no México por Astecas) tem aplicação alimentícia há muito tempo. As mulheres colhiam esta microalga quando os ventos concentravam a biomassa nas margens do lago Chad (África). A biomassa era seca ao sol e, posteriormente, era moída com as mãos e moldada na forma de blocos que eram cortados em pequenos tabletes. O dihé, mistura de *Spirulina* com molho de tomate e temperos variados, também era preparado por estes povos nativos. Os Astecas colhiam *Spirulina* no Lago Texcoco (México) e a consumiam habitualmente com cereais sob a forma de molho conhecido como chimolli ou molho asteca (VONSHAK, 1997).

A microalga *Spirulina* pertencente à divisão *Cyanophyta*, é uma cianobactéria filamentosa que forma tricomas cilíndricos multicelulares, com 1 a 12 µm de diâmetro, e se dispõem na forma espiralada, com até 1 mm de comprimento. A forma dos tricomas pode variar em função de fatores ambientais e físico-químicos como, meio de cultivo e temperatura, e também de acordo com as diferentes cepas da microalga (LOURENÇO, 2006; VONSHAK, 1997). Pode ser encontrada em diversos locais como terra, areia, pântanos, lagos alcalinos, marinhos e de água doce (PANDEY et al., 2014). A Figura 1 apresenta a microalga *Spirulina* sp. LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira, localizada no município de Santa Vitoria do Palmar, Rio Grande do Sul, Brasil (MORAIS et al., 2008).

Figura 1 - Microfotografia da microalga *Spirulina* sp. LEB 18



Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica - FURG

A microalga *Spirulina* apresenta vantagens em relação a outros micro-organismos fotoautotróficos devido ao crescimento em pH alcalino e meio salino, que são fatores que

previnem a contaminação nos biorreatores. Além disso, pode ser facilmente separada do meio de cultivo, devido à forma espiralada e dimensão que apresenta (LOURENÇO, 2006).

3.4 REQUERIMENTOS NUTRICIONAIS PARA O CULTIVO DE *Spirulina*

Em condições naturais, muitas algas crescem em cultivos mistos, incluindo várias espécies e gêneros. Quando o objetivo é estudar ou cultivar espécies individuais, um meio que possibilite condições seletivas é indispensável para o cultivo. Os principais requerimentos incluem carbono, fósforo, nitrogênio, enxofre, potássio, magnésio, cobalto, zinco, boro, cobre, molibdênio, íons ferro e manganês (BECKER, 2004).

As microalgas podem utilizar, como fonte de carbono, bicarbonato de sódio, glicose, acetato, lactato e aminoácidos, assim como fixar CO₂ para reduzir custos com nutrientes e os problemas ambientais causados por este gás (MORAIS; COSTA, 2008a). O bicarbonato de sódio é o nutriente adicionado em maior quantidade no meio de cultivo padrão para microalga *Spirulina*, correspondendo a 60 % do custo total com nutrientes. O bicarbonato (HCO₃⁻) é convertido em CO₂, que é utilizado na fotossíntese, e em carbonato (CO₃²⁻), que é liberado para o meio extracelular, aumentando o pH do cultivo. A fonte de carbono, uma vez dissolvida no meio de cultivo, participa do equilíbrio químico CO_{2(aq)} ↔ H₂CO₃ ↔ HCO₃⁻ ↔ CO₃²⁻ e a distribuição entre as espécies químicas é determinada pelo pH. Em valores de pH menores que 6, a espécie predominante é o ácido carbônico (H₂CO₃), em 10,5 é o HCO₃⁻, enquanto que em valores de pH mais elevados, predomina a formação de CO₃²⁻ (MARKOU; GEORGAKAKIS, 2011).

O fósforo está associado à realização dos processos que envolvem trocas energéticas nas células. ATP, açúcares fosfatados, ácidos nucleicos e fosfoenzimas são os principais componentes que apresentam fósforo em algas, sendo assim, são responsáveis por transferir energia e está presente em moléculas estruturais. O enxofre encontrado na forma de sulfato é importante, pois tem grupos ativos de enzimas e coenzimas e, também é componente estrutural. O potássio auxilia na regulação osmótica, no controle do pH interno, na conformação e estabilidade de proteínas e é ativador de enzimas (LOURENÇO, 2006).

A microalga *Spirulina* não fixa nitrogênio atmosférico por não apresentar heterocistos e pode utilizar diferentes fontes de nitrogênio como íons nitrato, nitrito, amônio e ureia. O cloro encontrado na forma de cloreto apresenta funções no fotossistema II e produção de metabólitos secundários. O cálcio tem funções relacionadas à ativação enzimática, cofator no transporte de íons, estabilizador de membranas e, também atua como componente estrutural. O ferro participa de funções nas vias biossintéticas da clorofila e dos citocromos, respiração, fixação do nitrogênio molecular, cofator de diversas enzimas e redução de nitrato, nitrito e sulfato. O magnésio é

essencial por ser constituinte da molécula de clorofila, ocorrendo no núcleo da mesma e está associado a várias enzimas, sendo também ativador de suas atividades (LOURENÇO, 2006).

3.5 PRINCIPAIS FATORES FÍSICO-QUÍMICOS QUE INFLUENCIAM NO CULTIVO MICROALGAL

3.5.1 Luminosidade

A intensidade luminosa e o comprimento de onda da fonte de iluminação interferem no crescimento das microalgas e na produção de biomassa durante o cultivo. O sistema de cultivo *outdoor* utiliza energia elétrica para homogeneizar os nutrientes e movimentar as células através de pás rotativas, permitindo que as microalgas possam captar a energia solar necessária para o crescimento. Dessa forma, a luminosidade no interior do biorreator induz a atividade enzimática, influenciando na síntese de proteínas (UMINO; SATOH; SHIRAIWA, 1991).

A exposição das células aos ciclos claro/escuro no interior do biorreator auxilia o crescimento das microalgas, visto que manter as células iluminadas constantemente é difícil devido à pequena altura fornecida para adequada luminosidade. O ciclo claro/escuro no interior do cultivo depende da altura do meio líquido, da agitação e da concentração celular (GROBBELAAR, 2006; VONSHAK et al., 1982). A exposição dos cultivos à intensidade luminosa superior ao ponto de saturação (fotoinibição) pode levar à redução da capacidade fotossintética (CHOJNACKA; NOWORYTA, 2004). O excesso de luz pode provocar efeito letal nas células pela formação de peróxido de hidrogênio na presença de oxigênio, reação denominada foto-oxidação ou morte fotooxidativa (HIRAYAMA; UEDA; SUGATA, 1996).

De acordo com Vonshak e Richmond (1988), entre 0,40 e 0,50 g/L situa-se a ótima concentração celular para a máxima eficiência fotossintética em cultivos de *Spirulina*, e nesta concentração é estimado que 2 a 3 cm da superfície cerca de 80 % das células são expostas à ausência total de luz durante alguns instantes. Segundo Gitelson, Qiuang e Richmond (1996), a velocidade de crescimento da microalga *Spirulina* também pode ser reduzida devido ao sombreamento provocado pelas próprias células, impedindo que parte do cultivo receba a incidência da luz.

3.5.2 Temperatura

A temperatura é um dos fatores que mais interferem no metabolismo dos microorganismos, pois tem influência durante a respiração ou fase escura da fotossíntese e, deve ser escolhida em função da necessidade de cada espécie e finalidade do cultivo (LOURENÇO, 2006).

A velocidade de respiração aumenta exponencialmente com a temperatura e pode provocar variações no crescimento celular das microalgas (VONSHAK; RICHMOND, 1988).

A temperatura dos cultivos *outdoor*, que varia conforme as condições climáticas, pode influenciar na composição química da biomassa microalgal, como na concentração de proteínas, ácidos graxos, lipídios e compostos fenólicos (COLLA; RUIZ; COSTA, 2002). De acordo com Jourdan (2001), em baixas temperaturas ocorre decréscimo da atividade fotossintética nas células da microalga *Spirulina*, que alcança ótimo em 35 °C, acima deste valor a concentração de pigmentos fotossintéticos e de proteínas em geral decresce, enquanto as concentrações de carboidratos e lipídios aumentam.

González-Fernández et al. (2016) descreveram que a temperatura interfere na produtividade de biomassa, no entanto a concentração final de biomassa não é alterada. Segundo Fox (1996), a produtividade da microalga *Spirulina* a 18 °C é 46 % da produtividade a 20 °C. Em temperaturas entre 22 e 32 °C a produtividade duplica, permanecendo constante até 40 °C e a temperatura ótima para cultivo de *Spirulina* varia de 35 a 37 °C.

O efeito mais relevante da temperatura no metabolismo celular é a atuação na respiração durante a fase escura do cultivo. O aumento da velocidade de respiração, principalmente à noite, faz com que ocorra redução da produtividade de biomassa, essa perda pode ser minimizada pela redução da temperatura e controle da agitação do cultivo durante a noite (DZUMAN, 2013).

3.5.3 pH

O controle do pH é essencial para que os componentes do meio de cultivo sejam absorvidos pelas microalgas (LOURENÇO, 2006). As cianobactérias dependem diretamente do pH, a microalga *Spirulina* aumenta sua velocidade fotossintética quando o pH encontra-se na faixa de 8,0 a 10,0, desde que nesta faixa o íon bicarbonato seja predominante como fonte de carbono orgânico dissolvido (PELIZER et al., 2003). Sassano et al. (2007) descreveram que o pH no cultivo de *Spirulina* situa-se na faixa de 9,5 e que este valor pode sofrer variações de acordo com as diferentes concentrações de carbonato e bicarbonato no meio de cultivo.

A captação de CO₂ atmosférico depende do pH do meio para o crescimento da microalga. Quanto maior o pH, mais facilmente o CO₂ é assimilado e convertido em íon carbonato. Em cultivos de *Spirulina*, geralmente, é necessária fonte externa de carbono, na forma de bicarbonato, que é mais facilmente assimilada (BINAGHI et al., 2003).

O pH também influencia na disponibilidade de nitrogênio para a célula, com pH abaixo de 8,0 há predominância de íon amônio. Em pH acima de 11,0, o nitrogênio encontra-se na

forma de amônia, que pode ser absorvida pela parede celular (BELKIN; BOUSSIBA, 1991). Rosa (2008) observou que o pH dos cultivos de *Spirulina* variou entre 9,3 e 12,0 devido a utilização da água da Lagoa Mangueira, que por ser rica em carbonatos, eleva o pH do meio de cultivo. Segundo Costa, Colla e Duarte Filho (2004), o elevado pH é importante nos cultivos em sistemas abertos, devido que, torna o meio seletivo e previne a contaminação por outros micro-organismos.

3.5.4 Agitação

A agitação do cultivo mantém as células em suspensão, previne a formação de aglomerados celulares, proporcionando luminosidade suficiente às células para o crescimento (GRIMA et al., 1996; PANDEY; TIWARI, 2010), permite a captação de CO₂ da atmosfera, liberação de oxigênio do interior do meio líquido e diminui os gradientes gasosos e de nutrientes no meio (JIMÉNEZ et al., 2003).

Os cultivos de *Spirulina* requerem sistema de homogeneização eficiente para atingir elevadas concentrações e minimizar o risco de contaminação por outros micro-organismos (BOROWITZKA, 1999). O estresse que pode ser causado por excesso de agitação em cultivos microalgais pode provocar a quebra dos tricomas, com redução em seu tamanho, prejudicando a coleta da microalga através da filtração (VONSHAK et al., 1982).

Nos biorreatores abertos do tipo *raceway* se estabelece o fluxo por meio de divisória central e são, geralmente, agitados por pás rotativas. As pás rotativas podem ser grandes (diâmetro de até 2,0 m e velocidade de 10 rpm) ou pequenas (diâmetro de 0,7 m e velocidade de 2 a 3 vezes maior que a as pás de 2,0 m de diâmetro). O principal problema deste tipo de agitação é a turbulência insuficiente para garantir eficiente regime de luz às células (HABIB et al., 2008; VONSHAK, 1997).

3.6 BIORREATORES PARA O CULTIVO MICROALGAL

Para o cultivo de microalgas diferentes biorreatores podem ser utilizados, podendo ser divididos em sistemas abertos e fechados. Sistemas abertos possuem menores custos de montagem e operação, porém apresentam produtividades menores que às obtidas em sistemas fechados, devido à variação das condições ambientais, como temperatura e luminosidade (BOROWITZKA, 1999). Por outro lado, biorreatores fechados possuem maiores custos de investimento, porém há maior controle dos parâmetros de crescimento, podendo ocasionar aumento na produção de biomassa (HARUN et al., 2010).

Apesar dos biorreatores expostos a condições ambientais não apresentarem controle de variáveis como temperatura e evaporação são os mais utilizados para o cultivo de *Spirulina* em

grande escala. A utilização dos biorreatores *outdoor* ocorre devido ao aproveitamento da energia solar, baixo custo de construção e fácil operacionalidade (GROBBELAAR, 2007; JIMÉNEZ et al., 2003).

As características básicas que devem ser consideradas no projeto de um biorreator são de que devem receber luz, promover a circulação das microalgas, fornecer CO₂, remover oxigênio, controlar o pH e a temperatura. As principais configurações utilizadas, que dependem do tamanho da escala de produção, são tubos de ensaio, placas de petri, balões, erlenmeyers, cápsulas, garrafas, aquários, caixas d'água, cilíndricos, sistemas cônicos, tubulares, planos e tipo *raceway*. Os materiais mais utilizados para a construção são vidro, acrílico, poliestireno, policarbonato, polietileno, policloreto de vinila e geomembrana (ANDERSEN, 2005).

As particularidades de cada um destes materiais devem ser avaliadas individualmente antes da aplicação na construção de biorreatores. O vidro é duro, transparente e adequado para a construção de biorreatores em pequena escala. No entanto, este material requer muitas ligações para a construção de biorreatores em escala maior, o que aumenta o custo de produção. Fibra de vidro, policloreto de vinila e geomembrana podem ser utilizados em reservatórios abertos, devido que a luminosidade atinge a superfície desses cultivos, mas não podem ser utilizados para biorreatores tubulares porque não são materiais transparentes (PANDEY et al., 2014).

3.7 MICROALGAS NA ALIMENTAÇÃO

Além da alta concentração de proteínas, as microalgas são fontes importantes de minerais, vitaminas e ácidos graxos. Dessa forma, esses micro-organismos apresentam características interessantes para aplicação na nutrição humana. A biomassa microalgal pode substituir alimentos convencionais e também ser utilizada como complemento alimentar (LOURENÇO, 2006).

A busca pela melhora da qualidade de vida e saúde tem impulsionado o aumento das pesquisas em relação aos nutracêuticos. Zeisel (1999) definiu nutracêuticos como suplementos alimentares que contêm a forma concentrada de um composto bioativo do alimento, apresentado separadamente da matriz alimentar e utilizado com a finalidade de melhorar a saúde, em doses que excedem aquelas que poderiam ser obtidas de alimentos. De acordo com Kim (2015), as microalgas são interessante fonte de produtos nutracêuticos, pois podem produzir moléculas com propriedades bioativas, como betacaroteno, astaxantina, clorofila, ficobiliproteína e ácidos graxos poli-insaturados.

Segundo Priyadarshani e Rath (2012), o mercado de alimentos funcionais utiliza as microalgas para produção de massas, pães, iogurtes e bebidas e, apresenta rápido desenvolvimento

em países como França, Estados Unidos, China e Tailândia. De acordo com Becker (2004), as principais microalgas cultivadas comercialmente são espécies dos gêneros *Chlorella* e *Spirulina* para adição em alimentos naturais, *Dunaliella* para a obtenção de betacaroteno e *Haematococcus pluvialis* para a obtenção de astaxantina.

A microalga *Chlorella* é tradicionalmente consumida por japoneses que a utilizam como suplemento em saladas e sushi, devido aos nutrientes, clorofila, proteínas, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais, que apresenta. A composição dessa biomassa microalgal é rica em vitamina B12, que é importante para a formação e regeneração de células sanguíneas e, também, contém ferro, que é utilizado para tratamento e prevenção da anemia (RICHMOND, 1990).

A biomassa da microalga *Scenedesmus* contém em média 53 % de proteínas, 29 % de carboidratos, 15 % de lipídios e 5 % de minerais. O cultivo dessa microalga pode ser direcionado para produção de ração para peixes e suplemento alimentar. Outra característica interessante é que este micro-organismo pode ser cultivado em resíduos industriais (GIOVANARDI et al., 2014).

A microalga *Haematococcus* tem capacidade de acumular astaxantina, bioproduto com aplicação em fármacos, nutracêuticos e alimentação animal. A biomassa dessa microalga é mais consumida em países europeus, que a utilizam como suplemento alimentar e na saúde humana, prevenindo doenças degenerativas e câncer (LORENZ; CYSEWSKI, 2000; DUFOSSÉ et al., 2005). A biomassa da microalga *Dunaliella*, que acumula carotenoides, tem atividades biológicas como anti-hipertensiva, broncodilatadora, analgésica e relaxante muscular. Dessa forma, é utilizada na formulação de alimentos e fármacos e, como fonte alimentar para peixes e crustáceos (CANTRELL et al., 2003).

A biomassa de *Spirulina* contém aminoácidos, proteínas, carboidratos, lipídios, pigmentos, sais minerais e vitaminas. O teor de proteínas pode variar de 50 a 70 %, lipídios de 5 a 10 % e carboidratos de 10 a 20 % na biomassa seca. Além disso, a microalga *Spirulina* contém ácidos graxos essenciais e, também possui potencial antioxidante devido aos carotenoides e o pigmento azul ficocianina (ANDRADE; COSTA, 2008; LOURENÇO, 2006). A microalga *Spirulina* é utilizada na nutrição humana devido a elevada concentração de proteínas e valor nutritivo. Atribui-se a microalga também efeitos benéficos relacionados com hiperlipidemia, redução da hipertensão, proteção contra falha renal, manutenção intestinal de *Lactobacillus* e redução do nível de glicose no soro, assim como ação antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral e anti-inflamatória (PRIYADARSHANI; RATH, 2012; RASTOGI; SINHA, 2009; SPOLAORE et al., 2006).

Atualmente, a biomassa microalgal pode ser encontrada na forma de tabletes, cápsulas, pó, líquida ou incorporada a outros alimentos. Em maio de 2009, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) incluiu a microalga *Spirulina* na lista de Novos Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, estabelecendo como limite o consumo máximo de 1,6 g microalga/indivíduo/dia (BRASIL, 2009).

Em relação à composição, as proteínas simples são compostas por vinte aminoácidos. Desses, 9 (histidina, leucina, treonina, isoleucina, valina, fenilalanina, triptofano, lisina e metionina) são considerados essenciais e devem ser obtidos por meio da dieta, pela ingestão de alimentos ricos em proteínas, visto que os organismos não tem capacidade de sintetizá-los (FAO/WHO, 1991).

A aplicação do produto na alimentação sugere a importância da caracterização da qualidade microbiológica da biomassa microalgal. Um dos métodos mais utilizados para análise microbiológica dos processos realizados (neste caso o cultivo, coleta e secagem) até a obtenção do produto final é a contagem padrão em placas. O procedimento básico é a inoculação da amostra homogeneizada e suas diluições em um meio sólido (ágar), contido em placas de Petri, seguida de incubação até crescimento viável e posterior contagem de unidades formadoras de colônia (SILVA et al., 2007).

3.8 CULTIVO DE *Spirulina* DO LABORATÓRIO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA DE PLANTA INDUSTRIAL EM ESCALA PILOTO

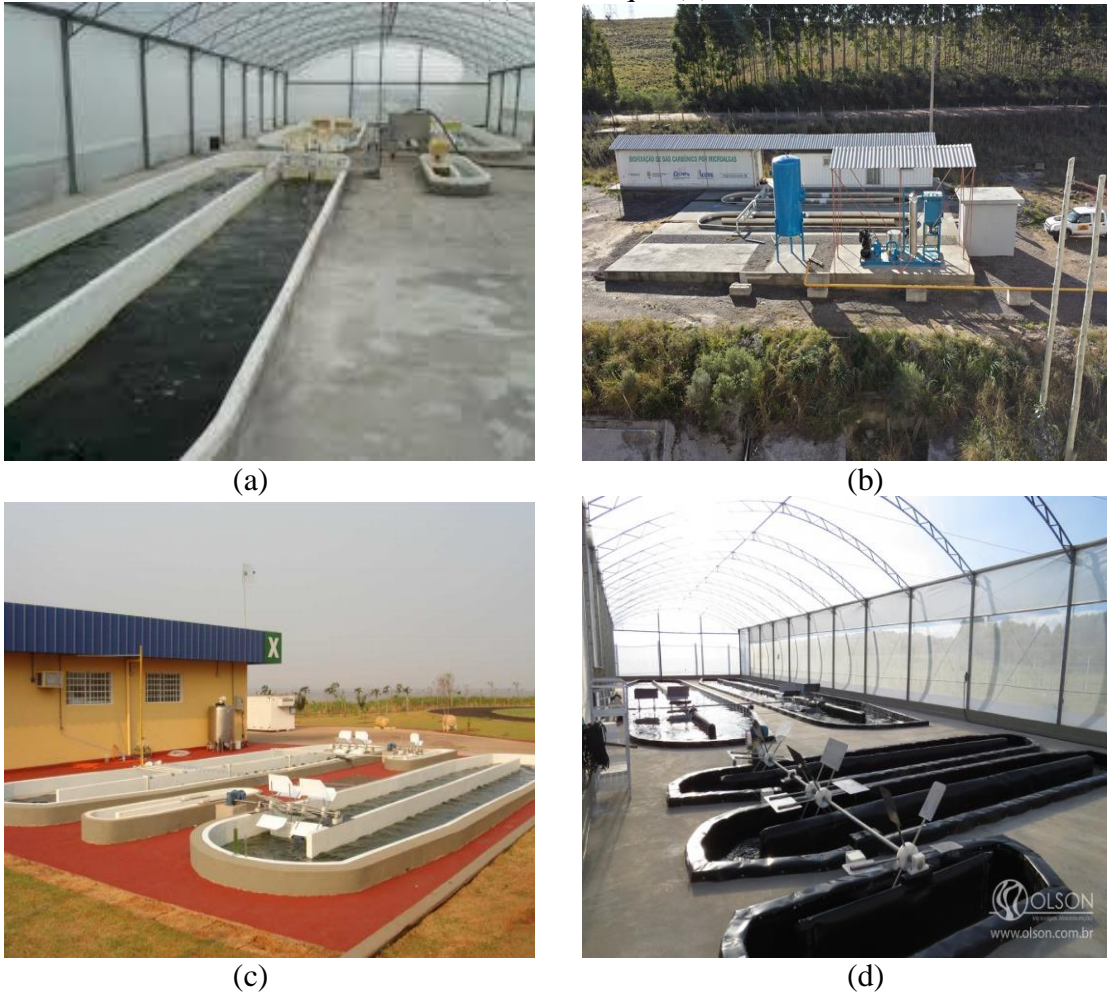
No município de Santa Vitória do Palmar (Rio Grande do Sul) a Universidade Federal do Rio Grande (FURG) possui uma planta piloto que utiliza a água da Lagoa Mangueira no cultivo microalgal (Figura 2a). A unidade consiste de 4 biorreatores abertos tipo *raceway*, 3 de 10.000 L e outro de 1.000 L para propagação do inóculo.

Em 2004, iniciou-se o convênio entre o LEB, a Eletrobras - Centrais Elétricas Brasileiras S. A. e a Companhia de Geração Térmica de Energia Elétrica (CGTEE), localizada no município de Candiota (Rio Grande do Sul) para desenvolvimento de tecnologia para biofixação de CO₂ originado na combustão do carvão mineral por microalgas. Como produto deste convênio foi projetada, montada e colocada em operação a maior estrutura construída no Brasil de planta piloto de biofixação de CO₂ por microalgas (Figura 2b), constituída por sistema modular composto por 2 laboratórios, 2 fotobiorreatores do tipo *raceway*, com volumes de 18.000 L e 1 fotobiorreator com volume de 1.000 L, para crescimento e manutenção de inóculo.

Na cidade de Ribeirão Preto (São Paulo) foi construída planta piloto de produção de biomassa microalgal para tratamento da vinhaça (Figura 2c), originada da produção de bioetanol

por microalgas. A planta piloto é formada por 2 fotobiorreatores de 15.000 L e 2 fotobiorreatores de 1.000 L.

Figura 2 - Cultivo da microalga *Spirulina* em Santa Vitória do Palmar (a), Candiota (b), Ribeirão Preto (c) e Camaquã (d)



Produção da biomassa de *Spirulina* é realizada por indústria gaúcha, desde 2011, em parceria com o LEB e apoio do Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (Sebrae) e do Governo Estadual. A Olson Nutrição Ltda., instalada em Camaquã (Rio Grande do Sul) (Figura 2d), iniciou em 2016 a comercialização de biomassa de *Spirulina*, em pó ou encapsulada, via internet para todo o Brasil. A indústria conta com 50.000 m² de área total, onde 360 m² são destinados a uma estufa de filme transparente que comporta 5 fotobiorreatores tipo *raceway* (1 para inóculo, 2 para escalonamento e produção e 2 para produção de biomassa da microalga). A indústria tem como objetivo a produção de 500 kg por mês de biomassa para comercializá-la em pó e em cápsulas de origem vegetal. A indústria possui licenças da ANVISA, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e está providenciando o registro no Instituto Biodinâmico (IBD) para certificação orgânica da biomassa de *Spirulina*.

3.9 CULTIVO DE *Spirulina* EM ESCALA COMERCIAL

O cultivo de *Spirulina* em grande escala começou a partir de 1970 no México, Estados Unidos e China para aplicação em alimentos (BOROWITZKA, 1999). Atualmente, a produção da biomassa de *Spirulina* em grande escala pode ser encontrada na China e na Índia, sendo que o maior produtor do mundo, *Hainan Simai Pharmacy Co.*, está localizado na província de Hainan (China). Esta empresa tem produção anual de 3000 t em pó de algas, que corresponde a 25 % da produção nacional e quase 10 % da produção mundial (PRIYADARSHANI; RATH, 2012).

Os produtos, comprimidos e em pó, contendo *Spirulina* são distribuídos em mais de 20 países. *Myanmar Spirulina Factory* (Yangon, Myanmar) comercializa comprimidos nutracêuticos, batatas fritas, massas e extrato líquido e a *Cyanotech* (Kona, Estados Unidos) vende produtos denominados de *Spirulina Pacifica*. A *Cyanotech* desenvolveu processo original para a secagem da biomassa, a fim de evitar a oxidação dos carotenoides e ácidos graxos. O processo patenteado utiliza sistema de secagem fechado que é mantido em baixas concentrações de oxigênio, por meio de lavagem com nitrogênio e CO₂ (SPOLAORE et al., 2006).

Em 1990, a primeira empresa a comercializar *Spirulina* na França foi a *Flamant Vert* que cultiva essa microalga a 2500 m acima do nível do mar, na linha do Equador. Na Argentina, em Maipú, a produção de biomassa de *Spirulina* é realizada pela empresa *Nature's Sunshine Products*. No Brasil, além da Olson Nutrição a comercialização de *Spirulina* pode ser encontrada na Fazenda Tamanduá em Patos (Paraíba), na Brasil Vital em Anápolis (Goiás) e na *Ocean Drop* (organização da Incubadora Tecnológica de Empresas da Universidade do Vale do Itajaí) em Florianópolis (Santa Catarina).

3.10 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE

A busca pela satisfação dos consumidores e a competição junto aos concorrentes tem levado as indústrias de alimentos a formalizarem os processos com o objetivo de garantir a qualidade e segurança de seus produtos. Dessa forma, podem ser aplicadas análises no produto final, amostras ambientais e durante o processo de produção (ALMEIDA, 2005).

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 15635:2015, o manual de boas práticas é o documento que descreve as operações realizadas pelo estabelecimento, incluindo no mínimo os requisitos higiênico-sanitários dos edifícios, a manutenção e higienização das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, o controle da água de abastecimento, o controle integrado de vetores e pragas urbanas, a capacitação profissional, o controle da higiene e saúde dos manipuladores, o manejo de resíduos e o controle e garantia de qualidade do alimento preparado.

As BPF abrangem um conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias de alimentos para garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos alimentícios com procedimentos técnicos. A ANVISA regulamenta essas medidas em caráter geral, aplicável a todo o tipo de indústria de alimentos, e específico, voltadas às indústrias que processam determinadas categorias de alimentos (BRASIL, 2002; RIBEIRO-FURTINI; ABREU, 2006).

A APPCC inclui a aplicação de princípios técnicos e científicos de prevenção, que tem por finalidade garantir a inocuidade dos processos de produção, manipulação, transporte, distribuição e consumo dos alimentos. Desta forma, inclui as etapas desde a obtenção da matéria-prima até o consumo e baseia-se na identificação dos perigos potenciais à saúde do consumidor, bem como nas medidas de controle das condições que geram os perigos (BOARATTI, 2004).

Os benefícios que esta análise pode trazer para as indústrias estão relacionados com a garantia da segurança do alimento, redução de custos operacionais, do número de análises e de perdas de matérias-primas e produtos, além de motivar os colaboradores, oferecer maior credibilidade ao cliente, competitividade na comercialização e de atender aos requisitos legais do Ministério da Saúde, Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento e de legislações internacionais (BRASIL, 2002; CODEX ALIMENTARIUS, 1997).

4 METODOLOGIA

4.1 MICRO-ORGANISMO E MEIO DE CULTIVO

O inóculo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira, localizada no município de Santa Vitoria do Palmar, Rio Grande do Sul, Brasil (Morais et al., 2008) foi mantido em meio Zarrouk (Tabela A1) (Zarrouk, 1966) e adaptado às condições ambientais da região Sul do Brasil. De acordo com Rosa (2008), para aumento da velocidade de crescimento e da produtividade foi utilizado meio Zarrouk diluído 50 %.

4.2 FOTOBIORREADORES E CONDIÇÕES DE CULTIVO

O cultivo foi realizado na indústria Olson Nutrição Ltda. (30° 50' 23" sul; 51° 45' 54" oeste), localizada em Camaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. A indústria possui 5 fotobiorreatores tipo *raceway* (1 com 550 L, 2 com 2.300 L e 2 com 26.000 L de volume útil) dispostos em estufa coberta por filme de polietileno transparente sob condições não controladas. O cultivo iniciou em modo descontínuo, com concentração de biomassa de 0,30 g/L, pH 9,5 e volume de 9.600 L. Posteriormente, o cultivo foi mantido em modo semicontínuo, com concentração de corte de 0,65 g/L, volume de 17.500 L, evaporação controlada pela manutenção diária do volume do cultivo com reposição de água tratada com hipoclorito de sódio (2 ppm) e agitação contínua realizada por pás rotativas com velocidade de 7 rpm.

Os resultados foram obtidos a partir de acompanhamento em 1 dos fotobiorreatores com volume útil de 26.000 L (26,2 x 3,6 x 0,50 m³), durante os meses de fevereiro a dezembro de 2016. O cultivo teve início em 10 de fevereiro de 2016, a partir de inóculo de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada nos fotobiorreatores de 550 e 2.300 L de volume útil da Olson Nutrição. Para análise do teor de carboidratos, proteínas, umidade, cinzas, lipídios, ácidos graxos, ficocianina, aminoácidos e metais pesados foi realizada a coleta da biomassa, que ocorreu com reciclo de meio, nos meses de maio, agosto e outubro, totalizando 3 amostras.

Na coleta realizada na indústria, a suspensão contendo a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi bombeada para filtro prensa tipo câmara (Eco Tecnologia Ambiental Ltda. ECO – FP HSA 400 x 400 – 10/20, Brasil), por meio de bomba pneumática (Netzsch N10 plástica, Brasil). Durante a filtração o meio de cultivo retornou para o fotobiorreator e, posteriormente, as amostras da biomassa microalgal, retidas no filtro prensa, foram congeladas a -80 °C (Indrel IULT 90-D, Brasil) e liofilizadas (Liotop L108, Brasil).

A Tabela 1 apresenta os dias da adição de meio, o tempo de cultivo, o volume de meio e a diluição utilizada.

Tabela 1 - Adições de meio de cultivo Zarrouk

Dia	Tempo de cultivo (d)	Volume de meio Zarrouk (L)	Diluição (%)
10/02/2016	0	6500	50
22/02/2016	12	3000	0
22/03/2016	41	2000	0
31/03/2016	50	3500	50
14/04/2016	64	3500	50
13/05/2016	93	1300	0
24/05/2016	104	3100*	0
15/07/2016	156	3000*	0
27/07/2016	168	2600	50
19/09/2016	222	2500*	0
20/10/2016	253	7300*	0
01/12/2016	295	9000*	0

*: adição de água apenas para diluir os nutrientes

O percentual de 0 % corresponde que não houve diluição do meio de cultivo Zarrouk. As adições de meio ocorreram para aumento gradual do volume de cultivo e conforme as coletas realizadas pela Olson Nutrição, levando-se em consideração que, de acordo com Sobczuk (2000), para produzir 1 kg de biomassa são necessários 2 kg da fonte de carbono.

4.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

A concentração de biomassa, pH do cultivo, luminosidade, temperaturas do ambiente e do meio de cultivo foram acompanhados diariamente. A concentração de biomassa foi determinada por meio da medida de densidade óptica do cultivo em espectrofotômetro a 670 nm (Biospectro SP-220, Brasil), utilizando curva padrão que relaciona densidade óptica com massa seca de biomassa (COSTA et al., 2002). As medidas de pH foram realizadas em pHmetro digital (Quimis Q400HM, Brasil). A luminosidade do fotobiorreator foi medida na superfície do cultivo por luxímetro digital (Instrutherm LD-300, Brasil) e para acompanhamento da temperatura do ambiente e do cultivo foi utilizado termômetro (Thermometer, Estados Unidos) com registro de temperaturas mínimas e máximas.

As concentrações de carbono, fosfato e nitrato no meio de cultivo foram avaliadas a cada 5 d. Para estas determinações as células foram separadas do meio por filtração.

O carbono inorgânico total dissolvido foi calculado por meio da soma das espécies químicas no equilíbrio $\text{CO}_{2(\text{aq})} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{CO}_3^{2-}$, segundo Carmouze (1994). A concentração de cada espécie química no equilíbrio foi determinada por medida direta do pH do cultivo (Equação 1) e da alcalinidade total obtida por titulação com ácido clorídrico 0,1 N até o pH do cultivo atingir o valor de 4,3, de acordo com *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), segundo Horwitz (2000).

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] \quad (1)$$

A concentração de fosfato foi determinada por meio de análise colorimétrica (PhosVer 3, Hach) em comprimento de onda de 880 nm. A concentração de nitrato foi determinada utilizando método colorimétrico proposto por Cataldo et al. (1975) em comprimento de onda de 410 nm.

4.4 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS

A velocidade específica de crescimento (μ , 1/d) (BAILEY; OLLIS, 1986) foi determinada por meio da regressão exponencial da fase logarítmica da curva de cada ciclo de crescimento (MORAIS; COSTA, 2007).

A produtividade (P, mg/L.d) foi obtida segundo a Equação 2, em que X corresponde a concentração de biomassa (g/L) no tempo t (d) e X_0 (g/L) a concentração de biomassa no tempo zero (t_0) (d). Também foram determinados a concentração de biomassa máxima ($X_{\text{máx}}$, g/L), a produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$, g/L.d) e o tempo de geração (t_g , d) (Equação 3) (SCHMIDELL et al., 2001).

$$P = \frac{(X - X_0)}{(t - t_0)} \quad (2)$$

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (3)$$

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

4.5.1 Carboidratos e proteínas

A quantidade de 50 mg de cada amostra da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 foi reidratada com 100 mL de água destilada e submetida a sonda ultrassônica (Cole Parmer CV18, Estados Unidos) por 10 min em pulsos de 10 s e, foi obtido o extrato microalgal. A partir deste extrato foram realizadas análises de carboidratos segundo Dubois et al. (1956), utilizando glicose como padrão, e proteínas pelo método proposto por Lowry et al. (1951), utilizando albumina como padrão. No método de Dubois et al. (1956), os açúcares simples ou complexos e seus derivados foram tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado e, produziram composto com coloração amarelo-alaranjado, com absorção máxima em 488 nm. O método de Lowry et al. (1951) consistiu

na mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico, que sofreu redução quando reagiu com proteínas e produziu composto com absorção máxima em 750 nm.

4.5.2 Umidade e cinzas

O teor de umidade e cinzas das amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 foi determinado de acordo com AOAC (1995). O teor de umidade foi obtido pela perda de massa da biomassa quando submetida a 105 °C em estufa (Fanen 515, Brasil), até massa constante. O teor de cinzas foi obtido através da incineração da biomassa em mufla (Indústria e Comércio de Fornos Magnu's Ltda., Brasil) a 550 °C por 8 h.

4.5.3 Lipídios e perfil de ácidos graxos

Os lipídios foram quantificados nas amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando método de Folch, Lees e Stanley (1957). Posteriormente, os lipídios foram esterificados pelo método de Metcalfe, Schimtz e Pelke (1966). A esterificação consistiu na saponificação com hidróxido de potássio 0,5 mol/L em metanol e a reação de esterificação com metanol foi catalisada pelo trifluoreto de boro. O solvente foi evaporado e a amostra solubilizada em diclorometano para análise por cromatografia gasosa.

A separação e quantificação da mistura de ácidos graxos esterificados foram realizadas utilizando cromatógrafo a gás (Shimadzu 2010 Plus, Japão), equipado com injetor split/splitless, coluna capilar RTX®-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e detector de ionização de chama. O gás de arraste foi hélio em vazão de 1,25 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 260 °C, sendo o volume injetado de 1 µL. As condições cromatográficas de separação foram temperatura inicial da coluna 50 °C, elevando-se para 200 °C com taxa de 6 °C/min, permanecendo nesta temperatura por 4 min. Na segunda variação de temperatura a taxa de aumento de temperatura foi 2 °C/min até 240 °C, permanecendo por 10 min. A comparação dos tempos de retenção com padrões de ésteres metílicos foi utilizada para identificação do perfil de ácidos graxos das amostras e quantificados pela normatização das áreas.

4.5.4 Ficocianina

As amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 (0,08 g) foram imersas em 1 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 mol/L (pH 6,9) e mantidas em banho ultrassônico (Quimis Q3350, Brasil) durante 15 min, para extração da ficocianina. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Hitachi Himac CT6EL, Japão) a 6000 x g por 10 min, e o sobrenadante recolhido. Cada amostra foi submetida a mais 2 extrações sucessivas, da mesma forma que a primeira. As alíquotas dos 3

sobrenadantes foram misturadas, e imediatamente realizada leitura dos comprimentos de onda, 620 e 652 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UVmini-1240, Japão). A concentração de ficocianina foi obtida de acordo com Bennett e Bogorad (1973) e expressa em mg/g de amostra.

4.5.5 Composição de aminoácidos

A determinação da composição de aminoácidos foi realizada de acordo com Streit (2014), a partir da hidrólise das amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 com 0,6 mL de ácido clorídrico 6 mol/L, em estufa (Fanen 515, Brasil) a 105 °C por 24 h. Posteriormente, as amostras foram ressuspensas com 5 mL de água Milli-Q (Millipore Simplicity UV, Estados Unidos), submetidas a banho ultrassônico (Quimis Q3350, Brasil) por 1 min, após vortex (Warmnest VX-28, Brasil) por 30 s, filtradas, congeladas a -80 °C (Indrel IULT 90-D, Brasil) e liofilizadas (Liotop L108, Brasil).

O material liofilizado foi ressuspenso em 500 µL de fase móvel, antes da injeção no cromatógrafo. As amostras foram injetadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu LC-20AD, Japão), equipado com coluna Shimpack Amino-Na (6,0 mm x 100 mm), mantida a temperatura constante de 60 °C, detector de fluorescência e derivatização pós-coluna, com lâmpada de xenônio. A detecção dos aminoácidos foi realizada nos comprimentos de onda de 450 nm e 350 nm de emissão e excitação, respectivamente, a partir do complexo colorido formado na derivatização entre os aminoácidos de alíquota de 50 µL do hidrolisado e ortoftalaldeído. A quantificação dos aminoácidos teve como base a comparação dos cromatogramas gerados a partir dos aminoácidos das amostras e padrões de concentração conhecida. Os padrões foram derivados nas mesmas condições e, ao mesmo tempo que as amostras.

4.5.6 Metais pesados

A determinação dos metais pesados (arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio) nas amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial foi realizada através da metodologia da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos e leitura por espectrofotometria de chama (USEPA, 1996).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As médias das respostas obtidas foram avaliadas por meio da análise de variância, seguida pelo Teste de *Tukey*, com intervalo de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Na coleta realizada na indústria, a suspensão contendo a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi filtrada com auxílio de bomba pneumática. Em seguida, a biomassa foi prensada para retirada do excesso de água presente na amostra, logo depois foi realizada a extrusão da biomassa em bandejas de aço inox e, após, a secagem em estufa de ar forçado (De Leo B ESP AFD, Brasil) a 43 °C por 20 h.

O meio de cultivo e a biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 desidratada obtidos por meio de coleta, da Olson Nutrição, no mês de dezembro, em fotobiorreator com volume útil de 26.000 L, foram verificados quanto à contaminação através de método de contagem padrão de placas em superfície, utilizando materiais previamente esterilizados e ágar padrão para contagem, com diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , incubação a 35 ± 1 °C por 48 ± 2 h e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia (UFC) por mL (cultivo) e g (biomassa desidratada) (APHA, 2001).

4.8 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE

O manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF) foi elaborado de acordo com a ABNT NBR 15635:2015 e foram estabelecidos os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) que contribuem para garantia das condições higiênico-sanitárias necessárias ao processamento e à industrialização da biomassa microalgal, complementando as BPF. A avaliação da aplicação das BPF na indústria Olson Nutrição foi baseada na lista de verificação apresentada na RDC n° 275 de 21 de outubro de 2002 da ANVISA (BRASIL, 2003).

O acompanhamento foi realizado nos setores da indústria Olson Nutrição como área de cultivo, laboratório, estoque, moagem, encapsulamento, produção, escritório, cozinha e banheiros para avaliar a conformidade dos trabalhos executados. Cada setor foi avaliado a partir da entrada do colaborador, além do manuseio dos produtos, utensílios e equipamentos.

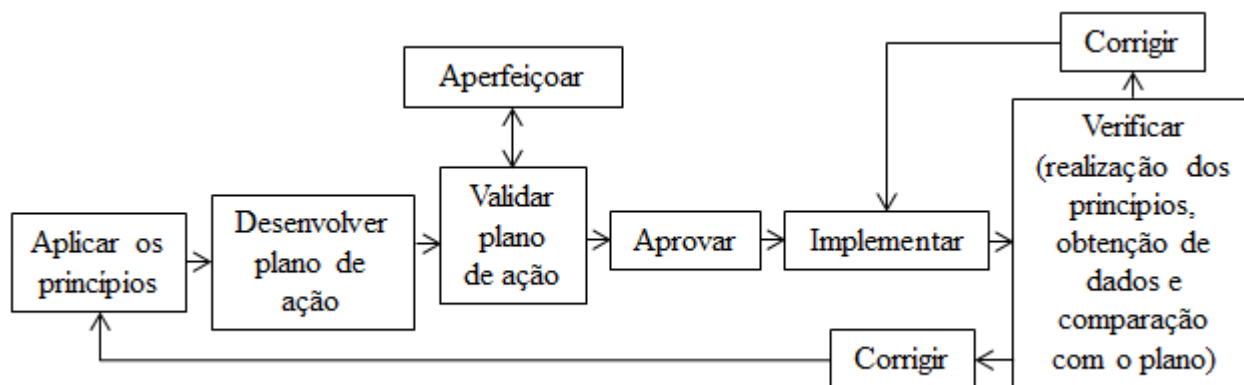
A APPCC foi obtida por meio dos 7 princípios da base desse sistema de garantia de segurança dos alimentos:

- Análise dos perigos (biológicos, físicos e químicos);
- Determinação dos pontos críticos de controle;
- Estabelecimento de limites críticos para cada ponto crítico de controle;
- Sistema de monitorização para cada ponto crítico de controle;
- Ações corretivas;
- Procedimentos de verificação;

- Documentação e registros da planta industrial de *Spirulina* sp. LEB 18.

Em seguida, a APPCC foi realizada conforme sequência de desenvolvimento e implantação demonstrada na Figura 3.

Figura 3 - Sequência de desenvolvimento e implantação da APPCC



Fonte: CESARI; NASCIMENTO (1995)

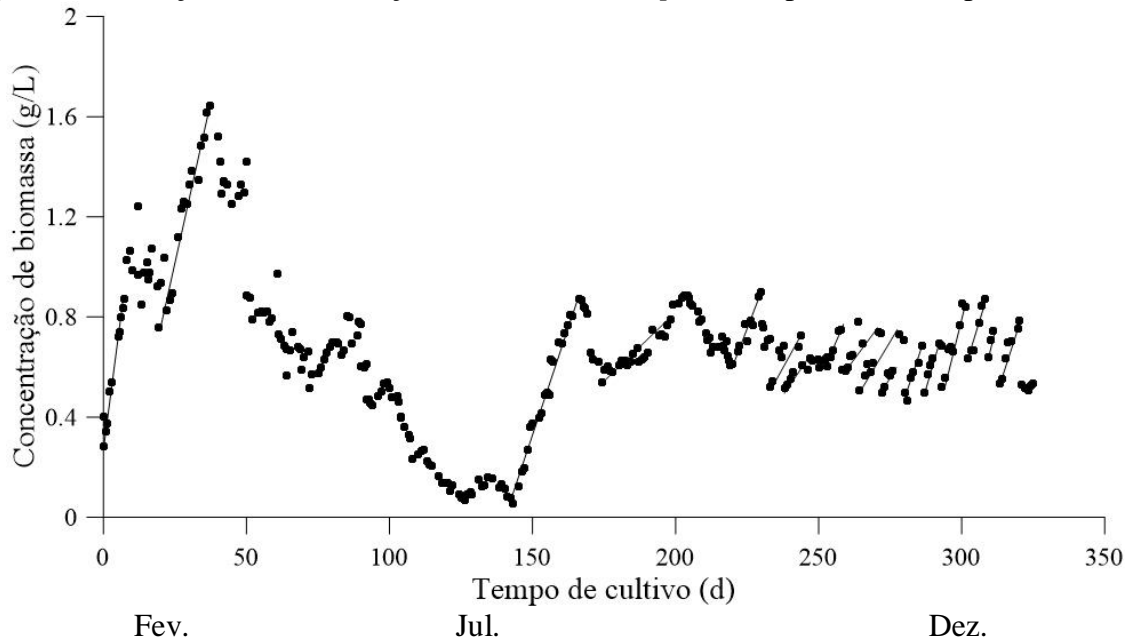
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ACOMPANHAMENTO DO CULTIVO

5.1.1 Concentração de biomassa

A Figura 4 apresenta a concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial ao longo do ano.

Figura 4 - Variação da concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial



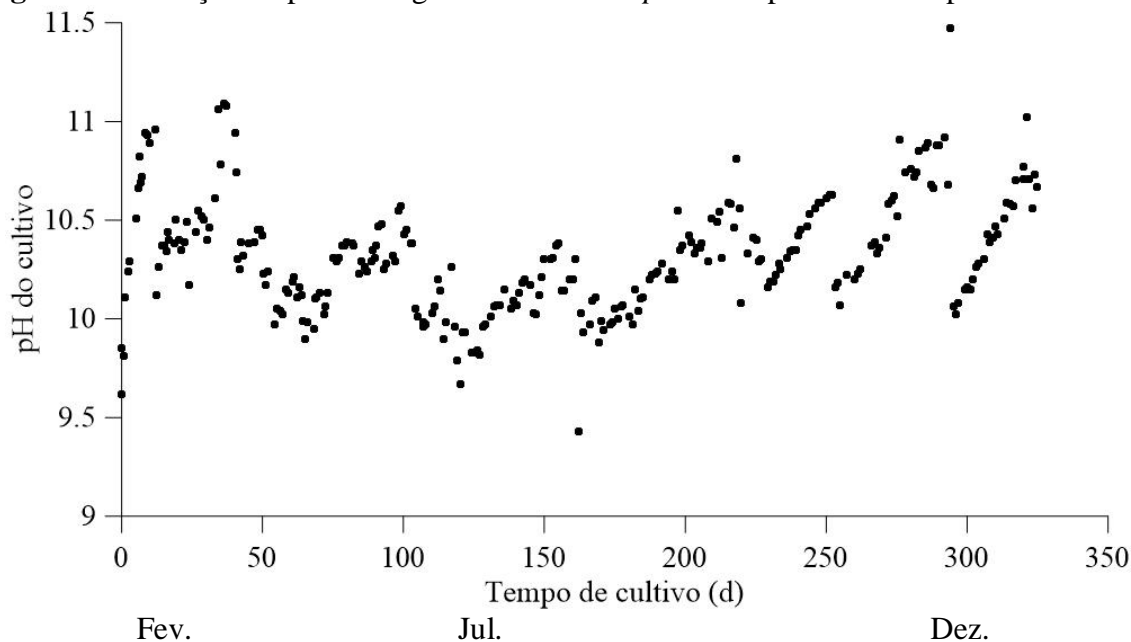
As curvas de crescimento demonstraram aumento linear da concentração de biomassa em cada ciclo (Figura 4). A concentração de biomassa variou de 0,06 e 1,64 g/L e a concentração de biomassa máxima foi obtida no mês de março, com 37 d de cultivo. A temperatura máxima do dia foi 35,5 °C, sendo que esta faz parte do intervalo de temperatura ótima para o crescimento da microalga *Spirulina*.

O ciclo de decréscimo da concentração de biomassa ocorreu entre março e julho devido a ocorrência de dias frios e nublados, que reduziram a temperatura (Figura 6) e a luminosidade (Figura 7) do cultivo e provavelmente influenciaram no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. A concentração de biomassa máxima obtida na planta industrial foi maior que a determinada em novembro de 2005 por Moraes et al. (2009), que foi 1,24 g/L em cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 em escala piloto, com temperatura em torno de 40 °C, que iniciou em julho de 2005.

5.1.2 pH

A Figura 5 apresenta o pH do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial ao longo do ano.

Figura 5 - Variação de pH ao longo do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial



O pH do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial manteve-se entre 9,4 e 11,5 (Figura 5). Morais et al. (2009), em planta piloto de produção de *Spirulina* sp. LEB 18, no sul do Brasil, obtiveram cultivo com pH entre 9,0 e 10,7. Segundo Kumar et al. (2010), algumas microalgas têm elevada produtividade quando mantidas em pH alcalino entre 10,0 e 11,0. Além disso, o pH elevado pode ser benéfico para cultivo em grande escala pois dificulta o crescimento de micro-organismos patogênicos e de outras microalgas.

De acordo com Pelizer et al. (2003), a faixa ótima de pH para o crescimento da microalga *Spirulina* é de 9,5 a 10,5 e o pH do cultivo é mantido neste intervalo devido a fonte de carbono (bicarbonato) presente na composição do meio Zarrouk. O aumento de pH pode ocorrer em função do metabolismo autotrófico da microalga, onde o íon bicarbonato do meio se desidrata formando CO_2 para a fotossíntese e hidroxila (OH^-), enquanto a redução no pH ocorrer devido à liberação de CO_2 , oriundo da respiração.

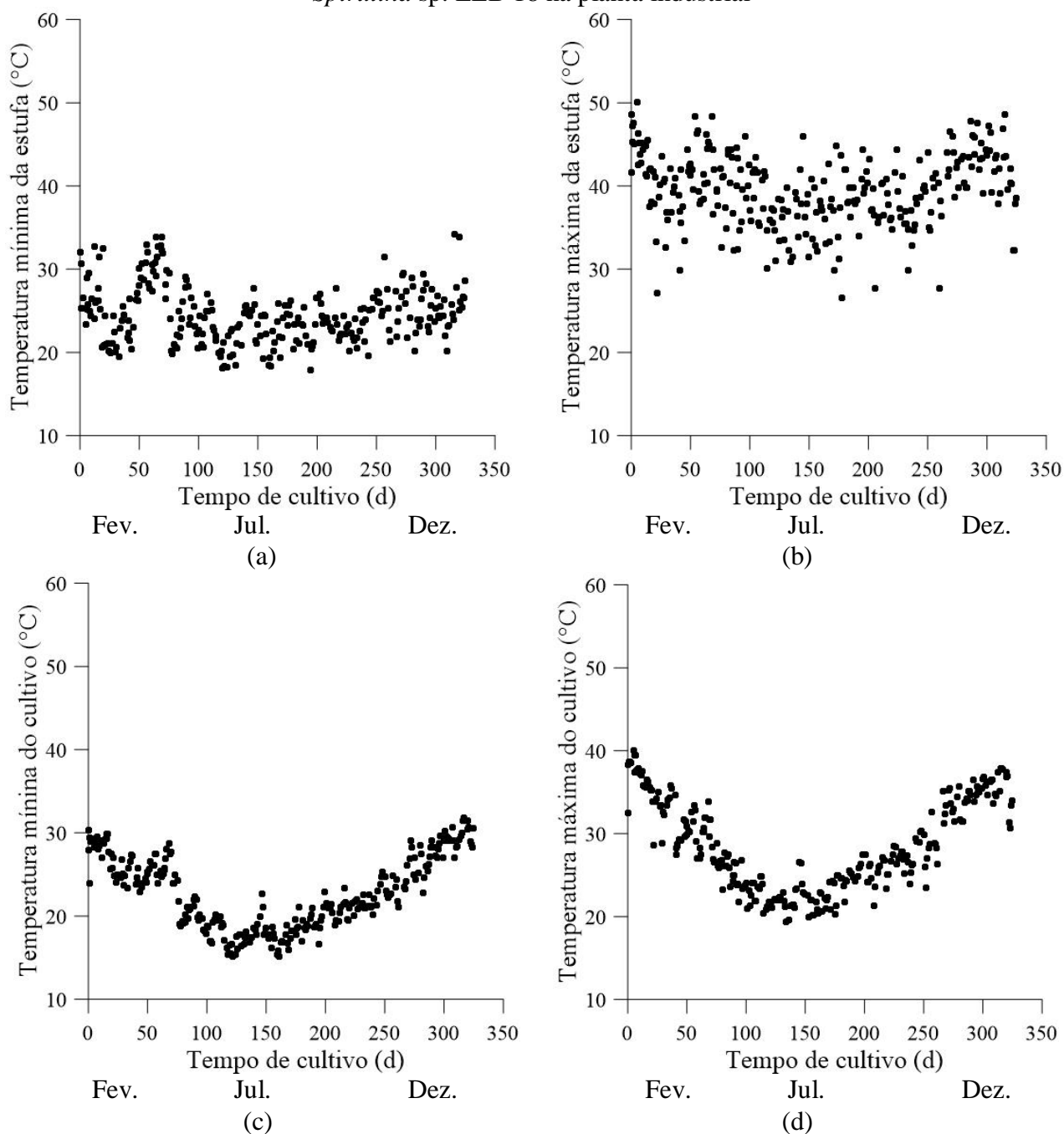
Dessa forma e a partir da Figura 5, pode-se relacionar os aumentos do pH do cultivo na planta industrial com o consumo da fonte de carbono pela microalga e, conseqüentemente, as reduções de pH com as adições de meio Zarrouk, demonstradas na Tabela 1. Durante o inverno, como ocorreu redução no crescimento da microalga (Figura 4) devido a baixa temperatura do

cultivo (Figura 6), foi possível observar estabilização no consumo dos nutrientes (Figura 8) e, assim, o pH manteve-se abaixo de 10,5.

5.1.3 Temperaturas

A Figura 6 apresenta as temperaturas da estufa e do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial ao longo do ano.

Figura 6 - Variação de temperatura mínima e máxima da estufa (a,b) e do cultivo (c,d) de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial



As temperaturas mínimas dentro da estufa permaneceram entre 17,9 °C (agosto) e 34,2 °C (dezembro) e as temperaturas máximas entre 26,6 °C (agosto) e 50,1 °C (fevereiro). As temperaturas mínimas do cultivo permaneceram entre 15,1 °C (junho e julho) e 31,8 °C (dezembro) e as temperaturas máximas entre 19,4 °C (junho) e 40,0 °C (fevereiro) (Figura 6).

A temperatura é um dos principais fatores que alteram a morfologia celular e fisiologia, bem como os subprodutos da biomassa microalgal. De acordo com Muñoz e Guieysse (2006), em temperatura elevada geralmente ocorre aumento do metabolismo das microalgas, devido a maior atividade enzimática e, conseqüentemente, em baixa temperatura pode reduzir o crescimento.

Apesar da cepa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial ser originalmente isolada da Lagoa Mangueira e previamente adaptada às condições ambientais da região Sul do Brasil, o cultivo, no mês de junho, teve a concentração de biomassa (Figura 4) reduzida, comparada aos outros meses do ano analisados, possivelmente em função do decréscimo da temperatura do cultivo durante o inverno. Dessa forma, é demonstrada a importância de realizar etapa prévia de adaptação da microalga para manter a produção industrial durante todas as estações do ano.

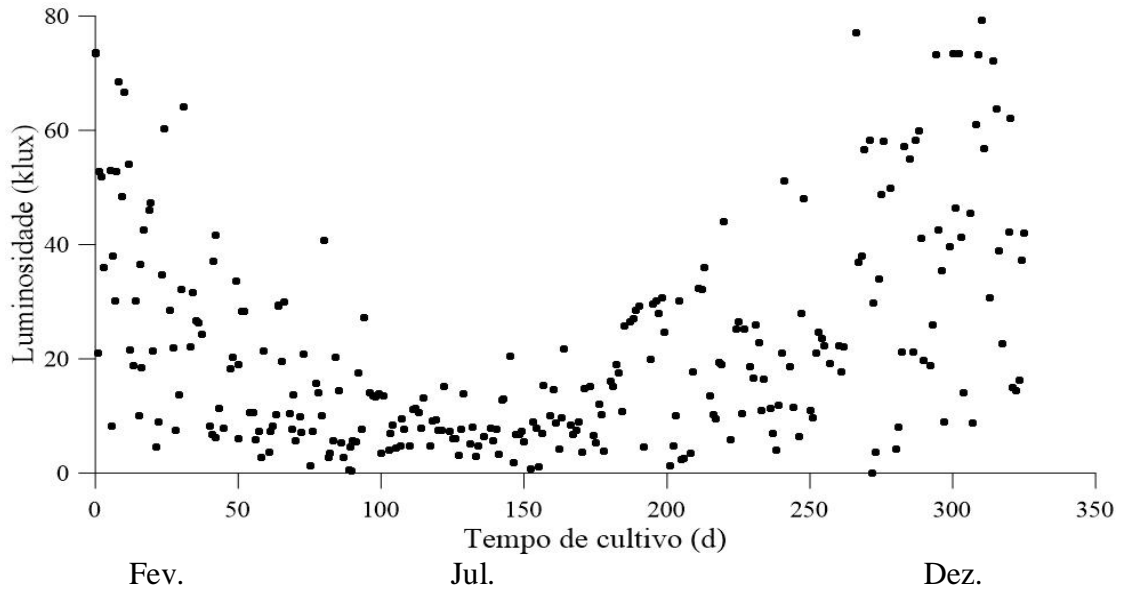
De acordo com a estação meteorológica da Associação dos Usuários do Perímetro de Irrigação do Arroio Duro (AUD) de Camaquã, neste mês, as temperaturas mínima e máxima registradas foram 4,4 e 20,4 °C, respectivamente. Por isso, é importante dispor o cultivo em estufa coberta para manter as temperaturas mais elevadas neste período do ano, com objetivo de fornecer temperaturas mais próximas da temperatura ótima de crescimento da microalga *Spirulina*, que é de 35 a 37 °C.

Richmond (1990) observou que durante o cultivo *outdoor* a temperatura mínima para o crescimento de *Spirulina platensis* foi aproximadamente 18 °C e, também, que o cultivo pode ser rapidamente prejudicado quando a temperatura máxima do dia for menor que 12 °C. Morais et al. (2009) em estufa para produção de biomassa de *Spirulina* em escala piloto relataram temperatura mínima e máxima de 4 °C (agosto de 2005) e 44 °C (dezembro de 2005), respectivamente.

5.1.4 Luminosidade

A Figura 7 apresenta a luminosidade do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial ao longo do ano. O espectro e a intensidade de luz são os fatores que afetam o desempenho fototrófico das algas. Em relação ao presente estudo na planta industrial, a luz solar é a principal fonte de energia, o que confere economia frente aos gastos com fontes de iluminação artificial que são utilizadas por outros tipos de cultivo (PANDEY et al., 2014).

Figura 7 - Variação de luminosidade ao longo do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial



A luminosidade do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 manteve-se entre 0,62 klux (maio) e 79,3 klux (dezembro) (Figura 7). A redução da luminosidade foi observada durante o inverno devido a ocorrência de dias nublados, que possivelmente influenciaram no crescimento da microalga. Kumar, Kulshreshtha e Singh (2011) descreveram que para a máxima produtividade de biomassa de *Spirulina platensis* com elevado teor de pigmentos, é importante fornecer temperatura de 35 °C e intensidade luminosa de 2 klux.

5.1.5 Concentração de carbono, fosfato e nitrato

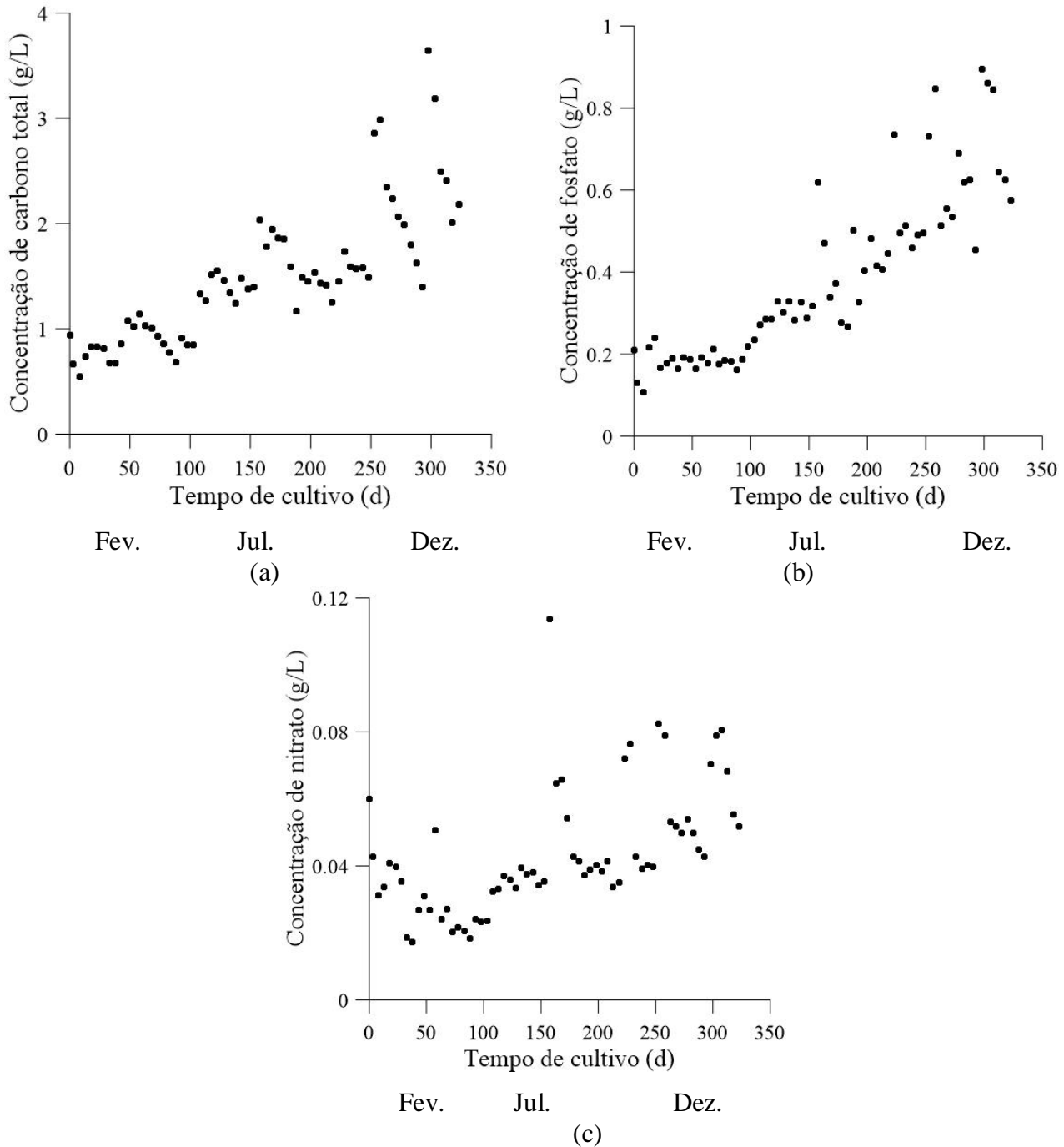
A Figura 8 apresenta as concentrações de carbono, fosfato e nitrato no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial ao longo do ano.

Conforme se observam a Tabela 1 e a Figura 8 é possível relacionar os picos de aumento da concentração de carbono total, fosfato e nitrato com os dias de adição de meio Zarrouk no cultivo ao longo do ano. Segundo Amaro, Guedes e Malcata (2011) a biomassa microalgal tem cerca de 50 % de carbono em sua composição. Este fato é justificado porque esse elemento compõe grande quantidade de moléculas organicamente sintetizadas, como proteínas, carboidratos e lipídios. Além disso, segundo Richmond (2007), para fornecer condições de alta alcalinidade para a microalga *Spirulina*, importante para prevenir a contaminação do cultivo, é utilizada elevada concentração de carbonato, sendo esta, a fonte de carbono no meio.

As concentrações de carbono total, fosfato e nitrato no meio de cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial variaram de 0,55 a 3,65 g/L; 0,11 a 0,89 g/L e 0,02 a 0,11 g/L, respectivamente (Figura 7). O acompanhamento anual possibilitou relacionar os períodos de

crescimento da microalga na planta industrial com os intervalos de consumo das fontes de carbono, fósforo e nitrogênio do meio de cultivo Zarrouk.

Figura 8 - Variação da concentração de carbono total (a), fosfato (b) e nitrato (c) ao longo do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial



Possivelmente, como o cultivo foi mantido em modo semicontínuo, a fonte de fósforo foi adicionada em quantidade maior que a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 necessita. Por isso, não houve consumo completo do nutriente até a nova adição de meio de cultivo Zarrouk. De acordo com Powell et al. (2008), as microalgas têm capacidade de armazenar fósforo como polifosfato na forma intracelular, através do qual o absorvem em quantidade maior do que a necessária para o seu

crescimento imediato. Dessa forma, a fim de reduzir custos com a adição de nutrientes em excesso no meio é interessante realizar estudo sobre o comportamento da microalga na planta industrial em cultivos com redução de 25 e 50 % da fonte de fósforo do meio de cultivo Zarrouk em periodicidade de adição mensal.

A fonte de nitrogênio é essencial para o crescimento microalgal, sendo o constituinte dos ácidos nucleicos e das proteínas. Silva (2016) em cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 em escala laboratorial em meio Zarrouk determinou concentração de nitrato semelhante ao presente estudo (entre 0,12 e 0,01 g/L). No estudo referenciado, a concentração de carbono total variou de 2,1 a 1,1 g/L e o fosfato se manteve praticamente constante, em torno de 0,3 g/L, do início ao fim do experimento de 20 d.

5.2 PARÂMETROS CINÉTICOS

A Tabela 2 apresenta as velocidades específicas de crescimento, tempos de geração e produtividades do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial.

Tabela 2 - Velocidades específicas de crescimento (μ , 1/d), tempos de geração (tg, d) e produtividades (P, g/m².d) do cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 na planta industrial

Ciclo de crescimento	Meses	Número de dias de crescimento	μ (1/d)	tg (d)	P (g/m ² .d)	Temperatura média cultivo (°C)	Luminosidade média (klux)
1	Fevereiro	9	0,133 ¹	5,2 ^a	14,9 ^d	35,9	41,9
2	Março	15	0,044 ^{cd}	15,8 ^{ab}	3,3 ^c	31,1	28,7
3	Julho	23	0,096 ^h	7,2 ^{ab}	0,2 ^{ab}	29,8	9,0
4	Agosto	30	0,015 ^a	45,4 ^c	0,5 ^b	30,9	11,4
5	Setembro	4	0,018 ^a	42,1 ^c	0,4 ^{ab}	31,7	23,0
6	Setembro	11	0,036 ^{bc}	19,3 ^b	0,4 ^{ab}	31,0	21,8
7	Outubro	5	0,057 ^{fg}	12,1 ^{ab}	0,3 ^{ab}	31,2	17,9
8	Outubro	6	0,062 ^g	11,2 ^{ab}	0,3 ^{ab}	31,3	21,3
9	Outubro	5	0,047 ^{de}	14,7 ^{ab}	0,3 ^{ab}	33,2	22,4
10	Outubro	6	0,050 ^{def}	13,8 ^{ab}	0,3 ^{ab}	32,1	20,7
11	Novembro	8	0,036 ^b	19,6 ^b	0,3 ^{ab}	34,8	49,4
12	Novembro	6	0,060 ^g	11,6 ^{ab}	0,2 ^a	34,0	37,3
13	Novembro	6	0,056 ^{fg}	12,4 ^{ab}	0,2 ^a	33,4	27,8
14	Novembro	5	0,062 ^g	11,1 ^{ab}	0,2 ^a	36,0	39,5
15	Dezembro	7	0,063 ^g	11,0 ^{ab}	0,3 ^{ab}	33,7	42,7
16	Dezembro	6	0,056 ^{fg}	12,4 ^{ab}	0,3 ^{ab}	33,7	40,6
17	Dezembro	7	0,052 ^{ef}	13,4 ^{ab}	0,2 ^{ab}	35,7	47,5

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre os ciclos.

A velocidade específica de crescimento variou de 0,015 a 0,133 1/d (Tabela 2). Os ciclos que apresentaram velocidades específicas de crescimento maiores permaneceram menos tempo na fase exponencial. A velocidade específica máxima de crescimento (0,133 1/d), que

diferiu estatisticamente das demais ($p \leq 0,05$), foi observada nos primeiros dias de cultivo e foi semelhante a determinada por Rosa (2008), que foi 0,140 1/d no primeiro ciclo de cultivo semicontínuo de *Spirulina* em biorreator, tipo *raceway*, com volume útil de 5 L, fotoperíodo 12 h claro/escuro e com adição de meio Zarrouk.

A produtividade máxima (14,9 g/m².d) apresentou diferença significativa das demais ($p \leq 0,05$) e foi obtida nos primeiros 9 d de crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 (Tabela 2). De acordo com Travieso et al. (2001), a concentração ideal de biomassa de *Spirulina* para a máxima produtividade é de 0,5 a 0,7 g/L. No presente estudo, a concentração de biomassa no primeiro ciclo do cultivo variou de 0,3 a 1,0 g/L. Morais et al. (2009) em estudo sobre o cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 em planta piloto com biorreatores tipo *raceway* dispostos próximo a Lagoa Mangueira, também observaram decréscimo da produtividade ao longo do tempo de cultivo, que ocorreu de julho de 2005 a agosto de 2006.

As menores velocidades específicas de crescimento, os maiores tempos de geração e os maiores tempos de crescimento exponencial foram observados entre julho e setembro, durante o período de inverno, devido as condições típicas da estação, demonstrando a influência dos parâmetros temperatura e luminosidade no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 em estufa exposta a condições não controladas (Tabela 2). Após este período, devido a troca da estação, foi observado aumento destes parâmetros do cultivo na planta industrial (Figuras 6 e 7).

As velocidades específicas de crescimento, tempos de geração e produtividades obtidos entre os meses de novembro e dezembro para os ciclos 12, 13, 14, 15 e 16 não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), demonstrando a periodicidade das coletas semanais na planta industrial, observadas nos ciclos de crescimento da microalga com menor número de dias (Figura 4). As velocidades específicas de crescimento dos últimos ciclos demonstraram-se semelhantes à encontrada por Moreira et al. (2016), que foi 0,060 1/d, em cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 em meio Zarrouk em escala laboratorial e 20 % de taxa de renovação.

A redução da velocidade específica de crescimento e da produtividade a cada ciclo de crescimento pode ter ocorrido devido a variação de fatores como temperatura, pH e luminosidade, uma vez que, a estufa é exposta a condições não controladas. A falta de luminosidade em consequência da presença de dias nublados e do inverno e, também, em razão da concentração de biomassa no meio de cultivo, visto que de acordo com Vonshak et al. (1982), em concentração de 0,50 g/L estima-se que 80 % das células estão sem luz em determinado momento, podem ter limitado a absorção de energia luminosa da fotossíntese, diminuindo a velocidade de crescimento da microalga.

Radmann et al. (2011) estudaram cultivo controle de *Spirulina* sp. LEB 18 em meio Zarrouk, mantido em câmara à temperatura ambiente durante 40 d, com intensidade luminosa (2,5 klux) promovida por lâmpadas fluorescentes e fotoperíodo de 12 h claro/escuro, em biorreatores tipo *raceway*, construídos de acrílico, com volume útil de 5 L e agitados por pás rotativas a 18 rpm. A concentração de biomassa inicial do cultivo foi 0,15 g/L e a evaporação foi controlada pela reposição diária com água destilada. De acordo com a Tabela 2, a produtividade média (1,3 g/m².d) foi maior que às encontradas pelo estudo referenciado, que obteve produtividades entre, aproximadamente, 0,4 e 1,0 g/m².d. A velocidade específica de crescimento na maioria dos ciclos da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada na planta industrial foi maior que a obtida pelo estudo referenciado, que foi 0,017 1/d.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA

5.3.1 Composição centesimal

A Tabela 3 apresenta a composição centesimal da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial.

Tabela 3 - Composição centesimal da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial

Coleta de biomassa (dia/mês/ano)	Carboidratos (%)	Proteínas (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídios (%)
02/05/2016	6,4 ± 1,2 ^b	53,8 ± 6,4 ^a	7,0 ± 0,5 ^c	10,7 ± 0,1 ^a	11,1 ± 0,8 ^a
15/08/2016	10,1 ± 0,9 ^a	50,4 ± 4,2 ^a	6,0 ± 0,1 ^b	23,5 ± 0,1 ^c	11,7 ± 0,8 ^a
17/10/2016	10,6 ± 0,9 ^a	57,0 ± 1,5 ^a	4,4 ± 0,3 ^a	16,1 ± 0,3 ^b	10,5 ± 0,4 ^a

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras.

Conforme se observa na Tabela 3, houve aumento do teor de carboidratos na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 conforme as coletas realizadas, no entanto, as amostras coletadas em agosto e outubro não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). As concentrações de proteínas e lipídios das amostras não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), demonstrando que não foram influenciadas pelo período em que a biomassa foi coletada.

Apesar da diferença de temperatura que os cultivos foram expostos durante o ano na planta industrial não ter influenciado significativamente no teor de proteínas, Juneja, Ceballos e Murthy (2013) descreveram que quando as microalgas são submetidas à temperatura diferente do intervalo de temperatura ótima para o crescimento, pode ocorrer redução da eficiência de utilização das fontes de carbono e nitrogênio no meio e, conseqüentemente, variação na composição da biomassa gerada. Além disso, compostos nitrogenados podem ser transformados

em substâncias de reserva energética, como carboidratos e lipídios, devido a exposição do cultivo à baixa temperatura.

As concentrações de proteínas (Tabela 3) foram semelhantes à encontrada por Madkour, Kamil e Nasr (2012), em experimentos com *Spirulina* em escala laboratorial, que foi $52,9 \pm 0,5$ %. Os teores de carboidratos foram menores, enquanto os de lipídios foram maiores na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial (Tabela 3) em relação aos encontrados por Madkour, Kamil e Nasr (2012), que foram $13,2 \pm 0,6$ e $7,2 \pm 0,7$ %, respectivamente.

Os teores de proteínas e lipídios da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial foram maiores que os determinados por Rosa (2008), que foram $48,7 \pm 4,1$ e $8,1 \pm 4,8$ %, respectivamente, em biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em biorreatores do tipo *raceway* em escala laboratorial, com agitação contínua realizada por pás rotativas a 18 rpm, temperatura de 30 °C, iluminância de 3 klux e fotoperíodo de 12 h claro/escuro. As diferenças na composição da biomassa do cultivo na planta industrial e da escala laboratorial do estudo referenciado, segundo Grobbelaar (2007), podem ter ocorrido devido às diferentes variáveis operacionais dos experimentos como, agitação, volume do meio de cultivo, fotoperíodo e luminosidade.

Em cultivos com limitação da concentração de fósforo, foi observado por Markou, Chatzipavlidis e Georgakakis (2012) que o teor de proteína foi reduzido. Como no presente estudo da planta industrial não houve limitação da concentração de fósforo no meio de cultivo, não ocorreu redução do teor de proteínas.

Os teores de umidade das amostras (Tabela 3) foram menores que o observado por Oliveira et al. (2009), que foi $9,7 \pm 0,8$ % em amostra de *Spirulina* cultivada em biorreator sob condições não controladas e seca em secador de bandeja com fluxo de ar perpendicular. As amostras de *Spirulina* sp. LEB 18 liofilizadas apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os resultados de umidade encontrados, demonstrando que em razão das amostras terem sido desidratadas em períodos de tempo diferentes podem ter adquirido umidade durante o armazenamento e posterior análise.

Os resultados para a análise de cinzas da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 liofilizada apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) (Tabela 3). Os valores são maiores que os encontrados por Morais et al. (2008) ($6,7 \pm 0,1$ %) em biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 desidratada após lavagem, uma vez que a biomassa foi retirada após filtragem em filtro prensa, congelada e liofilizada, sem a etapa de lavagem e/ou prensagem, o que justifica o maior teor de cinzas nas amostras de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial. Além disso, é possível observar que após a coleta do mês de maio, o percentual de cinzas aumentou devido a adição de meio de cultivo Zarrouk com periodicidade mensal e conforme as coletas realizadas pela indústria. Nos

meses anteriores, a adição de meio ocorreu de acordo com o aumento da concentração de biomassa e escalonamento da produção, a necessidade de aumento do volume do meio de cultivo e, também, nesses meses anteriores fazia-se uso de meio diluído 50 % para o crescimento da microalga (Tabela 1).

5.3.2 Perfil de ácidos graxos

A Tabela 4 apresenta o perfil de ácidos graxos da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial.

Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial

Ácido graxo (%)		Coleta de biomassa (dia/mês/ano)		
		02/05/2016	15/08/2016	17/10/2016
Láurico	C12:0	*	0,03	*
Tridecanoico	C13:0	0,22	*	*
Mirístico	C14:0	6,94	3,79	6,13
Miristoleico	C14:1	0,10	2,34	0,27
Pentadecanoico	C15:0	0,04	0,05	0,05
10-pentadecenoico	C15:1	0,04	0,29	0,05
Palmítico	C16:0	5,52	17,59	6,40
Palmitoleico	C16:1	42,61	28,79	38,64
Heptadecanoico	C17:0	0,12	0,13	0,11
Heptadenoico	C17:1	0,12	0,11	0,14
Esteárico	C18:0	24,48	15,18	25,25
Oleico	C18:1n9c	16,75	11,10	17,65
Elaídico	C18:1n9t	0,61	1,14	0,67
Linoleico	C18:2n6c	0,92	1,02	1,35
Linolelaídico	C18:2n6t	*	1,76	*
γ -linolênico	C18:3n6	*	*	*
α -linolênico	C18:3n3	0,93	1,04	1,34
Eicosanoico	C20:0	0,05	6,08	0,61
Gondoico	C20:1n9	0,02	8,26	0,62
11,14-eicosadienoico	C20:2	0,29	0,18	0,37
Dihomo- γ -linoleico	C20:3n6	0,28	0,22	0,33
Henecosanoico	C21:0	0,03	0,01	0,04
Eicosatrienoico	C20:3n3	0,05	0,01	*
Araquidônico	C20:4n6	0,10	0,03	0,06
Eicosapentaenoico	C20:5n3	*	0,13	0,09
Behênico	C22:0	*	0,72	0,08
Tricosanoico	C23:0	*	*	*
Nervônico	C24:1n9	*	0,17	*

*: não detectado

Os teores de ácidos graxos saturados (AGS) e AGI nas amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 coletadas em maio, agosto e outubro foram 37,4 e 62,8 %; 43,6 e 56,4 %;

38,7 e 61,2 %, respectivamente (Tabela 4). Os ácidos graxos insaturados (AGI) exercem efeito protetor ao organismo por reduzirem os níveis sanguíneos de proteínas de baixa densidade (colesterol ruim) e triglicerídeos, resultando em proteção cardiovascular (BROUWER; WANDERS; KATAN, 2010). Os AGI foram observados em maior quantidade que os AGS em todas as amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18, o que caracteriza a biomassa da planta industrial para aplicação na nutrição humana.

Os ácidos graxos essenciais são definidos como ácidos graxos poli-insaturados que não podem ser sintetizados pelo organismo e, portanto, devem ser adquiridos através da nossa dieta. Os ácidos graxos reconhecidos pela Organização Mundial da Saúde como essenciais são o ácido linoleico, o α -linolênico, o γ -linolênico e o araquidônico (ALONSO; MAROTO, 2000). Conforme se observa na Tabela 4, foram detectados os ácidos graxos essenciais linoleico, o α -linolênico e o araquidônico na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial. De acordo com os dados obtidos, houve predominância do ácido graxo palmitoleico, seguido pelo esteárico, oleico e palmítico.

As amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial coletadas em agosto (1,04 %) e outubro (1,34 %) (Tabela 4) apresentaram valores semelhantes para o percentual do ácido graxo α -linolênico, que pertence a família do ω -3, que o detectado por Moraes e Costa (2008b) que foi 1 %, utilizando 12 % de CO₂ e 16,8 g/L de bicarbonato de sódio em cultivo de *Spirulina*. Além disso, foi detectada a presença do ácido linoleico, que pertence a família do ω -6, em todas as amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial. De acordo com Fagundes (2002), a importância da ingestão de alimentos contendo ω -3 e ω -6 ocorre em razão de que estes podem auxiliar a manter os níveis de colesterol adequados, contribuindo para a saúde cardiovascular e por apresentarem ação anti-inflamatória no nosso organismo.

Todas as amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial demonstraram a presença do ácido oleico, também chamado ω -9, em quantidades maiores que 11 % (Tabela 4). Dessa forma, mais uma vez é ressaltada a ação nutracêutica da biomassa, visto que, este ácido graxo também tem ação anti-inflamatória, por conter compostos antioxidantes, e, assim, atua protegendo o coração, prevenindo o câncer e o envelhecimento celular (SALES-CAMPOS et al., 2013).

A partir da Tabela 4, observa-se que a redução da temperatura do cultivo durante o período de inverno também pode atuar de maneira positiva na composição da biomassa microalgal. Os compostos nitrogenados expostos à baixa temperatura podem ter sido transformados em substâncias de reserva energética, como os lipídios. O percentual de 12 ácidos graxos presentes na amostra coletada em agosto (período de inverno) foi maior que os detectados

nas amostras coletadas em maio e outubro, nas quais o cultivo foi submetido a temperaturas mais altas.

De acordo com Colla et al. (2004), os ácidos graxos presentes na biomassa da microalga *Spirulina platensis* (cultivada a 30 °C em meio contendo 1,25 g/L de nitrato de sódio) foram palmítico, que representou 45 % do total de ácidos graxos da espécie, palmitoleico (2,5 %), esteárico (0,9 %), oleico (8,5 %), ácido linoleico (12 %) e γ -linolênico (20 %). Chaiklahan et al. (2008) relataram a presença de ácido palmítico (49,9 %), palmitoleico (6,4 %), esteárico (1,2 %), oleico (2,7 %), linoleico (21,2 %) e linolênico (18,5 %) em biomassa de *Spirulina* comercial.

5.3.3 Ficocianina

A quantidade dos pigmentos acessórios é uma característica que pode variar conforme as espécies microalgais e que pode ser foto-estimulada em cultivos fotoautotróficos. As concentrações de ficocianina na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 coletada em maio, agosto e outubro foram $25,1 \pm 1,0$; $8,2 \pm 0,2$ e $17,1 \pm 0,7$ mg/g, respectivamente, e apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os períodos de coleta analisados. A menor concentração de ficocianina pode ser atribuída ao período de inverno, uma vez que, neste intervalo de tempo foi fornecida menor intensidade luminosa para o cultivo da planta industrial disposto em estufa coberta sobre condições não controladas (Figura 6).

Os resultados obtidos para a concentração de ficocianina da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial extraída com tampão fosfato, banho ultrassônico e centrifugação demonstraram que estão de acordo com Moraes et al. (2011), uma vez que no estudo referenciado foram utilizados métodos de extração de ficocianina de *Spirulina platensis* LEB 52 e foram obtidas concentrações entre 0,6 mg/g (sonicação) e 43,7 mg/g (sonicação com pérolas de vidro), por meio de diferentes extrações (químicas, físicas e enzimáticas).

Segundo Stewart e Farmer (1984), a liberação da ficocianina é diretamente relacionada à ruptura celular, como a microalga *Spirulina* tem parede celular composta por multicamadas resistentes podem ocorrer desvios durante o processo de extração. Além disso, não foi realizada nenhuma modificação durante o cultivo na planta industrial para estimulação da síntese deste pigmento.

Segundo Markou (2014), a produção de ficocianina por microalgas pode ser melhorada com o uso de luzes de comprimento de onda específico. Prates et al. (2015) por meio de cultivo com iluminação por diodos emissores de luz (LED) com comprimento de onda na região do vermelho, em diferentes fotoperíodos, fotoestimulou a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 a

concentrar a produção de ficocianina ($154,0 \pm 3,5$ mg/g), em condições de 12 h fluorescente, 6 h LED vermelho e 6 h escuro.

Prates et al. (2015) obtiveram valores de $35,9 \pm 0,5$ mg/g de ficocianina em *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em meio Zarrouk com condição de iluminação 12 h fluorescente e 12 h escuro. Por meio de extração utilizando água como solvente, agitação em shaker e centrifugação, Moraes, Burkert e Kalil (2010) encontraram rendimento de 82,5 mg/g de ficocianina. Dessa forma, as concentrações de ficocianina na biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 de planta industrial estão menores que as encontradas na literatura, provavelmente, devido às etapas de extração e purificação, que são os requisitos mais importantes para obtenção das ficobiliproteínas da cianobactéria.

5.3.4 Composição de aminoácidos

A Tabela 5 apresenta a composição de aminoácidos da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial.

Tabela 5 - Composição de aminoácidos

Aminoácido	g aminoácido/100 g proteína			FAO/ WHO (1991)	% g aminoácido/g biomassa			Morais et al. (2009)
	Coleta de biomassa (dia/mês/ano)				Coleta de biomassa (dia/mês/ano)			
	02/05/2016	15/08/2016	17/10/2016		02/05/2016	15/08/2016	17/10/2016	
Ácido aspártico	42,13	12,23	64,42		24,89	14,99	22,20	9,20
Treonina	14,22	7,96	16,64	0,90	8,40	9,76	5,73	4,87
Serina	0,23	0,06	0,52		0,13	0,07	0,18	4,31
Ácido glutâmico	0,84	< LQ	4,63		0,50	< LQ	1,60	10,70
Prolina	2,80	2,95	6,22		1,65	3,61	2,14	4,04
Glicina	3,85	2,66	3,94		2,28	3,26	1,36	5,17
Alanina	0,72	0,57	0,57		0,42	0,69	0,20	6,51
Cisteína	1,82	< LQ	3,69		1,07	< LQ	1,27	0,47
Valina	0,10	0,59	1,69	1,30	0,06	0,72	0,58	4,61
Metionina	2,75	1,44	3,41	1,70	1,62	1,76	1,18	1,64
Isoleucina	12,24	7,30	13,67	1,30	7,23	8,95	4,71	4,36
Leucina	3,31	1,72	3,54	1,90	1,95	2,11	1,22	8,02
Tirosina	2,72	0,03	2,28		1,61	0,04	0,78	3,20
Fenilalanina	0,94	0,92	1,51	1,90	0,56	1,13	0,52	5,75
Histidina	0,08	0,03	0,05	1,10	0,05	0,04	0,02	2,72
Lisina	0,91	0,96	1,43	1,60	0,54	1,17	0,49	2,95
Arginina	1,40	1,71	37,21		0,83	2,10	12,82	4,94

LQ: limite de quantificação

Os aminoácidos essenciais treonina (em todas as amostras), valina (outubro), metionina (maio e outubro), isoleucina (em todas as amostras) e leucina (maio e outubro)

encontrados na biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial apresentaram quantidades maiores que às necessárias para a dieta de um adulto de acordo com padrão FAO (Tabela 5). Observa-se que houve decréscimo na maior parte das concentrações de aminoácidos na amostra de biomassa coletada em agosto, possivelmente, devido à baixa temperatura do cultivo no fotobiorreator durante o inverno.

Os resultados obtidos para biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial estão de acordo com Ambrosi et al. (2008), que descreveram os aminoácidos não essenciais presentes na *Spirulina* como alanina, arginina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico, glicina, histidina, prolina, serina e tirosina. No estudo referenciado, os aminoácidos essenciais encontrados na biomassa de *Spirulina* foram isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina e valina.

As amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial apresentaram maior concentração de ácido aspártico que a detectada por Morais et al. (2009). Saputra, Agustini e Dewi (2014) também observaram a predominância do ácido aspártico nas amostras de biomassa de *Spirulina platensis*. A importância do ácido aspártico ou aspartato é devido a atuação como neurotransmissor. As quantidades de treonina, cisteína e isoleucina na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial também foram maiores que as detectadas por Morais et al. (2009). A treonina pode atuar no sistema imunológico (PINHEIRO et al., 2014), enquanto a cisteína tem potencial antioxidante (COELHO, 2014) e a isoleucina é responsável pela produção de energia e controle dos níveis de açúcar no sangue (CAMPBELL, 2012).

No entanto, Morais et al. (2009) encontraram melhores resultados para a composição de aminoácidos essenciais na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em meio contendo água da Lagoa Mangueira, em planta piloto localizada em Santa Vitória do Palmar, o que deve ser atribuído ao elevado teor proteico (86 %) do estudo referenciado.

5.3.5 Metais pesados

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos para análise de metais pesados na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial.

As amostras de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial (Tabela 6) apresentaram concentrações menores de arsênio, cádmio e mercúrio que as reportadas por Richmond (1990) para biomassa de *Spirulina* sp. A determinação de arsênio, chumbo e cádmio nas amostras de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial apresentou concentrações menores que os limites máximos estabelecidos pela ANVISA no Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965 (BRASIL, 1965).

Tabela 6 - Concentração de metais pesados

Metal pesado	mg metal pesado/kg biomassa			Richmond (1990) (mg/kg)	Parry Nutraceuticals (2012) (mg/kg)	Limites máximos ANVISA (mg/kg)
	Coleta de biomassa (dia/mês/ano)					
	02/05/2016	15/08/2016	17/10/2016			
Arsênio	< 0,30	< 0,30	< 0,30	1,10	0,50	1,00
Chumbo	< 0,38	< 0,38	< 0,38	< 0,10	0,20	1,00
Cádmio	< 0,09	< 0,09	< 0,09	0,40	0,20	0,17
Mercurio	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,24	0,05	0,01

A concentração de mercúrio (< 0,02 mg/kg) nas amostras da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial foi menor que a descrita por Parry Nutraceuticals (2012) (0,05 mg/kg) em notificação para o FDA sobre a certificação de *Spirulina* orgânica. Além disso, a determinação desse metal pesado apresentou concentração abaixo do limite de quantificação da metodologia utilizada.

Al-Dhabi (2013) analisou 25 amostras de *Spirulina* comercializadas na forma de tabletes ou cápsulas no Canadá, Estados Unidos, Japão, Índia, Nova Zelândia e Reino Unido, a concentração de mercúrio encontrada em todas as amostras foi aproximadamente 0,02 mg/kg, isso demonstra que a concentração deste metal pesado na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 da Olson Nutrição (Tabela 6) foi menor que a encontrada na *Spirulina* disponibilizada no exterior.

5.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Os resultados da análise microbiológica mostraram baixos níveis de contaminação, 6×10^2 UFC/mL, no meio de cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 disposto em estufa coberta. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao pH alcalino do meio de cultivo, que contribui para manutenção da assepsia do cultivo. Os resultados microbiológicos são menores do que foi encontrado no meio de cultivo de *Spirulina platensis* LEB 52 suplementado com água da Lagoa Mangueira ($< 1,6 \times 10^4$ UFC/mL), por Costa, Colla e Duarte Filho (2003).

Os resultados também revelaram baixos níveis de contaminação, 8×10^3 UFC/g, na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 coletada e desidratada na planta industrial. Parry Nutraceuticals (2012) descreveu 5×10^4 UFC/g como o limite para contagem padrão em placas, através de notificação enviada ao FDA sobre a certificação de *Spirulina* orgânica. Dessa forma, a análise microbiológica da biomassa desidratada da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 da planta industrial mostrou-se de acordo com o padrão aceito internacionalmente. Além disso, os baixos níveis de contaminação na biomassa desidratada evidenciaram a importância da aplicação das normas de garantia da qualidade no processo de cultivo microalgal na Olson Nutrição.

Morais et al. (2009) também relataram baixa contaminação (7×10^5 UFC/g) em biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em planta piloto localizada próximo a Lagoa Mangueira. Vonshak (1997) relatou valores de contagem de unidades formadoras de colônia em *Spirulina* desidratada como $< 0,1 \times 10^6$ UFC/g na França, $< 10 \times 10^6$ UFC/g na Suécia, $< 0,05 \times 10^6$ UFC/g no Japão e $< 1 \times 10^6$ UFC/g para a biomassa de *Spirulina* produzida na Califórnia (*Earthrise Farms*).

5.5 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE

A seguir será demonstrado o manual de BPF da Olson Nutrição, este estabelece as condições higiênico-sanitárias essenciais de produção, armazenagem e transporte dos produtos da empresa, com o objetivo de garantir que os mesmos estejam isentos de substâncias ou agentes estranhos. As empresas devem seguir procedimentos higiênicos-sanitários na produção de alimentos, além de implementar e manter as boas práticas, os procedimentos operacionais padronizados (POP) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Estas exigências são regulamentadas por portarias específicas do Ministério da Saúde e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e, fiscalizadas pelas Secretarias de Vigilância Sanitária.

Um programa de qualidade total, todavia, não se faz meramente com a criação de manuais, rotinas administrativas, critérios de avaliação e de mensuração de satisfação dos clientes, mas, principalmente, com comprometimento de todos os profissionais que, de algum modo, estão envolvidos com as atividades da Olson Nutrição. Por essa razão, espera-se que a leitura e a aplicação constante das regras escritas nesse manual, sejam, antes de tudo, imensamente satisfatórias para que cada um conheça e aplique-as. Na mesma medida, que o mesmo seja uma obra dinâmica, construída a cada dia com a colaboração e a observação de todos os envolvidos.

5.5.1 Informações gerais da empresa

Razão social: Olson Nutrição Ltda.

Nome fantasia: Olson Nutrição

Ramo de atividades: algicultura

Endereço: Localidade Colônia Videira, s/n – 1º Distrito de Camaquã

CEP: 96.180-000

Cidade: Camaquã

Estado: Rio Grande do Sul - RS

País: Brasil

Celular/WhatsApp: (51) 98147-4477 ou (51) 99991-4111

CNPJ: 05.306.757/0001-21

I.E.: 017/0120775

Alvará/Licença sanitária: 953950/3

E-mail: olson@olson.com.br, pesquisa@olson.com.br e atendimento@olson.com.br

Site: www.olson.com.br

Horário de funcionamento: segunda a sexta das 8 h às 12 h/13 h 30 min às 17 h 30 min e sábado das 8 h às 12 h

Produtos: *Spirulina* sp. LEB 18 em cápsulas (frasco com 120 cápsulas de 500 mg) e em pó (frasco de 100 e 175 g)

Responsável técnica: Eng. Bioquímica Lívia da Silva Uebel (CRQ-V 05303695)

Responsável legal/Proprietária do estabelecimento: Adriana Collet Olson

A empresa Olson Nutrição é certificada pela ANVISA e assume, desde a sua fundação, em 2011, a responsabilidade de levar qualidade, confiança e respeito com o ser humano e a natureza. A Olson Nutrição dispõe de site com objetivo de trazer informação e conhecimento sobre a microalga *Spirulina* sp. LEB 18, que é rica em proteínas e nutrientes e de alto valor nutricional. Um complemento alimentar consumido no mundo todo e que agora ganha produção totalmente brasileira com a Olson Microalgas, Macronutrição.

O site (loja virtual) é o espaço de conhecimento, compartilhamento de conteúdos e aquisição da microalga. O local é indicado para médicos, nutricionistas, praticantes de atividade física, atletas, vegetarianos, veganos ou apenas alguém que busca uma fonte de nutrição saudável e natural para o seu dia.

5.5.2 Termos e definições

Ação corretiva: ação para eliminar a causa de uma não conformidade identificada ou outra situação indesejável.

Água potável: água que não ofereça riscos à saúde, atendendo ao padrão de potabilidade estabelecido na legislação em vigor.

Análise de perigos e pontos críticos de controle: sistema de gestão de segurança alimentar, o chamado APPCC.

Antisséptico ou sanificante ou desinfetante: produto de natureza química utilizado para reduzir a carga microbiana a níveis aceitáveis e eliminar os micro-organismos patogênicos.

Armazenamento: é o conjunto de tarefas e requisitos para a correta observação de insumos e produtos terminados.

Boas Práticas (BP): procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação, a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária.

Check-list: lista de verificação contendo os requisitos que devem ser verificados na auditoria interna que tem como objetivo padronizar a auditoria.

Consumidor: toda pessoa física ou jurídica que adquire ou utiliza produto ou serviço como destinatário final.

Contaminação cruzada: contaminação de um alimento para outro por substâncias ou agentes estranhos, de origem biológica, física ou química, que se considere nocivo ou não para a saúde humana, através do contato direto, por manipuladores ou superfícies de contato.

Contaminantes: substâncias ou agentes de origem biológica, química ou física, estranhos no alimento, que sejam considerados nocivos ou não à saúde humana ou que comprometam a sua integridade.

Controle integrado: seleção de métodos de controle e o desenvolvimento de critérios que garantam resultados favoráveis sob o ponto de vista higiênico, ecológico e econômico.

Correção: ação para eliminar uma não conformidade.

Desinfestação: eliminação das pragas.

Equipamentos de Proteção Individual (EPI): todo dispositivo de uso individual de fabricação nacional ou estrangeira destinada a proteger a saúde e a integridade física dos trabalhadores.

Higienização: operação que compreende as etapas de limpeza e desinfecção.

Limpeza: remoção de substâncias minerais e/ou orgânicas indesejáveis, como terra, poeira, gordura e outras sujidades.

Lote de produto: conjunto de produtos de um mesmo tipo, processados pelo mesmo fabricante ou fracionador, em um tempo determinado, sob condições essencialmente iguais.

Manipulação de produtos: são as operações que se efetuam sobre a matéria-prima até o produto terminado, em qualquer etapa do processamento, armazenamento e transporte.

Manual de Boas Práticas: documento que descreve as operações realizadas pelos estabelecimentos, incluindo no mínimo os requisitos higiênico-sanitários dos edifícios, a manutenção e higienização das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, o controle de água de abastecimento, o controle integrado de vetores e pragas, a capacitação profissional, o controle

da higiene e saúde dos manipuladores, o manejo dos resíduos e o controle e garantia de qualidade do alimento preparado.

Monitorização: inspeção de indícios de focos com registro de ocorrências em planilhas próprias, utilizada para análise da eficiência do programa e necessidade de implementação de ações preventivas e corretivas.

Não conformidade: não atendimento de um requisito especificado em legislação sanitária.

Perigo: contaminação inaceitável de natureza biológica, química ou física que pode causar dano à saúde ou integridade do consumidor.

Ponto Crítico de Controle (PCC): qualquer ponto, operação, procedimento ou etapa do processo de fabricação ou preparação do produto, onde se aplicam medidas preventivas de controle sobre um ou mais fatores, com o objetivo de prevenir, reduzir a limites aceitáveis ou eliminar os perigos para a saúde, a perda da qualidade e a fraude econômica.

Ponto de Controle (PC): ponto ou etapa onde o perigo é controlado preventivamente pelas BP/POP.

Praga: Todo agente animal ou vegetal que possa ocasionar danos materiais ou contaminações com riscos à saúde, segurança e qualidade.

Praguicida: qualquer substância química utilizada para controle de pragas animais ou vegetais.

Procedimento Operacional Padrão (POP): procedimentos operacionais padronizados e documentados em forma de planilhas ou check-list apropriado.

Produção/elaboração/manipulação: é o conjunto de todas as operações e processos praticados para a obtenção de um alimento.

Produto: refere-se a alimentos, inclusive *in natura*, bebidas e águas envasadas, ingredientes alimentares, matérias-primas alimentares, aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia de fabricação, embalagens e outros materiais em contato com alimentos, para consumo humano.

Rastreabilidade: conjunto de procedimentos que permitem detectar a origem e acompanhar a movimentação de um produto ao longo das etapas da cadeia produtiva, mediante dados e registros de informações.

Recolhimento: ação a ser adotada pela empresa interessada e demais empresas da cadeia produtiva, que visa à imediata e eficiente retirada de lote(s) de produto(s) do mercado de consumo.

Registro: documento que apresenta resultados obtidos ou fornece evidências de atividades realizadas.

Resíduos: materiais a serem descartados, oriundos da área de produção e das demais áreas do estabelecimento.

Risco: probabilidade de ocorrência de um efeito adverso à saúde e da gravidade de tal efeito, como consequência de um perigo ou mais perigos nos alimentos.

Sanificação/desinfecção: ação de eliminar micro-organismos patogênicos reduzindo-os a níveis considerados seguros.

Seguro/inócuo: que não oferece risco à saúde e a integridade física do consumidor.

Validação: comprovação por meio do fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos para aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos.

5.5.3 Equipe de boas práticas

Quadro 1 - Equipe de boas práticas

Nome	Cargo na empresa	Função na equipe BPF	Atribuições
Adriana Olson	Proprietária	Subcoordenadora	Substituir a coordenadora na sua ausência e apoiar os trabalhos de BP
Maristela Ortiz	Gerente de produção	Secretária	Digitar documentos, imprimir planilhas de controle e distribuí-las aos monitores, organizar os documentos da qualidade, registrando planilhas e relatórios
Lívia Uebel	Responsável técnica	Coordenadora da equipe BPF	Coordenar e organizar os trabalhos das BPs, assegurar treinamento para a equipe de BP, garantir a implementação, manutenção e atualização das BP
Eliane Centeno	Auxiliar de produção/limpeza	Monitora	Registrar as planilhas de controle do setor e prezar pela higiene geral
Luiz Flávio Medeiros	Auxiliar de serviços gerais	Monitor	Registrar as planilhas de controle do setor e prezar pela higiene geral

5.5.4 Qualificação dos colaboradores em segurança dos alimentos

Todos os colaboradores da empresa recebem no momento da admissão e na rotina diária das atividades, instruções e treinamentos necessários para o cumprimento de suas funções de maneira segura e higiênica. Os colaboradores são qualificados tecnicamente nos requisitos mínimos de higiene pessoal e manipulação higiênica da microalga.

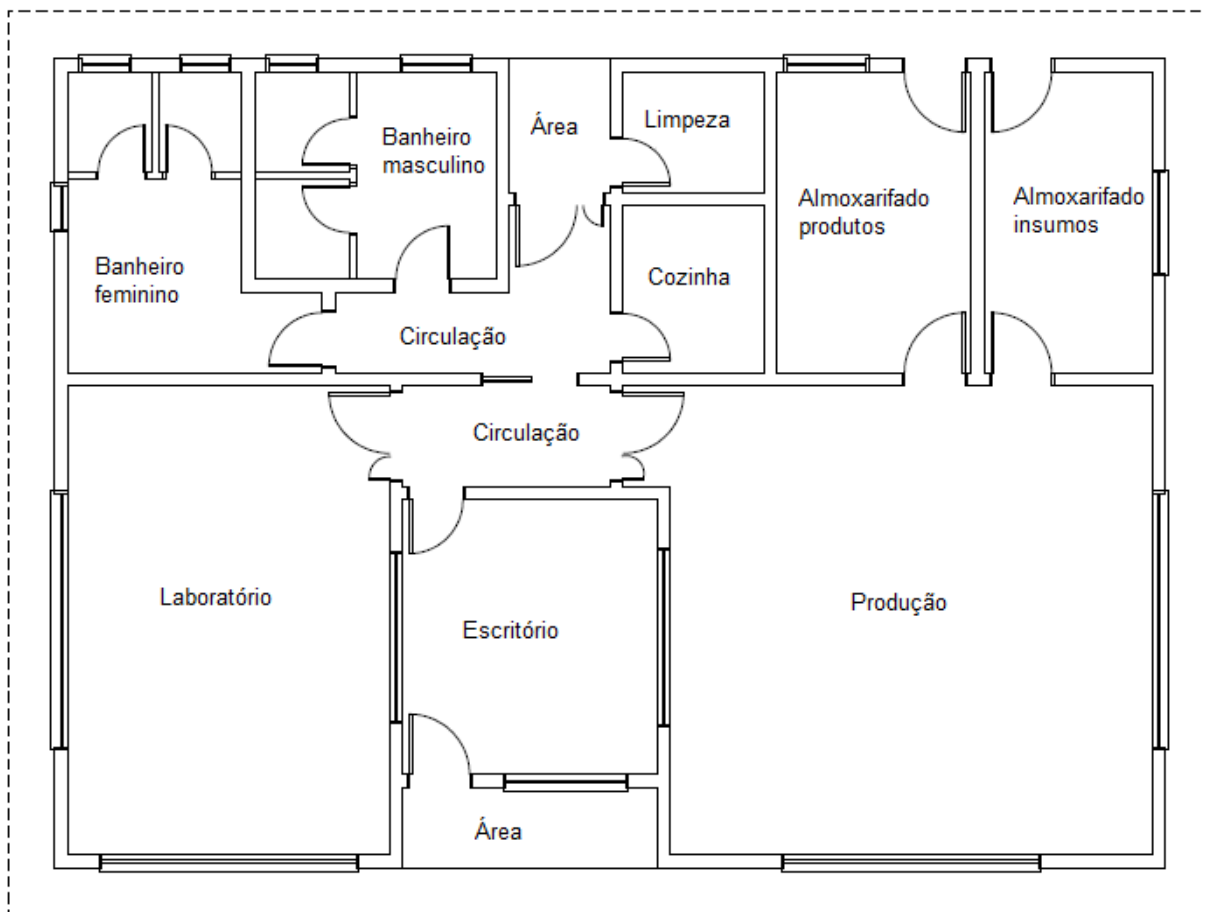
5.5.5 Visitantes

Todas as pessoas que não fazem parte da equipe de colaboradores da empresa são consideradas visitantes. A circulação de visitantes é restrita e controlada com o intuito de se evitar contaminação dos produtos. Em ocasiões em que há o acesso de visitantes na empresa, os mesmos são orientados a utilizar contenção para os cabelos, sapatos fechados com proteção, jaleco branco, luvas e máscara e, estão sujeitos aos mesmos requisitos de higiene e saúde dos colaboradores.

5.5.6 Características das instalações

A empresa possui acesso direto e independente da entrada de outros estabelecimentos. As instalações são cercadas, dispostas em zona rural, onde há pouco trânsito de veículos e seus arredores são livres de focos de insalubridade, lixo, objetos em desuso, animais, insetos e roedores. A planta baixa da empresa é demonstrada na Figura 9.

Figura 9 - Planta baixa da Olson Nutrição



PLANTA BAIXA
A: 200,86 m²

O piso das instalações é de material cerâmico que permite fácil e apropriada higienização e encontra-se em ótimo estado de conservação. O sistema de drenagem foi dimensionado adequadamente, sem acúmulo de resíduos. Drenos e ralos sifonados foram colocados em locais adequados de forma a facilitar o escoamento e proteger contra a entrada de baratas e roedores. O teto, as paredes e divisórias apresentam adequado estado de conservação e possuem acabamento liso, em cor clara, impermeável, de fácil limpeza e, quando for o caso, desinfecção. As portas e janelas apresentam superfície lisa, de fácil higienização, sem falhas de revestimento. A porta principal externa tem barreira adequada, construída a partir de tela, para impedir entrada de vetores e outros animais.

5.5.6.1 Vestiários e instalações sanitárias

Os vestiários e instalações sanitárias possuem construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica, estrutura de telhado com telhas de concreto, são independentes para cada sexo e não possuem comunicação direta com áreas de produção da microalga. A iluminação geral é realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma e também por iluminação natural através dos vidros das janelas, que são devidamente equipadas com telas de proteção contra a entrada de insetos.

O estado de conservação e de higiene das instalações sanitárias (piso, paredes, teto, vasos sanitários e pias) é adequado, satisfatório e possui manutenção e controle contínuos. As instalações possuem saída de água corrente e conectadas à fossa séptica, possuem chuveiro, são devidamente abastecidas com papel higiênico, sabão líquido antisséptico, papel toalha descartável não reciclado e há presença de avisos com os procedimentos para lavagem das mãos. As lixeiras possuem tampa com sistema de abertura por pedal, onde não se utilizam as mãos.

5.5.6.2 Limpeza

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto, iluminação geral realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma. Além disso, possui armários em *Medium Density Fiberboard* (MDF), material derivado da madeira, para organização do setor.

5.5.6.3 Cozinha

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto, iluminação geral realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma. Além disso, possui armários em MDF para organização do setor e micro-ondas para utilização dos colaboradores. As instalações são devidamente abastecidas com papel higiênico, sabão líquido antisséptico, detergente e papel toalha descartável não reciclado. As lixeiras possuem tampa com sistema de abertura por pedal, onde não se utilizam as mãos.

5.5.6.4 Almojarifado produtos

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto. Os vidros das janelas são revestidos para proteger os produtos armazenados, nas prateleiras, da degradação frente à luz. O setor possui desumidificador e termômetro para registro das temperaturas mínimas e máximas.

5.5.6.5 Almojarifado insumos

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto, iluminação geral realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma e também por iluminação natural através dos vidros das janelas, que são devidamente equipadas com telas de proteção contra a entrada de insetos. Além disso, possui tanque de filtragem, prensa e balança.

5.5.6.6 Laboratório

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto. A iluminação geral é realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma e também por iluminação natural através dos vidros das janelas, que são devidamente equipadas com telas de proteção contra a entrada de insetos.

Além disso, o setor possui armários em MDF para organização do setor, termômetro para registro das temperaturas mínimas e máximas, espectrofotômetro, pHmetro, refrigerador, freezer, estufa para secagem de materiais, balança, ar condicionado split e desumidificador. O laboratório possui lavatório com água corrente, é devidamente abastecido com papel higiênico,

sabão líquido antisséptico, detergente e papel toalha descartável não reciclado. As lixeiras possuem tampa com sistema de abertura por pedal, onde não se utilizam as mãos.

5.5.6.7 Escritório

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto. A iluminação geral é realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma e também por iluminação natural através dos vidros das janelas, que são devidamente equipadas com telas de proteção contra a entrada de insetos. Além disso, possui armários em MDF para organização do setor, lixeira, cadeiras, computadores e sofás.

5.5.6.8 Produção

O setor possui construção em alvenaria, paredes rebocadas e pintadas, piso em cerâmica e estrutura de telhado com telhas de concreto. A iluminação geral é realizada por lâmpadas fluorescentes que possuem suportes de acrílico para evitar a queda da lâmpada ou pedaços da mesma e também por iluminação natural através dos vidros das janelas, que são devidamente equipadas com telas de proteção contra a entrada de insetos.

O setor possui armários em MDF para organização do setor, ar condicionado split, desumidificador, estufa de ar forçado, extrusora, encapsuladora, balança, moinho e seladora a vácuo. O ambiente da produção é amplo, proporcionando boas condições de trabalho para os colaboradores. Além disso, possui lavatório com água corrente, é devidamente abastecida com sabão líquido antisséptico, detergente e papel toalha descartável não reciclado. As lixeiras possuem tampa com sistema de abertura por pedal, onde não se utilizam as mãos.

5.5.6.9 Estufa

Estufa com 360 m² de filme de polietileno transparente, com aberturas laterais para controle de temperatura, que comporta 5 fotobiorreatores tipo *raceway* constituídos por geomembrana (1 para inóculo, 2 para escalonamento e produção e 2 para produção da biomassa da microalga). O setor possui termômetros para registro das temperaturas mínimas e máximas, do ambiente e dos cultivos da microalga. O ambiente é amplo, proporcionando boas condições de trabalho para os colaboradores.

5.5.7 Equipamentos, utensílios e matéria-prima

Os equipamentos, bancadas de trabalho e utensílios utilizados pela empresa estão em bom estado de conservação e são constituídos de materiais adequados, atóxicos, lisos, impermeáveis, laváveis e resistentes a substâncias corrosivas. Os equipamentos passam por manutenção periódica de acordo com a necessidade. Os nutrientes do meio de cultivo são armazenados em local adequado e não há contato com o produto final. Os frascos, cápsulas, rótulos e embalagens são armazenados em local onde há controle de umidade.

5.5.8 Higiene pessoal

Todos os colaboradores são orientados e supervisionados quanto à manutenção de boa higiene pessoal e prática de hábitos de higiene adequados e seguros.

5.5.8.1 Orientações comportamentais

Orientações de estética e asseio pessoal:

- Tomar banho diário;
- Manter os cabelos continuamente protegidos;
- Fazer barba e bigode diariamente;
- Manter unhas curtas e limpas sem esmalte e sem base;
- Utilizar desodorante sem cheiro e não utilizar perfumes;
- Não utilizar adornos como colares, amuletos, pulseiras, fitas, brincos, relógios e anéis, inclusive alianças;
- Higienizar as mãos da maneira correta e na frequência indicada.

Orientações para higiene das mãos:

- Todos os colaboradores são instruídos a manter as mãos limpas;
- No momento da chegada ao local de trabalho, antes de iniciar suas atividades;
- Ao trocar de atividades;
- Antes de utilizar luvas e após tirá-las;
- Antes e após utilizar os sanitários;
- Após ter contato com equipamentos e utensílios;
- Após tossir, espirrar, assoar o nariz ou se coçar;
- Após comer ou fumar;
- Após recolher lixo e outros resíduos;
- Após passar muito tempo em uma mesma atividade;

- Todas as vezes que interromper uma atividade.

Técnicas utilizadas na higienização das mãos:

- Umedecer as mãos e antebraços com água corrente;
- Lavar com sabonete líquido bactericida;
- Massagear bem as mãos e antebraços, em apenas um sentido;
- Enxaguar bem as mãos e antebraços;
- Secar as mãos com papel toalha descartável não reciclado;
- Não tocar nas torneiras com as mãos, após serem secadas;
- Descartar o papel dentro da lixeira.

Orientações gerais aos colaboradores:

- NÃO falar, cantar, assobiar, tossir, espirrar, cuspir, fumar;
- NÃO mascar goma, palito, fósforo ou similares, chupar balas ou comer;
- NÃO assoar nem colocar o dedo no nariz ou ouvido, mexer no cabelo ou se pentear;
- NÃO deixar roupas e objetos pessoais nas áreas de produção;
- JAMAIS enxugar o suor com as mãos, panos ou qualquer peça da vestimenta;
- JAMAIS fazer uso de utensílios e equipamentos sujos;
- NÃO utilizar nenhum tipo de loção nas mãos;
- NUNCA trabalhar diretamente com a microalga quando apresentar problemas de saúde ou qualquer tipo de lesão nas mãos, sem comunicar ao supervisor, para que o mesmo tome a providência cabível.

5.5.8.2 Uso de uniformes

Os uniformes disponibilizados pela empresa são completos, compostos de touca, máscara, sapatos fechados, luvas, calça e jaleco branco. Os uniformes em utilização são mantidos em bom estado de conservação. Os uniformes são disponibilizados em quantidade suficiente para permitir troca diária pelos colaboradores, sendo assim o uniforme deve ser trocado diariamente ou de acordo com a necessidade. Os manipuladores são orientados quanto ao uso correto de Equipamentos de Proteção Individual (máscara, protetor auricular e óculos).

Com relação à utilização dos uniformes, todos os colaboradores são orientados a:

- Utilizá-los somente nas dependências internas do estabelecimento e apresentar-se para o trabalho com uniformes completos, bem conservados, limpos e com troca diária;
- Utilizar meias limpas;

- Não carregar no uniforme: canetas, lápis, batons, escovas, cigarros, isqueiros, relógios e outros adornos que possam cair, deixando todos os pertences pessoais no vestiário;
- Utilizar constantemente proteção na cabeça de forma a cobrir completamente os cabelos.

5.5.9 Sistema de segurança

5.5.9.1 Proteção contra incêndios

Estão distribuídos nas dependências da Olson Nutrição extintores BC de 6 kg (laboratório), ABC de 4 kg (estufa) e ABC de 8 kg (área de circulação) localizados em área de fácil visualização, livres de obstáculos, sendo inspecionados mensalmente e quando necessário enviados para recargas e manutenção. A empresa possui alvará de Prevenção e Proteção Contra Incêndio, nas dependências estão distribuídas luminárias de emergência e as saídas de emergência estão devidamente identificadas.

5.5.9.2 Controle integrado de pragas e roedores

Por meio de empresa terceirizada (Real Expurgo e Desinsetização Ltda.) são monitoradas a desinsetização e desratização da área externa da Olson Nutrição, que são efetuadas, acompanhadas e monitoradas mensalmente pelos profissionais da mesma.

5.5.10 Produção

A microalga *Spirulina* sp. LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira, localizada no município de Santa Vitoria do Palmar (Rio Grande do Sul) é mantida em meio Zarrouk (diluído 50 % para crescimento e 0 % para manutenção), com adição das soluções A5 e B6, na concentração de 0,1 mL por litro de meio para produção de biomassa.

Os cultivos são realizados em fotobiorreatores, tipo *raceway*, dispostos em estufa coberta sob condições não controladas. Os cultivos são mantidos em modo semicontínuo com concentração de biomassa inicial de 0,30 g/L, altura de meio de 20 cm (verão) e 30 cm (inverno), evaporação controlada pela manutenção diária do volume do cultivo com reposição de água tratada com hipoclorito de sódio (2 ppm) e agitação contínua realizada por pás rotativas com velocidade de 7 rpm. A concentração da biomassa, volume, pH do cultivo, luminosidade, temperaturas (ambiente e do cultivo) são acompanhados diariamente.

A coleta da biomassa é realizada quando os cultivos atingem concentração de 0,65 g/L. Nesta etapa, a suspensão contendo a microalga é filtrada com auxílio de bomba pneumática. A

seguir, a biomassa é encaminhada para a prensa, que tem objetivo de retirar excesso de água presente na amostra. Posteriormente, é realizada a extrusão da biomassa em bandejas de aço inox, que então é encaminhada para secagem em estufa de ar forçado a 43 °C por 20 h e, após, embalada a vácuo. A biomassa é moída em micronizador e encapsulada.

Durante a produção são realizados registros para demonstrar que todas as etapas, procedimentos e instruções foram seguidos e, que a quantidade e a qualidade do produto obtido estejam em conformidade com o esperado. Quaisquer desvios significativos são registrados e investigados, conseguindo-se, portanto a redução de erros e problemas vigentes a produção. Os registros referentes à produção e distribuição possibilitam o rastreamento completo de um lote e são arquivados de maneira organizada e de rápido acesso, facilitando a procura ao encontrar desvios na qualidade de algum lote ou produto. A Olson Nutrição possui laudo laboratorial atestando o controle de qualidade do produto final, expedido por empresa terceirizada (Eurofins Alac).

5.5.11 Armazenamento e transporte dos produtos

A rotulagem dos produtos apresenta identificação visível e de acordo com a legislação vigente. Os produtos são acondicionados em embalagens adequadas e íntegras, são bem conservados e limpos. O armazenamento dos produtos é realizado em local afastado da parede e distantes do teto, de forma a permitir apropriada higienização, onde há controle adequado e existência de planilha de registro de temperatura.

Os produtos são transportados até os correios em veículo limpo, com cobertura para proteção de carga, ausência de vetores e pragas ou qualquer evidência de sua presença, como fezes, ninhos e outros. O transporte mantém a integridade do produto e o veículo não transporta outras cargas que comprometam a segurança e qualidade do produto.

5.5.12 Rastreabilidade, reclamação, troca e devolução de produtos

A Olson Nutrição tem sistema capaz de recolher qualquer lote, após sua comercialização ou distribuição ajudando a reduzir problemas ou ao menos evitar a propagação pelo mercado de lotes ou produtos com problemas. As reclamações sobre produtos comercializados são examinadas, registradas e as causas dos desvios da qualidade, investigadas e documentadas a fim de evitar futuros erros. A política de troca e devolução da empresa tem o compromisso de garantir a satisfação de nossos clientes, e para isso foi criada criteriosamente com base no Código de Defesa do Consumidor.

A empresa manifesta gratidão pela aquisição na Olson Loja Virtual e espera sempre que os clientes fiquem satisfeitos com ela. Mas se, apesar de todos os esforços, alguma mercadoria adquirida não atender às expectativas, o cliente deve entrar em contato, imediatamente, com a Central de Atendimento (telefones e e-mails). A solicitação de troca ou desistência ou devolução do produto deverá ser realizada no prazo máximo de 30 dias corridos a contar do recebimento do produto. Após o contato a empresa poderá proceder com a troca do produto ou devolução do dinheiro.

Caso o cliente observe alguma das divergências abaixo no ato da entrega, a empresa solicita que o recebimento seja recusado e que o cliente contate a Central de Atendimento imediatamente para a substituição:

- Embalagem aberta ou avariada;
- Produto avariado;
- Produto divergente do solicitado.

Se o cliente receber o produto, o prazo para solicitação da devolução será de 24 h a contar do recebimento do mesmo. Caso o cliente necessite devolver suas mercadorias, deverá pedir a assinatura do transportador na nota fiscal do produto.

POP 01 HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES, EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS

OBJETIVO

Tem como objetivo descrever os procedimentos adotados para atender os requisitos básicos da higienização das instalações, equipamentos, móveis e utensílios, garantindo assim a qualidade do produto final.

DOCUMENTO DE REFERÊNCIA

Resolução - RDC 275, de 21 de outubro de 2002 - (Republicada no Diário Oficial da União – D. O. U. - de 06/11/2002): “Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se a todos os setores da empresa.

DEFINIÇÕES

Higienização: procedimentos de desinfecção.

Limpeza: remoção de sujidades (resíduos da microalga, pó ou outros materiais indesejáveis) de uma superfície.

Check-list: lista de verificação contendo os requisitos que devem ser verificados na auditoria que tem como objetivo padronizar a auditoria.

RESPONSABILIDADES

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos neste POP.

Colaboradores: responsáveis por manter limpas as instalações, móveis, equipamentos e utensílios.

PROCEDIMENTOS

O procedimento de limpeza e higienização deve ser realizado em todos os setores da empresa de acordo com as instruções de trabalho de cada setor. As cores dos panos, baldes e toalhas foram definidas para utilização em cada uma das atividades (Quadros 5 e 6).

MONITORIZAÇÃO

Quadro 2 - Monitorização do POP 01

O que?	Como?	Quando?	Quem?
A limpeza e higienização das instalações	Preenchimento das planilhas de registro	Mensal	Controle de Qualidade
Os produtos e utensílios de limpeza	Verificar os utensílios e produtos	Mensal	Controle de Qualidade
Limpeza das lixeiras e correto armazenamento dos resíduos	Preenchimento do check-list BPF	Mensal	Controle de Qualidade

AÇÃO CORRETIVA

VERIFICAÇÕES DA LIMPEZA E HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES:

- Verificar se a limpeza foi realizada de maneira correta em todas as instalações;
- Verificar se os produtos e utensílios de limpeza estão sendo utilizados de maneira correta;
- Orientar aos funcionários responsáveis a correta limpeza e higienização.

VERIFICAÇÃO E MANUTENÇÃO DE LIXEIRAS

- Verificar se as lixeiras estão em condições de uso e devidamente equipadas com sacos plásticos;
- Verificar se o lixo está sendo recolhido diariamente;
- Verificar se a limpeza é realizada corretamente.

MANUTENÇÃO DAS LIXEIRAS

- Solicitação de manutenção das lixeiras quando necessário;
- Correção de problemas relacionados às não conformidades detectadas na avaliação das condições relacionadas aos resíduos sólidos.

VERIFICAÇÃO

Quadro 3 - Verificação do POP 01

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Supervisão do check-list BPF	Observação visual e rubrica	Mensal	Coordenadora equipe BPF

REGISTROS

Quadro 4 - Registros do POP 01

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Check-list BPF	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de limpeza	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de treinamento	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública

Quadro 5 - Procedimentos POP 01

Local	Procedimento	Materiais	Frequência	Responsável
Estufa	Aspirar o chão	Aspirador de pó, mangueira de água, trincha e hipoclorito	Semanalmente	Funcionário do Setor
	Passar trincha com hipoclorito no chão		Quando necessário	
	Lavar as telas (sempre cobrir os fotobiorreatores com lona plástica)		Semestralmente	
Fotobiorreatores	Passar pano úmido com água nas bordas	Toalha branca e balde branco	Diariamente	Funcionário do Setor
	Passar escova nas pás	Escova	A cada 2 dias	Funcionário do Setor
Corredor	Aspirar o chão	Aspirador de pó e mangueira de água	Diariamente	Funcionário do Setor
Pias	Limpar as pias com esponja, detergente neutro e enxaguar com água corrente	Esponja e detergente neutro	Diariamente	Funcionário do Setor
Chão	Limpar o chão com pano roxo e detergente neutro, utilizando o balde laranja. Depois passar pano branco com hipoclorito, utilizando o balde roxo	Panos roxo e branco, baldes laranja e roxo, detergente neutro e hipoclorito	Semanalmente	Funcionário do Setor
Cozinha e limpeza	Retirar o acúmulo de pó dos armários utilizando perfex	Perflex e sabão neutro	Semanalmente	Funcionário do Setor
Escritório	Retirar o acúmulo de pó da mesa, sofás, estante, computador, extintor de incêndio, janelas e portas	Perflex e sabão neutro	Semanalmente	Funcionário do Setor
Laboratório	Retirar o pó dos equipamentos, extintor de incêndio, bancadas e passar pano com álcool 70 %	Perflex	Diariamente	Funcionário do Setor

Quadro 6 - Procedimentos POP 01

Local	Procedimento	Materiais	Frequência	Responsável
Banheiros	Limpar o vaso sanitário com água e hipoclorito, utilizar pano azul. Escovar a pia com saponáceo e depois passar pano azul úmido. Passar no chão pano branco úmido com sabão neutro e hipoclorito. Retirar o lixo e encaminhar para coleta pública	Panos azul e branco, baldes azul e branco, saponáceo, hipoclorito, sabão neutro e saco de lixo	Diariamente	Funcionário do Setor
	Limpar portas utilizando água e pano	Pano azul	Semanalmente	
	Limpar janelas e telas com mangueira e escova	Mangueira e escova	Semestralmente	
Produção e almoxarifado de insumos	Efetuar a limpeza geral, na bancada, chão e equipamentos	Panos verde, roxo e branco, baldes laranja e roxo, detergente neutro e hipoclorito	Após cada coleta	Funcionário do Setor
Estufa de ar forçado	Passar pano úmido na parte interna e externa	Pano amarelo	Após cada coleta	Funcionário do Setor
Almoxarifado de produtos	Efetuar limpeza na estante e carrinho para carregamento com pano	Pano roxo	Semanalmente	Funcionário do Setor
Moagem e encapsulamento	Efetuar a limpeza geral, na bancada, chão e equipamentos	Panos rosa, roxo e branco, baldes laranja e roxo, detergente neutro e hipoclorito	Após cada moagem e encapsulamento	Funcionário do Setor

	2.2 Bancadas	Acúmulo de pó, sujidades e improvisos							
	2.3 Equipamentos de análise	Acúmulo de pó, sujidades, abertos e improvisos							
	2.4 Outros								
3. Produção, encapsulamento e moagem	3.1 Portas, paredes e janelas	Acúmulo de pó, sujidades, abertas e improvisos							
	3.2 Bancadas	Acúmulo de pó, sujidades e improvisos							
	3.3 Estufa de ar forçado	Acúmulo de pó e bandejas limpas							
	3.4 Moinho	Acúmulo de pó e sujidades							

	3.5 Encapsuladora	Acúmulo de pó, vazamentos e improvisos							
	3.6 Outros								
4. Almojarifados de produtos e máquinas	4.1 Portas, paredes e janelas	Acúmulo de pó, sujidades, abertas e improvisos							
	4.2 Produtos, embalagens e insumos	Fora do local correto de armazenamento e sem identificação							
	4.3 Estantes e carrinho	Sujos, quebrados e mal organizados							
	4.4 Outros								
5. Estufa	5.1 Portas, janelas, tela, plástico e piso	Acúmulo de pó, sujidades, abertas e improvisos							

	5.2 Fotobiorreatores e termômetros	Bordas encardidas e sujidades							
	5.3 Mangueiras e fios	Resíduo de microalga e sujidades							
	5.4 Caixa elétrica, motores, peneiras e saídas de esgoto	Acúmulo de pó, sujidades e improvisos							
	5.5 Outros								
6. Vestuário e sanitários	6.1 Portas, paredes e janelas	Acúmulo de pó, sujidades, abertas e improvisos							
	6.2 Pias	Acúmulo de pó, vazamentos e improvisos							
	6.3 Vasos sanitários	Acúmulo de pó e sujidades							

	6.4 Saboneteira e porta papel	Acúmulo de pó e desabastecidos							
	6.5 Armários	Limpos, improvisos e comidas							
	6.6 Outros								
7. Controle de pragas e resíduos	7.1 Sinais de infestação	Interno: presença de insetos, roedores e pássaros							
		Externo: presença ou vestígios de pássaros e animais domésticos							
		Presença de larvas de insetos, urina ou fezes de roedores e pássaros							
		Presença de resíduos							

	7.2 Porta-iscas	Mexidos, danificados e fora do lugar							
	7.3 Outros								
8. Conduta dos colaboradores	8.1 Higiene dos colaboradores	Com unhas sujas, não aparadas, com ferimentos e fungos							
	8.2 Com sinais de infecções ou resfriados	Em contato direto/indireto com alimentos. Tossindo e/ou espirrando sobre os alimentos							
	8.3 Uniforme, calçados, máscara e toucas	Incompletos, sujos e não adequados							
	8.4 Barba e bigode	Barba e bigode não aparados							
	8.5 Adornos	Na área de produção com: pulseiras, brincos, relógios, anéis, alianças,							

		correntes e outros							
	8.6 Outros								
9. Utensílios de limpeza	9.1 Detergentes	Não identificados e guardados fora de local específico							
	9.2 Vassouras, rodo e outros	Danificados e guardados fora de local específico							
	9.3 Outros								
10. Cozinha	10.1 Portas, paredes e pia	Acúmulo de pó, sujidades e improvisos							
	10.2 Mesa, balcão e micro-ondas	Acúmulo de pó, sujidades e improvisos							

	11.3 Outros								
11. Área externa	11.1 Vegetação	Não aparada							
	11.2 Telas	Furadas e com improvisos							
	11.3 Outros								
12. Outros	12.1 Portas e portões	Abertos, mal fechados e com sujidades							
	12.2 Lixeiras	Em mau estado de conservação e limpeza, sem sacos internos e com resíduos misturados							
	12.3 Lâmpadas	Presença de sujidades e sem proteção							

	12.4 Outros								
Resultado									
Monitorado por:				Verificado por:				Data:	

Observação: C corresponde a conforme e NC a não conforme.

POP 02 CONTROLE DE POTABILIDADE DE ÁGUA

OBJETIVO

Garantir que a água utilizada na indústria é proveniente de fonte segura, potável, atendendo aos padrões vigentes ficando adequadamente armazenada e que os reservatórios são higienizados na frequência correta.

DOCUMENTO DE REFERÊNCIA

Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde: "Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade".

Instrução de Trabalho: IT ÁGUA 01 - Tratamento e controle da potabilidade da água

CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se a todos os setores da empresa.

DEFINIÇÕES

Água potável: água para consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde.

Check-list: lista de verificação contendo os requisitos que devem ser verificados na auditoria que tem como objetivo padronizar a auditoria.

Higienização: procedimentos de limpeza e sanificação.

Limpeza: remoção de sujidades (terra, resíduos de alimentos, pó ou outros materiais indesejáveis) de uma superfície.

RESPONSABILIDADES

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos neste POP.

Empresa contratada (1): analisar a potabilidade da água.

Empresa contratada (2): higienizar os reservatórios de água.

PROCEDIMENTOS

A empresa utiliza como fonte de abastecimento água de um poço artesiano que recebe tratamento específico, conforme IT ÁGUA 01.

EXECUTANTE DA IT ÁGUA 01

Funcionários da empresa.

EPP'S DA IT ÁGUA 01

- Luvas de borracha;
- Óculos de proteção.

FREQUÊNCIA DAS OPERAÇÕES DA IT ÁGUA 01

- Tratamento da água: conforme necessidade
- Análises de cloro livre: diária

PROCEDIMENTO DA IT ÁGUA 01

- Ligar a bomba d'água do poço artesiano no painel de controle que se encontra dentro da estufa;
- Abrir os registros referentes às caixas d'água;
- Bombear a água para a caixa d'água 1;
- Passar a água para a caixa d'água 2;
- Tratar a água que se encontra na caixa d'água 2 com 16,68 mL de hipoclorito 12 % a cada 1.000 L de água (correspondendo a 2 ppm de cloro livre);
- Deixar a água circulando dentro da caixa coberta com telas para que o cloro evapore;
- Verificar o cloro livre e registrar na ÁGUA PL 01, quando atingir 0,5 ppm de cloro livre liberar a água para uso e conforme necessidade passar para a caixa d'água 3.

ITENS DE MONITORIZAÇÃO

- Análises de coliformes totais, *Escherichia coli*, pH, turbidez, cor verdadeira e cloro residual livre são realizadas mensalmente de acordo os padrões da Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde.
- Controle do teor de cloro: é realizado diariamente com kit de determinação de cloro residual livre e clorímetro para detecção de cloro livre, residual e total.

A empresa possui 3 reservatórios de água, que estão descritos no Quadro 7.

Quadro 7 - Reservatórios de água da Olson Nutrição

Nº	Local	Material	Capacidade	Proveniente
1	Setor de tratamento d'água	Fibra	10.000 L	Poço artesiano
2	Setor de tratamento d'água	Fibra	10.000 L	Poço artesiano
3	Setor de tratamento d'água	Fibra	3.000 L	Poço artesiano

Os reservatórios estão livres de vazamentos e infiltrações, com tampas em boas condições. A manutenção na bomba do poço é realizada pelo setor da elétrica. A higienização dos reservatórios é realizada a cada 6 meses por uma empresa terceirizada devidamente habilitada. O procedimento adotado está descrito nos documentos fornecidos pela mesma.

MONITORIZAÇÃO

Quadro 8 - Monitorização do POP 02

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Potabilidade da água	Análises Físico-Químicas Preenchimento da ÁGUA PL 01	Diário	Laboratorista
Manutenção dos reservatórios	Observação visual Preenchimento da ÁGUA PL 02	Trimestral	Equipe de Manutenção
Higienização dos reservatórios	Observação visual da documentação entregue pela terceirizada	Semestral	Membro da equipe BPF
	Observação visual da higienização	Trimestral	Equipe de Manutenção

AÇÃO CORRETIVA

Providenciar reparos no reservatório.

Trocar o reservatório.

Em caso de falta de água, parar a produção até o restabelecimento do abastecimento.

Realizar nova higienização.

Trocar a empresa prestadora de serviços.

VERIFICAÇÃO

Quadro 9 - Verificação do POP 02

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Potabilidade da água	Coleta de amostras para análises físico-químicas e microbiológicas	Mensal	Laboratorista
Potabilidade da água	Análises físico-químicas e microbiológicas	Mensal	Laboratório terceirizado
Supervisão dos laudos de potabilidade	Observação visual e rubrica	Mensal	Membro da equipe BPF
Supervisão dos documentos entregues pela empresa terceirizada responsável pela higienização dos reservatórios	Observação visual	Semestral	Membro da equipe BPF
Supervisão da ÁGUA PL 01	Observação visual e rubrica	Mensal	Membro da equipe BPF
Supervisão da ÁGUA PL 02	Observação visual e rubrica	Trimestral	Membro da equipe BPF
Supervisão dos registros de treinamentos	Observação visual e rubrica	Quando ocorrer o treinamento	Coordenadora da equipe BPF

REGISTROS

Quadro 10 - Registros do POP 02

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Documentos entregues pela empresa terceirizada responsável pela higienização dos reservatórios	Pastas suspensas do arquivo de controle	12 meses	Coleta pública
Laudos de potabilidade	Pastas suspensas do arquivo de controle	12 meses	Coleta pública
Fichas técnicas e laudos de produtos químicos	Pastas suspensas do arquivo de controle	Enquanto estiver em uso	Coleta pública
ÁGUA PL 01, ÁGUA PL 02	Pastas suspensas do arquivo de controle	12 meses	Coleta pública
Registro de treinamentos	Pastas suspensas do arquivo de controle	12 meses	Coleta pública

	CONTROLE DIÁRIO DE CLORO NA ÁGUA	Cód.: ÁGUA PL 01
		Revisão: 00
		Página 1 de 1

DATA	HORA	QUANTIDADE DE ÁGUA				HIPOCLORITO 12 % (mL)	OBSERVAÇÃO	RESPONSÁVEL
		CAIXA 1 (L)	LEITURA (ppm)	CAIXA 2 (L)	LEITURA (ppm)			

Verificado por:	Data: ___/___/___
-----------------	-------------------

OBS: 16,68 mL de Hipoclorito 12 % equivale para 1.000 L de água que corresponde a 2 ppm de cloro livre nas caixas

	CONTROLE LIMPEZA E DESINFECÇÃO BACTERIOLÓGICA DA CAIXA D'ÁGUA	Cód.: ÁGUA PL 02
		Revisão: 00
		Página 1 de 1

DATA	HORA	CAIXAS D'ÁGUA			PRODUTO	OBSERVAÇÃO	RESPONSÁVEL
		CAIXA 1	CAIXA 2	CAIXA 3			

Verificado por: _____	Data: ____/____/____
-----------------------	----------------------

POP 03 HIGIENE E SAÚDE DOS MANIPULADORES

OBJETIVO

Atender aos requisitos de BPF relativos às condições de saúde, conduta, higiene pessoal e programa de capacitação técnica, incluindo as regras a serem seguidas pelos visitantes e à manutenção das instalações para a lavagem de mãos e serviços sanitários.

DOCUMENTO DE REFERÊNCIA

NR 6 – Equipamento de Proteção Individual – EPI

Secretaria de Segurança e Saúde do Trabalho – SSST – Legislação em Segurança e Saúde do trabalho – Lei nº 6514 de 22/12/1977.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se aos visitantes e todos colaboradores da empresa (almoxarifado de insumos, produção, secagem e envase, laboratório de análise, almoxarifado de produtos, estação de tratamento d'água, sanitários, vestiários, refeitórios, escritório e áreas próximas à empresa).

DEFINIÇÕES

EPI: Equipamentos de Proteção Individual.

Detergente antisséptico: produto de natureza química utilizado para reduzir a carga microbiana para níveis aceitáveis e eliminar os micro-organismos patogênicos.

RESPONSABILIDADES

Colaboradores e visitantes: cumprir os requisitos de controle das condições de saúde, conduta e higiene pessoal descritos neste documento.

Controle de qualidade: realizar auditorias de BPF na unidade para monitorar as condições operacionais e higiênico-sanitárias.

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos nesta seção do manual.

PROCEDIMENTOS

SAÚDE DOS COLABORADORES

O controle do estado de saúde dos colaboradores é realizado pela Unimed, sendo realizados exames admissionais, demissionais e anuais para controle. Quando ocorrem cortes superficiais é utilizada a caixa de primeiros socorros, localizada em gaveta no laboratório. Caso o corte seja profundo o colaborador é encaminhado para o Hospital de Pronto Socorro de Camaquã.

CONDUTA E HIGIENE DOS COLABORADORES

Instruções gerais

Os manipuladores são instruídos a estarem sempre com boa higiene pessoal, uniformizados e com calçados adequados e em perfeito estado de limpeza, com cabelos totalmente cobertos, devidamente barbeados, com unhas aparadas, limpas e sem esmalte ou base, sem maquiagem, com as mãos higienizadas antes de manipular com a microalga.

Os manipuladores são conscientizados a evitar atitudes anti-higiênicas como, falar desnecessariamente, cantar, assobiar, tossir, espirrar, cuspir, levar a mão à boca, ao nariz e às orelhas, mexer no cabelo ou pentear-se, manipular dinheiro, fumar em locais não permitidos, utilizar cremes ou qualquer substância que exale perfume, mascar balas, chicletes, palitos ou semelhantes nas áreas de produção e distribuição, provar a biomassa, secar o suor com as mãos, panos ou qualquer peça do uniforme, circular sem uniforme nas áreas de produção, armazenar alimentos no interior das áreas de produção e nos vestiários, sentar no chão quando uniformizado, utilizar qualquer objeto de adorno (pulseiras, fitas, anéis, colares, brincos, alianças, relógios e similares), depositar roupas e objetos pessoais nas áreas de manipulação da microalga.

Uniformes

Jaleco branco, calça branca, sapatos brancos, touca descartável, máscara descartável e luvas descartáveis.

PROCEDIMENTO DE HIGIENIZAÇÃO DOS UNIFORMES

A empresa não dispõe de lavanderia, mas orienta os funcionários a lavar o uniforme separadamente para evitar contaminação com outras roupas, lavar com detergente neutro adicionando álcool, deixar de molho, enxaguar, retirar excesso de água e secar.

PROCEDIMENTO DE HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS E ANTEBRAÇOS

Os manipuladores são conscientizados a higienizarem as mãos sempre que chegarem ao trabalho, utilizarem os sanitários, tossirem, espirrarem ou assoarem o nariz, utilizarem lenço, fumarem durante os intervalos, completarem qualquer tarefa onde as mãos tornaram-se contaminadas (após trabalharem com produtos diferentes, após trocas de áreas de trabalho, após utilizarem esfregões, panos ou materiais de limpeza, recolherem lixos e outros resíduos, tocarem em caixas, garrafas e sapatos, tocarem em alimentos não higienizados ou crus, tocarem em dinheiro e outras), houver a interrupção da atividade, iniciarem uma nova atividade, colocarem luvas e todas as vezes que houver necessidade.

Princípio ativo do sabonete líquido antisséptico: agente bactericida IRGASAN DP 300. Número de registro 1094/2005.

Os colaboradores são instruídos a lavar as mãos de acordo com as seguintes etapas:

- Umedecer as mãos e antebraços com água;
- Lavar com detergente antisséptico, massagear as mãos e antebraços por 20 segundos;
- Enxaguar bem as mãos e antebraços;
- Secar as mãos com papel toalha descartável não reciclado;
- Colocar o papel na lixeira.

COLOCAÇÃO E MANUTENÇÃO DE CARTAZES EDUCATIVOS

Cartazes educativos relativos à “Como Higienizar as Mãos” são colocados e mantidos nos sanitários.

Os cartazes relativos à conduta e higiene pessoal são colocados e mantidos nos vestiários, área de produção, laboratório, entrada da estufa e escritório.

MANUTENÇÃO DE INSTALAÇÕES, PRODUTOS E UTENSÍLIOS PARA HIGIENE PESSOAL

A empresa dispõe de instalações adequadas, como vestiários e sanitários. Todas as saboneteiras dos sanitários e instalações são mantidas com detergente líquido antisséptico registrado no Ministério da Saúde. Os porta-toalhas de papel e de papel higiênico são abastecidos por meio de reposições diárias ou quando necessário. Todas as instalações sanitárias (vasos, pias, chuveiros) estão funcionando. Os coletores de resíduos possuem

tampa, acionamento por pedal e são higienizados e abastecidos diariamente com sacos plásticos.

TREINAMENTO DOS FUNCIONÁRIOS

Os colaboradores recebem treinamento relativo à higiene pessoal e manipulação dos alimentos na admissão. Um programa de capacitação garante a continuidade destes treinamentos, os quais são registrados na Planilha de Registro de Treinamentos.

VISITANTES

Os visitantes (colaboradores administrativos, prestadores de serviços terceirizados, auditores e outros) são instruídos a seguir os mesmos requisitos de higiene que os manipuladores.

MONITORIZAÇÃO

Quadro 11 - Monitorização do POP 03

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Saúde, conduta e higiene dos manipuladores	Observação visual Preenchimento do check-list BPF	Diário Mensal	Controle de Qualidade
Manutenção de instalações e produtos para higiene pessoal	Observação visual Preenchimento do check-list BPF	Diário Mensal	Controle de Qualidade
Colocação e manutenção cartazes educativos	Observação visual Preenchimento do check-list BPF	Diário Mensal	Controle de Qualidade

AÇÕES CORRETIVAS

CONTROLE DAS CONDIÇÕES DE SAÚDE DOS MANIPULADORES

- Encaminhar para avaliação médica;
- Dispensar ou direcionar o(s) manipulador(es) com a saúde comprometida para atividades que não demandem contato direto e/ou indireto com a microalga;
- Encaminhar para exames clínicos os manipuladores que não atendem aos requisitos estabelecidos;
- Proteger ferimento;

- Reforçar treinamentos.

CONDUTA E HIGIENE PESSOAL DOS MANIPULADORES

- Avaliar procedimento de higienização das mãos;
- Trocar uniforme sujo e/ou rasgado imediatamente.

Corrigir não conformidades detectadas na monitorização através de:

- Tomada de ações imediatas para correção de problemas pontuais sobre a conduta e higiene pessoal, ou;
 - Inserção no plano de ação, para correção programada e restauração das condições sanitárias, e/ou;
 - Investigação da sua causa, para adoção de novas ações preventivas;
 - Reforçar treinamentos.

MANUTENÇÃO DE INSTALAÇÕES, PRODUTOS E UTENSÍLIOS PARA HIGIENE PESSOAL

- Repor produtos (detergente antisséptico, papel toalha e papel higiênico);
- Solicitar manutenção (saboneteiras, torneiras, válvulas de descarga e pedais das lixeiras);
- Corrigir problemas relacionados às não conformidades detectadas nos check-lists.

COLOCAÇÃO E MANUTENÇÃO DE CARTAZES EDUCATIVOS

- Fixar cartazes em pontos estratégicos;
- Repor os cartazes danificados ou ilegíveis.

VERIFICAÇÃO**Quadro 12 - Verificação do POP 03**

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Especificações técnicas dos produtos de higienização	Observação visual	A cada compra	Auxiliar de produção
Supervisão do check-list BPF	Observação visual e rubrica	Mensal	Coordenadora equipe BPF
Supervisão dos registros de treinamentos	Observação visual e rubrica	A cada treinamento	Coordenadora equipe BPF
Eficiência da higienização (mãos)	Coleta por Swab para análise microbiológica	Anual	Laboratório contratado
Supervisão dos laudos	Observação visual e rubrica	Anual	Coordenadora equipe BPF

REGISTROS**Quadro 13 - Registros do POP 3**

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Exames médicos	Setor de Recursos Humanos	30 anos	Coleta pública
Atestados Médicos	Setor de Recursos Humanos	30 anos	Coleta pública
Check-list BPF	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de treinamentos	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Cópias de certificados e ou atestados de treinamento	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Especificações técnicas dos produtos de higienização	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Laudos de análises microbiológicas	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública

POP 04 MANEJO DE RESÍDUOS

OBJETIVO

Retirada dos resíduos do processamento da microalga, além da separação desses resíduos.

DOCUMENTO DE REFERÊNCIA

Resolução - RDC 275, de 21 de outubro de 2002 - (Republicada no D. O. U de 06/11/2002): “Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se a todos os setores da empresa

DEFINIÇÕES

Resíduos: materiais a serem descartados, oriundos da área de produção e das demais áreas do estabelecimento.

RESPONSABILIDADES

Todos os colaboradores são responsáveis por aplicar os requisitos de higiene descritos neste procedimento.

PROCEDIMENTOS

RESÍDUOS SÓLIDOS INORGÂNICOS

Consistem em papéis toalhas usados e embalagens de insumos, reagentes e produtos de limpeza. Estes são recolhidos, separados e enviados para a coleta pública seletiva.

RESÍDUOS SÓLIDOS ORGÂNICOS

Consistem em produtos da microalga que caíram diretamente no chão e resíduos dos sanitários. A microalga é recolhida, separada em recipientes identificados e enviados para

consumo de peixes. O lixo orgânico proveniente dos sanitários é recolhido, separado e enviado para a coleta pública.

RESÍDUOS LÍQUIDOS

As águas residuais dos setores de produção são escoadas por meio de ralos e são encaminhadas para açudes conforme solicitação da Licença de Operação (LO) da Fepam.

COLOCAÇÃO E MANUTENÇÃO DE LIXEIRAS E RECIPIENTES PARA COLETA DE RESÍDUOS

Colocação de lixeiras previamente identificadas nas entradas e em pontos estratégicos para a coleta dos resíduos.

DISPONIBILIDADES DOS RECIPIENTES PARA A COLETA

Os recipientes para a coleta de resíduos possuem tampa, acionamento por pedal e são higienizados e abastecidos diariamente ou quantas vezes forem necessárias com sacos plásticos.

MONITORIZAÇÃO

Quadro 14 - Monitorização do POP 04

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Limpeza das lixeiras e correto armazenamento dos resíduos	Preenchimento do Check-list BPF	Mensal	Controle de Qualidade

AÇÃO CORRETIVA

VERIFICAÇÃO E MANUTENÇÃO DE LIXEIRAS

- Verificar se as lixeiras estão em condições de uso e devidamente equipadas com sacos plásticos;
- Verificar se o lixo está sendo recolhido diariamente;
- Verificar se a limpeza é realizada corretamente.

MANUTENÇÃO DAS LIXEIRAS

- Solicitação de manutenção das lixeiras quando necessário;

- Correção de problemas relacionados às não conformidades detectadas na avaliação das condições relacionadas aos resíduos sólidos.

VERIFICAÇÃO

Quadro 15 - Verificação do POP 04

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Supervisão do check-list BPF	Observação visual e rubrica	Mensal	Coordenadora equipe BPF

REGISTROS

Quadro 16 - Registros do POP 04

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Check-list BPF	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de treinamentos	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública

POP 05 MANUTENÇÃO PREVENTIVA E CALIBRAÇÃO DE EQUIPAMENTOS

OBJETIVO

Tem como objetivo descrever os procedimentos adotados para atender os requisitos básicos de manutenção preventiva e calibração de equipamentos garantindo assim a correta higienização, prevenção de defeitos, a rastreabilidade das medições e a confiança nos resultados medidos.

DOCUMENTO DE REFERÊNCIA

Resolução - RDC 275, de 21 de outubro de 2002 - (Republicada no D. O. U de 06/11/2002): “Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se aos equipamentos de todos os setores da empresa que precisam de manutenção e ou calibração.

DEFINIÇÕES

Manutenção preventiva: é a monitoração de um equipamento para que ele não apresente erro ou quebre.

Calibração: é a comparação entre os valores indicados por um instrumento de medição e os indicados por um padrão (equipamento de classe superior).

RESPONSABILIDADES

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos neste POP.

Colaboradores: aplicar em todos os equipamentos os requisitos de manutenção e calibração descritos neste procedimento.

PROCEDIMENTOS

A manutenção preventiva e calibração devem ser realizadas em todos os equipamentos que necessitam deste procedimento e de acordo com as instruções de trabalho de cada setor. Dicas básicas para utilização dos equipamentos:

- Balanças: verificar se estão niveladas antes da utilização;
- Clorímetro: já vem calibrado de fábrica, caso necessite calibração utilizar cubeta padrão (2,2 ppm de cloro);
- Espectrofotômetro: ligar 30 min antes da utilização e após calibrar com a cubeta com água destilada;
- pHmetro: utilizar as soluções padrão de pH 7 e 10 em temperatura ambiente para calibração.

MONITORIZAÇÃO

Quadro 17 - Monitorização do POP 05

O que?	Como?	Quando?	Quem?
A limpeza e higienização das instalações	Preenchimento das planilhas de registro	Mensal	Controle de Qualidade
Os produtos e utensílios de limpeza	Verificar os utensílios e produtos	Mensal	Controle de Qualidade
Limpeza das lixeiras e correto armazenamento dos resíduos	Preenchimento do checklist BPF	Mensal	Controle de Qualidade
Acompanhar calibração dos equipamentos	Preenchimento das planilhas de registro	Anual	Controle de Qualidade

AÇÃO CORRETIVA

VERIFICAÇÕES DA LIMPEZA E HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES

- Verificar se a limpeza foi realizada de maneira correta em todas as instalações;
- Verificar se os produtos e utensílios de limpeza estão sendo utilizados de maneira correta;
- Orientar aos funcionários responsáveis a correta limpeza e higienização.

VERIFICAÇÃO E MANUTENÇÃO DE LIXEIRAS

- Verificar se as lixeiras estão em condições de uso e devidamente equipadas com sacos plásticos;

- Verificar se o lixo esta sendo recolhido diariamente;
- Verificar se a limpeza é realizada corretamente.

MANUTENÇÃO DAS LIXEIRAS

- Solicitação de manutenção das lixeiras quando necessário.
- Correção de problemas relacionados às não conformidades detectadas na avaliação das condições relacionadas aos resíduos sólidos.

CALIBRAÇÃO DE EQUIPAMENTOS

Solicitação de assistência técnica dos equipamentos quando necessário.

VERIFICAÇÃO

Quadro 18 - Verificação do POP 05

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Supervisão do check-list BPF	Observação visual e rubrica	Mensal	Coordenadora equipe BPF

REGISTROS

Quadro 19 - Registros do POP 05

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Check-list BPF	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de limpeza	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de treinamento	Pastas do escritório	24 meses	Coleta pública
Registro de assistência técnica	Pastas do escritório	5 anos	Coleta pública

POP 06 CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS

OBJETIVO

Este POP objetiva descrever os procedimentos adotados pela Olson Nutrição para atender aos requisitos de BPF relativos ao controle integrado de pragas.

DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

Programa de controle de pragas da empresa contratada.

Resolução - RDC 275, de 21 de outubro de 2002 - (Republicada no D. O. U de 06/11/2002): “Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se a todas as áreas externas e internas da empresa.

DEFINIÇÕES

Controle Integrado de Pragas: sistema que incorpora ações preventivas e corretivas destinadas a impedir a atração, o abrigo, o acesso e ou proliferação de vetores e pragas que comprometam a segurança e qualidade do alimento.

Isclas: objetos em que são colocados produtos específicos para atraírem insetos, roedores ou outras pragas.

Desinfestação: ação localizada sobre uma determinada quantidade de matéria-prima, produto em processo ou produto acabado ou ainda sobre instalações a fim de prevenir ou eliminar insetos e pragas.

Desinsetização: aplicação de produtos químicos capazes de eliminar os insetos já infestantes na área alvo.

Desratização: processo de combate aos roedores através de um conjunto de métodos físicos e químicos.

Pragas: todo agente animal ou vegetal que possa ocasionar danos materiais ou contaminações com riscos à segurança e qualidade.

RESPONSABILIDADES

Controle de qualidade: realizar auditorias de BPF na unidade para monitorar as condições operacionais e higiênico-sanitárias.

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos nesta seção do manual.

Empresas contratadas: cumprir os requisitos de controle integrado de pragas descrito neste documento, fornecer as fichas técnicas dos produtos utilizados, documentação de responsabilidade técnica/execução de serviços e comprovantes de credenciamento nos órgãos competentes.

Funcionário responsável pelo controle de pragas na empresa: preencher planilha de ocorrência de pragas, acompanhar e monitorar a execução dos procedimentos realizados pelas contratadas, monitorar os procedimentos de controle não terceirizado.

DESCRIÇÃO

CONTROLE DE INSTALAÇÕES EXTERNAS E INTERNAS E EQUIPAMENTOS PARA EVITAR A ENTRADA DE INSETOS E ROEDORES

A área externa da empresa é toda cercada, evitando assim a entrada de animais domésticos, a mesma também é limpa e a grama aparada. Os ralos na área externa e sanitários têm aberturas que não possibilitam a entrada de pragas. As portas dos locais de produção, sanitários e vestiários, são mantidas fechadas evitando a entrada de roedores, pássaros e insetos e os portões da estufa não apresentam abertura na parte inferior. Quanto à alimentação, não é permitido alimentar-se na área de produção, somente no refeitório.

MANEJO DE RESÍDUOS SÓLIDOS INORGÂNICOS

Consistem em papéis toalhas usados e embalagens de insumos, reagentes e produtos de limpeza. Estes são recolhidos, separados e enviados para a coleta pública seletiva.

MANEJO DE RESÍDUOS SÓLIDOS ORGÂNICOS

Consistem em produtos da microalga que caíram diretamente no chão e resíduos dos sanitários. A microalga é recolhida, separada em recipientes identificados e enviados para consumo de peixes. O lixo orgânico proveniente dos sanitários é recolhido, separado e enviado para a coleta pública.

MANEJO DE RESÍDUOS LÍQUIDOS

As águas residuais dos setores de produção são escoadas através de ralos e são encaminhadas para açudes conforme solicitação da LO da Fepam.

CONTROLE RELACIONADO À EMPRESA CONTRATADA

Os controles de roedores, baratas, moscas e insetos são realizados por empresa contratada (Real Expurgo e Desinsetização Ltda.), devidamente registrada no órgão competente, tendo responsáveis técnicos com registro no conselho de classe. Os documentos apresentados pela empresa são: certificado de aplicação e garantia, vistoria de vetores, controle de desratização, evolução dos roedores, incidência de roedores, programa de desratização e desinsetização.

CONTROLE DE ROEDORES

A periodicidade das visitas de inspeção/aplicações para o controle de roedores é mensal. Primeiramente o técnico responsável realiza uma inspeção, logo após é realizado mapeamento do local a ser tratado e posteriormente são colocadas e/ou substituídas as iscas com raticidas (na forma de saches ou blocos parafinados) na parte externa.

CONTROLE DE INSETOS (DESINSETIZAÇÃO)

A periodicidade das visitas/aplicações para os procedimentos de desinsetização é mensal ou conforme a necessidade, para o controle de baratas, moscas e cascudos. O método utilizado é o Manejo Integrado que propõem o emprego simultâneo de diferentes técnicas, tais como: pulverização, polvilhamento, atomização, termonebulização e iscagem. Nas aplicações realizadas na área industrial são tomadas algumas medidas de segurança: equipamentos com matéria-prima são lacrados para evitar contato com inseticida aplicado, durante a intervenção química as pessoas são instruídas a não permanecer nos setores e a reentrada só pode ocorrer após 3 h, com aeração do ambiente de no mínimo 30 min.

MONITORIZAÇÃO**Quadro 20 - Monitorização do POP 06**

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Controle das instalações externas e internas	Observação visual Preenchimento dos check-lists BPF/setor	Diário Mensal	Controle de Qualidade
Controles dos resíduos	Observação visual Preenchimento dos check-lists BPF/setor	Diário Mensal	Controle de Qualidade
Presença e/ou vestígios de pragas	Observação visual Preenchimento da PRAG PL 01-02 – 03 - 05	Diário A cada ocorrência	Controle de Qualidade
Controles relacionados às empresas contratadas	Observação visual da documentação fornecida pelas empresas Preenchimento da PRAG PL 04	A cada visita ou mensal	Controle de Qualidade

AÇÕES CORRETIVAS

Corrigir não conformidades detectadas na monitorização através de:

- Tomada de ações imediatas para correção de problemas pontuais sobre o controle de pragas, ou;
- Inserção no plano de ação, para correção programada e restauração das condições sanitárias, e/ou;
- Investigação da sua causa, para adoção de novas ações preventivas;
- Solicitar à equipe de manutenção a instalação ou conserto de portas, telas e frestas;
- Contatar a empresa contratada quando for evidenciada a presença de pragas;
- Aumentar frequência de retirada de resíduos;
- Discutir as falhas com a empresa contratada;
- Trocar de empresa;
- Reforçar treinamentos.

VERIFICAÇÃO

Quadro 21 - Verificação do POP 06


O que?	Como?	Quando?	Quem?
Comprovação do credenciamento das empresas contratadas	Observação visual	No ato da contratação	Coordenadora equipe BPF
Especificações técnicas dos produtos	Observação visual	Na definição do produto a ser utilizado	Controle de Qualidade
Relatório das monitorizações/controles das empresas contratadas	Observação visual	Na frequência estabelecida para emissão do relatório	Componente equipe BPF
Supervisão dos check-lists BPF	Observação visual e rubrica	Mensal	Coordenadora equipe BPF
Supervisão dos registros de treinamentos	Observação visual e rubrica	Quando ocorrer o treinamento	Coordenadora equipe BPF
Supervisão da PRAG PL 01, 02, 03, 04 e 05	Observação visual e rubrica	Mensal	Coordenadora equipe BPF

REGISTROS

Quadro 22 - Registros do POP 06

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Relatórios das atividades da empresa contratada e demais documentos (mapas, ordem de serviço e outros)	Pastas suspensas no arquivo de controle	12 meses	Coleta pública
Programa de Desinsetização e Desratização das empresas contratadas e especificação técnica dos produtos	Pastas suspensas no arquivo de controle	12 meses	Coleta pública
Check-lists BPF	Pastas suspensas no arquivo de controle/arquivo eletrônico	12 meses	Coleta pública/arquivo eletrônico
Planilhas de ocorrência de pragas	Arquivo de controle	12 meses	Coleta pública
Registros de treinamentos	Arquivo de controle	3 anos	Coleta pública
Cópias de certificados e ou atestados de treinamento	Arquivo de controle	3 anos	Coleta pública

Planilhas de ocorrência de pragas na área interna, externa e produção:


	OCORRÊNCIA DE PRAGAS	Cód.: PRAG PL 01, 02 e 03
		Revisão: 00
		Página 1 de 1

Mês/ano: _____

Dia	Roedores	Traças	Baratas	Moscas	Pássaros	Besouros	Insetos em geral
1							
2							
3							
4							
5							
...							
27							
28							
29							
30							
31							

Procedimentos: marcar o número de insetos/ratos/pássaros ou seus vestígios (fezes, pêlos, ninhos, teias,...) visualizados/encontrados, referentes a cada dia do mês.

Observações:

	PRAGAS – PENEIRA DOS FOTOBIOREATORES E FILTROS	Cód.: PRAG PL 05
---	---	-------------------------

Mês/ano: _____

Dia	FILTROS	PENEIRA Ti	PENEIRA T1	PENEIRA T2	PENEIRA T3	PENEIRA T4	RESPONSÁVEL
1							
2							
3							
4							
5							
...							
27							
28							
29							
30							
31							

POP 07 CONTROLE DO RECEBIMENTO DE NUTRIENTES, FRASCOS, CÁPSULAS, RÓTULOS E EMBALAGENS

OBJETIVO

Este POP objetiva descrever os procedimentos adotados pela Olson Nutrição para atender aos requisitos de BPF relativos ao recebimento de nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens.

DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

Resolução - RDC 275, de 21 de outubro de 2002 - (Republicada no D. O. U de 06/11/2002): “Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Setor de recebimento de nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens.

RESPONSABILIDADES

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos nesta seção do manual.

Colaboradores: responsáveis por receber e conferir nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens.

DESCRIÇÃO

No momento em que os nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens chegam na empresa devem ser verificados a data de validade, lote, quantidade, tipo e nota fiscal. Produtos vencidos ou com prazo de validade próximo a vencer não devem ser recebidos. O material não deve ser recebido se a embalagem estiver suja, rasgada ou apresentar outros danos que possam afetar sua qualidade. Todo o material deve ser higienizado externamente com álcool 70 % antes de ser colocado dentro da empresa.

Os produtos de limpeza devem ser armazenados no setor da limpeza. Nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens novos devem ser armazenados nas estantes

especificadas para tal, colocando-as embaixo ou atrás das que estiverem em uso. Da mesma maneira, materiais com prazo de validade maior devem ser armazenados embaixo ou atrás dos de prazo menor.

MONITORIZAÇÃO

Quadro 23 - Monitorização do POP 07

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Receber e conferir nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens	Observação visual	Chegada de novos materiais	Membro da equipe BPF

AÇÕES CORRETIVAS

Informar o fornecedor caso algum dos itens citados acima encontra-se fora do padrão de recebimento da Olson Nutrição para fazer a troca. Nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens reprovados no controle efetuado na recepção são devolvidos imediatamente ou identificados e armazenados em local separado.

VERIFICAÇÃO

Quadro 24 - Verificação do POP 07

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Conferir ficha técnica e laudo	Observação visual	Chegada de nutrientes, frascos, cápsulas, rótulos e embalagens	Coordenadora equipe BPF

REGISTROS

Quadro 25 - Registros do POP 07

Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Fichas técnicas e laudos	Pastas suspensas do arquivo de controle	Enquanto estiver em uso	Coleta pública

POP 08 CONTROLE DE RASTREABILIDADE DOS PRODUTOS

OBJETIVO

Este POP objetiva descrever os procedimentos adotados pela Olson Nutrição para atender aos requisitos de BPF relativos a rastreabilidade dos produtos.

DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

Resolução - RDC 275, de 21 de outubro de 2002 - (Republicada no D. O. U de 06/11/2002): “Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

Resolução - RDC 24, de 08 de junho de 2015 (Publicada no D. O. U de 09/06/2015): “Critérios e procedimentos para o recolhimento de alimentos, inclusive *in natura*, bebidas e águas envasadas, ingredientes alimentares, matérias-primas alimentares, aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia de fabricação, embalagens e outros materiais em contato com alimentos e para a comunicação à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e aos consumidores.

CAMPO DE APLICAÇÃO

Setor de Controle da Qualidade.

DEFINIÇÕES

Consumidor: toda pessoa física ou jurídica que adquire ou utiliza produto ou serviço como destinatário final.

Lote de produto: conjunto de produtos de um mesmo tipo, processados pelo mesmo fabricante ou fracionador, em um tempo determinado, sob condições essencialmente iguais.

Produto: refere-se a alimentos, inclusive *in natura*, bebidas e águas envasadas, ingredientes alimentares, matérias-primas alimentares, aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia de fabricação, embalagens e outros materiais em contato com alimentos, para consumo humano.

Rastreabilidade: conjunto de procedimentos que permitem detectar a origem e acompanhar a movimentação de um produto ao longo das etapas da cadeia produtiva, mediante dados e registros de informações.

Recolhimento: ação a ser adotada pela empresa interessada e demais empresas da cadeia produtiva, que visa à imediata e eficiente retirada de lote(s) de produto(s) do mercado de consumo.

Risco: probabilidade de ocorrência de um efeito adverso à saúde e da gravidade de tal efeito, como consequência de um perigo ou mais perigos nos alimentos.

RESPONSABILIDADES

Equipe BPF: implementar e acompanhar o cumprimento dos requisitos descritos nesta seção do manual.

Controle de qualidade: realizar auditorias de BPF na unidade para monitorar a rastreabilidade dos produtos.

DESCRIÇÃO

Acompanhar telefones e e-mails quanto aos elogios e reclamações dos clientes. Após identificado o lote de produto não conforme, a equipe de Controle de Qualidade é acionada, a primeira ação é realizar a sistemática de rastreamento, até localizar o alcance total do produto não conforme e, dessa forma, a empresa solicita imediatamente o recolhimento dos produtos.

A empresa também envia e-mail para recolhimento.alimentos@anvisa.gov.br comunicando a identificação da não conformidade e preenche imediatamente o Anexo I da RDC 24. Até 48 h após a comunicação sobre a não conformidade à ANVISA, a empresa preenche o Anexo II da RDC 24 e o envia à ANVISA.

A empresa providenciará a veiculação de mensagem de alerta aos consumidores acerca do recolhimento de produtos. O conteúdo informativo da mensagem de alerta aos consumidores será submetido à anuência prévia da ANVISA conforme Anexo I desta Resolução, por via eletrônica ao endereço recolhimento.alimentos@anvisa.gov.br, imediatamente após a ciência da necessidade de recolhimento do produto.

Os produtos não conformes serão recebidos na empresa e separados em área específica e identificada como “Produtos não conformes recolhidos”. Posteriormente, a

microalga é recolhida, separada em recipientes identificados e enviados para consumo de peixes.

MONITORIZAÇÃO

Quadro 26 - Monitorização do POP 08

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Acompanhar elogios e reclamações dos clientes	Através de ligações telefônicas e e-mails	Diariamente	Controle de Qualidade

AÇÕES CORRETIVAS

Quando identificado algum problema na rastreabilidade de um produto, o mesmo será separado até que o problema seja resolvido e o registro deste fato é mantido. Quando identificado algum problema na realização do recolhimento, o fato será registrado, sua causa identificada e as providências necessárias serão tomadas pela coordenadora do programa de BPF para que o problema não se repita e os registros do tratamento do problema também serão mantidos.

VERIFICAÇÃO

Quadro 27 - Verificação do POP 08

O que?	Como?	Quando?	Quem?
Registro das ações corretivas	Observação visual	Quando houver	Controle de Qualidade

REGISTROS

Quadro 28 - Registros do POP 08

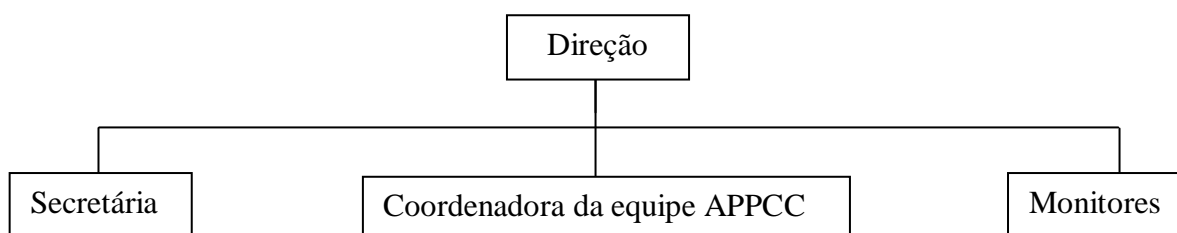
Identificação	Armazenamento	Tempo de retenção	Disposição
Planilha rastreabilidade	Pastas suspensas do arquivo de controle e computador	10 anos	Coleta pública

5.5.13 Formação da equipe de APPCC

Quadro 30 - Equipe de APPCC

Nome	Cargo na empresa	Função na equipe APPCC	Atribuições
Adriana Olson	Proprietária	Direção	Substituir a coordenadora na sua ausência e apoiar os trabalhos de APPCC
Maristela Ortiz	Gerente de produção	Secretária	Digitar documentos, imprimir planilhas de controle e distribuí-las aos monitores, organizar os documentos da qualidade, registrando planilhas e relatórios
Lívia Uebel	Responsável técnica	Coordenadora da equipe APPCC	Coordenar e organizar os trabalhos de APPCC, assegurar treinamento para a equipe de APPCC, garantir a implementação, manutenção e atualização de APPCC
Eliane Centeno	Auxiliar de produção/limpeza	Monitora	Registrar as planilhas de controle do setor e prezar pela higiene geral
Luiz Flávio Medeiros	Auxiliar de serviços gerais	Monitor	Registrar as planilhas de controle do setor e prezar pela higiene geral

Figura 10 - Organograma da Olson Nutrição



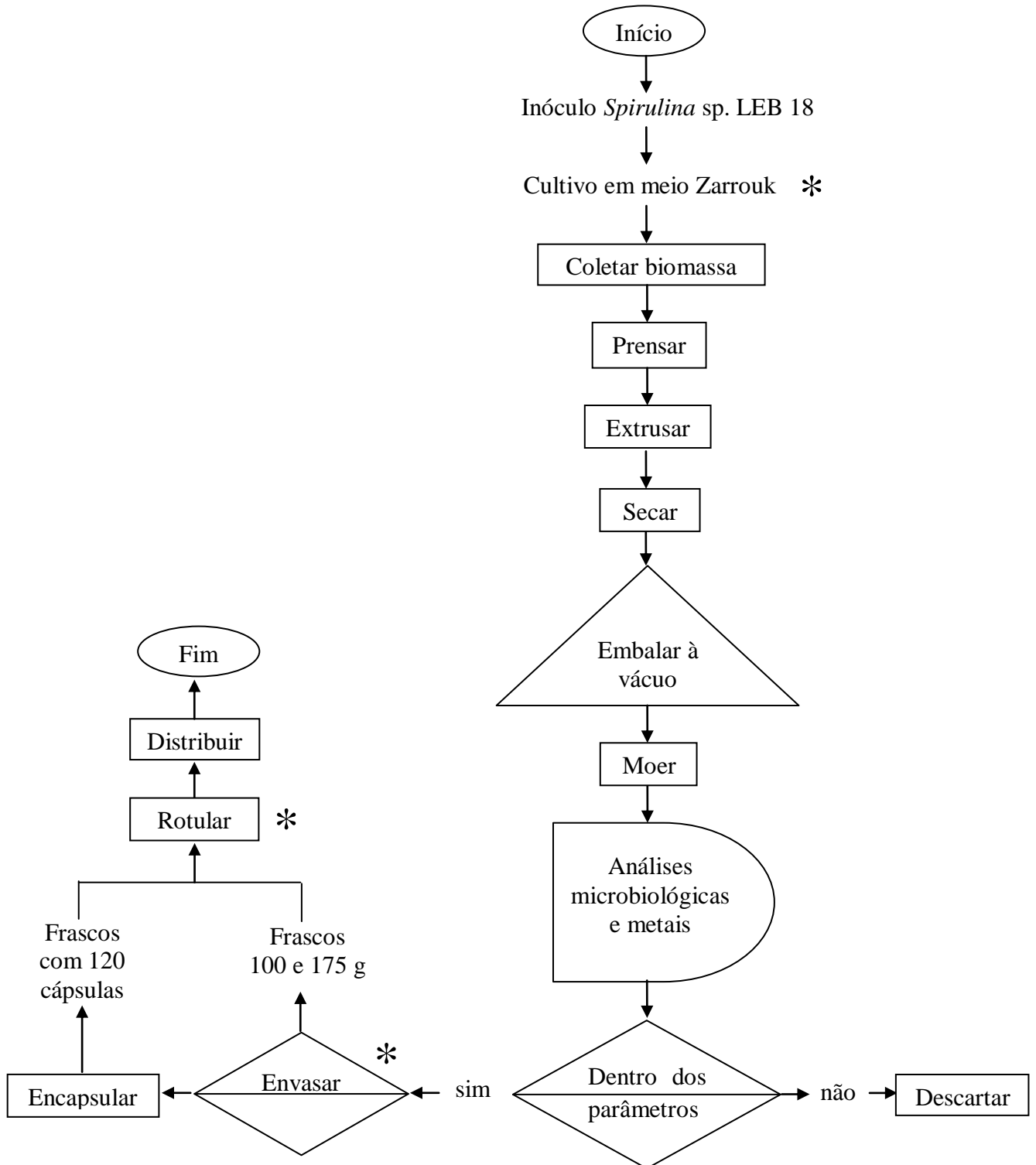
5.5.14 Descrição dos produtos

Quadro 31 - Descrição dos produtos

Denominação	<i>Spirulina</i> em cápsulas	<i>Spirulina</i> em pó (100 g)	<i>Spirulina</i> em pó (175 g)
Ingredientes	Cápsula vegetal e <i>Spirulina</i> pura	<i>Spirulina</i> pura	<i>Spirulina</i> pura
Características do produto	<p>Valor energético (3 cápsulas de 500 mg): 4 Kcal = 18 KJ Carboidratos = 0,4 g Proteínas = 0,9 g Gorduras totais = 0,1 g Gorduras saturadas = 0 g Fibra alimentar = 0 g Sódio = 16 mg Não contém glúten</p>	<p>Valor energético (porção de 1,5 g): 4 Kcal = 18 KJ Carboidratos = 0,4 g Proteínas = 0,9 g Gorduras totais = 0,1 g Gorduras saturadas = 0 g Fibra alimentar = 0 g Sódio = 16 mg Não contém glúten</p>	
Embalagem	Frascos de plástico e caixa de papelão	Frascos de plástico e caixa de papelão	
Condições de armazenagem	25 °C		
Condições de transporte	Temperatura ambiente		
Prazo de validade	2 anos (a contar da data de moagem), consumir em 30 dias após aberto e conservar em local refrigerado		
Local de venda	Loja virtual (www.olson.com.br)		
Recomendações	<p>Não existem evidências científicas comprovadas que este alimento previna, trate ou cure doenças. Consumir preferencialmente sob orientação de médico ou nutricionista. Este produto não é indicado para gestantes, nutrízes, crianças de 0 a 3 anos e por fenilcetonúricos. Este produto consumido acima da dose recomendada pode trazer riscos à saúde. Conservar ao abrigo da luz e da umidade. Após aberto, conservar preferencialmente refrigerado e consumir no máximo em 30 dias</p>		
Rotulagem	<p>Consumir sob orientação de médico ou nutricionista. Este produto não é indicado para gestantes, nutrízes e crianças. O consumo deste produto deve ser acompanhado da ingestão de água</p>		
Condições de utilização	Pronto para consumo. Ingerir com água, até 3 cápsulas ao dia, antes das principais refeições	Pronto para consumo. Adicionar a outros alimentos ou sucos	
<p>Descrição de benefícios: 60 a 75 % de proteína de alta absorção, incluindo todos os aminoácidos essenciais. Complemento dietético, proteico e vitamínico. Rico em vitaminas (B12, B1, B5, B2, B3, B6, E, B8 ou H) minerais, clorofila e substâncias nutracêuticas. Excelente fonte antioxidante, como betacaroteno, clorofila, zeaxantina, ficocianina e vitamina C. Fonte de ω 3 e 6, ácido fólico e substâncias para um sistema imunológico e qualidade de vida saudável.</p>			

5.5.15 Fluxograma

Figura 11 - Fluxograma do processo produtivo da Olson Nutrição



* Ponto crítico de controle (PCC)

5.5.16 Definição dos pontos críticos de controle

Quadro 32 - Definição dos pontos críticos de controle

Etapas do Processo	Perigos Significativos (biológicos, químicos ou físicos)	Existem medidas preventivas ao perigo?	Esta etapa elimina ou reduz o perigo a níveis aceitáveis?	O perigo pode aumentar a níveis inaceitáveis?	Uma etapa subsequente eliminará ou reduzirá o perigo a níveis aceitáveis?	PCC
Cultivo em meio Zarrouk	<u>Físico:</u> fragmentos de materiais <u>Biológico:</u> micro-organismos (presentes em boca e mãos dos colaboradores) <u>Químico:</u> contaminação por metais na água	Sim	Sim	-	-	PCC1
Envase	<u>Físico:</u> fragmentos de materiais <u>Biológico:</u> micro-organismos (presentes em boca e mãos dos colaboradores) <u>Químico:</u> não tem	Sim	Sim	-	-	PCC2
Rotulagem	<u>Físico:</u> não tem <u>Biológico:</u> crescimento de patogênicos devido a armazenamento inadequado resultante de erro de rotulagem <u>Químico:</u> não tem	Sim	Sim	-	-	PCC3

5.5.17 Plano de APPCC

Quadro 33 - Plano de APPCC

Etapa	PCC	Perigo	Medidas preventivas	Limite crítico	Monitorização	Ações corretivas	Registro	Verificação
Cultivo em meio Zarrouk	PCC1	<p><u>Químico:</u> contaminação por metais na água</p> <p>Risco: médio</p> <p>Severidade: alta</p>	Utilização de filtros e acompanhamento da presença de metais na biomassa	<p>Arsênio: <1 ppm</p> <p>Cádmio: <1 ppm</p> <p>Chumbo: <0,8 ppm</p> <p>Mercurio: <0,01 ppm</p>	<p>O que? Monitorar a presença de metais na biomassa.</p> <p>Como? Enviar amostra de biomassa moída para laboratório externo.</p> <p>Quando? A cada 6 meses.</p> <p>Quem? Responsável técnica.</p>	<p>Trocar o filtro de água</p> <p>Responsável: monitor</p>	<p>Pasta suspensa do arquivo de controle</p>	<p>O que? Monitorar a presença de metais na biomassa.</p> <p>Como? Enviar novamente amostra de biomassa moída para laboratório externo.</p> <p>Quando? Após a troca do filtro.</p> <p>Quem? Responsável técnica.</p>
Envase	PCC2	<p><u>Biológico:</u> micro-organismos (presentes em boca e mãos dos colaboradores)</p> <p>Risco: baixo</p> <p>Severidade: alta</p>	Utilização de máscara e luvas	<p>Ausência de crescimento de bolores e leveduras, coliformes, <i>Pseudomonas</i>, <i>Salmonella</i> e <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva</p>	<p>O que? Manter o controle microbiológico.</p> <p>Como? Utilizar máscara e luvas.</p> <p>Quando? Durante o envase da biomassa.</p> <p>Quem? Todos os colaboradores.</p>	<p>Descarte da biomassa após a chegada do laudo laboratorial, antes do envase</p> <p>Responsável: Responsável Técnica</p>	<p>Pasta suspensa do arquivo de controle</p>	<p>O que? Monitorar o controle microbiológico.</p> <p>Como? Enviar amostras de biomassa para laboratório externo.</p> <p>Quando? A cada novo lote.</p> <p>Quem? Responsável técnica.</p>
Rotulagem	PCC3	<p><u>Biológico:</u> crescimento de patogênicos devido a armazenamento inadequado resultante de erro de rotulagem</p> <p>Risco: baixo</p> <p>Severidade: alta</p>	Observação visual quanto à marcação do carimbo de número do lote e prazo de validade	<p>Número do lote e prazo de validade corretos</p>	<p>O que? Monitorar marcação do lote e prazo de validade.</p> <p>Como? Observação visual.</p> <p>Quando? Durante o envase.</p> <p>Quem? Responsável técnica.</p>	<p>Trocar rótulo com marcação errada</p> <p>Responsável: Responsável técnica</p>	<p>Registro de Coleta, Extrusão, Secagem, Moagem e Envase</p>	<p>O que? Monitorar marcação do lote e prazo de validade.</p> <p>Como? Observação visual.</p> <p>Quando? Durante o envase.</p> <p>Quem? Responsável técnica.</p>

6 SUGESTÕES PARA A PLANTA INDUSTRIAL

- Adotar alternativas como o uso de aquecedores ou coberturas para manter as temperaturas (ambiente e meio de cultivo) mais elevadas durante o inverno e, conseqüentemente, aumentar a velocidade específica de crescimento da microalga neste período do ano;

- Monitorar diariamente o aumento da temperatura do cultivo no verão e adicionar água nos fotobiorreatores quando a temperatura do cultivo for superior a 37 °C;

- Reduzir a fonte de fósforo em 25 e 50 % do meio de cultivo Zarrouk em periodicidade de adição mensal para reduzir custos de produção.

7 CONCLUSÃO

O acompanhamento do cultivo anual da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 em fotobiorreator tipo *raceway* de planta industrial, sob condições não controladas, possibilitou a obtenção da concentração de biomassa máxima de 1,64 g/L, em 37 d, com pH 11,1, luminosidade de 24,2 klux e temperatura do cultivo entre 27,2 e 35,5 °C. A velocidade específica máxima de crescimento (0,133 1/d), o tempo mínimo de geração (5,2 d) e a produtividade máxima (14,9 g/m².d) foram obtidos nos primeiros 9 d de crescimento da microalga. A caracterização da biomassa gerada no cultivo da Olson Nutrição demonstrou que essa possui alta qualidade para aplicação como produto, encapsulado ou em pó, na saúde e no desenvolvimento humano, seguindo normas de BPF e a APPCC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-DHABI, N. A. Heavy metal analysis in commercial *Spirulina* products for human consumption. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20, n. 4, p. 383-388, 2013.
- ALMEIDA, C. R. O Sistema HACCP como instrumento para garantir a inocuidade dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 12, n. 53, p. 12-20, 2005.
- ALONSO, D. L.; MAROTO, F. G. Plants as “chemical factories” for the production of polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 6, p. 481-97, 2000.
- AMARO, H. M.; GUEDES, A. C.; MALCATA, F. X. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3402-3410, 2011.
- AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina* spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 109-117, 2008.
- ANDERSEN, R. A. **Algal culturing techniques**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. **Aquaculture**, v. 264, n. 1-4, p. 130-134, 2007.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 16. ed. Arlington, 1995.
- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15635**: Serviços de alimentação - Requisitos de boas práticas higiênico-sanitárias e controles operacionais essenciais. Rio de Janeiro: ABNT, 2015.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- BECKER, E. W. Microalgae in human and animal nutrition, In: RICHMOND, A. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Wiley-Blackwell, p. 312-351, 2004.
- BELKIN, S.; BOUSSIBA, S. High internal pH conveys ammonium resistance in *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 38, n. 2-3, p. 167-169, 1991.
- BENNETT, A.; BOGORAD, L. Complimentary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, n. 2, v. 58, p. 419-435, 1973.

BINAGHI, L.; BORGHI, A. D.; LODI, A.; CONVERTI, A.; BORGHI, M. D. Batch and fed-batch uptake of carbon dioxide by *Spirulina platensis*. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 9, p. 1341-1346, 2003.

BOARATTI, M. F. G. **Análise de perigos e pontos críticos de controle para alimentos irradiados no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, v. 70, n. 1-3, p. 313-321, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos - Lista dos Novos Ingredientes aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2009. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm>. Acesso em: 25 de set. 2015, 11:50:18.

BRASIL. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 abr. 1965. Seção 1, p. 3838.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 275, de 21 de outubro de 2002. Regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 out. 2003.

BROUWER, I. A.; WANDERS, A. J.; KATAN, M. B. Effect of animal and industrial trans fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans – A quantitative review. **PLoS One**, v. 5, n. 3, p. 1-9, 2010.

BUCY, H. B.; BAUMGARDNER, M. E.; MARCHESE, A. J. Chemical and physical properties of algal methyl ester biodiesel containing varying levels of methyl eicosapentaenoate and methyl docosahexaenoate. **Algal Research**, v. 1, n. 1, p. 57-69, 2012.

CAMPBELL, W. R. **Isoleucine: one of the essential amino acids, is needed for hemoglobin formation and also stabilizes and regulates blood sugar and energy levels**. Disponível em: <<https://blissreturned.wordpress.com/2012/03/23/isoleucine-one-of-the-essential-amino-acids-is-needed-for-hemoglobin-formation-and-also-stabilizes-and-regulates-blood-sugar-and-energy-levels/>>. Acesso em: 06 de mar. 2017, 11:08:06.

CANTRELL, A.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G.; RANCAN F.; BÖHM, F. Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 412, n. 1, p. 47-54, 2003.

CARDIAS, B. B.; MORAES, L.; ROSA, G. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Produção de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 com diferentes difusores para injeção de CO₂. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3, p. 1-4, 2013.

CARMOUZE, J. P. **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1994.

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

CARVALHO, L. F. **Produção de biossurfactantes e nanoemulsões a partir da microalga *Spirulina***. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.

CESARI, D. L.; NASCIMENTO, E. R. **Análise de perigos e pontos críticos de controle**. 2. ed. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1995.

CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; LOHA, V.; BUNNAG, B. Lipid and fatty acids extraction from the cyanobacterium *Spirulina*. **ScienceAsia**, v. 34, p. 299-305, 2008.

CHOJNACKA, K.; NOWORYTA, A. Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, n. 34, n. 5, p. 461-465, 2004.

CODEX ALIMENTARIUS. **Hazard analysis critical control point (HACCP) system and guidelines for its application**. Rome: FAO, 1997.

COELHO, P. **Cisteína - aminoácido**. 2014. Disponível em: <<http://www.engquimicasantosp.com.br/2014/07/cisteina-aminoacido.html>>. Acesso em: 06 de mar. 2017, 10:44:28.

COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 59, n. 1-2, p. 55-59, 2004.

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

COLLA, L. M.; RUIZ, W. A.; COSTA, J. A. V. Metabolismo de carbono e nitrogênio na microalga *Spirulina platensis*. **Vetor (FURG)**, v. 12, p. 48-61, 2002.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 3, p. 237-241, 2004.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F.; KABKE, K.; WEBER, A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 7, p. 603-607, 2002.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. *Spirulina platensis* growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, n. 1-2, p. 76-80, 2003.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgae, products and applications. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

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

DUFOSSÉ, L.; GALAUP, P.; YARON, A.; ARAD, S. M.; BLANC, P.; MURTHY, K. N. C.; RAVISHANKAR, G. A. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, n. 9, p. 389-406, 2005.

DZUMAN, M. J. **Efeito da reciclagem repetida do meio de cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. para a produção de biodiesel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

FAGUNDES, L. A. **Ômega-3 & ômega-6: o equilíbrio dos ácidos gordurosos essenciais na prevenção de doenças**. Porto Alegre: Fundação de Radioterapia do Rio Grande do Sul, 2002. 111 p.

FAO/WHO - Food and Agricultural Organization/World Health Organization. **Protein quality evaluation**. Roma: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1991. 66 p.

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

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.

FOX, R. D. **Spirulina Production & Potencial**. Aix-en-Provence: Edisud, 1996.

GIOVANARDI, M.; BALDISSEROTTO, C.; DAGLIA, M.; FERRONI, L.; SABIA, A.; PANCALDI, S. Morpho-physiological aspects of *Scenedesmus acutus* PVUW12 cultivated with a dairy industry waste and after starvation. **Plant Biosystems**, v. 150, n. 4, p. 767-775, 2014.

GITELSON, A.; QIUANG, H.; RICHMOND, A. Photic volume in photobioreactors supporting ultrahigh population densities of the photoautotroph *Spirulina platensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1570-1573, 1996.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; MAHDY, A.; BALLESTEROS, I.; BALLESTEROS, M. Impact of temperature and photoperiod on anaerobic biodegradability of microalgae grown in urban wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 106, p. 16-23, 2016.

GRIMA, E. M.; SEVILLA, J. M. F.; PÉREZ, J. A. S.; CAMACHO, F. G. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. **Journal of Biotechnology**, v. 45, p. 59-69, 1996.

GROBBELAAR, J. U. Photosynthetic characteristics of *Spirulina platensis* grown in commercial-scale open outdoor raceway ponds: what do the organisms tell us? **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 5, p. 591-598, 2007.

GROBBELAAR, J. U. Photosynthetic response and acclimation of microalgae to light fluctuations. In: SUBBA-RAO, D.V. (Ed.). **Algal Cultures Analogues of Blooms and Applications**. Enfield: Science Publishers, p. 671-683, 2006.

HABIB, M. A. B.; PARVIN, M.; HUNTINGTON, T. C.; HASAN, M. R. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals. **FAO Fisheries and Aquaculture Circular**, n. 1034, 2008.

HARUN, R.; MANJINDER, S.; GARETH, M. F.; MICHAEL, K. D. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 3, p. 1037-1047, 2010.

HIRAYAMA, S.; UEDA, R.; SUGATA, K. Evaluation of active oxygen effect on photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. **Free Radical Research**, v. 25, n. 3, p. 247-257, 1996.

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 17. ed. Maryland: AOAC international, 2000.

JIBRIL, S. M.; JAKADA, B. H.; UMAR, H. Y.; AHMAD, T. A. Importance of some algal species as a source of food and supplement. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 5, p. 186-193, 2016.

JIMÉNEZ, C.; COSSÍO, B. R.; LABELLA, D.; NIELL, F. X. The feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain. **Aquaculture**, v. 217, n. 1-4, p. 179-190, 2003.

JOURDAN, J. **Grow your own Spirulina**. 2001. Disponível em: <http://www.antenna.ch/en/documents/Jourdan_UK.pdf>. Acesso em: 11 de dez. 2015, 14:30:53.

JUNEJA, A.; CEBALLOS, R. M.; MURTHY, G. S. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review. **Energies**, v. 6, n. 9, p. 4607-4638, 2013.

KIM, S. K. **Handbook of Marine Microalgae**. 1. ed. London: Academic Press, 2015.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; LANGENHOVE, V. H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 7, p. 371-380, 2010.

KUMAR, M.; KULSHRESHTHA, J.; SINGH, G. P. Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 1128-1135, 2011.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LORENZ, R. T.; CYSEWSKI, G. R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends in Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 160-167, 2000.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

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.

MADKOUR, F. F.; KAMIL, A. E.; NASR, H. S. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 38, n. 1, p. 51-57, 2012.

MARKOU, G. Effect of various colors of Light-Emitting Diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 172, n. 5, p. 2758-2768, 2014.

MARKOU, G.; CHATZIPAVLIDIS, I.; GEORGAKAKIS, D. Effects of phosphorus concentration and light intensity on the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 8, p. 2661-2670, 2012.

MARKOU, G.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3389-3401, 2011.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

MATSUDO, M. C.; BEZERRA, R. P.; SATO, S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J. C. M. Repeated fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina platensis)* using urea as nitrogen source. **Biochemical Engineering Journal**, v. 43, n. 1, p. 52-57, 2009.

METCALFE, L. D.; SCHIMTZ, A. A.; PELKE, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 514-515, 1966.

MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. M.; KALIL, S. J. C-phycoecyanin extraction process for large-scale use. **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, p. 133-148, 2010.

MORAES, C. C.; SALA, L.; CERVEIRA, G. P.; KALIL, S. J. C-phycoecyanin extraction from *Spirulina platensis* wet biomass. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 1, p. 45-49, 2011.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 129, n. 3, p. 439-445, 2007.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Bioprocessos para remoção de dióxido de carbono e óxido de nitrogênio por microalgas visando à utilização de gases gerados durante a combustão do carvão. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, 2008a.

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, 2008b.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V.; MIRANDA, M. Z. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: características físico-química, sensorial e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 333-340, 2006.

MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; ANDRADE, M. R.; TEIXEIRA, G. G.; BRUSCH, L. R.; COSTA, J. A. V. Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, v. 294, n. 1-2, p. 60-64, 2009.

MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCATON, F.; DURANE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 63, n. 1-2, p. 144-150, 2008.

MORAIS, M. G.; STILLINGS, C.; DERSCH, R.; RUDISILE, M.; PRANKE, P.; COSTA, J. A. V.; WENDORFF, J. Preparation of nanofibers containing the microalga *Spirulina* (*Arthrospira*). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 8, p. 2872-2876, 2010.

MOREIRA, J. B.; TERRA, A. L. M.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Utilization of CO₂ in semi-continuous cultivation of *Spirulina* sp. and *Chlorella fusca* and evaluation of biomass composition. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 33, n. 3, p. 691-698, 2016.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. **Water Research**, v. 40, n. 15, p. 2799-2815, 2006.

OLIVEIRA, E. G.; ROSA, G. S.; MORAES, M. A.; PINTO, L. A. A. Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 3, p. 1297-1303, 2009.

PANDEY, A.; LEE, D. J.; CHISTI, Y.; SOCCOL, C. R. **Biofuels from algae**. 4. ed. San Diego: Elsevier, 2014.

PANDEY, J. P.; TIWARI, A. Optimization of Biomass Production of *Spirulina maxima*. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 1, n. 2, p. 20-32, 2010.

PARRY NUTRACEUTICALS. **Notice do US Food and Drug Administration that the use of certified organic *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) is generally recognized safe**. AIBMR Life Sciences, Inc. 23 jan. 2012.

PELIZER, L. H.; DANESI, E. D. G.; RANGEL, C. O.; SASSANO, C. E. N.; CARVALHO, J. C. M.; SATO, S.; MORAES, I. O. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, n. 4, p. 371-375, 2003.

PINHEIRO, R. W.; FONTES, D. O.; SILVA, F. C. O.; SCOTTÁ, B. A.; VASCONCELOS, C. H. F.; SILVA, M. A.; VIDAL, T. Z. B.; SOUZA, L. P. O. Níveis de treonina em dietas para leitões (6 a 16 kg) submetidos a diferentes graus de ativação do sistema imune. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 659-669, 2014.

POWELL, N.; SHILTON, A. N.; PRATT, S.; CHISTI, Y. Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 16, p. 5958-5962, 2008.

PRATES, D. F.; BARCIA, M. T.; FANKA, L. S.; RADMANN, E. M.; BALLUS, C. A.; GODOY, H. T.; COSTA, J. A. V. Atividade antioxidante de ficocianina extraída de *Spirulina* cultivada com LEDs. In: Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia, 5., 2015, Londrina, **Anais...** São Paulo: Blucher Proceedings, 2015. p. 259-262.

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of microalgae - a review. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 3, n. 4, p. 89-100, 2012.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 6, p. 635-648, 2004.

RADMANN, E. M.; HENRARD, A. A.; ROSA, A. P. C.; ANDRADE, M. R.; MORAIS, M. G.; ZÍLIO, R. L.; COSTA, J. A. V. **Cultivo de microalgas para a biofixação de CO₂ e obtenção de biocombustíveis**. In: Congresso Nacional do Carvão Mineral, Gramado, 2011.

RASTOGI, R. P.; SINHA, R. P. Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 4, p. 521-539, 2009.

REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 1, p. 23-28, 2006.

RIBEIRO-FURTINI, L. L.; ABREU, L. R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Wiley-Blackwell, 2007.

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

ROSA, A. P. C. **Produção da microalga *Spirulina* (*Arthrospira*) em cultivo semicontínuo e diferentes concentrações de nutrientes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

SALES-CAMPOS, H.; SOUZA, P. R.; PEGHINI, B. C.; SILVA, J. S.; CARDOSO, C. R. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 201-210, 2013.

SAPUTRA, J. S. E.; AGUSTINI, T. W.; DEWI, E. N. Biomass utilization of *Spirulina platensis* powder in the manufacture of lozenges. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**, v. 17, n. 3, p. 281-291, 2014.

SASSANO, C. E. N.; GIOIELLI, L. A.; ALMEIDA, K. A.; SATO, S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J. C. M. Cultivation of *Spirulina platensis* by continuous process using ammonium chloride as nitrogen source. **Biomass and Bioenergy**, v. 31, n. 8, p. 593-598, 2007.

SCHMATZ, D. A.; UEBEL, L. S.; KUNTZLER, S. G.; DORA, C. L.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Scaffolds containing *Spirulina* sp. LEB 18 biomass: development, characterization and evaluation of *in vitro* biodegradation. **Journal Nanoscience and Nanotechnology**, v. 16, n. 1, p. 1050-1059, 2016.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**, v. 2. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2001.

SILVA, C. K. **Produção biotecnológica de biopolímeros aplicando processo cíclico de reutilização de resíduo da extração de poli-hidroxibutirato (PHB)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2016.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

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

SOBCZUK, T. M.; CAMACHO F. G., RUBIO, F. C., FERNÁNDEZ, F. G. A.; GRIMA, E. M. Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 67, n. 4, p. 465-475, 2000.

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

STEWART, D. E.; FARMER, F. H. Extraction, identification and quantitation of phycobiliproteins pigments from phototrophic plankton. **Limnology and Oceanography**, v. 29, n. 2, p. 392-397, 1984.

STREIT, N. M. **Dinâmica de nitrogênio em cultivo heterotrófico a partir de cianobactéria sob o escopo de biorrefinarias agroindustriais**. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

TRAVIESO, L.; HALL, D. O.; RAO, K. K.; BENÍTEZ, F.; SÁNCHEZ, E; BORJA, R. A helical tubular photobioreactor producing *Spirulina* in a semicontinuous mode. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 47, n. 3, p. 151-155, 2001.

UMINO, Y.; SATOH, A.; SHIRAIWA, Y. Factors controlling induction of external carbonic anhydrase and charge in $K_{1/2}$ (CO_2) of photosynthesis in *C. vulgaris*. **Plant and Cell Physiology**, v. 32, p. 379-384, 1991.

USEPA - U. S. Environmental Protection Agency. **Sampling ambient water for trace metals at EPA water quality criteria levels**. Method 1669. Washington: U.S. EPA NCEPI, 1996.

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

VONSHAK, A.; ABELIOVICH, A.; BOUSSIBA, S.; ARAD, S.; RICHMOND, A.
Production of *Spirulina* biomass: effects of environmental factors and population density.
Biomass, v. 2, n. 3, p. 175-185, 1982.

VONSHAK, A.; RICHMOND, A. Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: An
overview. **Biomass**, v. 15, n. 4, p. 233-247, 1988.

ZARROUK, C. **Contribution a l'etude Dune Cyanophyce, influence de divers facteurs
physiques et chimiques sur la croissance et photosynthese de *Spirulina maxima* geitler.**
Ph.D. Thesis University of Paris, 1966.

ZEISEL, S. H. Regulation of "Nutraceuticals". **Science**, v. 285, n. 5435, p. 1853-1855, 1999.

ANEXO

Tabela A1 - Composição do meio de cultivo Zarrouk

Reagente	Quantidade (g/L)
NaHCO ₃	16,80
K ₂ HPO ₃	0,50
NaNO ₃	2,50
K ₂ SO ₄	1,00
NaCl	1,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,10
CaCl ₂	0,04
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
EDTA	0,09

As soluções A5 e B6 foram adicionadas na concentração de 0,1 mL por litro de meio para produção de biomassa.

Solução A5 (g/L): H₃BO₃ (2,86); MnCl₂.4H₂O (1,81); ZnSO₄.7H₂O (0,222); CuCO₄.5H₂O (0,079); MnO₃ (0,015)

Solução B6 (g/L): NH₄VO₃ (22,86); KCr(SO₄)₂.12H₂O (192,00); NiSO₄.6H₂O (44,80); Na₂WO₄.2H₂O (17,94); TiSO₄. H₂SO₄.8H₂O (61,10); CO(NO₃)₂.6H₂O (43,98)