

Universidade de Passo Fundo
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos

Letícia Moreira Mortari

Microencapsulação da microalga *Spirulina platensis* e
utilização no desenvolvimento de sorvete

Passo Fundo

2018

Letícia Moreira Mortari
Farmacêutica

Microencapsulação da microalga *Spirulina platensis* e
utilização no desenvolvimento de sorvete

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Colla
Linha de pesquisa: Qualidade e propriedades
funcionais de alimentos

Passo Fundo
2018

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

Microencapsulação da microalga *Spirulina platensis* e utilização no desenvolvimento
de sorvete

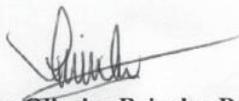
Elaborada por
Leticia Moreira Mortari

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos

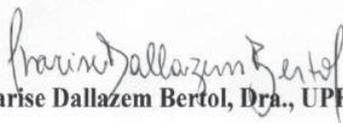
Comissão Examinadora



**Luciane Maria Colla, Dra., UPF
(Orientadora/Presidente)**



Christian Oliveira Reinehr, Dr., UPF



Charise Dallazem Bertol, Dra., UPF

**Passo Fundo, RS, Brasil
2018**

CIP – Catalogação na
Publicação

M887m Mortari, Letícia Moreira
Microencapsulação da microalga *Spirulina platensis* e
utilização no desenvolvimento de sorvete / Letícia Moreira
Mortari. – 2018.
132 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Colla.
Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2018.

1. Alimentos funcionais. 2. Alimentos – Avaliação
sensorial. 3. Spirulina - encapsulação. 4. Antioxidantes -
estabilidade. I. Colla, Luciane Maria, orientadora. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Pai, uma palavra define: gratidão! Me ensinou até o último segundo antes de partir. A vida me deu a oportunidade de retribuir todo o cuidado e o carinho que sempre recebi. Faria exatamente igual outra vez porque o amor é maior que tudo.

Mãe, minha maior incentivadora. Curiosa, sempre querendo entender e aprender tudo. Obrigada por todo o apoio e compreensão.

Aos meus pais, minhas bases, simplesmente por terem me feito existir, por tanto amor, por tudo o que sou, por terem me proporcionado educação e amor pelos estudos, por sempre me estimularem a continuar. Vejo vocês em mim o tempo todo e isso me deixa feliz!

À minha irmã Daiana, meu elo de ligação entre passado e futuro. Quantas coisas já passamos juntas! Tenha certeza do meu apoio, assim como tenho certeza do teu!

A todos aqueles que, de perto ou de longe, acompanharam essa caminhada e colaboraram de alguma maneira.

À minha orientadora Luciane, por todos os momentos de ensinamento e aprendizado. Os caminhos não se cruzam por acaso, adorei nossa parceria! Obrigada pela oportunidade e pela confiança.

Aos colegas do Mestrado que compartilharam comigo esses momentos de aprendizado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos que muito contribuíram para a nossa formação.

Aos funcionários do CEPA por toda a colaboração e disponibilidade.

*“Conheça todas as teorias,
domine todas as técnicas,
mas ao tocar uma alma humana,
seja apenas outra alma humana.”*

Carl Jung

RESUMO

A prevenção de diversas patologias através do uso de compostos antioxidantes está sendo cada vez mais procurada pelos indivíduos que têm interesse na promoção da saúde e do bem estar. O estresse oxidativo sabidamente aumenta a incidência de câncer e de outras doenças degenerativas. A *Spirulina platensis* é uma microalga conhecida com atividade funcional e potencial para contribuir com a melhoria da saúde de seus consumidores. Os antioxidantes presentes na microalga *Spirulina* podem sofrer alterações na sua estabilidade, de acordo com as condições de armazenamento. Quando adicionada a produtos alimentícios, também pode ter sua estabilidade diminuída em função das interações com os componentes dos alimentos. Os compostos antioxidantes precisam estar ativos e biodisponíveis quando ingeridos, havendo a necessidade de tecnologias que permitam a proteção dos antioxidantes naturais, visando aumento de sua estabilidade. A microencapsulação é uma das tecnologias capazes de proteger os antioxidantes de diferentes condições a que possam ser expostos e, além disso, mascarar sabor e odor desagradáveis, tornando o alimento mais atrativo para o consumidor. Objetivou-se avaliar se a microencapsulação da microalga *Spirulina* ocasiona aumento da estabilidade do potencial antioxidante das cápsulas a baixas temperaturas, e se a microencapsulação afeta a aceitabilidade de sorvetes adicionados da microalga. A *Spirulina* foi microencapsulada utilizando maltodextrina 20DE e goma arábica, separadamente, utilizando *spray-dryer*. Após a encapsulação, foi realizada a caracterização das microcápsulas e realizados testes de estabilidade do potencial antioxidante na *Spirulina* em pó e na *Spirulina* encapsulada em temperaturas de congelamento (-20°C), refrigeração (4°C) e ambiente (25°C). O potencial antioxidante do extrato aquoso da microalga em pó e encapsulada, extraído a partir de metodologias apropriadas para cada amostra, foi determinado pelo método de ABTS. Foi desenvolvido sorvete adicionado de *Spirulina* e de *Spirulina* microencapsulada. O sorvete foi caracterizado físico-quimicamente e submetido à avaliação sensorial de aceitabilidade e atributos sensoriais através da metodologia CATA. O processo de encapsulação da *Spirulina* foi realizado com sucesso, com elevadas eficiências de encapsulação em goma arábica (85%) e maltodextrina (89%), obtendo microcápsulas homogêneas, de tamanhos médios de 6,24 µm (maltodextrina) e 3,44 µm (goma arábica). A microencapsulação da *Spirulina* permite uma leve proteção do potencial antioxidante da microalga em temperaturas de 4°C a 25°C. Há uma perda de cerca de 70% do potencial antioxidante após 7 dias à temperatura ambiente para a *Spirulina* em pó, e de cerca de 66% e 70% dos pós encapsulados em goma arábica e maltodextrina, respectivamente. A proteção do potencial antioxidante se dá em armazenamento, tanto das microcápsulas, como da *Spirulina* em pó, somente em temperaturas de congelamento. O sorvete adicionado de *Spirulina* apresentou ganho no teor de proteínas em relação à formulação padrão, de 35%, 42% e 53% para as formulações de sorvete com *Spirulina* em maltodextrina, *Spirulina* em goma arábica e *Spirulina* pura, respectivamente. Todas as formulações de sorvete apresentaram índice de aceitabilidade de 70% e intenção de compra média de 76,5%. A realização do teste CATA permitiu concluir que o encapsulamento mascara o sabor de alga e aroma de alga, no entanto esse fato não leva a uma maior aceitabilidade das amostras onde a microalga foi encapsulada. A adição de *Spirulina* em sorvete pode ser realizada sem microencapsulação com ganho no teor proteico e sem prejuízo do potencial antioxidante e da aceitabilidade.

Palavras-chave: alimentos funcionais, propriedades sensoriais, saúde, estabilidade térmica

ABSTRACT

Prevention of various pathologies through the use of antioxidant compounds is increasingly being sought by individuals who are interested in promoting health and well-being. Oxidative stress is known to increase the incidence of cancer and other degenerative diseases. *Spirulina platensis* is a microalgae known to have functional activity and potential to contribute to improving the health of its consumers. The antioxidants present in *Spirulina* microalgae may undergo changes in their stability, according to storage conditions. When added to food products, it may also have decreased stability depending on interactions with food components. The antioxidant compounds need to be active and bioavailable when ingested, and there is a need for technologies that allow the protection of natural antioxidants, aiming to increase their stability. Microencapsulation is one of the technologies capable of protecting antioxidants from different conditions to which they can be exposed and, in addition, mask unpleasant taste and odor, making food more attractive to the consumer. The objective of this study was to evaluate whether the microencapsulation of *Spirulina* microalgae increases the stability of the antioxidant potential of the capsules at low temperatures, and whether microencapsulation affects the acceptability of added sorbets of the microalga. *Spirulina* was microencapsulated using 20DE maltodextrin and gum arabic, separately, using spray-dryer. After encapsulation, the characterization of the microcapsules was carried out and stability tests of the antioxidant potential in *Spirulina* powder and *Spirulina* encapsulated in freezing temperatures (-20°C), refrigeration (4°C) and ambient (25°C) were performed. The antioxidant potential of the aqueous extract of the powdered and encapsulated microalgae, extracted from appropriate methodologies for each sample, was determined by the ABTS method. *Spirulina* and *Spirulina* microencapsulated ice cream were developed in gum arabic and maltodextrin. The ice cream was characterized physicochemically and submitted to the sensorial evaluation of acceptability and sensorial attributes through CATA methodology. The *Spirulina* encapsulation process was successfully performed with high encapsulation efficiencies in gum arabic (85%) and maltodextrin (89%), obtaining homogeneous microcapsules with a mean size of 6.24 µm (maltodextrin) and 3.44 µm (gum arabic). The microencapsulation of *Spirulina* allows a slight protection of the antioxidant potential of the microalga at temperatures from 4°C to 25°C. There is a loss of about 70% of the antioxidant potential after 7 days at room temperature for *Spirulina* powder, and about 66% and 70% of the powders encapsulated in gum arabic and maltodextrin, respectively. The protection of the antioxidant potential occurs in storage of both microcapsules and *Spirulina* powder only in freezing temperatures. The added *Spirulina* ice cream showed a gain in protein content in relation to the standard formulation of 35%, 42% and 53% for the formulations of *Spirulina* ice cream in maltodextrin, *Spirulina* in gum arabic and pure *Spirulina*, respectively. All the ice cream formulations showed an acceptability index of 70% and an average purchase intention of 76.5%. The CATA test allowed to conclude that the encapsulation masks the taste of algae and algae aroma, however this fact does not lead to a greater acceptability of the samples where the microalga was encapsulated. The addition of *Spirulina* in ice cream can be performed without microencapsulation with gain in the protein content and without prejudice to the antioxidant potential and the acceptability.

Keywords: functional food, health, sensory properties, thermostability

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Microalga do gênero <i>Spirulina</i> vista no microscópio com aumento de 40X.....	18
Figura 2: Esquema representativo de um <i>spray dryer</i>	23
Figura 3: Etapas da metodologia desenvolvida no trabalho	30
Figura 4: Microcápsulas, encapsulantes e <i>Spirulina platensis</i>	46
Figura 5: <i>Spirulina</i> encapsulada com goma arábica, em aumento de 100X após agitador	47
Figura 6: <i>Spirulina</i> encapsulada com goma arábica, em aumento de 100X após Turrax	47
Figura 7: <i>Spirulina</i> encapsulada com maltodextrina, em aumento de 100X após agitador	47
Figura 8: <i>Spirulina</i> encapsulada com maltodextrina, em aumento de 100X após Turrax.....	47
Figura 9: Análise morfológica da <i>Spirulina platensis</i>	48
Figura 10: Análise morfológica da microcápsula de <i>Spirulina platensis</i> e goma arábica através do MEV, em aumento de 8000X	48
Figura 11: Análise morfológica da microcápsula de goma arábica através do MEV, em aumento de 8000X	48
Figura 12: Análise morfológica da microcápsula de <i>Spirulina platensis</i> e maltodextrina 20DE através do MEV, em aumento de 8000X.....	49
Figura 13: Análise morfológica da microcápsula de maltodextrina 20DE através do MEV, em aumento de 8000X	49
Figura 14: Resultados obtidos nos testes de extração do bioativo com potencial antioxidante para a <i>Spirulina</i> pura e microencapsulada em goma arábica e maltodextrina	51
Figura 15: Extração de ficocianina da <i>Spirulina</i> em pó e microencapsulada utilizando a técnica de ultrassom.....	52
Figura 16: Extração de ficocianina da <i>Spirulina</i> em pó e microencapsulada utilizando a técnica de ultrassom+vórtex	52
Figura 17: FTIR das cápsulas de <i>Spirulina</i> e goma arábica	56
Figura 18: FTIR das cápsulas de <i>Spirulina</i> e maltodextrina	56
Figura 19: FTIR das cápsulas de <i>Spirulina</i> e maltodextrina e <i>Spirulina</i> e goma arábica	56
Figura 20: Termograma de DSC das cápsulas de goma arábica	58
Figura 21: Termograma de DSC das cápsulas de maltodextrina 20DE	58
Figura 22: Termograma de DSC das cápsulas da <i>Spirulina</i> pura.....	59
Figura 23: Termograma de DSC da <i>Spirulina</i> microencapsulada com goma arábica.....	59
Figura 24: Termograma de DSC da <i>Spirulina</i> microencapsulada com maltodextrina 20 DE .	60
Figura 25: Análise termogravimétrica da <i>Spirulina</i>	61
Figura 26: Análise termogravimétrica da microcápsula de <i>Spirulina</i> e maltodextrina	61
Figura 27: Análise termogravimétrica da microcápsula de maltodextrina.....	62
Figura 28: Análise termogravimétrica da <i>Spirulina</i> e goma arábica.....	62
Figura 29: Análise termogravimétrica da goma arábica.....	63
Figura 30: Potencial antioxidante da <i>Spirulina</i> em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica, na temperatura de -20°C	65
Figura 31: Potencial antioxidante da <i>Spirulina</i> em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica na temperatura de 4°C	66
Figura 32: Potencial antioxidante da <i>Spirulina</i> em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica na temperatura de 25°C	67
Figura 33: Sorvetes produzidos: FP, FS, FSM, FSG.....	71
Figura 34: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete padrão (FP), em número de pessoas	74
Figura 35: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete contendo <i>Spirulina</i> microencapsulada com maltodextrina (FSM) , em número de pessoas.....	74

Figura 36: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete contendo <i>Spirulina</i> microencapsulada com goma arábica (FSG) , em número de pessoas	75
Figura 37: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete contendo <i>Spirulina</i> pura, em número de pessoas	75
Figura 38: Distribuição da frequência atribuída pelos julgadores aos atributos sensoriais do teste CATA para as diferentes formulações de sorvete.	78
Figura 39: Autovalores da ACP das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.....	79
Figura 40: Representação das amostras de sorvete (a) e dos atributos (b) na primeira e segunda dimensões da Análise de Componentes Principais realizada com os dados do teste CATA	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Formulações para o desenvolvimento do sorvete.....	39
Tabela 2: Resultados do teste de solubilidade em diferentes solventes	44
Tabela 3: Resultados de PZ, PDI e tamanho obtidos no Zetasizer.....	50
Tabela 4: Extração máxima de ficocianina por teste (mg ficocianina/g <i>Spirulina</i>)	53
Tabela 5: Atividade de água das matérias-primas e microcápsulas	54
Tabela 6: Calorimetria exploratória diferencial das amostras de <i>Spirulina</i> não encapsulada e microencapsulada em maltodextrina e goma arábica	57
Tabela 7: Redução do potencial antioxidante (%) das amostras no tempo de 7 dias de exposição às temperaturas de 4°C e 25°C	68
Tabela 8: Determinações físico-químicas das formulações de sorvete desenvolvidas	68
Tabela 9: Parâmetros de cor das amostras de sorvete	69
Tabela 10: Resistência ao derretimento das formulações desenvolvidas	72
Tabela 11: Índices de aceitabilidade sensorial em relação aos atributos de cor, textura, sabor, odor/aroma, aparência e impressão global das formulações de sorvete desenvolvidas.....	73
Tabela 12: Intenção de compra das formulações de sorvete	76
Tabela 13: Frequência de respostas no questionário CATA	77

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

CATA: Check All That Apply

DSC: Differential Scanning Calorimetry

FP: Formulação Padrão

FS: Formulação com *Spirulina* pura

FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com Goma arábica

FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com Maltodextrina

FTIR: Fourier Transform Infrared Spectroscopy

IA: índice de aceitabilidade

MEV: microscópio eletrônico de varredura

PDI: índice de polidispersão

PZ: potencial Zeta

TGA: Thermogravimetric Analysis

TPG: tempo de queda da primeira gota

TPG 10%: tempo de derretimento de 10% da amostra

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	<i>Spirulina platensis</i>	18
2.2	Antioxidantes	20
2.3	Encapsulação de bioativos	21
2.4	Agentes encapsulantes	24
2.5	Alimentos funcionais e nutracêuticos	25
2.6	Sorvete	26
2.6.1	História e Definição	27
2.6.2	Legislação e classificação	27
2.6.3	Mercado e consumo	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	Obtenção da <i>Spirulina platensis</i>	30
3.2	Encapsulação da <i>Spirulina platensis</i>	31
3.3	Avaliação do material encapsulado	31
3.3.1	Solubilidade	32
3.3.2	Eficiência de encapsulação	32
3.3.3	Análise morfológica	33
3.3.4	Tamanho de partícula	33
3.3.5	Ensaio de extração do bioativo com potencial antioxidante	34
3.3.6	Análises térmicas	35
3.3.7	Espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR)	36
3.3.8	Atividade de água (Aw)	37
3.3.9	Estabilidade térmica do potencial antioxidante	37
3.3.10	Determinação de potencial antioxidante por ABTS	38
3.4	Desenvolvimento de alimento funcional - sorvete	38
3.4.1	Avaliação do sorvete com <i>Spirulina</i> encapsulada e não encapsulada	39
3.4.2	Resistência das formulações de sorvete ao derretimento	42
3.4.3	Análise sensorial	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1	Caracterização das microcápsulas	44
4.1.1	Solubilidade	44
4.1.2	Eficiência de encapsulação (EE)	45
4.1.3	Análise morfológica	45
4.1.4	Tamanho de partícula (Zetasizer)	49
4.1.5	Ensaio de extração do bioativo responsável pelo potencial antioxidante	50
4.1.6	Atividade de água	53
4.1.7	Espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR)	55
4.2	Estabilidade das microcápsulas	57
4.2.1	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	57
4.2.2	Análise termogravimétrica (TGA)	60
4.2.3	Estudo da estabilidade térmica das microcápsulas	64
4.3	Desenvolvimento do sorvete	68
4.3.1	Avaliação do sorvete - composição físico-química	68
4.3.2	Resistência das formulações de sorvete ao derretimento	71
4.3.3	Análise sensorial	72
5	CONCLUSÕES	81
	REFERÊNCIAS	83
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido	95

APÊNDICE B – Tabela de aleatorização e codificação das amostras	97
APÊNDICE C – Ficha de análise sensorial.....	99
APÊNDICE D – Artigo	100
REFERÊNCIAS	125

1 INTRODUÇÃO

A *Spirulina platensis* é uma microalga que tem sido estudada e comercializada pelo seu potencial nutracêutico, por conter elevados percentuais de proteínas, ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos antioxidantes como a ficocianina (SILVA, 2008; SHALABY; SHANAB, 2013). É permitida como suplemento alimentar pela *Food and Drug Administration* e pela Agência de Vigilância Sanitária do Brasil para uso como ingrediente funcional, indicando-se o consumo de até 1,6 g por pessoa por dia (VON DER WEID et al., 2000; BRASIL, 2013).

A ficocianina apresenta potencial funcional para proteção de eritrócitos dos danos oxidativos (PLEONSIL, et al., 2013), indução de apoptose nas células cancerígenas ovarianas (PAN et al., 2015), neuroproteção (MIN et al., 2015; MITRA et al., 2015), efeitos benéficos contra inflamação e estresse oxidativo em osteoartrite (MARTINEZ et al., 2015), efeito protetor de danos causados pelo estresse oxidativo, nas patologias neurodegenerativas (BACKES, 2014), e antioxidante (WIRIYAPHAN et al., 2013; ŠLIUMPAITĖ et al., 2013; FAROOQ et al., 2014; BERTOLIN et al., 2011).

Os alimentos, principalmente as frutas, verduras e legumes, contêm agentes antioxidantes, tais como as vitaminas C, E e A, a clorofilina, os flavonoides, carotenoides, curcumina e outros que são capazes de restringir a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres. É importante a ingestão de alimentos contendo antioxidantes para suprir as deficiências endógenas e para obter os benefícios referentes ao potencial funcional de cada substância.

Os compostos antioxidantes dos alimentos podem ocorrer naturalmente ou ser introduzidos durante o processamento para o consumo. Os antioxidantes naturais e sintéticos têm sido recomendados para o alívio de sinais e sintomas de doenças ou mesmo para o bloqueio de sua evolução. A importância dos alimentos na saúde e longevidade vem crescendo nos últimos anos (BENITES et al., 2015; FORMAGIO et al., 2015). Apesar disso, ainda há muito a ser estudado para que se determine o momento exato da utilização, a dose, a via de administração e os antioxidantes ideais para cada caso, sendo que o uso de antioxidantes na prevenção e no tratamento de doenças deve ser criterioso.

Os nutracêuticos são compostos isolados das fontes das quais são extraídos, comercializados na forma de cápsulas ou extratos, que apresentam benefícios à saúde, incluindo prevenção ou tratamento de doenças. Os alimentos funcionais reduzem o risco de desenvolvimento de doenças devido à presença dos mesmos compostos presentes nos

nutracêuticos, mas constituintes de alimentos. As principais classes de alimentos funcionais relatadas são os antioxidantes, fibras prebióticas, probióticos e ácidos graxos poli-insaturados (SILVA, 2015).

Enquanto que o consumo de antioxidantes como nutracêuticos requer acompanhamento médico, o consumo de antioxidantes através de alimentos funcionais, devido às menores doses adicionadas, tem sido indicado como um elemento que pode contribuir para a manutenção da saúde, prevenindo doenças (MORAES; COLLA, 2006).

O consumo de nutracêuticos e de alimentos funcionais tem aumentado. Para o desenvolvimento de produtos, informações a respeito da manutenção das propriedades desses produtos, seja quando comercializados como medicamento ou alimentos, são necessárias. A ficocianina, por exemplo, tem suas propriedades funcionais comprovadas (SILVA, 2008; SHALABY; SHANAB, 2013). Entretanto, há uma lacuna de informações acerca de seu comportamento quando adicionada a produtos alimentícios, em termos de estabilidade do potencial antioxidante. Alguns trabalhos realizados em nosso grupo de pesquisa demonstraram a instabilidade do potencial antioxidante da microalga *Spirulina* e da ficocianina em função da temperatura (RAMOS, et al., 2015, COLLA, et al., 2016).

Desta forma, a proposição de metodologias e processos que possam proteger o potencial antioxidante da microalga *Spirulina* antes de sua adição aos produtos alimentícios é necessária. A encapsulação é um processo que possibilita o empacotamento de partículas em cápsulas comestíveis (KAREL, et al, 1988), tem sido utilizada para a manutenção do potencial antioxidante de compostos naturais e sintéticos. A encapsulação é uma opção para a produção de alimentos saudáveis por facilitar a formulação dos mesmos. Entre os métodos de encapsulação, o *spray-dryer* é uma das tecnologias mais simples e favoráveis (EDRIS et al., 2016).

Os antioxidantes presentes na microalga *Spirulina* são considerados de baixa estabilidade térmica e luminosa, como outros antioxidantes naturais estudados, o que limita o uso em produtos alimentícios, em detrimento do uso dos antioxidantes sintéticos, que apresentam maior estabilidade. A microencapsulação pode aumentar a estabilidade dos antioxidantes da *Spirulina*, devendo este processo ser estudado e melhor conhecido.

Outro aspecto envolvido com o uso da microalga *Spirulina* encontra-se no mascaramento do sabor, do *flavor* e da cor adicionados às formulações. Estudos de adição da microalga *Spirulina* em alimentos demonstram que o sabor é um fator importante para a diminuição da aceitabilidade dos produtos adicionados. Assim, o uso da microencapsulação da microalga *Spirulina* poderá contribuir para um maior uso desta matéria-prima no

desenvolvimento de alimentos funcionais. Em relação ao *flavor*, a *Spirulina* poderá ser utilizada em maior quantidade por se tornar mais palatável após a microencapsulação.

Objetivou-se avaliar se a microencapsulação da microalga *Spirulina* ocasiona proteção do potencial antioxidante e desenvolver um sorvete adicionado de *Spirulina* microencapsulada.

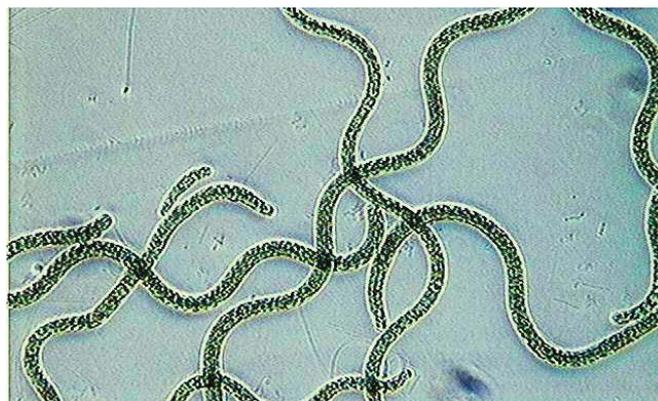
Os objetivos específicos foram: a) caracterizar as microcápsulas obtidas; b) comparar a estabilidade térmica do potencial antioxidante da *Spirulina platensis* encapsulada e não encapsulada; c) adicionar as microcápsulas ao sorvete e avaliar as características sensoriais e de aceitabilidade e as características físico-químicas do produto obtido.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Spirulina platensis*

O uso de microalgas data de antes da história escrita. São os únicos seres vivos por mais de 3 milhões de anos, mas o estudo científico começou somente em 1890 (VONSHAK, 1997). A microalga *Spirulina* foi “redescoberta” nos anos 60 por Jean Léonard, botânico presente em uma expedição franco-belga à África, que descreveu um bolo azul-esverdeado, encontrado no mercado de Fort Lamy, no Chad. Estudos posteriores revelaram que este bolo, chamado localmente de *dihé*, continha uma microalga azul-esverdeada identificada como *Spirulina*. Essa microalga era consumida como ingrediente principal da dieta (70%) pela tribo Kanembu, que vivia às margens dos Lagos Chad e Niger. Na mesma época, o Instituto Francês do Petróleo iniciava os estudos com a *Spirulina* a pedido da Companhia Sosa Texcoco, localizada próxima à Cidade do México. Como resultado, o primeiro estudo detalhado dos requerimentos nutricionais e da fisiologia da *Spirulina* foi realizado. Neste estudo, parte da tese de pós-doutorado de Zarrouk, foi desenvolvida a base para o estabelecimento da produção de *Spirulina* em larga escala. A Figura 1 apresenta microalga do gênero *Spirulina* (ABALDE et al., 1995).

Figura 1: Microalga do gênero *Spirulina* vista no microscópio com aumento de 40X



Fonte: Silva (2008)

As espécies de *Spirulina* mais estudadas para uso na alimentação humana são a *Spirulina platensis* e a *Spirulina maxima*, pois apresentam perfil nutricional que as torna ideal como suplemento alimentar, por dispor de vários constituintes como proteínas (64 a 74% quando cultivada em meios sem detrimento de nitrogênio), sendo estas proteínas de elevada digestibilidade, cerca de 70% (ANDRADE; COSTA, 2008). Apresenta ainda vitaminas do

complexo B, minerais, proteínas de alta qualidade, β -caroteno e vitamina E (AMBROSI et al., 2008). Os lipídios podem corresponder a 5 a 11% em peso da *Spirulina platensis*, sendo destes cerca de 20 a 30% ácidos graxos essenciais (MORAIS; COSTA, 2008). Possuem um índice balanceado de aminoácidos essenciais, ferro absorvível (AMBROSI et al., 2008) e compostos fenólicos antioxidantes como ácidos fenólicos, α -tocoferol e β -caroteno, estudados por Miranda et al. (1998).

Entre as cianobactérias, a *Spirulina platensis* é relatada na literatura por apresentar propriedades nutricionais e funcionais, e tem sido utilizada em diferentes modelos experimentais, colaborando para resultados efetivos como estimulante ao sistema imunológico, na inibição da replicação de alguns vírus, nas dislipidemias e diabetes, como redutor de peso, dentre outras aplicações (AMBROSI et al., 2008). A *Spirulina platensis* é uma microalga com composição apropriada para uso como complemento alimentar, podendo ser empregada no combate à desnutrição. Essa microalga é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*), o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde (ANDRADE; COSTA, 2008).

Em relação às propriedades nutracêuticas da microalga *Spirulina*, especialmente as antioxidantes, estas se devem ao pigmento ficocianina, que pode chegar a conter de 120 a 140 mg por g de biomassa seca (ZHENG et al., 2013, PLEONSIL et al., 2013). Vem sendo estudada devido à sua capacidade de reagir com as substâncias reativas ao oxigênio geradas durante processos oxidativos (BERTOLIN et al., 2011).

Os compostos fenólicos, que também contribuem para o potencial antioxidante da microalga, são principalmente os ácidos caféico, clorogênicos, salicílico, sináptico e trans-cinâmico podem agir individualmente ou sinergicamente como compostos antioxidantes em sistemas *in vivo* e *in vitro* (AMBROSI et al., 2008).

A ficocianina tem sido utilizada principalmente como biocorante de alimentos (MORAES et al., 2007) e seu uso inclui coloração de doces, sorvetes, produtos lácteos e bebidas não alcoólicas (SILVA, 2008). Este composto é solúvel em água (BHAT; MADYASTHIA, 2000), possui elevada estabilidade na faixa de pH 5-7 (DENG; CHOW, 2010).

A *Spirulina* apresenta potencial de uso pela indústria de alimentos especialmente como biocorante de alimentos (MORAES et al., 2007) e seu uso inclui coloração de doces, sorvetes, produtos lácteos e bebidas não alcoólicas (SILVA, 2008). A microalga pode ser inserida em função de seus ingredientes funcionais, possibilitando o desenvolvimento de alimentos funcionais, tais como croissants, cookies, macarrão e iogurtes, por exemplo

(MASSOUD et al, 2016; PADMA, et al, 2016; ZEN, 2017). A encapsulação é uma alternativa para viabilizar o seu uso sem modificar as características originais dos alimentos.

2.2 Antioxidantes

Os antioxidantes são definidos como substâncias que protegem sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares, retardando a velocidade de oxidação, através da inibição de radicais livres e complexação de metais (ARAÚJO, 2011).

Existem diversos compostos com capacidade antioxidante, por isso é comum a sua classificação de acordo com a origem. Os antioxidantes sintéticos são adicionados aos alimentos sem a intenção de nutrir, mas de retardar o aparecimento de alterações oxidativas no processo de fabricação (BOROSKI, et al., 2015). Os antioxidantes sintéticos mais utilizados são o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o galato de propila (PG) (TAKEMOTO et al., 2009). Tais antioxidantes são utilizados em diversas matrizes alimentares, como massas, bolos, doces, carnes, óleos, produtos frescos, secos, cozidos, doces, sopas e bebidas (BRASIL, 2015).

São chamados de antioxidantes naturais aqueles obtidos de fontes naturais. A indústria de alimentos vem aumentando a substituição de antioxidantes sintéticos pelos naturais. Existem fortes apelos pela manutenção das propriedades organolépticas e químicas dos alimentos, mas outras propriedades como a prevenção de doenças e a manutenção da saúde também estão associadas ao consumo de antioxidantes naturais. Dentre os antioxidantes naturais destacam-se enzimas, vitaminas e compostos fenólicos (BOROSKI, et al., 2015).

Nos alimentos, ocorrem reações de autooxidação em cadeia. Nos organismos vivos, o estresse oxidativo é o maior responsável pelos danos celulares (BOROSKI, et al., 2015). O organismo humano possui defesas antioxidantes eficientes, incluindo enzimas como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (RISTOW; SCHMEISSER, 2011). É provável que os erros na síntese de enzimas contribuam para aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio, tornando as reservas endógenas antioxidantes insuficientes para evitar os danos celulares (COLLIER et al., 2011).

O estresse oxidativo *in vivo* é um fenômeno causado pela exposição e o acúmulo de toxinas geradas por fatores extrínsecos e intrínsecos. Estes fatores podem ser ambientais, radiação, agentes químicos e tóxicos, poluentes ou dieta desequilibrada, que conduzem à oxidação de biomoléculas com perda de suas funções biológicas e o desequilíbrio

homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra as células. Para diminuir os efeitos do estresse oxidativo, a combinação do bom funcionamento dos agentes antioxidantes endógenos produzidos naturalmente pelo organismo e a ingestão de antioxidantes naturais pela dieta é recomendada (SAMPAIO, 2010).

A temperatura é um fator de grande influência na degradação em proteínas, lipídeos e carboidratos. Fornece a energia de ativação necessária para que ocorra a quebra das ligações químicas (CARSTEN; RHODES, 2000). As reações químicas de oxidação podem ocorrer devido a fatores ambientais, como a temperatura, a luz, a umidade, os gases atmosféricos, e também o pH e a contaminação microbiana (ANVISA, 2005).

O efeito da temperatura é importante na determinação das propriedades e da estabilidade de proteínas nas microalgas, uma vez que algumas proteínas sofrem desnaturação ou degradação em altas temperaturas (NAKAMOTO; HONMA, 2006).

Os estudos de estabilidade térmica objetivam verificar o efeito da temperatura sobre os compostos antioxidantes da *Spirulina platensis*. Possibilitam definir as temperaturas de maior ou menor degradação dos compostos para que seja possível a determinação da vida útil dos mesmos (RAMOS, 2015).

Ainda há pouca informação disponível a respeito do potencial antioxidante da *Spirulina* em diferentes condições de armazenamento.

Segundo Ramos et al. (2015), a exposição da biomassa de *Spirulina platensis*, mesmo que por poucas horas, a temperaturas acima de 50 °C, acarretou na diminuição da atividade antioxidante. Esta perda também foi verificada quando a biomassa foi submetida a temperaturas mais baixas, entre 25 °C e 40 °C. A perda de atividade antioxidante só é verificada quando a submissão da biomassa a temperaturas mais baixas for por tempos mais prolongados.

2.3 Encapsulação de bioativos

A microencapsulação é um processo em que as substâncias de interesse são incorporadas em uma matriz ou um sistema de revestimento (TIWARI et al., 2010), obtendo-se micropartículas com um diâmetro que varia entre 1 e 1000 µm (OBEIDAT, 2009).

As substâncias a encapsular apresentam-se geralmente no estado líquido ou sólido, podendo também ser um gás (TRINDADE et al., 2008). O método de microencapsulação é empregado para proteger componentes bioativos (polifenóis, micronutrientes, enzimas,

antioxidantes e nutracêuticos) e na aplicação final para protegê-los de ambientes adversos e controlar a liberação em locais desejados (GOUIN, 2004).

Alguns benefícios da encapsulação na indústria de alimentos são:

- a) facilita a manipulação do material encapsulado;
- b) aumento da estabilidade do produto final;
- c) aumento da segurança alimentar;
- d) criação de efeitos visuais;
- e) adequação de tamanho de partícula e solubilidade;
- f) mascaramento de sabores;
- g) controle de liberação do encapsulado.

Os encapsulados facilitam a formulação de produtos alimentícios mais saudáveis. Por este motivo, a demanda por encapsulação é crescente (ZUIDAM; SHIMONI, 2010).

A escolha do método de encapsulação depende da sua aplicação. Alguns itens também são importantes: o tamanho da partícula desejado, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, produto final, mecanismos de liberação requeridos, escala de produção e custos (RÉ, 1998).

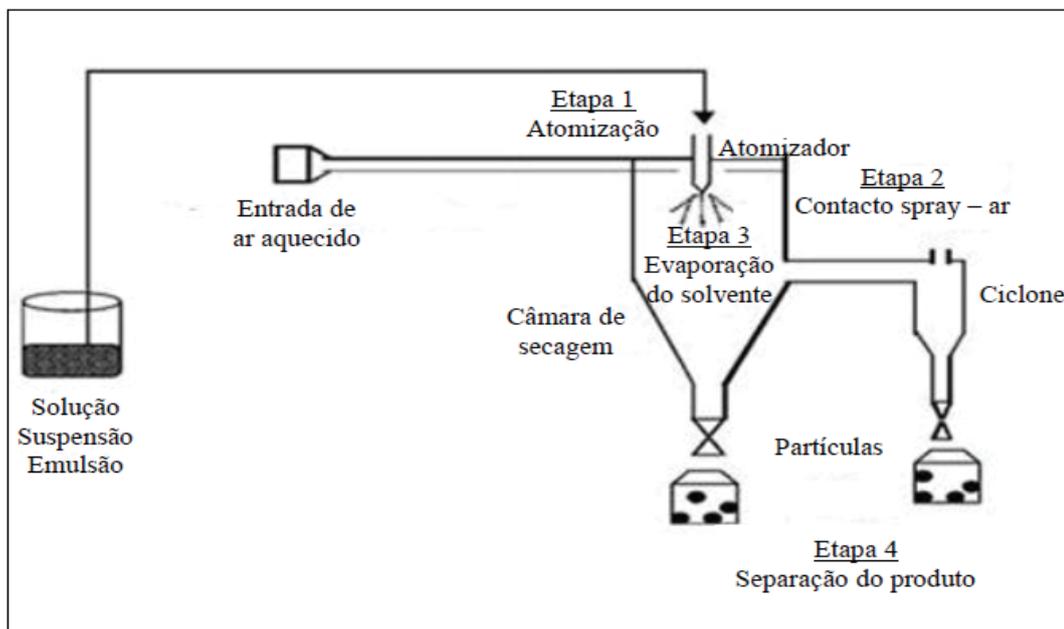
Existem algumas técnicas utilizadas principalmente para microencapsulação de corantes: secagem por pulverização, liofilização, coacervação e emulsão entre os quais, a secagem por pulverização tem sido amplamente utilizada na indústria de alimentos, além da farmacêutica e indústrias bioquímicas.

O *spray-drying*: é um método largamente utilizado para microencapsulação. Resulta em pós de boa qualidade e de fácil manuseio e estocagem. Protege o encapsulado contra reações indesejadas. A escolha do material encapsulante e as propriedades da emulsão podem afetar a eficiência do processo e a estabilidade do microencapsulado final. Para que o processo possa ser considerado bem sucedido, deve-se obter um pó com retenção máxima do ativo (CARNEIRO et al, 2013).

É um dos métodos de encapsulação mais antigos, originalmente utilizado na década de 30, na preparação dos primeiros compostos contendo sabores encapsulados (WILSON; SHAH, 2007). As variáveis do processo são: fluxo de ar de arraste, temperatura do ar de entrada e saída, distribuição da temperatura e da umidade, tempo de permanência e a geometria da câmara (KISSEL et al., 2006). A concentração e o tipo do agente encapsulante têm características fundamentais na determinação da micropartícula, dentre elas estão a velocidade e a temperatura de alimentação (SILVA et al., 2003).

O princípio do *spray-dryer* consiste em alimentar o equipamento com a dispersão a ser processada, após a homogeneização da mesma. O produto é pulverizado em finas gotas, gerando uma névoa que entra em contato com uma corrente de ar aquecido. A evaporação transforma as gotas em partículas sólidas, que são separadas por um ciclone primário que se forma na saída da câmara de secagem. Um ciclone secundário recupera as partículas mais finas que tendem a permanecer em suspensão no recinto de secagem. Todas as etapas interferem diretamente nas características finais do pó, como tamanho de partícula, densidade, aparência e umidade (BARROS; STRINGHETA, 2006; GAVA et al., 2008). A Figura 2 ilustra o processo descrito.

Figura 2: Esquema representativo de um *spray dryer*



Fonte: RÉ (2006)

O *spray-dryer* é a técnica de encapsulação mais utilizada na indústria de alimentos. Como vantagens, podemos citar a preservação da biotividade dos componentes, etapa única, econômico, flexível e produz partículas de boa qualidade e estabilidade (ADAMIEC; MODRZEJEWSKA, 2005; PÍSECKY, 2005; TEWA-TAGNE et al., 2007). De acordo com o material utilizado na alimentação e das condições da operação, a produção do pó pode atingir dimensões muito finas, de 10 a 50 μ m, a partículas de maiores, entre 2 e 3mm (MARTÍNEZ et al., 2004).

2.4 Agentes encapsulantes

Na microencapsulação os agentes microencapsulantes são responsáveis pelo revestimento dos compostos bioativos, dando forma à microcápsula (AZEREDO, 2005). Devem possuir compatibilidade química e física e propriedades desejadas, como flexibilidade, resistência, impermeabilidade e estabilidade na preparação (VENKATESAN et al., 2009). Podem apresentar diferentes origens: natural, semissintética ou sintética (ANSON, 2005).

A escolha do encapsulante deve basear-se nas características físicas e químicas do composto bioativo a encapsular, no tipo de aplicação pretendido e no método de microencapsulação escolhido. O agente encapsulante deve apresentar: baixa viscosidade em concentrações elevadas; ser fácil de manusear durante o processo de microencapsulação; apresentar baixa higroscopicidade para impedir a aglomeração e ajudar a sua manipulação; ter uma boa capacidade de incorporar o material a encapsular para impedir a perda deste; proteger o material a encapsular de circunstâncias adversas, como o oxigênio, luz e pH; apresentar sabor agradável, quando administrado por via oral; ausência de aroma e ser econômico (SANTOS et al., 2000).

A goma arábica (também conhecida como goma acácia) é a mais antiga e conhecida das gomas naturais, sendo utilizada em larga escala. É o exsudato gomoso dessecado dos troncos e dos ramos da *Acacia senegal* ou de outras espécies africanas de acácia. É comercializada em forma de pó, o que a torna uma substância de fácil dissolução. Sua composição é 95% de polissacarídeos em base seca e de 1% a 2% de diferentes proteínas. A goma arábica dissolve imediatamente em água, gerando soluções claras que variam da coloração amarelo muito pálido até laranja dourado, e com pH de aproximadamente 4,5. A goma arábica, por sua fácil e rápida solubilidade em água, facilita a reconstrução de produtos desidratados e de concentrados de aromas (BUNN, 2012).

O microencapsulamento com goma arábica é usado para transformar o aroma de alimentos de líquidos voláteis para pós, que podem ser incorporados facilmente em produtos alimentícios secos, como sopas e misturas para sobremesa, além de camuflar sabores e odores indesejados, como é o caso da *Spirulina*.

A maltodextrina é um hidrolisado de amido que possui unidades de glucose unidas principalmente por ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4), e possui uma média de 5 a 10 unidades de glicose/molécula. São produzidas industrialmente por hidrólise ácida ou enzimática, ou a combinação de ambas. Provém principalmente do amido de milho, sendo que o processo

utilizado e a natureza do amido a ser hidrolisado influenciam fortemente na propriedade do produto final (KENNEDY; KNILL; TAYLOR, 1995; REINECCIUS et al., 1998).

As maltodextrinas são caracterizadas por sua dextrose equivalente (DE) e seu grau de polimerização (DP). O $DE = 100/DP$ refere-se à medida do inverso do número de unidades de α -D-glicose anidro. As propriedades das maltodextrinas estão ligadas ao DE e ao DP, que variam de acordo com o grau de hidrólise durante o processamento do amido (KENNEDY; KNILL; TAYLOR, 1995). As dextroses usadas como padrão são o amido (DE = 0) e a glicose (DE = 100). Entende-se por maltodextrina todo amido hidrolisado com valores de dextrose equivalente (DE) entre 3 e 20, sendo que a variação do valor do DE reflete na variação de sua estabilidade, viscosidade e funcionalidade. A maltodextrina DE 20 é pouco higroscópica, não apresenta doçura e contribui como agente de corpo para formulações alimentícias (BE MILLER; WHISTLER, 1997).

A maltodextrina é um dos principais materiais de aplicação no processo de secagem por *spray-dryer* devido às suas características físicas, como elevada solubilidade, baixa viscosidade, mesmo quando utilizadas em elevadas concentrações de sólidos e, por possuir menor custo é utilizada como substituta da goma arábica, na formação de emulsões e de dispersões (CANO-CHAUCA et al., 2005; KRISHNAN et al., 2005).

2.5 Alimentos funcionais e nutracêuticos

Os alimentos funcionais se caracterizam por oferecer vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química. Podem desempenhar um papel potencialmente benéfico na prevenção e tratamento de doenças. Para que tais benefícios sejam obtidos, é necessário que o consumo destes alimentos seja regular.

Os alimentos funcionais tornam possível a oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como estratégia para corrigir distúrbios metabólicos (WALZEM, 2004), o que resulta na manutenção da saúde do indivíduo.

Há duas classificações disponíveis para os alimentos ou ingredientes funcionais: quanto à fonte, que pode ser animal ou vegetal, ou quanto aos benefícios que proporcionam, atuando em 6 diferentes áreas do organismo (sistemas gastrointestinal e cardiovascular, metabolismo de substratos, crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular, comportamento de funções fisiológicas e antioxidante) (SOUZA et al, 2003).

Os alimentos funcionais apresentam as seguintes características:

- a) Alimentos convencionais a serem consumidos na dieta usual;
- b) Compostos por componentes naturais;
- c) Devem ter efeitos positivos além do valor nutritivo básico, aumentando a saúde e o bem-estar;
- d) A alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;
- e) Pode ser um alimento natural ou um alimento natural do qual um componente tenha sido removido;
- f) Pode ser um alimento onde a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;
- g) Pode ser um alimento o qual a bioatividade tenha sido modificada (ROBERFROID, 2002).

Os alimentos funcionais reduzem o risco de desenvolvimento de doenças. As principais classes de alimentos funcionais relatadas são os antioxidantes, fibras prebióticas, probióticos e ácidos graxos poli-insaturados (SILVA, 2015).

O nutracêutico é um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos e de saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento de doenças (MORAES; COLLA, 2006). Podem abranger desde os nutrientes isolados, suplementos dietéticos na forma de cápsulas e dietas até ervas e alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas (RUBERFROID, 2002; HUNGENHOLTZ, 2002). São fibras dietéticas, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídios, entre outros (ANDLAUER; FÜRST, 2002).

Os nutracêuticos podem ser suplementos dietéticos, já os alimentos funcionais devem estar na forma de alimentos comuns. Se os compostos forem isolados para consumo individual, são nutracêuticos. Se forem consumidos nos alimentos dos quais são provenientes, são alimentos funcionais.

2.6 Sorvete

De acordo com a legislação brasileira, o sorvete é considerado um gelado comestível, um produto alimentício obtido a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições tais que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado, durante a armazenagem, o transporte e a entrega ao consumo (BRASIL, 2000).

2.6.1 História e Definição

O sorvete existe há mais de 3000 anos. Os chineses foram os primeiros a misturar neve com frutas. Em seguida a técnica foi passada aos árabes, que faziam caldas geladas chamadas de *sharbets*, que com o passar do tempo se transformaram nos famosos sorvetes franceses sem leite, os *sorbets*. Na Grécia, nos banquetes de Alexandre, o Grande, e nas festas gastronômicas do imperador Nero, em Roma, já eram degustadas frutas e saladas geladas com neve. O Imperador mandava buscar neve nas montanhas e misturar com mel, polpa ou suco de frutas (ABIS, 2017).

Em 1292, houve um grande avanço no mundo dos sorvetes, quando Marco Polo trouxe para a Itália o segredo do preparo de sorvetes usando técnicas especiais. Os sorvetes se espalharam por toda a Europa chegando também aos Estados Unidos, onde ocorreu a primeira produção de sorvete em escala industrial. O país é o maior produtor mundial de sorvete na atualidade.

No Brasil, o sorvete ficou conhecido em 1834, quando dois comerciantes cariocas compraram gelo e começaram a fabricar sorvetes com frutas brasileiras. Não havia como conservar o sorvete gelado e, por isso, tinha que ser consumido logo após o seu preparo. Os primeiros comerciantes espalhavam anúncios pela cidade com o horário da fabricação (ABIS, 2017).

2.6.2 Legislação e classificação

Os sorvetes e picolés são classificados pela legislação sanitária brasileira como produtos gelados comestíveis. Os gelados comestíveis são produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de gordura e proteínas, com ou sem a adição de outros ingredientes e substâncias; ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições tais que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado, durante a armazenagem, o transporte e o momento do consumo, de acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) da ANVISA de nº 266 de 22 de setembro de 2005.

Segundo a Portaria nº 379 de 26 de abril de 1999, da ANVISA (BRASIL, 1999), revogada mas ainda utilizada como referência, os gelados comestíveis podem ser classificados quanto à composição básica:

- a) Sorvetes de creme: são produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos e ou gorduras comestíveis, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentares.
- b) Sorvetes de leite: são produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentares.
- c) Sorvetes: são produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos e ou outras matérias primas alimentares e nos quais os teores de gordura e ou proteína são total ou parcialmente de origem não láctea, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentares.
- d) *Sherbets*: são produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos e ou outras matérias primas alimentares e que contém apenas uma pequena proporção de gorduras e proteínas as quais podem ser total ou parcialmente de origem não láctea, podendo ser adicionados de outros ingredientes alimentares.
- e) Gelados de frutas ou *sorbets*: são produtos elaborados basicamente com polpas, sucos ou pedaços de frutas e açúcares, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentares.
- f) Gelados: são produtos elaborados basicamente com açúcares, podendo ou não conter polpas, sucos, pedaços de frutas e outras matérias-primas, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentares.

Os gelados alimentícios também podem ser classificados quanto aos processos de fabricação e apresentação:

- a) Sorvetes de massa ou cremosos: são misturas homogêneas ou não de ingredientes alimentares, batidas e resfriadas até o congelamento, resultando em massa aerada.
- b) Picolés: são porções individuais de gelados comestíveis de várias composições, geralmente suportadas por uma haste, obtidas por resfriamento até congelamento da mistura homogênea ou não, de ingredientes alimentares, com ou sem batimento.

2.6.3 Mercado e consumo

De acordo com a ABIS (Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvetes), a produção de sorvetes em massa passou de 502 milhões de litros em 2003 para 923 milhões de litros em 2014. De 2003 a 2014, o consumo brasileiro obteve crescimento de 83,84%. Após esse período de crescimento, houve uma redução no volume produzido, chegando a 675 milhões de litros em 2016.

No Brasil, o consumo de sorvete é baixo se comparado ao consumo dos países nórdicos, como Finlândia, Dinamarca, Noruega, Islândia e Suécia, onde o frio predomina e o consumo é três a quatro vezes maior do que no Brasil. Existe uma questão cultural quanto ao consumo do sorvete, que é visto como um produto que só pode ser consumido durante o verão (ABIS, 2017).

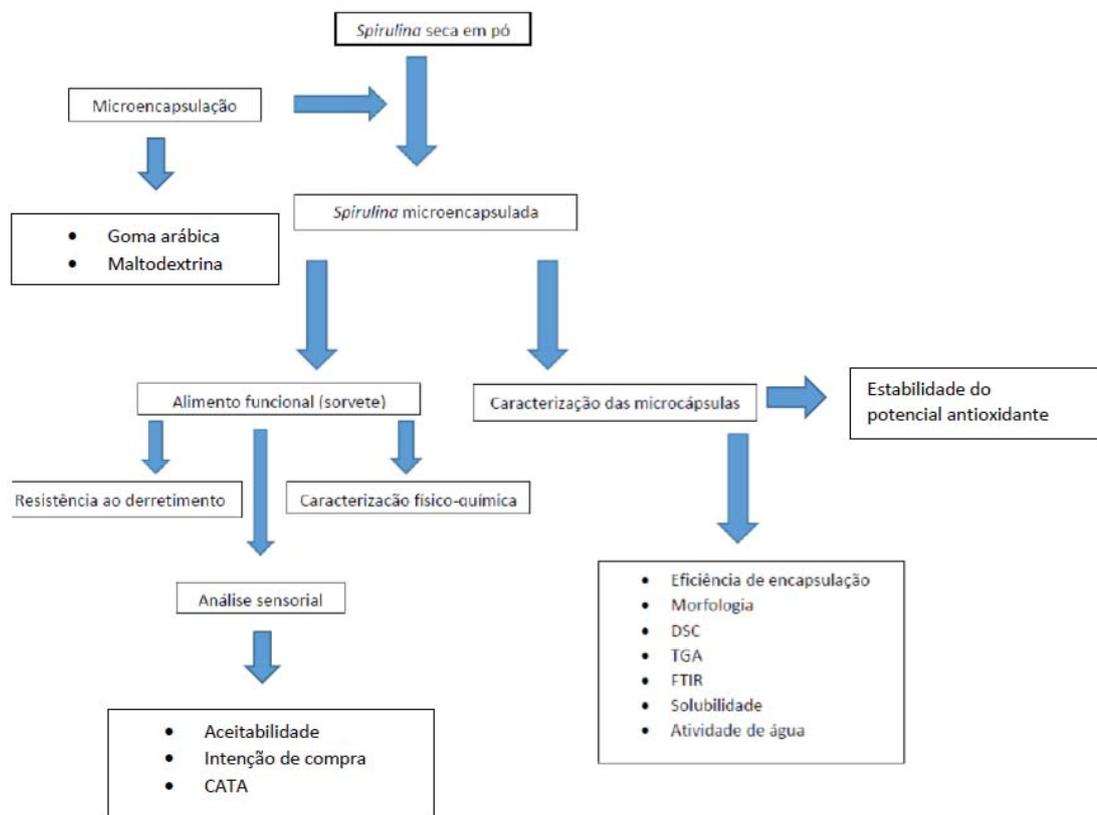
Neste estudo buscamos microencapsular a *Spirulina* para que suas propriedades se mantenham por mais tempo e possam estar disponíveis quando consumida. Buscamos também aumentar o valor nutricional de um sorvete adicionando *Spirulina* microencapsulada. A microencapsulação possivelmente tornará a *Spirulina* mais palatável e facilitará seu consumo, fazendo com que o consumidor se alimente de forma agradável e saudável e obtenha todos os benefícios da *Spirulina*, incluindo a prevenção de doenças.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos do Curso de Engenharia de Alimentos e no Laboratório Nutra-Ali (Laboratório de Desenvolvimento de Alimentos Funcionais e Nutracêuticos), localizado no UPF-Parque (Parque Tecnológico da UPF).

O Fluxograma da Figura 3 apresenta as etapas da metodologia desenvolvida neste trabalho.

Figura 3: Etapas da metodologia desenvolvida no trabalho



3.1 Obtenção da *Spirulina platensis*

A microalga *Spirulina platensis* utilizada na forma seca, em pó, foi obtida no comércio local, sendo proveniente de importação (*Qingdao Sunrise Biotechnology, China*).

3.2 Encapsulação da *Spirulina platensis*

Para a obtenção das microcápsulas foram utilizados como agentes encapsulantes a goma arábica (Labsynth, São Paulo) e a maltodextrina 20DE (*Athletica Nutrition*, São Paulo). As microcápsulas foram preparadas de acordo com o protocolo de Anarjan e Tan (2013).

Preparou-se uma solução de goma arábica ou maltodextrina 20DE de 30% (m/v) em água destilada aquecida a 40 °C. Esta solução foi submetida à agitação durante 30 min a 2500 rpm, em agitador magnético (Fisatom modelo 715). A relação *Spirulina*/encapsulante utilizada foi de 1:3 em relação ao teor de sólidos totais. Para isso, pesou-se 10 g da microalga previamente triturada com gral e pistilo para redução e homogeneização do tamanho da mesma. Após a trituração, foi peneirada em peneira com abertura de 40 mesh (0,42 mm). A temperatura foi mantida em 40 °C durante todo o processo. Após 30 min no agitador magnético, a suspensão foi submetida à agitação durante 4 min em agitador tipo Turrax (Turratec TE-102, Tecnal), a 12.000 rpm. O Turrax foi utilizado para estabilização das microcápsulas, para o aumento da eficiência de encapsulação (CRUZ et al., 2016) e a fim de ocasionar a diminuição do tamanho das microcápsulas, já que quanto maior a agitação, menor o tamanho das cápsulas formadas (RESTREPO, 2012).

O microencapsulado foi submetido à secagem em *spray-dryer* (LM MSD 1.0), nas seguintes condições: bico tamanho 2 mm, vazão de alimentação do extrato 400 ml/h, temperatura do ar de entrada a 150°C, temperatura de saída do extrato 108°C, vazão do ar de entrada 3,99 m³/min. Após a secagem, as amostras foram acondicionadas em recipientes fechados e armazenadas em freezer, a -20°C até o momento das análises. O *spray-dryer* é um equipamento que pode ser utilizado para encapsulação e secagem. Neste trabalho, as microcápsulas foram secas no *spray-dryer* a partir da suspensão obtida.

Como controle, foram utilizadas microcápsulas preparadas nas mesmas condições, sem adição de *Spirulina*.

3.3 Avaliação do material encapsulado

Após a formação das microcápsulas de *Spirulina*, foram realizados os seguintes testes: eficiência de encapsulação, morfologia das partículas através de microscopia eletrônica de varredura, calorimetria exploratória diferencial, análise termogravimétrica, espectroscopia de infravermelho, solubilidade, atividade de água, estudo de extração do potencial antioxidante, estabilidade térmica do potencial antioxidante e determinação do potencial antioxidante.

3.3.1 Solubilidade

Em um béquer de 100 mL adicionou-se 0,5 g de (*Spirulina platensis* (40 mesh) ou goma arábica ou maltodextrina 20DE) e 50 mL dos solventes álcool etílico, acetona, hexano, benzeno e clorofórmio (individualmente). Em manta magnética, ajustou-se com o peixe a fim de obter 100 rpm por 30 min (na manta utilizada, era 120 rpm então reduziu-se o tempo para 25 min de agitação). Após foi centrifugado a 8.000 rpm por 15 min. Coletou-se 12,5 mL do sobrenadante e adicionou-se em cadinho de porcelana previamente tarado e pesado (calcinar os cadinhos, lavar, numerar, calcinar novamente e pesar) e em seguida colocou-se no banho a aproximadamente 50 °C até a evaporação do solvente. Após a evaporação, o cadinho foi seco em estufa a 50°C até peso constante (considera-se peso constante até obter diferença de no máximo 10 nas duas últimas casas). Posteriormente, a solubilidade foi determinada de acordo com a Equação 1 de Eastman e Moore (1984), com algumas modificações feitas por Cano-Chauca et al. (2005).

$$\text{Solubilidade} = \left((Pca - Pc) \times 2 / Pa \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde:

Pca: Peso do cadinho + amostra

Pc: Peso do cadinho

Pa: Peso da amostra

3.3.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação (EE) foi feita conforme Carneiro et al. (2013). Adicionou-se 15 mL de hexano em 0,2 g de amostra de *Spirulina* microencapsulada. Após a adição, a mistura foi mantida em repouso por 5 min, em temperatura ambiente, no escuro.

A suspensão contendo o material microencapsulado foi filtrada em filtro de membrana (0,45 µm, Millipore) e em seguida o filtro com o material retido foi seco em estufa a 40°C.

Após a secagem, a amostra seca foi redissolvida em 20 mL de água deionizada, com agitação manual por 5 min. A água foi evaporada em estufa a 40 °C e a massa foi medida até peso constante.

A maltodextrina 20 DE e a goma arábica são insolúveis em hexano, permitindo a remoção do material não-encapsulado e evitando danos às paredes das microcápsulas.

A eficiência de encapsulação foi calculada conforme a Equação 2:

$$EE = (m_{Sp\ enc} / m_{Sp + m\ seca}) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

- $M_{Sp\ enc}$: massa de *Spirulina* microencapsulada obtida após a evaporação do hexano;

- $M_{Sp + m\ seca}$: massa de material retido no filtro (*Spirulina* com maltodextrina 20 DE ou com goma arábica) após a secagem

3.3.3 Análise morfológica

A análise morfológica foi realizada por microscopia ótica e em microscópio eletrônico de varredura.

A análise morfológica em microscópio óptico (modelo Leica ATC 2000) foi realizada no Laboratório de Microscopia da Universidade de Passo Fundo. As amostras foram colocadas em lâminas e cobertas com lamínula e observadas, antes da secagem. A caracterização morfológica das amostras foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV), Tescan, modelo Vega LM3, no Laboratório de Metalografia da Universidade de Passo Fundo. As partículas foram fixadas em *stubs* de alumínio sobre fitas de carbono adesivas. Após a fixação, foram recobertas com uma fina camada de ouro em equipamento Balzer (Baltec SCD50).

3.3.4 Tamanho de partícula

Para a determinação do tamanho de partícula, foi utilizado o equipamento Zetasizer disponível no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande. Foi feita uma suspensão a 10% m/v em hexano. A suspensão foi colocada em banho ultrassônico por 5 min para adequada dispersão das partículas, antes da leitura no equipamento.

3.3.5 Ensaios de extração do bioativo com potencial antioxidante

Para o estudo de extração do potencial antioxidante, é necessário que o componente bioativo seja extraído de dentro da célula da *Spirulina* para que possa ser quantificado. A *Spirulina* apresenta como pigmento principal a ficocianina. Foi testada a extração da ficocianina das cápsulas e da *Spirulina* pura através dos seguintes métodos:

- a) congelamento e descongelamento: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 0,05 g de *Spirulina platensis* ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada (40 mesh) e 10 mL de água destilada. Homogeneizou-se. Após a homogeneização, foram realizados 3 ciclos de congelamento e descongelamento (6 h = 1 ciclo). Posteriormente, a solução foi centrifugada e filtrada para a determinação da concentração de ficocianina;
- b) rompimento em vórtex com 3 pérolas de vidro: Em um tubo de ensaio adicionou-se 0,05 g de *Spirulina platensis* (40 mesh) ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada, 10 mL de água destilada e 3 pérolas de vidro. Em seguida, agitou-se em vórtex por 3 min. Posteriormente, a solução foi filtrada para a determinação da concentração de ficocianina;
- c) rompimento com agitação na manta magnética por 10 min: Em um erlenmeyer, adicionou-se 0,05 g de *Spirulina platensis* (40 mesh) ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada, 10 mL de água destilada e 3 pérolas de vidro. Em seguida, agitou-se em manta magnética, na velocidade 5, por 10 min. Posteriormente, a solução foi filtrada para a determinação da concentração de ficocianina;
- d) rompimento com agitação na manta magnética por 15 min: em um erlenmeyer, adicionou-se 0,05 g de *Spirulina platensis* (40 mesh) ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada, 10 mL de água destilada e 3 pérolas de vidro. Em seguida, agitou-se em manta magnética, velocidade 5, por 15 min. A solução foi filtrada para a determinação da concentração de ficocianina;
- e) rompimento por ultrassom: Em um tubo de ensaio, adicionou-se 0,05 g de *Spirulina platensis* (40 mesh) ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada com 10 mL de água destilada. Homogeneizou-se, após foram realizados de 1 a 10 ciclos no ultrassom (5 min ultrassom ligado e 5 min desligado = 1 ciclo). Posteriormente, a solução foi centrifugada e filtrada para a determinação da concentração de ficocianina;

- f) rompimento por ultrassom e vórtex: Em um tubo de ensaio adicionou-se 0,05 g de *Spirulina platensis* (40 mesh) ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada com 10 mL de água destilada. Homogeneizou-se em vórtex por 3 min. Após foram realizados de 1 a 10 ciclos no ultrassom (5 min ultrassom ligado e 5 min desligado = 1 ciclo). Posteriormente, a solução foi centrifugada e filtrada para a determinação da concentração de ficocianina.

Após as aplicações dos métodos de extração, as soluções de ficocianina obtidas foram centrifugadas e filtradas para a determinação da concentração de ficocianina de acordo com a Equação 3 de Benett e Bogorad e determinação de potencial antioxidante por ABTS, conforme item 3.3.10, segundo Re et al. (1999). A absorvância foi medida em espectrofotômetro (Eppendorf Biopectrometer Kinetic).

$$\text{Concentração da Ficocianina} = \frac{Abs_{615} - 0,474 (Abs_{652})}{5,34} \quad (3)$$

Sendo:

Co = concentração de ficocianina (mg/mL)

Ab_{S615} = absorvância em 615 nm

Ab_{S652} = absorvância em 652 nm

O método de congelamento e descongelamento é considerado padrão para a extração de ficocianina por ter sido anteriormente testado e comparado com outras metodologias por Moraes et al. (2007). Entretanto, é um método demorado, o que motivou os testes de comparação com os outros métodos. Segundo Luo et al. (2014), nos processos de extração de compostos de microalgas, o ultrassom auxilia na ruptura celular e na redução do tamanho das partículas, favorecendo a liberação do conteúdo celular. Além disso, o tratamento ultrassônico pode melhorar a eficiência dos processos de extração de proteínas posteriores à lise celular.

3.3.6 Análises térmicas

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é muito utilizada para análise do comportamento térmico, mede a quantidade de calor associada à desnaturação quando aquecida a uma taxa constante.

As análises de DSC (Shimadzu, Kyoto, Japão), foram realizadas no Laboratório de Química da Universidade de Passo Fundo, para as cápsulas de maltodextrina 20 DE, goma

arábica, *Spirulina* encapsulada com maltodextrina 20 DE, *Spirulina* encapsulada com goma arábica e *Spirulina* pura. Dois miligramas de cada amostra foram colocados, separadamente em microcadinhos de alumínio, tendo um microcadinho vazio, idêntico ao da amostra como referência. As amostras foram analisadas, sob atmosfera de nitrogênio ($100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, na faixa de temperatura de 20°C a 200°C).

A análise termogravimétrica (TGA) é uma análise que se baseia na medida de perda de massa de uma determinada amostra, em função da temperatura ou do tempo, fornecendo informações sobre a estabilidade térmica do material analisado (TRIVEDI et al., 2015).

A TGA da *Spirulina platensis*, das microcápsulas de controle e das microcápsulas com *Spirulina*, foram realizadas no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal de Rio Grande – FURG (Shimadzu, DTG-60, Japan). As amostras foram pesadas e acondicionadas em micro-cadinhos de alfa-alumina, tarados antes da pesagem das amostras. As condições de análise foram: massa da amostra aproximadamente 5,0 mg, atmosfera da câmara, ar sintético na vazão de $100 \text{ mL}/\text{min}$, vazão de aquecimento $10^\circ\text{C}/\text{min}$, com faixa de temperatura de 20°C a 600°C .

3.3.7 Espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR)

A FTIR é uma das mais importantes técnicas para a caracterização de substâncias, tanto em termos de identificação como para determinação de características estruturais, principalmente no que se refere a grupos funcionais e de ligações presentes na amostra. Além das informações qualitativas, a análise por FTIR permite a determinação semi-quantitativa de componentes de uma amostra ou mistura, esteja ela no estado sólido, líquido, gasoso ou em solução (não-aquosa). É uma técnica fácil e rápida, que não requer grande quantidade de amostra.

A *Spirulina* pura, as cápsulas dos agentes encapsulantes e as microcápsulas de *Spirulina* foram analisadas por espectroscopia de infravermelho (Cary 630 FTIR, Agilent). Foi utilizado aproximadamente 1 mg de cada amostra, nas seguintes condições: região de varredura $4000\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$, número de acumulações $16 \text{ scans}\cdot\text{min}^{-1}$, resolução de 2 cm^{-1} , e o registro dos espectros foi através de Transmitância (%T).

3.3.8 Atividade de água (Aw)

A determinação da atividade de água (Aw) é importante porque tem relação com a conservação dos alimentos. Os valores de Aw mostram a probabilidade do alimento se deteriorar. O valor máximo da atividade de água é 1 na água pura. Os alimentos com valores de Aw acima de 0,90 (altos) têm grande chance de sofrer contaminação microbológica, uma vez que as soluções diluídas dos alimentos servem de substrato para o crescimento de microorganismos.

Para alimentos com Aw menores, entre 0,40-0,80, as reações químicas e enzimáticas ficam favorecidas porque ocorre aumento da concentração dos reagentes. A partir de Aw 0,60 o crescimento dos microorganismos é pequeno ou inexistente. Quando a atividade de água alcança valores inferiores a 0,30 atinge-se a zona de adsorção primária, na qual não há dissolução dos componentes do alimento pela água, reduzindo a velocidade das reações. A oxidação lipídica configura uma exceção, pois pode ocorrer tanto em baixa ou alta Aw. Quanto menor Aw, maior o tempo de conservação do alimento.

A atividade de água foi determinada utilizando equipamento Texto 650, com temperaturas variando entre 20 °C e 22 °C.

3.3.9 Estabilidade térmica do potencial antioxidante

As amostras de *Spirulina* em pó, *Spirulina* encapsulada em goma arábica e *Spirulina* encapsulada em maltodextrina, bem como os controles realizados com as cápsulas vazias foram expostas a temperaturas constantes de -20 °C (freezer Electrolux FE18), 4°C (refrigerador Consul Facilite) e 25 °C (ambiente) ao longo do tempo, a fim de avaliar a influência sobre o potencial antioxidante da *Spirulina*. Para isso, amostras de 0,05 g de *Spirulina* ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada (devido à relação de 1:3 *Spirulina*:encapsulante) ou ainda 0,15 g das microcápsulas vazias, foram adicionadas em placas de Petri, protegidos da luz com papel alumínio submetidas às temperaturas de -20 °C, 4°C e 25 °C. Foram retiradas alíquotas semanalmente.

A ficocianina foi extraída da *Spirulina*, das microcápsulas e dos controles com os métodos mais adequados para cada amostra, conforme resultados dos testes de extração. Após a extração, a solução foi filtrada para a determinação da concentração de ficocianina e potencial antioxidante foi medido por ABTS.

3.3.10 Determinação de potencial antioxidante por ABTS

A medida do potencial antioxidante por ABTS foi determinada de acordo com Re et al. (1999).

O ABTS foi dissolvido em água até uma concentração de 7 mM. A produção do radical ABTS foi pela reação do ABTS com persulfato de potássio 2,45 mM. Ambos foram colocados em frasco protegido com papel alumínio, em partes iguais. A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente por no mínimo 12 h e no máximo 16 h, protegida da luz. Após o tempo necessário, diluiu-se com etanol 96% até que a absorbância medida fosse 0,700 nm ± 0,05 nm, em 734 nm.

Uma alíquota de 20 µL da amostra diluída (diluição 1:4 extrato:água destilada) foi pipetada em tubos de ensaio com tampa e cobertos com papel alumínio, em triplicata. Imediatamente após, foram adicionados 980 µL do radical ABTS. A mistura foi homogeneizada em vórtex por 5 seg. Após 6 min de reação, no escuro, foram realizadas as leituras em 734 nm. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Eppendorf Biopectrometer Kinetic), utilizando cubeta de 1 mL. O espectrofotômetro foi zerado com etanol 96% e a leitura do branco com radical ABTS.

O cálculo da porcentagem de inibição do radical foi realizado de acordo com a Equação 4 (BRAND-WILLIANS et al., 1995):

$$\% \text{ inibição} = \left(\frac{1-A_f}{A_0} \right) \cdot 100 \quad (4)$$

Sendo:

A₀: absorbância inicial

A_f: absorbância final

Branco: Etanol 96° P. A

3.4 Desenvolvimento de alimento funcional - sorvete

Para o desenvolvimento do sorvete funcional, foi utilizada a formulação padrão apresentada na Tabela 1. A *Spirulina* incorporada ao sorvete, pura ou microencapsulada, foi utilizada na concentração de 1%.

Tabela 1: Formulações para o desenvolvimento do sorvete

Ingredientes	Formulações			
	FP	FS	FSM	FSG
Leite integral (g)	300	300	300	300
Leite condensado (g)	240	240	240	240
Nata fresca (g)	230	230	230	230
<i>Spirulina</i> (g)	-	7,7	-	-
<i>Spirulina</i> microencapsulada com maltodextrina (g)	-	-	30,8	-
<i>Spirulina</i> microencapsulada com goma arábica (g)	-	-	-	30,8

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica.

Para o preparo do sorvete, o leite integral, o leite condensado e a nata foram batidos em batedeira por 15 min. Após o preparo do sorvete, foram adicionadas a *Spirulina* ou as microcápsulas, de acordo com a formulação. Após a adição da *Spirulina* ou das microcápsulas, o sorvete foi homogeneizado manualmente, visando evitar o rompimento da *Spirulina* e das microcápsulas.

3.4.1 Avaliação do sorvete com *Spirulina* encapsulada e não encapsulada

As análises químicas dos sorvetes foram realizadas no Laboratório de Fermentações do Centro de Pesquisa em Alimentação da Universidade de Passo Fundo, e seguiram os seguintes procedimentos metodológicos:

3.4.1.1 Determinação de gorduras pelo método de Gerber

Foram colocados nos butirômetros 10 mL de ácido sulfúrico, e 5 mL de cada amostra. Colocou-se 1 mL de álcool isoamílico. O butirômetro foi invertido algumas vezes, até que os 3 líquidos estivessem misturados homogeneamente. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1000-1200 rpm em centrífuga de Gerber e então colocadas em banho-maria por 5 min, com a rolha para baixo. A camada de gordura foi lida diretamente na escala do butirômetro e o resultado expresso em percentagem.

3.4.1.2 Determinação do teor de proteína

A determinação do teor de proteínas se baseou na determinação de nitrogênio, feita pelo processo de digestão Kjeldahl, composto por três etapas: digestão, destilação e titulação.

A amostra foi pesada, 0,5-1 g, em papel de seda e em seguida transferida para um balão de Kjeldahl. Adicionou-se 30 mL de ácido sulfúrico e cerca de 6 g do catalisador (sulfato de cobre + sulfato de potássio). A mistura foi aquecida até que a solução se tornasse azul-esverdeada e livre de material não digerido. Depois de resfriado, foram adicionados 250 mL de água destilada e 80 mL de hidróxido de sódio 40%.

Após a adição da água e do hidróxido, o balão foi ligado ao conjunto de destilação. A extremidade do refrigerante foi mergulhada em 25 mL de ácido bórico, adicionado de solução indicadora mista (vermelho de metila + verde de bromocresol) em frasco erlenmeyer 500 mL. A solução foi aquecida até que se obteve cerca de 150 a 200 mL do destilado. O destilado obtido foi titulado com ácido clorídrico 0,1M até a mudança de coloração para rosa (IAL, 2008). O teor de proteínas foi obtido pela Equação 5.

$$\frac{V \times 0,14 \times f}{P} = \text{proteína \% m/m} \quad (5)$$

Onde:

V: volume de ácido gasto na titulação

F: fator de correção para produtos lácteos (6,38)

P: quantidade de amostra em gramas

3.4.1.3 Densidade aparente

Para a determinação da densidade aparente, 10 g de amostra foram transferidas para uma proveta graduada. A densidade foi calculada dividindo-se a massa pelo volume do sorvete (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

3.4.1.4 Determinação de sólidos totais

A designação de sólidos totais é aplicada para o resíduo do material deixado no recipiente após a evaporação de uma amostra e secagem completa a uma temperatura definida. Os sólidos totais incluem: sólidos totais suspensos (porção dos sólidos totais retidos por um filtro de porosidade igual a 2,0 µm) e sólidos totais dissolvidos (porção que passa através do filtro).

Inicialmente, os cadinhos foram calcinados e transferidos para um dessecador até que atingissem a temperatura ambiente. Foram pesados (peso inicial) e em seguida foram pesados 3-5g de amostra de sorvete. Os cadinhos contendo as amostras foram colocados na estufa por 24 h (105°C) e em seguida colocados na mufla, à temperatura de 550°C, até que não aparecessem pontos escuros. Os cadinhos foram resfriados em dessecador novamente. Pesou-se até a obtenção de peso constante ou até que a diferença de peso fosse menor do que 4% da medida anterior (IAL, 2008). A quantidade de sólidos totais foi obtida utilizando a Equação 6.

$$\% \text{ sólidos} = \frac{(P_u - P_s)}{P_c} \times 1000 \quad (6)$$

Sendo:

Pu: peso do cadinho + amostra úmida

Ps: peso do cadinho + amostra seca

Pc: peso do cadinho calcinado

3.4.1.5 Determinação do pH

Para determinação do pH foi utilizado equipamento previamente calibrado (Digimed, modelo DM-22). Foram pesados 10 g da amostra em um béquer, diluídos em 100 mL de água (IAL, 2008).

3.4.1.6 Análise instrumental de cor

A cor das amostras obtidas foi avaliada através de um colorímetro, Color Quest II, HunterLab (EUA) calibrado para a cor branca. Para o cálculo das coordenadas de cor, foi estabelecido o iluminante D65, o ângulo de 10° para o observador e a escala de leitura colorimétrica empregada foi a do sistema de coordenadas cromáticas com base no espaço de cor CIELAB $L^*a^*b^*$, onde L^* mede a luminosidade tendo uma variação de branco (100) a preto (0). O parâmetro a^* é uma indicação de tonalidade na direção do verde se o seu valor for negativo ($-a^*$) e na direção do vermelho se o seu valor for positivo ($+a^*$). O b^* indica a tonalidade na direção do azul se o valor for negativo ($-b^*$) e na direção do amarelo se o valor for positivo ($+b^*$) (SANT'ANNA et al., 2013).

3.4.2 Resistência das formulações de sorvete ao derretimento

Para o teste de resistência ao derretimento, cerca de 30 g de cada amostra de sorvete foram utilizados. Cada bloco de sorvete foi colocado sobre peneira metálica, apoiada em um funil de vidro e então colocado sobre uma proveta de vidro (100 mL) por meio de um suporte. A proveta foi mantida sobre uma balança analítica para pesagem da massa derretida. A massa de sorvete derretida foi pesada até o término da amostra.

Foram estimados o tempo de queda da primeira gota (t_0), o tempo correspondente ao descongelamento de 10% da massa do sorvete (t_{10}), seguindo-se então o cálculo do fator tempo relativo de queda da primeira gota (TPG), definido pela Equação 7 (GELIN, et al, 1996).

$$TPG = T_0 / M \quad (7)$$

Sendo:

T_0 = Tempo médio de queda da primeira gota (s);

M = Massa da amostra (g).

3.4.3 Análise sensorial

Os provadores estavam cientes da importância dos testes, assegurando motivação e colaboração. O projeto passou pelo Comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo, número do protocolo 61923416.7.0000.5342, antes da realização dos testes sensoriais, sendo aprovado pela Comissão de Avaliação.

A análise sensorial foi feita no Laboratório de Análise Sensorial do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA) da Universidade de Passo Fundo. O público alvo foi adultos, maiores de 18 anos, recrutados aleatoriamente no Prédio L1.

Foram avaliados os atributos sensoriais de sabor, odor/aroma, textura, cor, aparência e impressão global dos sorvetes com *Spirulina* encapsulada e não encapsulada e do sorvete puro. O teste utilizado foi o de aceitabilidade. É um teste afetivo que expressa o “gostar ou desgostar” do provador. A escala utilizada foi balanceada, com igual número de categorias positivas e negativas. O termo de consentimento, a aleatorização das amostras e a ficha de avaliação da aceitabilidade são apresentados nos apêndices A, B e C, respectivamente.

A aceitabilidade das formulações elaboradas foi verificada por metodologia proposta por Damasio e Silva (1996). O critério de decisão para boa aceitação é igual ou superior a

70% (DUTCOSKY, 1996). O Índice de Aceitabilidade (IA) foi calculado para os atributos avaliados. Para o cálculo do IA do produto foi utilizada a fórmula: $IA (\%) = A \times 100 / B$, na qual, A= nota média obtida para o produto e B= nota máxima dada ao produto. O IA com boa repercussão tem sido considerado $\geq 70\%$ (MONTEIRO, 1984; DUTCOSKY, 2007). Para a realização do teste, foram utilizados 50 provadores, cada provador experimentou as 4 amostras. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias.

O teste de atitude de compra foi proposto para avaliação da intenção de compra do sorvete, se o mesmo estivesse disponível ao consumidor. O teste foi realizado através de uma escala de cinco pontos, na qual os julgadores assinalaram a intenção de compra do produto (DUTCOSKY, 1996).

Além do teste de aceitabilidade e de intenção de compra, os participantes desta análise responderam a um questionário contendo atributos sensoriais para descrever as amostras, utilizando a metodologia CATA, “*Check All That Apply*” (Cheque tudo que se aplica).

Os questionários CATA estão entre as abordagens rápidas introduzidas na análise sensorial (MEYNER; CASTURA, 2014). Uma lista pré-definida de descritores sensoriais é apresentada e os provadores são instruídos a selecionar as que se aplicam àquela determinada amostra. É uma metodologia de fácil implementação, sendo considerada pelos consumidores como sendo fácil e não tediosa de concluir (ARES et al., 2014; JAEGER; ARES, 2014; JAEGER et al., 2013). Para caracterizar os sorvetes elaborados, foram utilizados termos relacionados aos atributos sensoriais relacionados ao sorvete de creme e aos sorvetes contendo *Spirulina* (JAEGER et al., 2015, SILVA, V.M., 2014, CADENA et al., 2013).

A apresentação das amostras foi monádica, utilizando luz branca. Entre os testes, foi disponibilizada água para os participantes realizarem a limpeza da cavidade oral entre as degustações das amostras. A análise dos dados do teste sensorial CATA foi realizada através de análise estatística multivariada (Análise de Componentes Principais) através do Software Statistica 7.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram apresentados em 3 etapas: caracterização das microcápsulas de *Spirulina*, estabilidade térmica das microcápsulas e desenvolvimento do sorvete, onde são apresentadas as formulações, os ensaios de composição físico-química e a análise sensorial.

4.1 Caracterização das microcápsulas

4.1.1 Solubilidade

Os valores de solubilidade da *Spirulina platensis*, da maltodextrina 20DE e da goma arábica variaram entre 0,16% e 46,51%. A Tabela 2 apresenta os valores obtidos.

Tabela 2: Resultados do teste de solubilidade em diferentes solventes

	<i>Spirulina</i> *	Goma Arábica*	Maltodextrina*
Álcool Etílico	1,30% ± 0,03 ^a	0,16% ± 0,23 ^a	0,08% ± 0,00 ^a
Acetona	0,16% ± 0,23 ^a	0,26% ± 0,03 ^a	0,02% ± 0,03 ^a
Hexano	0,75% ± 0,22 ^a	0,52% ± 0,06 ^a	0,44% ± 0,11 ^a
Benzeno	0,65% ± 0,26 ^a	0,22% ± 0,14 ^a	0,48% ± 0,34 ^a
Clorofórmio	5,26% ± 0,79 ^b	1,07% ± 0,56 ^a	16,88% ± 3,10 ^b
Água destilada	22,35% ± 0,23 ^c	80,13% ± 0,56 ^b	88,02% ± 0,49 ^c

*Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autor (2017)

Os encapsulantes utilizados apresentaram alta solubilidade em água. Os polissacarídeos possuem uma forte afinidade com a água e a maioria se hidrata facilmente quando ela está disponível (DAMODARAN, PARKIN; FENNEMA, 2010).

A solubilidade está diretamente relacionada à reconstituição dos pós. Sendo assim, a alta solubilidade mostra o potencial como ingrediente em produtos alimentícios, tais como bebidas e preparados instantâneos (BICUDO, 2014, TOSONI; RODRIGUES, 2013).

Cano-Chauca et al. (2005) obtiveram valores de solubilidade maiores que 90% no suco de manga atomizado com maltodextrina e goma arábica. Moreira (2007) estudou a secagem do extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola com maltodextrina e goma de cajueiro, concluindo que todos os pós apresentavam boa solubilidade, variando entre 90,97 % e 96,92 %

Propriedades como umidade e atividade de água são essenciais para a estabilidade e o armazenamento dos pós, enquanto a solubilidade está diretamente relacionada à sua reconstituição, sendo assim, a alta solubilidade das microcápsulas revelam seu potencial como ingrediente em produtos alimentícios, tais como bebidas e preparados instantâneos (BICUDO, 2014; TOSONI; RODRIGUES, 2013).

Os resultados obtidos justificam o uso do hexano no teste de eficiência de encapsulação. Por serem insolúveis nesse solvente, as microcápsulas permaneceram intactas e puderam ser quantificadas.

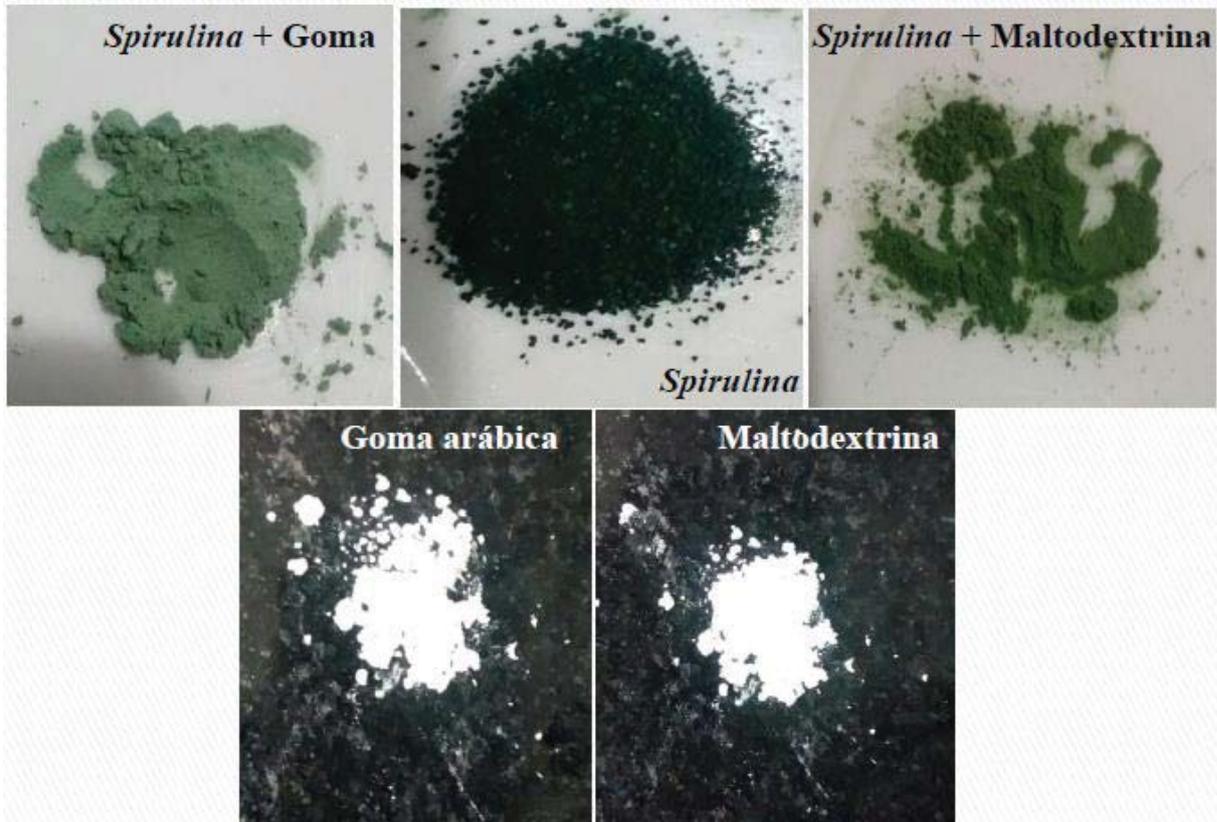
4.1.2 Eficiência de encapsulação (EE)

Na microencapsulação da *Spirulina* com maltodextrina, a EE foi de $89\% \pm 0,34$ e para a microencapsulação de *Spirulina* com goma arábica, obteve-se $85\% \pm 0,55$ de eficiência de encapsulação. Esses resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Rutz (2013), que utilizou diferentes encapsulantes e obteve a maior EE com maltodextrina (85%). Outros trabalhos (ROBERT et al., 2010; TONON et al., 2009) atingiram 86,6% e 82% de EE, respectivamente. Rodriguez-Huezo et al. (2014) encontraram até 87,5% EE por *spray-drying*, encapsulando emulsões de carotenoides em goma arábica. A eficiência de encapsulação varia entre 70 e 85% utilizando secagem em *spray-dryer*, independente dos parâmetros do processo (SILVA, et al., 2003). Devido às vantagens da maltodextrina em relação à goma arábica (tais como solubilidade elevada, baixa viscosidade e menor custo), a maltodextrina tem sido foco de diversas pesquisas para substituição do encapsulante na encapsulação por *spray-dryer* (KRISHNAN et al., 2005).

4.1.3 Análise morfológica

A Figura 4 apresenta as microcápsulas, encapsulantes e a *Spirulina* utilizados nas formulações de sorvete.

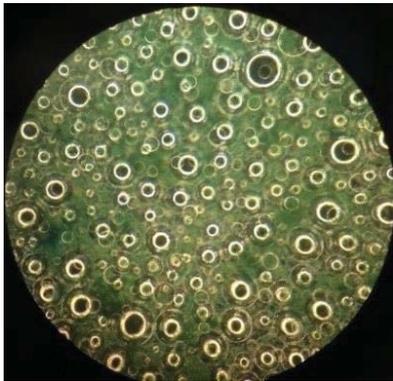
Figura 4: Microcápsulas, encapsulantes e *Spirulina platensis*



Fonte: Autor (2017)

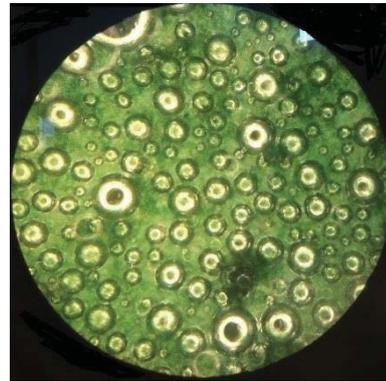
Na etapa de produção das microcápsulas, após a primeira etapa de homogeneização da suspensão em agitador magnético, estas foram analisadas em microscópio óptico, com aumento de 100X, para verificação da formação das microcápsulas. Após a etapa de agitação em Turrax, novas alíquotas foram retiradas para nova análise. As Figuras 5 a 8 mostram a análise morfológica das microcápsulas de maltodextrina e goma arábica. As Figuras apresentam as microcápsulas formadas, que posteriormente foram secas no *spray-dryer*.

Figura 5: *Spirulina* encapsulada com goma arábica, em aumento de 100X após agitador



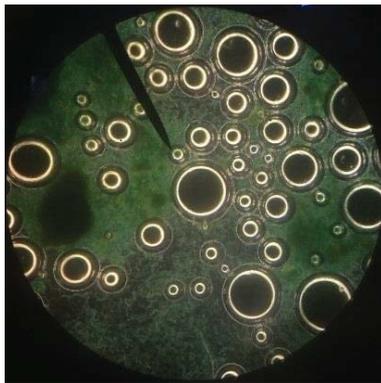
Fonte: Autor (2017)

Figura 6: *Spirulina* encapsulada com goma arábica, em aumento de 100X após Turrax



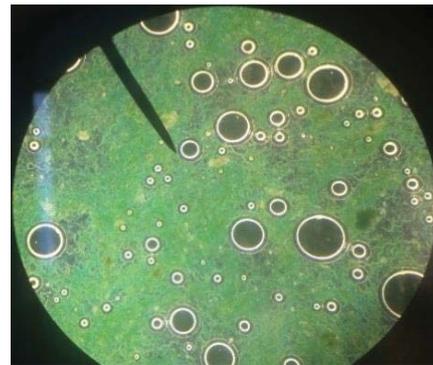
Fonte: Autor (2017)

Figura 7: *Spirulina* encapsulada com maltodextrina, em aumento de 100X após agitador



Fonte: Autor (2017)

Figura 8: *Spirulina* encapsulada com maltodextrina, em aumento de 100X após Turrax



Fonte: Autor (2017)

Todas as microcápsulas avaliadas foram produzidas utilizando *spray-dryer*, nas mesmas condições de formulação e secagem.

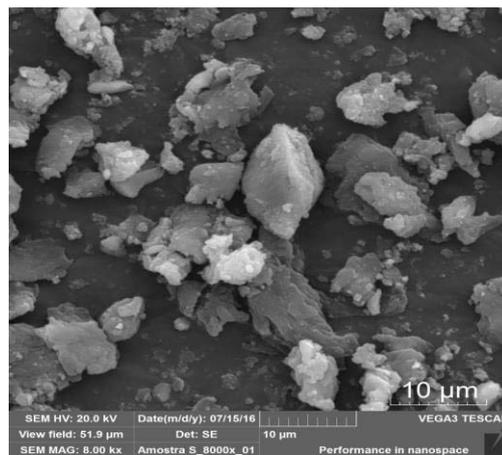
A Figura 9 apresenta a análise morfológica da biomassa de *Spirulina platensis*. O tamanho das partículas apresenta-se heterogêneo.

As Figuras 10 e 11 apresentam, respectivamente, a análise morfológica das microcápsulas de *Spirulina platensis* encapsuladas com goma arábica e as microcápsulas de goma arábica. As microcápsulas apresentaram formas arredondadas ou levemente abauladas e não apresentaram rachaduras (Figura 10). As cápsulas de goma arábica apresentaram características semelhantes, tamanho heterogêneo, microcápsulas arredondadas ou levemente abauladas e sem rachaduras (Figura 11).

As Figuras 12 e 13 apresentam, respectivamente, a análise morfológica das microcápsulas de *Spirulina platensis* encapsuladas em maltodextrina e as cápsulas de

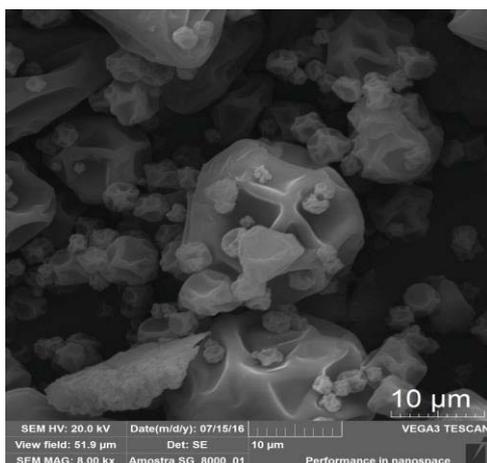
maltodextrina sem a microalga. As microcápsulas são predominantemente arredondadas, com aspecto liso e sem rachaduras. A Figura 13 apresenta a análise morfológica da microcápsula de maltodextrina 20DE. As microcápsulas são predominantemente arredondadas, com aspecto liso e sem rachaduras.

Figura 9: Análise morfológica da *Spirulina platensis* através do MEV, em aumento de 8000X



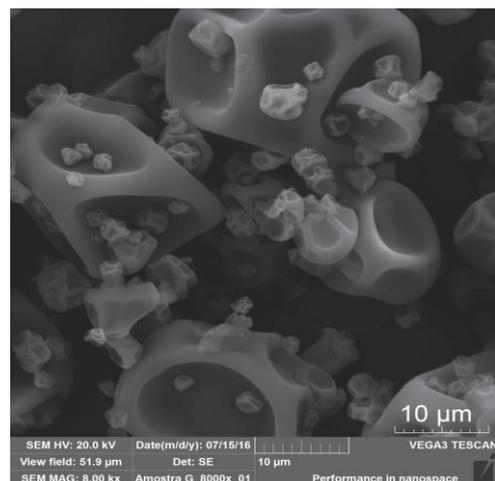
Fonte: Autor (2016)

Figura 10: Análise morfológica da microcápsula de *Spirulina platensis* e goma arábica através do MEV, em aumento de 8000X



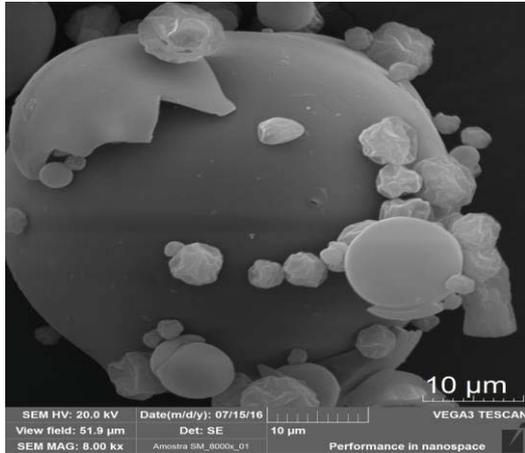
Fonte: Autor (2016)

Figura 11: Análise morfológica da microcápsula de goma arábica através do MEV, em aumento de 8000X



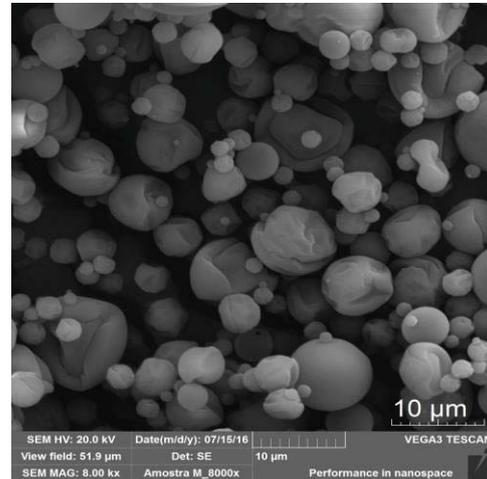
Fonte: Autor (2016)

Figura 12: Análise morfológica da microcápsula de *Spirulina platensis* e maltodextrina 20DE através do MEV, em aumento de 8000X



Fonte: Autor (2016)

Figura 13: Análise morfológica da microcápsula de maltodextrina 20DE através do MEV, em aumento de 8000X



Fonte: Autor (2016)

Tendo como base as imagens do microscópio eletrônico, pode-se verificar uma grande variação no tamanho de todas as cápsulas. Um dos fatores que pode ter contribuído para esta ocorrência é o fato do pó de *Spirulina* (Figura 9) também ser muito heterogêneo.

A heterogeneidade do tamanho das cápsulas pode ser interessante quando se considera o armazenamento do pó, uma vez que as partículas menores podem penetrar nos espaços presentes entre as partículas maiores, ocupando menos espaço (TONON et al., 2009).

A presença de partículas de menor tamanho pode ser atribuída às partículas que não conseguiram formar cápsulas, enquanto a presença de partículas de maior tamanho pode ser atribuída a um possível início de processo de aglomeração, onde ocorre a formação de pontes de ligação irreversíveis entre as partículas e, conseqüentemente, a formação de partículas maiores (RODRIGUES, 2004).

4.1.4 Tamanho de partícula (Zetasizer)

Os dados apresentados na Tabela 3 são o diâmetro médio, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (PZ) das suspensões de microcápsulas a 10%.

Tabela 3: Resultados de PZ, PDI e tamanho obtidos no Zetasizer

Amostra	PZ (mV)*	PDI*	Diâmetro (μm)*
<i>Spirulina</i> pura	-25,47 \pm 0,46 ^a	0,07 \pm 0,03 ^a	0,39 \pm 0,005 ^a
Cápsulas Maltodextrina	-17,9 \pm 1,42 ^b	0,13 \pm 0,05 ^a	0,47 \pm 0,010 ^a
<i>Spirulina</i> + maltodextrina	-41,27 \pm 2,35 ^c	0,75 \pm 0,43 ^b	6,24 \pm 0,68 ^b
Goma arábica	-47,07 \pm 2,18 ^d	0,84 \pm 0,15 ^b	2,59 \pm 1,95 ^a
<i>Spirulina</i> + goma arábica	-52,93 \pm 3,03 ^e	0,82 \pm 0,21 ^b	3,44 \pm 1,70 ^{ab}

*Resultados Média \pm Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As medidas caracterizaram o processo como microencapsulação, pela formação de cápsulas com diâmetros entre 0,2 a 5000 μm (BARROS; STRINGHETA, 2006). Para o diâmetro, não houve diferença significativa entre as cápsulas de controle e a *Spirulina*. Entre as microcápsulas contendo *Spirulina* houve diferença. Entre as microcápsulas controle e as cápsulas com *Spirulina* houve diferença significativa ao nível de 5%.

O PDI indica quanto o tamanho da partícula desviou a média, ou seja, quanto mais baixo o PDI mais uniforme é a amostra. O PZ determina a força repulsiva entre as partículas. Quanto maior o valor, em módulo, maior a repulsão entre as partículas, o que evita sua aglomeração e aumenta a estabilidade da suspensão.

Com relação ao PDI, a amostra mais homogênea foi a de *Spirulina* pura. A *Spirulina* havia sido triturada e peneirada para homogeneização do tamanho antes da produção das cápsulas. A goma arábica produziu microcápsulas de tamanhos variados, com e sem *Spirulina*, o PDI encontrado foi alto. A maltodextrina apresentou PDI baixo nas cápsulas de controle e alto quando associada à *Spirulina*. Não houve diferença significativa entre as microcápsulas com *Spirulina*.

Todas as amostras foram estatisticamente diferentes com relação ao PZ.

4.1.5 Ensaios de extração do bioativo responsável pelo potencial antioxidante

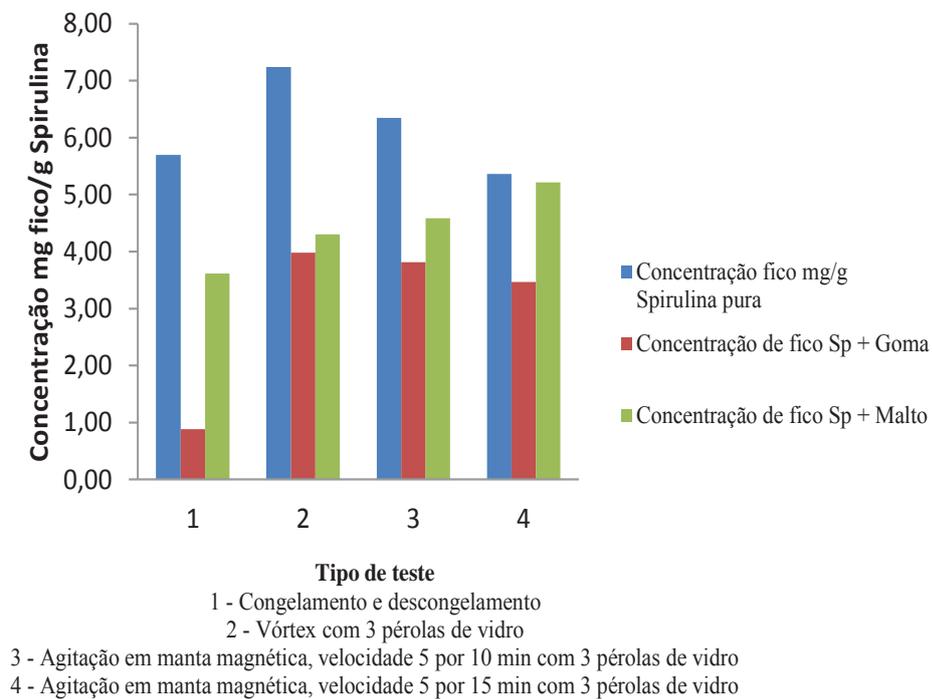
A extração da ficocianina por congelamento e descongelamento mostrou-se mais eficiente para a *Spirulina* pura. Houve grande diferença entre as diferentes microcápsulas na extração, sendo que nas microcápsulas de *Spirulina* com goma arábica, o congelamento/descongelamento não se mostrou uma técnica eficiente para a extração dos compostos antioxidantes do material encapsulado. Nestas cápsulas, o melhor método de extração foi utilizando agitação em vórtex com 3 pérolas de vidro

A extração com agitação na manta magnética por 10 min não foi eficaz para as amostras testadas. Entretanto, a extração com agitação na manta magnética por 15 min foi o

método mais eficaz para extração da ficocianina das microcápsulas de *Spirulina* e maltodextrina.

A Figura 14 mostra os resultados obtidos nos 4 testes, detalhadamente. Para efeito de comparação, foi feita a extração da ficocianina de *Spirulina* pura com os mesmos métodos de extração das cápsulas.

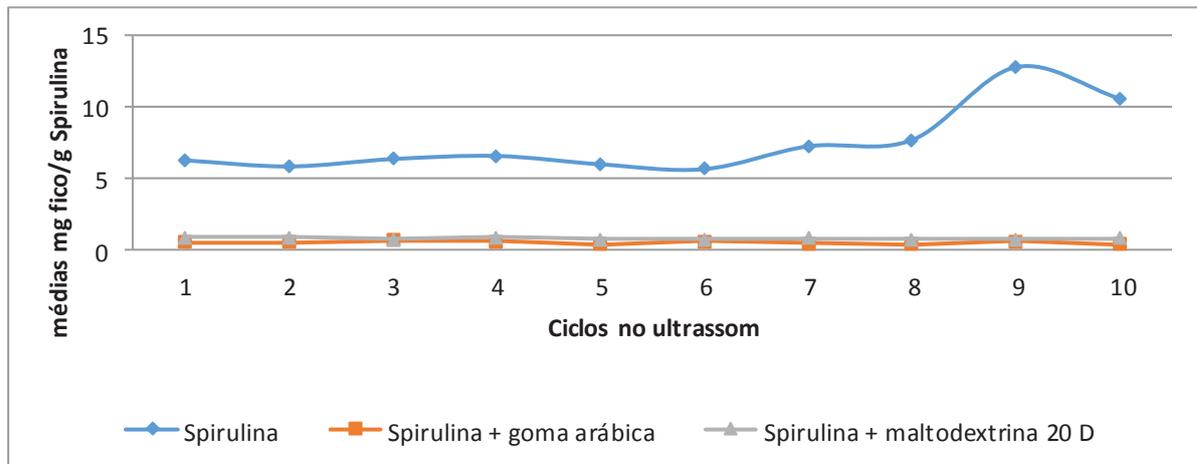
Figura 14: Resultados obtidos nos testes de extração do bioativo com potencial antioxidante para a *Spirulina* pura e microencapsulada em goma arábica e maltodextrina



Fonte: Autor (2017)

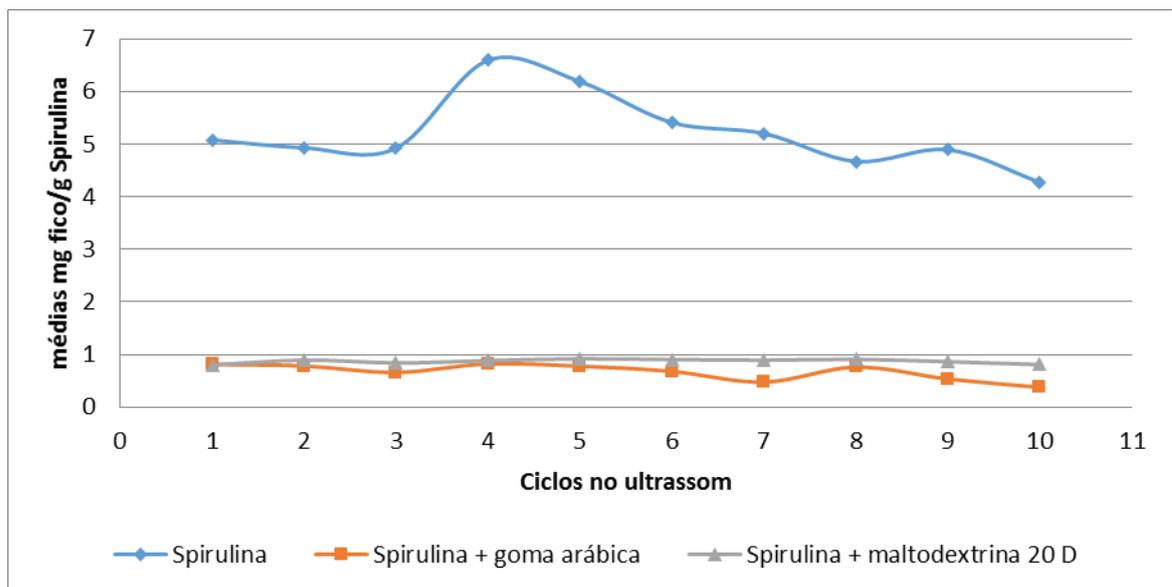
Os testes de extração da ficocianina por ultrassom e por ultrassom e vórtex não mostraram resultados satisfatórios para as microcápsulas, por este motivo não foram apresentados na Figura 14. Os métodos que utilizaram ultrassom mostraram-se eficientes para a extração da ficocianina da *Spirulina* pura em pó, como demonstram as Figuras 15 e 16.

Figura 15: Extração de ficocianina da *Spirulina* em pó e microencapsulada utilizando a técnica de ultrassom



Fonte: Autor (2017)

Figura 16: Extração de ficocianina da *Spirulina* em pó e microencapsulada utilizando a técnica de ultrassom+vórtex



Fonte: Autor (2017)

A Tabela 4 apresenta as extrações máximas de ficocianina obtidas nos testes realizados.

Tabela 4: Extração máxima de ficocianina por teste (mg ficocianina/g *Spirulina*)

	<i>Spirulina</i> (mg/g)*	<i>Spirulina</i> + Maltodextrina (mg/g)*	<i>Spirulina</i> + Goma (mg/g)*
1 - Congelamento e descongelamento	5,70 ± 0,18 ^{ab}	3,62 ± 0,08 ^b	0,89 ± 0,005 ^a
2 - Vórtex com 3 pérolas de vidro	7,24 ± 0,60 ^c	4,30 ± 0,07 ^c	3,98 ± 0,09 ^b
3 – Manta 10 min c 3 pérolas	6,30 ± 0,71 ^{bc}	4,58 ± 0,006 ^d	3,81 ± 0,09 ^b
4 – Manta 15 min c 3 pérolas	5,36 ± 0,28 ^a	5,20 ± 0,02 ^e	3,47 ± 0,15 ^c
5 – Ultrassom	12,81 ± 0,10 ^d	0,95 ± 0,05 ^a	0,72 ± 0,02 ^a
6 – Ultrassom + vórtex	6,59 ± 0,03 ^{abc}	0,92 ± 0,02 ^a	0,82 ± 0,05 ^a

*Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autor (2017)

Entre os 6 testes realizados, o mais efetivo para extração da ficocianina da *Spirulina* foi o ultrassom (9 ciclos). Para a *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina 20DE, o melhor teste foi a extração em manta por 15 min. Para a *Spirulina* microencapsulada com goma arábica, o melhor foi o teste de vórtex com 3 pérolas de vidro.

Como vantagem destas técnicas em relação à técnica de congelamento e descongelamento, destaca-se a redução do tempo de extração, já que a extração por congelamento e descongelamento é um processo com duração aproximada de 18 h.

4.1.6 Atividade de água

A atividade de água (A_w) é importante para a vida de prateleira dos pós. Os valores de atividade de água variaram entre 0,084 e 0,652 para a goma arábica e 0,110 e 0,405 para a maltodextrina 20DE. Os resultados estão na Tabela 5.

Tabela 5: Atividade de água das matérias-primas e microcápsulas

Amostras	Atividade de água*
Maltodextrina 20 DE pó	0,405 ± 0,007 ^e
Goma arábica pó	0,652 ± 0,0007 ^b
<i>Spirulina platensis</i>	0,648 ± 0,0007 ^b
Maltodextrina 20 DE cápsula	0,110 ± 0,002 ^a
<i>Spirulina</i> + Maltodextrina 20 DE	0,138 ± 0,002 ^d
Goma arábica cápsula	0,084 ± 0,0007 ^c
<i>Spirulina</i> + goma arábica	0,112 ± 0,002 ^a

*Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A maltodextrina 20 DE apresentou a maior atividade de água de 0,405. Após a secagem no spray, a Aw reduziu consideravelmente nas cápsulas de maltodextrina 20 DE e nas cápsulas de maltodextrina 20 DE com *Spirulina*. O valor reduzido de Aw indica baixa disponibilidade de água para reações químicas e crescimento microbiano, o que é favorável para produtos desidratados (QUEK et al., 2007).

Quek et al. (2007) realizaram secagem de suco de melancia com maltodextrina no *spray dryer*. A Aw variou entre 0,20 e 0,29. Neste trabalho, os autores atribuíram a baixa Aw à maltodextrina.

A goma arábica apresentou a maior atividade de água, quando comparada à goma arábica cápsula e goma arábica com *Spirulina*. Quando a atividade de água é alta, existe maior quantidade de água livre para ocorrência de reações bioquímicas, diminuindo o prazo de validade. A água contida nos alimentos é comumente retirada, a fim de reduzir custos de armazenamento e diminuir a Aw para garantir a estabilidade microbiológica do produto (NUNES, 2014).

As microcápsulas de *Spirulina* apresentam valores semelhantes de Aw porém significativamente diferentes entre os encapsulantes. Os valores de Aw corroboraram os de Costa et al. (2013). Os autores estudaram microcápsulas de óleo essencial de orégano com diferentes materiais encapsulantes e encontraram valores variando 0,130 e 0,170. Outros autores (BOTREL et al., 2012) também avaliaram Aw em microcápsulas de óleo essencial de orégano em diferentes condições de secagem por atomização, obtendo resultados semelhantes, Aw entre 0,061 e 0,159.

4.1.7 Espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR)

A FTIR foi utilizada para esclarecer os compostos orgânicos e inorgânicos presentes nas amostras.

As amostras de *Spirulina*, *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina e com goma arábica e as microcápsulas de maltodextrina e de goma arábica foram submetidos à análise na FTIR. As Figuras 17 a 19 apresentam os espectros obtidos.

Tanto a maltodextrina quanto a goma arábica apresentaram bandas bem pronunciadas em torno de 1000 cm^{-1} . Apresentam bandas que são atribuídas às ligações C-O e à deformação angular das ligações =CH e =CH₂. Todas essas ligações são provenientes de grupos químicos presentes nos carboidratos e lipídeos. A diferença na intensidade das bandas está relacionada à quantidade do componente na amostra (COMUNIAN, et al., 2016).

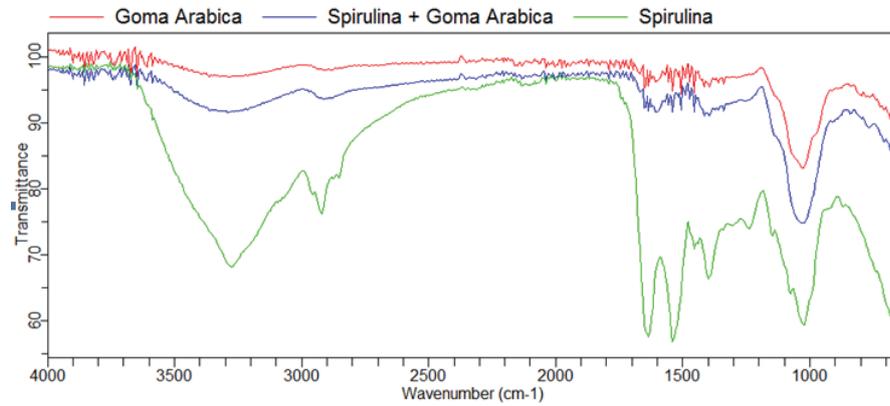
A FTIR da *Spirulina* também apresentou banda em torno de 1000 cm^{-1} que conforme mencionado anteriormente, representa bandas atribuídas às ligações C-O e à deformação angular das ligações =CH e =CH₂. Todas essas ligações são provenientes de grupos químicos presentes nos carboidratos e lipídeos.

As bandas 1290 e 1400 cm^{-1} indicam a presença de compostos nitrogenados, assim como as bandas entre 1475 e 1550 cm^{-1} . Entre 1640 e 1680 cm^{-1} estão os alquenos. As bandas localizadas entre 2500 e 3300 cm^{-1} indicam a presença de ácidos carboxílicos. Bandas entre 3200 e 3500 cm^{-1} indicam a presença de álcoois e fenóis. Esses dados indicam que a *Spirulina* possui grande quantidade de proteínas, vitaminas e substâncias antioxidantes (THEIVANDRAN, et al., 2015).

A FTIR das microcápsulas de *Spirulina* é muito semelhante à FTIR dos encapsulantes. O fato dos espectros serem semelhantes sugere que a *Spirulina* foi envolvida pela maltodextrina e pela goma arábica no momento da microencapsulação (COMUNIAN, et al., 2013).

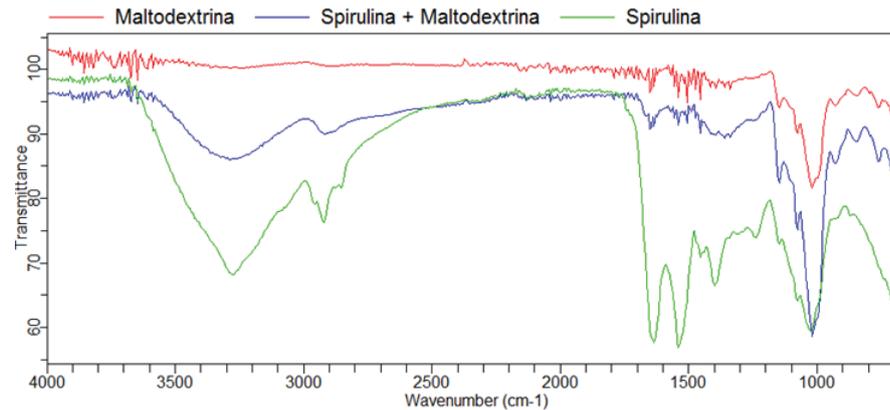
A *Spirulina* apresentou em sua composição bandas picos referentes à presença de proteínas (amida primária, amida secundária, ácidos carboxílicos), lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos. Picos semelhantes foram verificados por Fang et al. (2011) para a microalga *Spirulina platensis*.

Figura 17: FTIR das cápsulas de *Spirulina* e goma arábica



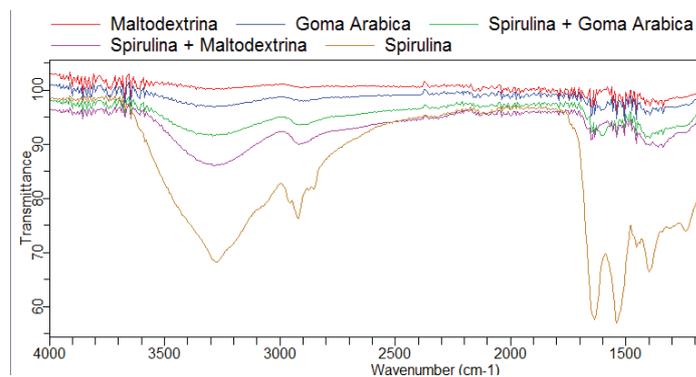
Fonte: Autor (2017)

Figura 18: FTIR das cápsulas de *Spirulina* e maltodextrina



Fonte: Autor (2017)

Figura 19: FTIR das cápsulas de *Spirulina* e maltodextrina e *Spirulina* e goma arábica



Fonte: Autor (2017)

4.2 Estabilidade das microcápsulas

4.2.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A estrutura nativa das proteínas é estabilizada por forças moleculares internas, reduzidas com o aumento da temperatura. Desta forma, acima de determinada temperatura, ocorre uma transição do tipo ordem-desordem, quando as proteínas são desenroladas, ocorrendo um fenômeno conhecido como desnaturação (FURUKAWA, et al., 2004).

A DSC pode ser usada para avaliação do comportamento térmico, observando eventos de fusão, desnaturação e degradação da amostra (GILL, et al., 2010). A temperatura pico é considerada a temperatura de desnaturação da amostra (HE, et al., 2013).

As amostras de *Spirulina*, *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina e com goma arábica e as microcápsulas de maltodextrina e de goma arábica, quando submetidas à DSC, apresentaram os resultados apresentados na Tabela 5, sendo temperatura inicial (Ti), temperatura pico (Tp), temperatura final (Tf) e ΔH (entalpia). As Figuras 20 a 24 apresentam as curvas obtidas.

Tabela 6: Calorimetria exploratória diferencial das amostras de *Spirulina* não encapsulada e microencapsulada em maltodextrina e goma arábica

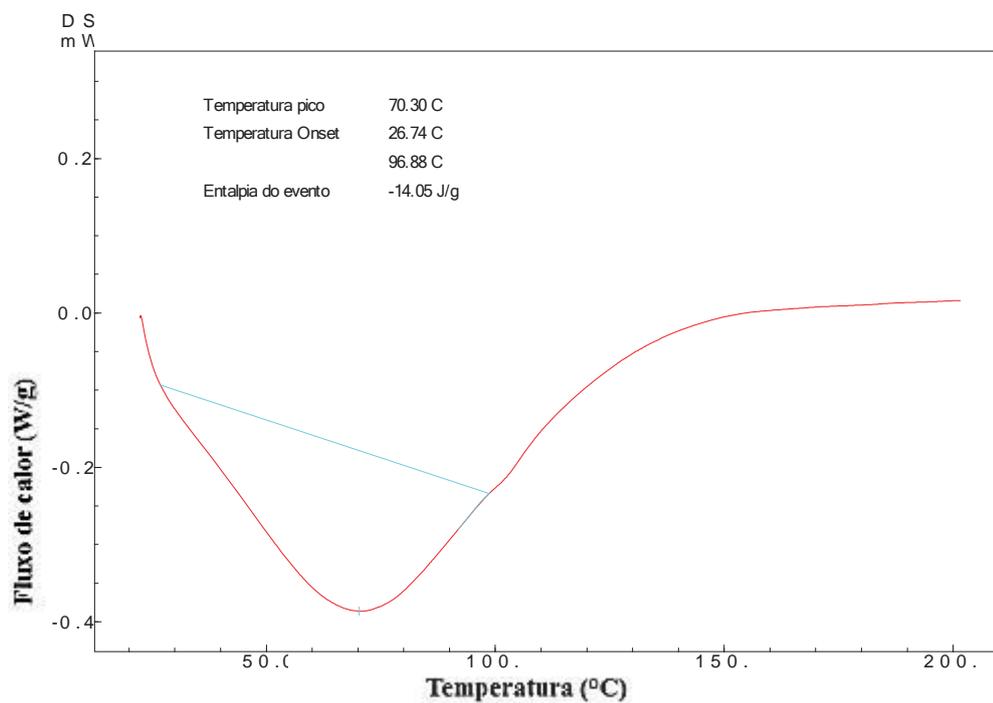
Tratamentos	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	ΔH (J/g)
<i>Spirulina platensis</i>	23,62	64,62	94,74	-12,05
Goma arábica cápsula controle	26,74	70,30	96,88	-14,05
Maltodextrina 20 DE cápsula controle	49,16	70,13	110,47	-7,53
<i>Spirulina</i> +goma arábica	45,27	68,89	97,98	-5,50
<i>Spirulina</i> +maltodextrina 20 DE	24,80	70,33	97,75	-5,39

Temperatura inicial (Ti), temperatura pico (Tp), temperatura final (Tf), ΔH (entalpia)

A *Spirulina* apresentou desnaturação quando a temperatura atingiu 64,62°C. Quando microencapsulada, tanto com maltodextrina quanto com goma arábica, as temperaturas de desnaturação aumentaram para em torno de 69°C e 70°C, respectivamente. Esse atraso no início da desnaturação significa que a microencapsulação protegeu a *Spirulina* do dano térmico e que não há incompatibilidade entre a *Spirulina* e os encapsulantes.

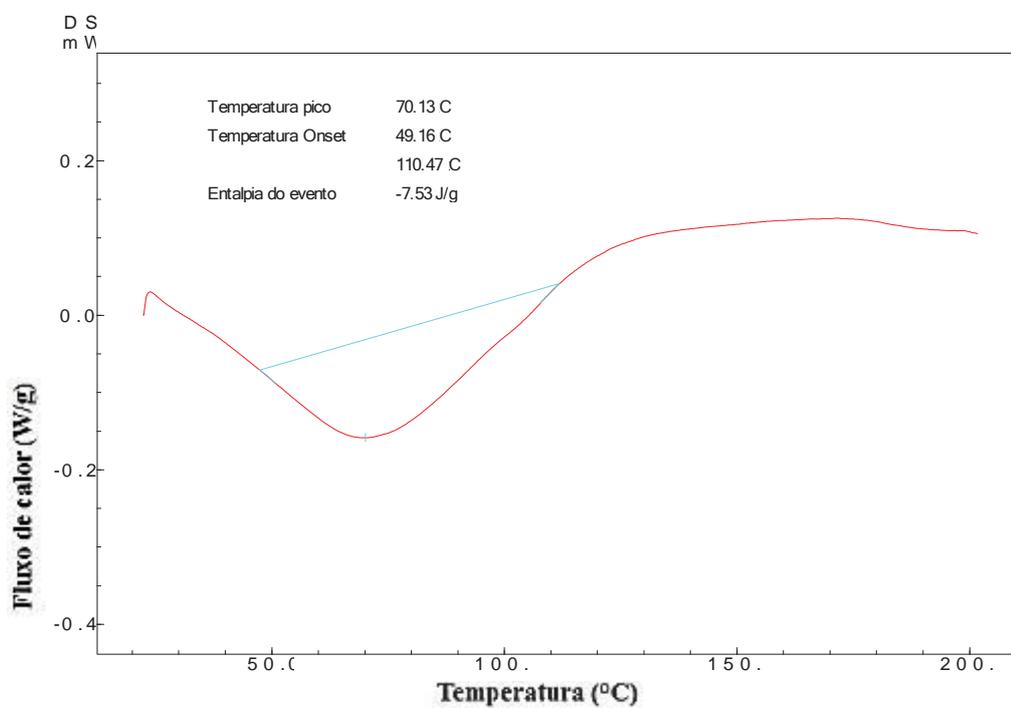
A entalpia de transição indica a energia necessária para que a desnaturação ocorra. As entalpias negativas indicam absorção de energia (MAHENDRA et al., 2015).

Figura 20: Termograma de DSC das cápsulas de goma arábica



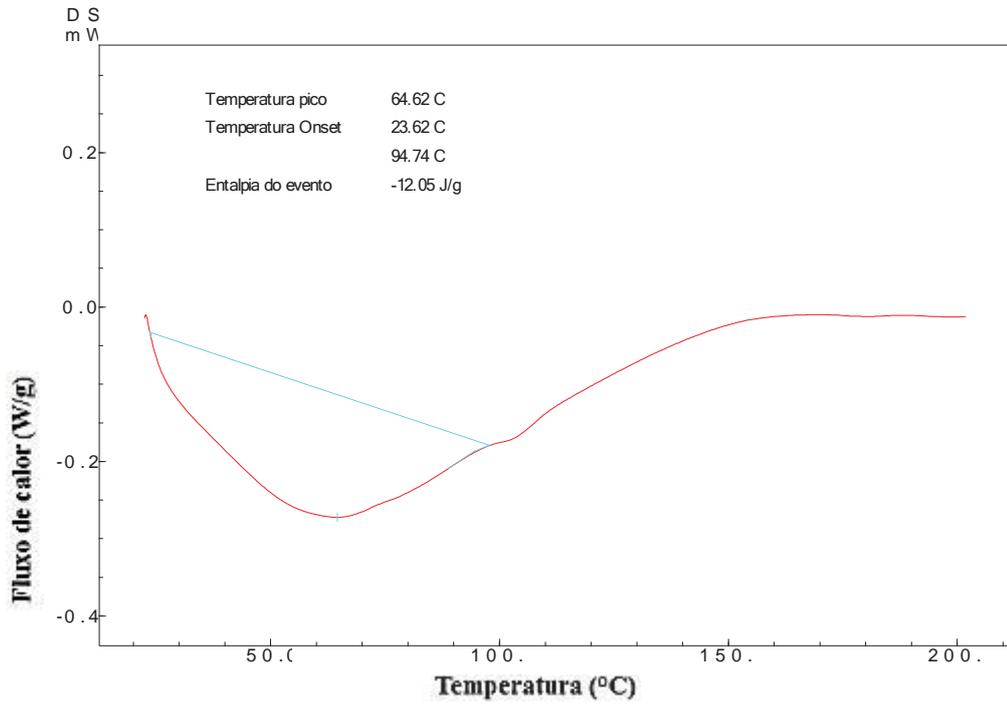
Fonte: Autor (2017)

Figura 21: Termograma de DSC das cápsulas de maltodextrina 20DE



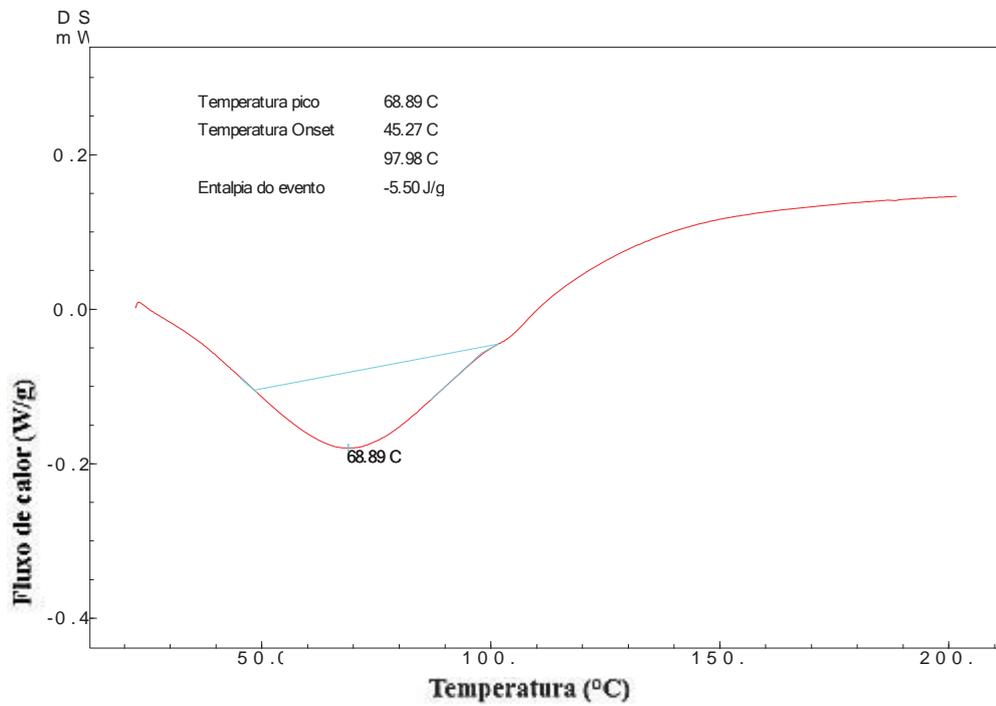
Fonte: Autor (2017)

Figura 22: Termograma de DSC das cápsulas da *Spirulina* pura



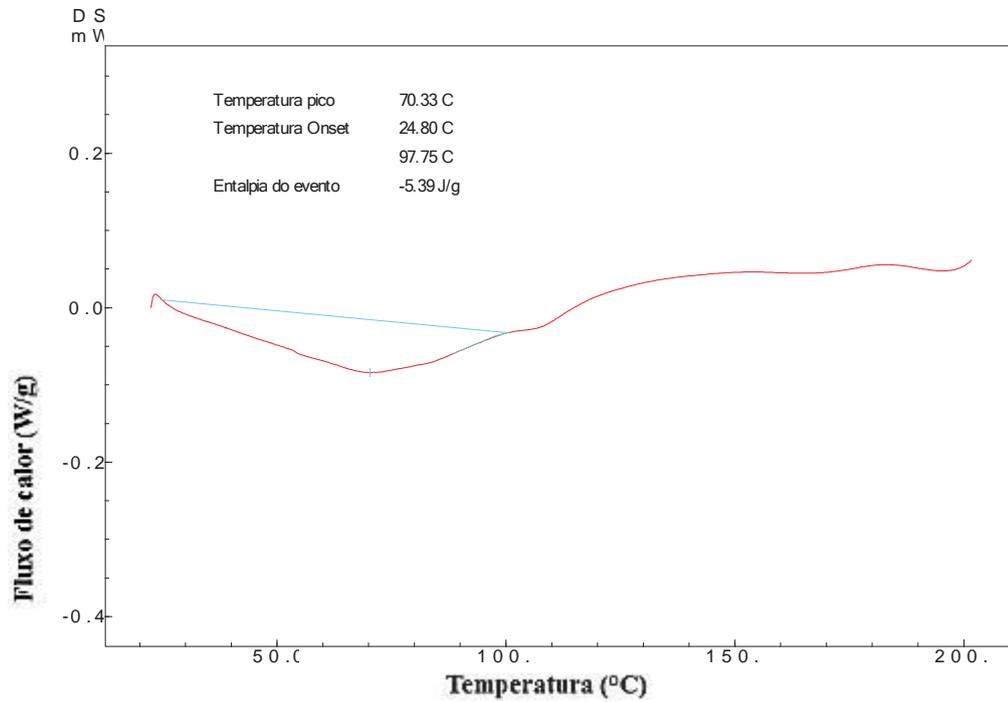
Fonte: Autor (2017)

Figura 23: Termograma de DSC da *Spirulina* microencapsulada com goma arábica



Fonte: Autor (2017)

Figura 24: Termograma de DSC da *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina 20 DE



Fonte: Autor (2017)

4.2.2 Análise termogravimétrica (TGA)

A TGA foi realizada utilizando temperaturas de 20°C a 600°C. As Figuras 25 a 29 mostram os gráficos evidenciando a perda de massa das amostras em função da temperatura.

O pontilhado apresenta a primeira derivada da TGA e a linha contínua indica a perda de massa da amostra, sua decomposição.

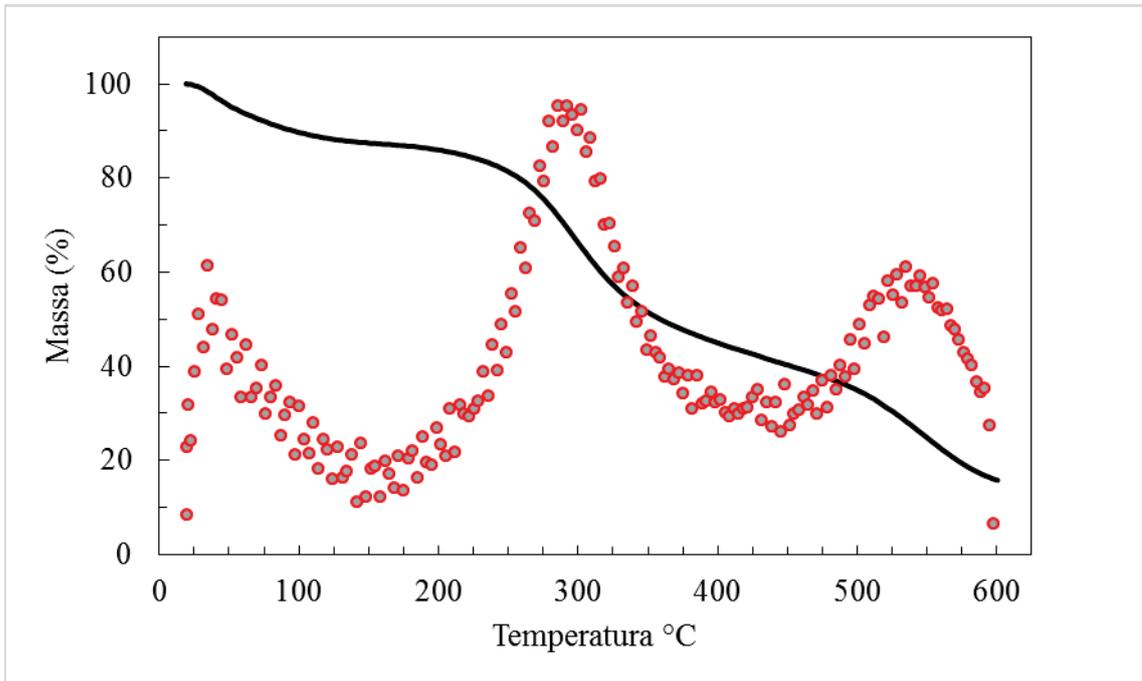
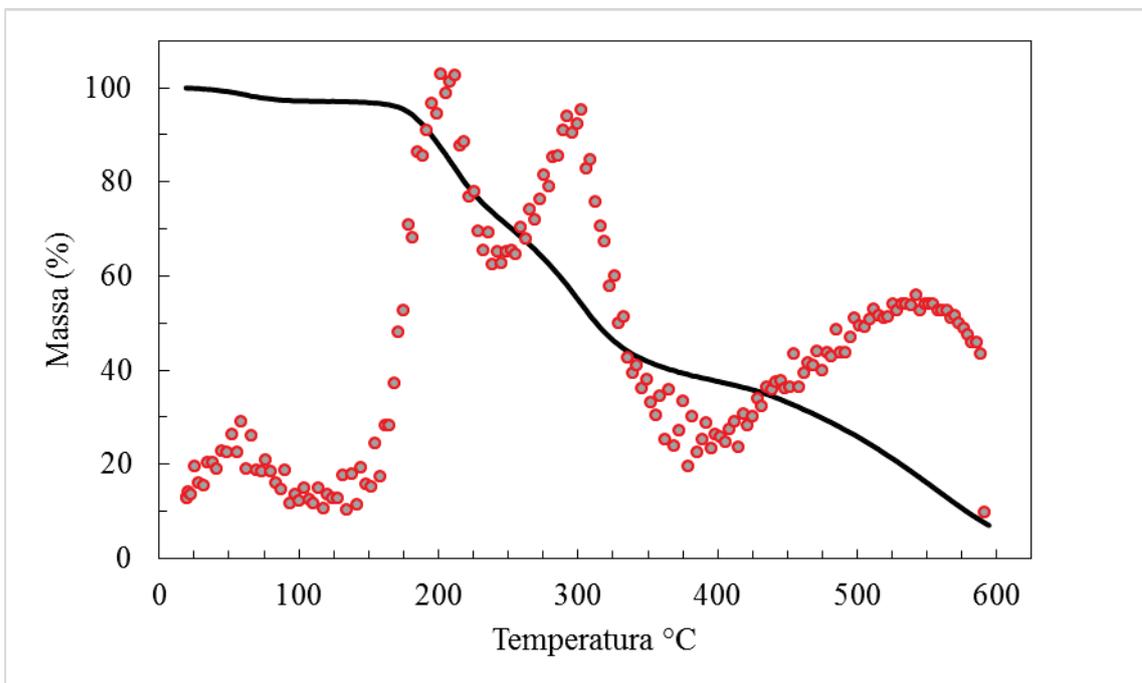
Figura 25: Análise termogravimétrica da *Spirulina*Figura 26: Análise termogravimétrica da microcápsula de *Spirulina* e maltodextrina

Figura 27: Análise termogravimétrica da microcápsula de maltodextrina

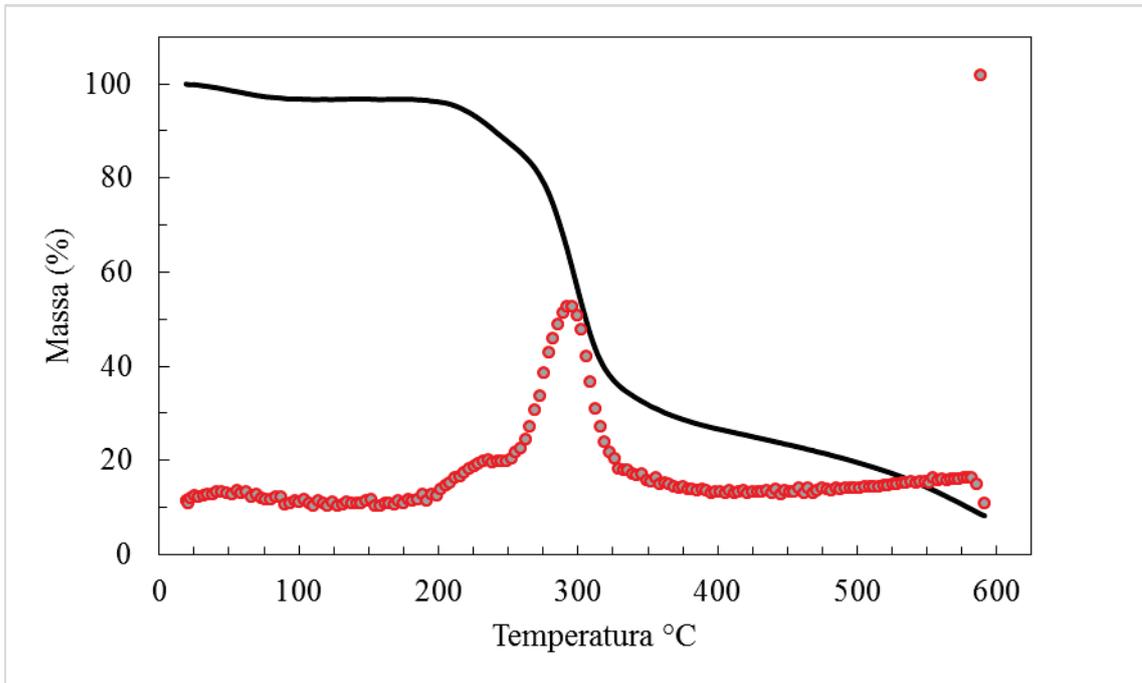
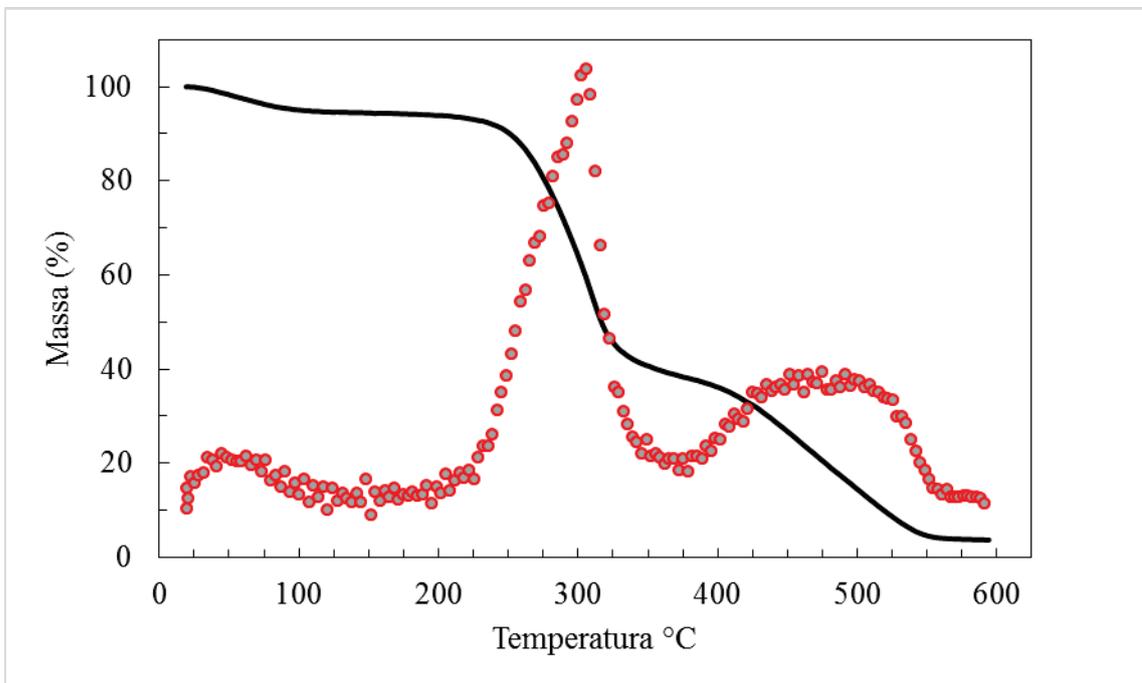
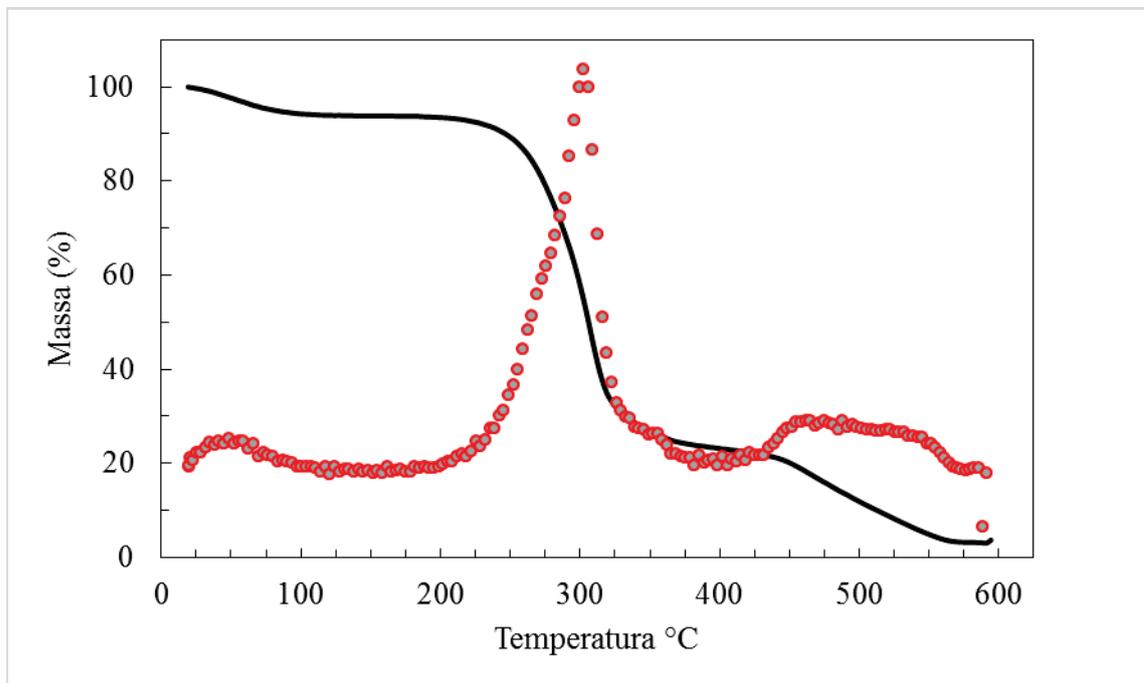
Figura 28: Análise termogravimétrica da *Spirulina* e goma arábica

Figura 29: Análise termogravimétrica da goma arábica



Os resultados da TGA confirmam os dados obtidos na DSC.

No TGA da *Spirulina*, Figura 25, ocorre perda de massa no início do aquecimento, observada no declínio da linha de base. Todas as microcápsulas perderam, nas temperaturas até 100°C, menos massa do que a *Spirulina*, o que indica proteção pela microencapsulação e aumento da estabilidade.

A goma arábica protegeu mais que a maltodextrina, já que a degradação começa em torno de 200°C (Figura 28). Nas microcápsulas de *Spirulina* com maltodextrina, a degradação começa em torno de 160°C (Figura 27).

As Figuras mostram a TGA da microcápsula de *Spirulina* e maltodextrina com 2 eventos principais em 200°C e 300°C. As TGAs da *Spirulina*, goma arábica, maltodextrina e microcápsula de *Spirulina* e goma arábica mostram eventos principais únicos em 300°C. Todas as amostras perderam mais de 85% da massa inicial. Entre as microcápsulas, a *Spirulina* em goma arábica perdeu mais massa, ficando com apenas 3,71% da massa inicial, contra 7,06% da *Spirulina* em maltodextrina. A *Spirulina*, ao final da análise, apresentou 15,83% da massa inicial.

4.2.3 Estudo da estabilidade térmica das microcápsulas

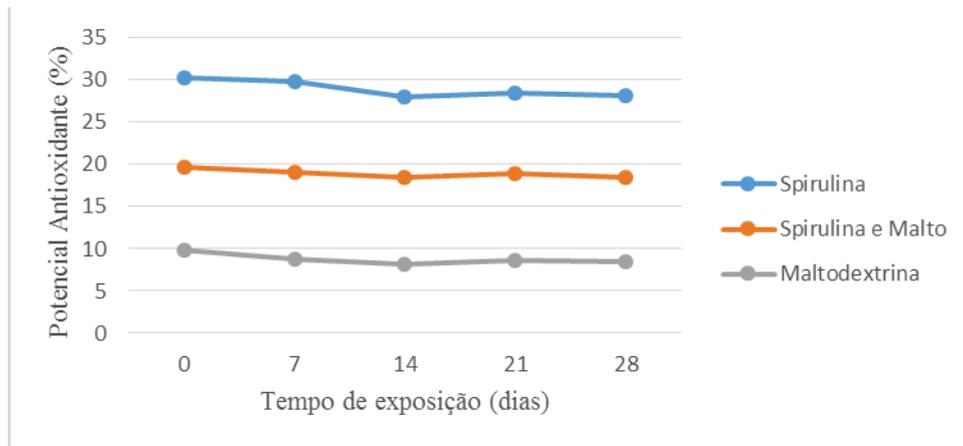
Entre as várias propriedades da *Spirulina platensis*, sua ação antioxidante proveniente da ficocianina é uma das mais importantes. Sabe-se que reações químicas como hidrólise e oxidação podem ocorrer de acordo com as condições ambientais às quais a microalga é exposta, interferindo diretamente na estabilidade dos compostos (BRASIL, 2005).

Neste contexto, foi feita a avaliação do comportamento da *Spirulina platensis* microencapsulada e não microencapsulada, bem como das cápsulas controle. A extração da ficocianina foi feita de acordo com os testes ótimos para cada agente encapsulante, extração no vórtex para a goma arábica e extração na manta magnética por 15 min para a maltodextrina. A medida do potencial antioxidante foi feita por ABTS.

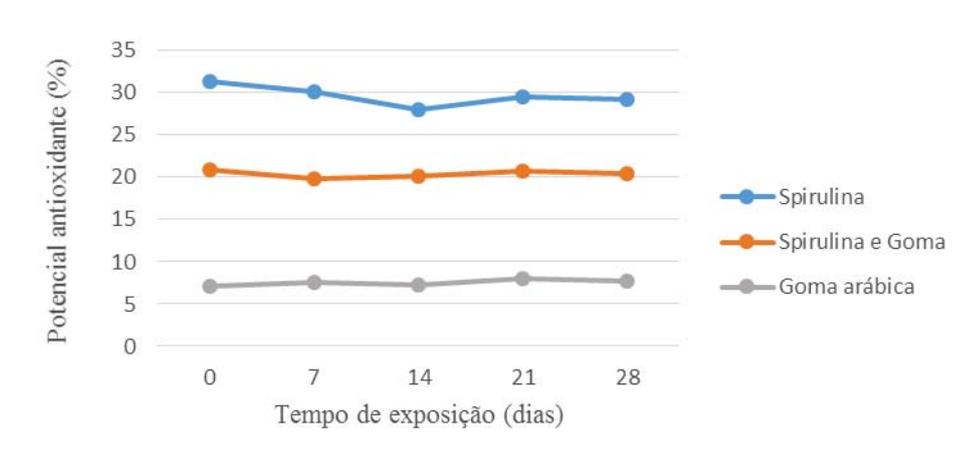
As microcápsulas foram testadas em diferentes temperaturas com o objetivo de observar o seu comportamento frente à temperatura após a sua produção. Nas indústrias alimentícia e farmacêutica é comum a utilização de processos térmicos na fabricação de diversos alimentos e medicamentos.

A Figura 30 apresenta a estabilidade do potencial antioxidante em relação à temperatura de -20°C durante 28 dias, verificando-se que o potencial antioxidante se manteve estável tanto nas microcápsulas quanto na *Spirulina* pura, indicando que nesta temperatura não há degradação do potencial antioxidante. As diferenças existentes entre os potenciais antioxidantes da *Spirulina* encapsulada e não encapsulada deve-se ao fato da não extração completa da ficocianina da *Spirulina* encapsulada, conforme verificado nos testes de extração. Embora tenha sido utilizado o método que melhor se adaptava a cada pó, a extração do potencial antioxidante da *Spirulina* pura foi sempre superior aos pós encapsulados. Entretanto, a Figura torna possível verificar-se que o potencial antioxidante se mantém ao longo do tempo de armazenamento sob congelamento, o que justifica a proposição de desenvolvimento de um produto como o sorvete.

Figura 30: Potencial antioxidante da *Spirulina* em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica, na temperatura de -20°C



(a)

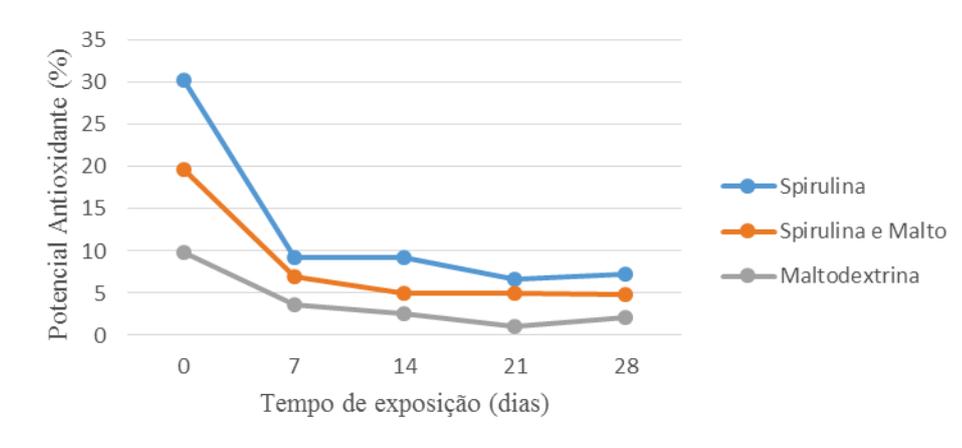


(b)

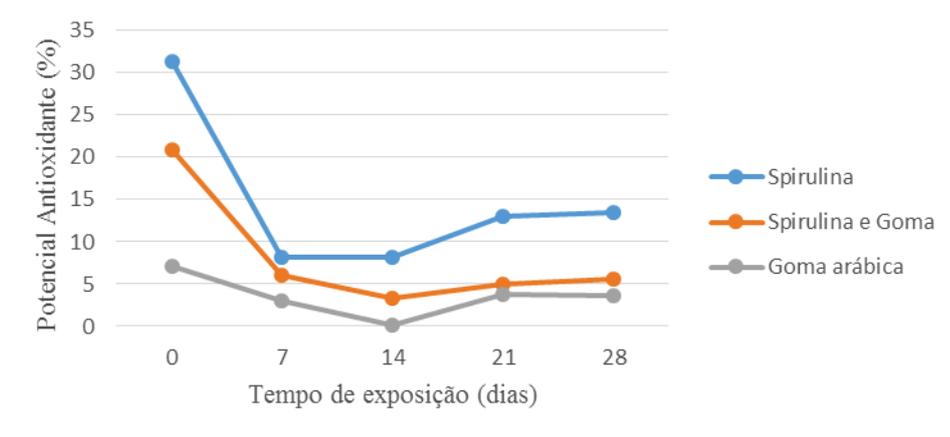
Fonte: Autor (2017)

A Figura 31 apresenta a estabilidade do potencial antioxidante na *Spirulina* em pó e nas microcápsulas na temperatura de 4°C durante 28 dias.

Figura 31: Potencial antioxidante da *Spirulina* em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica na temperatura de 4°C



(a)

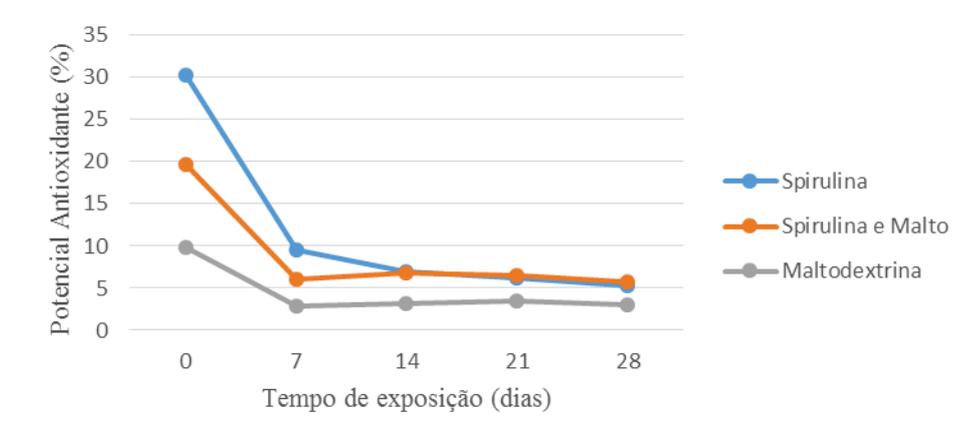


(b)

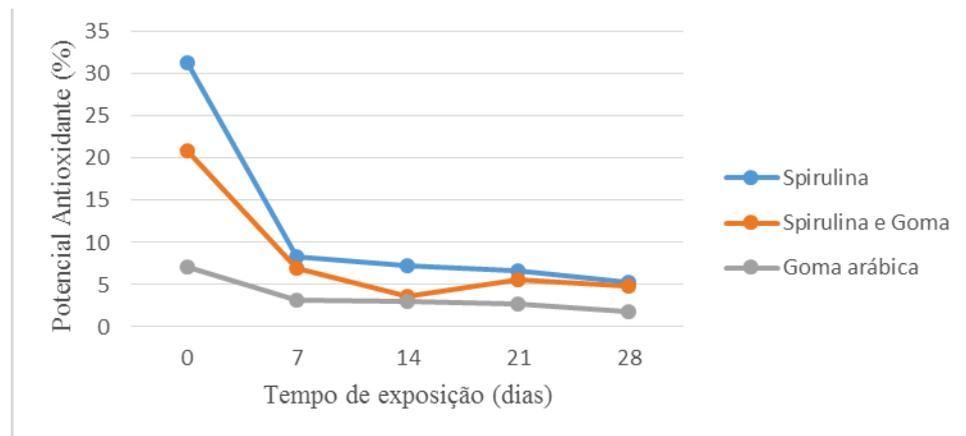
Fonte: Autor (2017)

A Figura 32 apresenta estabilidade do potencial antioxidante na *Spirulina* em pó e nas microcápsulas na temperatura de (25°C) durante e ao tempo de 28 dias.

Figura 32: Potencial antioxidante da *Spirulina* em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica na temperatura de 25°C



(a)



(b)

A Tabela 7 apresenta a redução do potencial antioxidante das amostras de *Spirulina* em pó e encapsuladas nas temperaturas de 4°C e 25°C no tempo de 7 dias de exposição, referente aos dados de potencial antioxidante observados nas Figuras 26 e 27. Verifica-se que tanto as amostras encapsuladas quanto as não encapsuladas apresentam redução no potencial antioxidante em ambas temperaturas avaliadas, sendo a maior proteção observada para a *Spirulina* encapsulada em goma arábica na temperatura de exposição de 25°C. Apesar disso, a proteção observada foi leve.

Tabela 7: Redução do potencial antioxidante (%) das amostras no tempo de 7 dias de exposição às temperaturas de 4°C e 25°C

Tipo de cápsula	4°C	25°C
<i>Spirulina</i> em pó método goma arábica	74,1	73,3
<i>Spirulina</i> em goma	70,7	66,8
<i>Spirulina</i> em pó método maltodextrina	69,5	68,4
<i>Spirulina</i> em maltodextrina	64,2	69,4

4.3 Desenvolvimento do sorvete

O sorvete ideal deve apresentar características esperadas pelo consumidor e pelo fabricante, quanto aos seguintes atributos de qualidade: sabor, corpo, textura, características de derretimento, cor, embalagem, conteúdo microbiológico e composição. O sorvete ideal deve possuir um sabor típico, fresco, agradável e delicado; ter textura definida e macia; deve possuir resistência moderada; derreter lentamente em forma de líquido com aparência da mistura original, sem separações de fase. Deve ter uma cor natural e possuir partículas regularmente distribuídas. O produto deve ter as especificações de composição coerentes com o nome e os ingredientes e valores nutricionais identificados no rótulo (MARSHALL et al., 2003).

Após o desenvolvimento dos sorvetes, foram realizados testes para avaliação físico-química e resistência ao derretimento. Além desses testes, foi realizada análise sensorial com aceitabilidade, intenção de compra e CATA (*Check All That Apply*).

4.3.1 Avaliação do sorvete - composição físico-química

A Tabela 8 apresenta os resultados das determinações físico-químicas obtidas para as formulações de sorvete.

Tabela 8: Determinações físico-químicas das formulações de sorvete desenvolvidas

Amostras de sorvete	Proteínas (%)*	Lipídios (%)*	Densidade aparente (g/L)*	Sólidos totais (%)*	pH*
FP	3,50 ± 0,28 ^a	9,00 ± 1,41 ^a	985 ± 7,07 ^a	75,56 ± 2,89 ^{bc}	6,79 ± 0,02 ^a
FSM	4,75 ± 0,07 ^b	9,50 ± 0,71 ^a	1075 ± 7,07 ^b	59,29 ± 0,77 ^a	6,84 ± 0,02 ^{ab}
FSG	4,96 ± 0,07 ^b	10,5 ± 0,71 ^a	985 ± 7,07 ^a	65,01 ± 3,00 ^{ab}	6,89 ± 0,02 ^b
FS	5,37 ± 0,52 ^b	11,0 ± 0,00 ^a	965 ± 7,07 ^a	84,14 ± 5,36 ^c	7,04 ± 0,01 ^c

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autor (2017)

Todas as formulações de sorvete produzidas estão adequadas à legislação brasileira (BRASIL, 1999). Para ser considerada sorvete de creme, a formulação deve possuir no

mínimo 2,5% de proteínas, no mínimo 3% de gordura láctea, no mínimo 32% de sólidos totais e densidade aparente mínima de 475 g/L.

A adição da *Spirulina* encapsulada e não encapsulada ocasionou um aumento significativo ($p < 0,05$) na quantidade de proteínas nas formulações de sorvete, levando a um aumento do valor nutricional. O aumento no teor de proteínas em relação à formulação padrão de sorvete, foi de 35%, 42% e 53% para as formulações FSM, FSG e FS, respectivamente. Pães sem glúten incorporados de 3% da *Spirulina* apresentaram maior teor proteico e melhor composição de aminoácidos em relação ao controle, sem microalga (FIGUEIRA et al., 2011). Em um estudo com adição de *Spirulina* e farinha de aveia na massa seca, a microalga proporcionou um aumento no teor de proteína de 20% em comparação à massa sem a adição da mesma (PAGNUSSATT et al., 2014).

O teor de lipídios não sofreu alteração após a adição da *Spirulina*, encapsulada e não encapsulada. Não houve diferença significativa ao nível de 5% entre as formulações.

Os valores de densidade aparente obtidos variaram entre 969,69 a 1089,18 g/L. O conhecimento da densidade é muito importante em processos industriais, no ajuste das condições de estocagem, processamento, embalagem e distribuição. Os produtos obtidos por moagem ou secagem geralmente são caracterizados por sua densidade aparente, que considera o volume do material sólido e todos os poros fechados ou abertos para a atmosfera (BARBOSA-CÁNOVAS, et al., 2005).

A legislação brasileira não estabelece valores de referência para o pH dos sorvetes. O pH e acidez titulável dos sorvetes são parâmetros influenciados pelo sabor empregado na formulação, sendo que sorvetes de frutas normalmente possuem acidez diferenciada de sorvetes de chocolate ou de creme e também pela utilização de leites de diferentes origens (CORREIA et al., 2008).

4.3.1.1 Análise instrumental de cor

Os resultados das análises dos parâmetros de cor das formulações de sorvete produzidas são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Parâmetros de cor das amostras de sorvete

Tratamentos	L*	a*	b*
FP	87,14 ± 0,31 ^d	0,71 ± 0,14 ^d	15,37 ± 0,24 ^b
FSM	59,91 ± 0,08 ^b	-13,87 ± 0,10 ^b	15,19 ± 0,03 ^b
FSG	63,44 ± 0,33 ^c	-10,42 ± 0,20 ^c	10,26 ± 0,24 ^a
FS	53,40 ± 0,20 ^a	-17,42 ± 0,07 ^a	10,10 ± 0,22 ^a

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média±Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

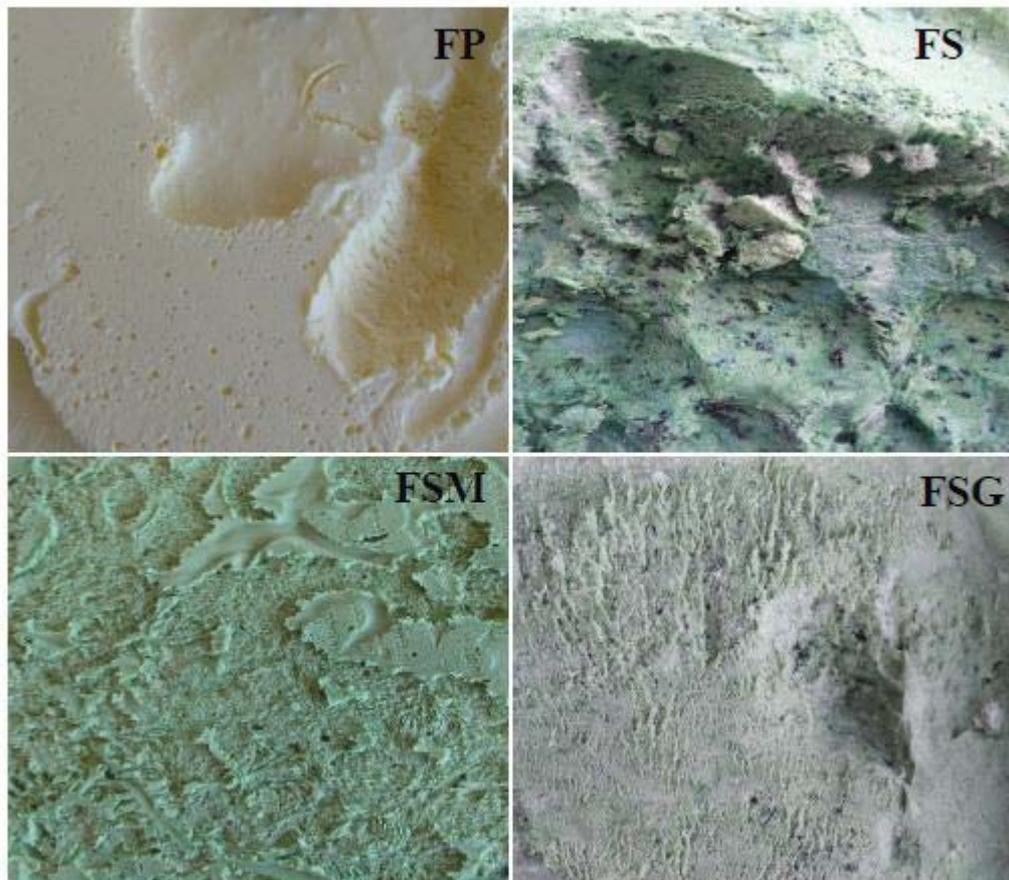
A coordenada L^* representa a luminosidade. Mede a quantidade de luz que é refletida de uma determinada cor, sendo que 0 indica a coloração preta e 100 indica a coloração branca. Os sorvetes contendo *Spirulina* perderam luminosidade devido à coloração mais escura da microalga. Houve diferença significativa entre todas as amostras testadas quando comparadas ao controle (FP).

O parâmetro a^* com valores negativos indica a coloração em direção ao verde, enquanto que a^* positivo vai em direção ao vermelho. O parâmetro a^* indicou uma tendência ao verde nos 3 sorvetes contendo *Spirulina*. A FS apresentou menor a^* , pois continha *Spirulina* não encapsulada e por isso a cor verde mais intensa. A encapsulação com goma arábica e maltodextrina resultou em verde menos intenso. Houve diferença significativa entre todas as amostras testadas.

O parâmetro b^* , quando positivo, indica a coloração em direção ao amarelo, enquanto que se negativo vai em direção ao azul. Os valores obtidos para todas as formulações foram positivos, indicando uma tendência ao amarelo. A FP apresentou maior b^* por ser amarela, assim como a FSM.

A Figura 33 apresenta as formulações de sorvete desenvolvidas.

Figura 33: Sorvetes produzidos: FP, FS, FSM, FSG



Fonte: Autor (2017)

4.3.2 Resistência das formulações de sorvete ao derretimento

A resistência ao derretimento de um sorvete é um parâmetro de comportamento crítico para o produto. Um sorvete de alta qualidade deve mostrar resistência limitada ao derretimento quando exposto a temperatura ambiente por tempo determinado. Quando o derretimento esperado não acontece, pode estar relacionado com uso excessivo de estabilizantes e emulsificantes, *overrun* muito alto ou ainda processamentos severos e interações entre os componentes que promovam formação de gel altamente estável (MARSHALL et al., 2003).

A estrutura do sorvete determina a aparência, viscosidade e consistência. Os aspectos estruturais associados com a aglomeração de gordura têm influência sobre o comportamento de derretimento, ou seja, um aumento no grau de aglomeração da gordura reduz a taxa de derretimento (SOUZA et al., 2010).

O produto do derretimento deve ser uma massa líquida, homogênea e uniforme. Deve haver uma retenção de forma mesmo após o derretimento dos cristais de gelo. A não

homogeneidade pode ser identificada pela presença de coágulos, escumas, bolhas de ar de tamanhos grandes e/ou variados, ou ainda pela separação de fases. Os sorvetes que contêm altas concentrações de proteína em água são geralmente menos estáveis do que formulações com menor concentração proteica.

Os dados da quantidade de massa descongelada em função do tempo estão apresentados na Tabela 10. No tempo de queda da primeira gota, houve diferença significativa entre FS, FP em relação a FSM, FSG, que derretem antes. Já no tempo de derretimento de 10% da amostra, cada uma das formulações se comportou de maneira diferente.

Tabela 10: Resistência ao derretimento das formulações desenvolvidas

Amostras de sorvete	TPG (s/g)*	TPG 10%*
FP	59,0 ± 1,41 ^b	71,5 ± 0,71 ^d
FSM	35,5 ± 0,71 ^a	51,0 ± 0,00 ^a
FSG	40,5 ± 2,12 ^a	53,6 ± 0,57 ^b
FS	55,0 ± 1,41 ^b	66,6 ± 0,85 ^c

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). TPG: tempo de queda da primeira gota TPG10%: tempo de derretimento de 10% da massa do sorvete

Fonte: Autor (2017)

Fernandes (2016) também encontrou tempos de derretimento menores com a inclusão da maltodextrina nas formulações de sorvete. Os sorvetes que contêm gordura devem derreter mais lentamente do que os sorvetes com baixo teor de gordura, pois a gordura diminui a taxa de transferência de calor (AKALIN et al., 2008). Os sorvetes não adicionados de microcápsulas, FP e FS, não continham os encapsulantes para diminuição do tempo de derretimento.

4.3.3 Análise sensorial

4.3.3.1 Índice de aceitabilidade

A Tabela 11 apresenta os resultados de índice de aceitabilidade (IA) sensorial para as formulações de sorvete desenvolvidas, na qual se verifica que todas as formulações apresentaram IA superiores a 70 % para todos atributos avaliados. Verifica-se ainda que para os atributos textura e odor/aroma não houve diferença significativa no índice de aceitabilidade das amostras adicionadas de *Spirulina* encapsulada ou não, em relação à amostra padrão (p>0,05). Os consumidores não perceberam o odor/aroma da microalga quando esta foi

adicionada ao sorvete. A baixa temperatura do sorvete dificulta a liberação dos compostos voláteis, fazendo com que os odores e aromas se tornem menos perceptíveis.

Tabela 11: Índices de aceitabilidade sensorial em relação aos atributos de cor, textura, sabor, odor/aroma, aparência e impressão global das formulações de sorvete desenvolvidas

Formulações	Cor*	Textura*	Sabor*	Odor/aroma*	Aparência*	Impressão Global*
FP	87,1 ± 0,9 ^b	79,1 ± 1,57 ^a	81,3 ± 1,24 ^b	78,4 ± 1,35 ^a	81,8 ± 1,43 ^b	80,9 ± 1,11 ^b
FSM	82,2 ± 1,37 ^{ab}	71,8 ± 1,80 ^a	70,0 ± 1,82 ^a	72,7 ± 1,54 ^a	77,3 ± 1,35 ^{ab}	71,8 ± 1,57 ^a
FSG	77,5 ± 1,56 ^a	71,3 ± 1,86 ^a	72,2 ± 1,92 ^{ab}	73,6 ± 1,74 ^a	71,8 ± 1,81 ^a	72,4 ± 1,71 ^{ab}
FS	80,2 ± 1,66 ^{ab}	71,1 ± 1,99 ^a	71,8 ± 1,68 ^{ab}	75,1 ± 1,35 ^a	76,2 ± 1,63 ^{ab}	72,4 ± 1,54 ^{ab}

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica *Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para o atributo cor, as formulações com *Spirulina* se mostraram iguais entre si ($p > 0,05$), entretanto a única amostra que diferiu da formulação padrão em relação à aceitabilidade foi a formulação de sorvete adicionada de *Spirulina* encapsulada em goma arábica ($p < 0,05$). O mesmo comportamento foi observado para o atributo aparência, desta forma, o encapsulamento de *Spirulina* em goma arábica e sua adição no sorvete afetou os atributos percebidos a partir do sentido da visão. A goma arábica deixou a formulação de sorvete mais opaca que as outras formulações.

O sabor possivelmente tenha sido o atributo que mais influenciou na aceitação global do produto, uma vez que as influências da encapsulação da microalga apresentaram os mesmos efeitos sobre um e outro parâmetro. Não houve diferença entre as amostras adicionadas de *Spirulina* para estes dois parâmetros sensoriais ($p > 0,05$), entretanto as amostras adicionadas de *Spirulina* encapsulada em maltodextrina apresentaram IA inferiores ($p < 0,05$) que a amostra padrão, não adicionada de *Spirulina*.

O encapsulamento da *Spirulina* em goma arábica afeta negativamente os parâmetros de cor e aparência. O encapsulamento da *Spirulina* em maltodextrina afetou negativamente a aceitabilidade em relação aos parâmetros de sabor e aceitação global. A maltodextrina possui um sabor bem característico, que se sobressaiu neste sorvete. Alguns comentários obtidos na análise sensorial foram “extremamente doce”, “enjoativo”, “a primeira sensação é boa, porém no final se torna amargo”.

O sabor foi o parâmetro que mais influenciou a aceitabilidade. A adição de *Spirulina* não encapsulada não afeta os parâmetros sensoriais do sorvete na concentração utilizada, sendo este um excelente resultado. O sorvete adicionado de *Spirulina* pode ser consumido tão

agradavelmente quanto o sorvete padrão, com todos os benefícios que a microalga traz em sua composição.

As Figuras 34 a 37 apresentam os gráficos de frequência das notas de aceitação sensorial das formulações de sorvete. A disposição das notas, em sua maioria, está situada na região de aceitação, que vai do 9 (gostei muitíssimo) ao 6 (gostei ligeiramente).

Figura 34: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete padrão (FP), em número de pessoas

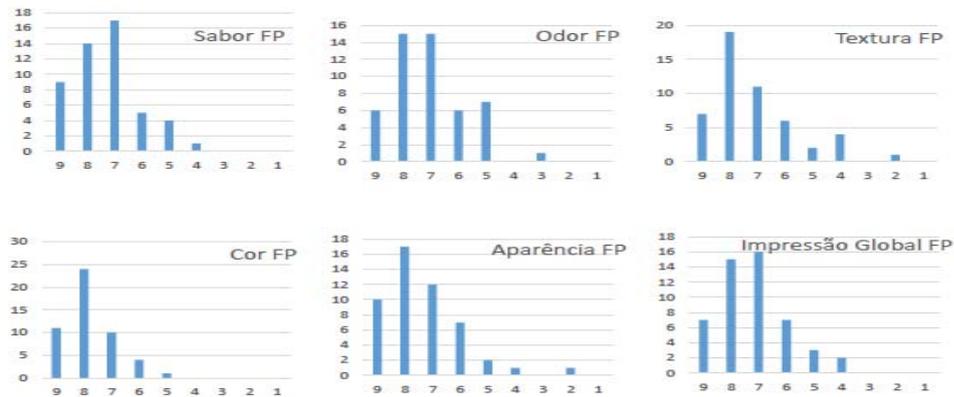


Figura 35: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete contendo *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina (FSM), em número de pessoas

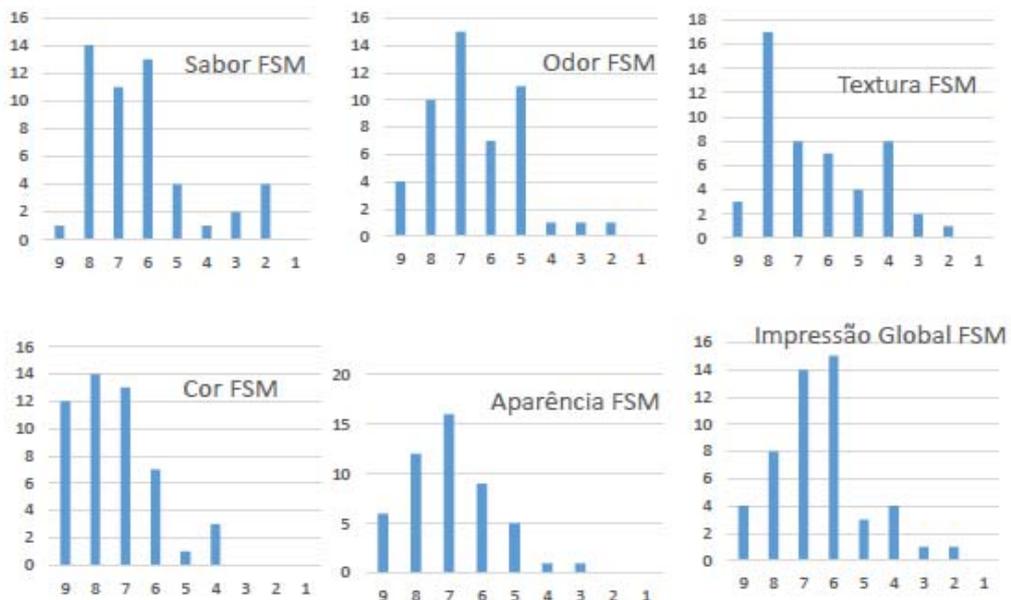


Figura 36: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete contendo *Spirulina* microencapsulada com goma arábica (FSG), em número de pessoas

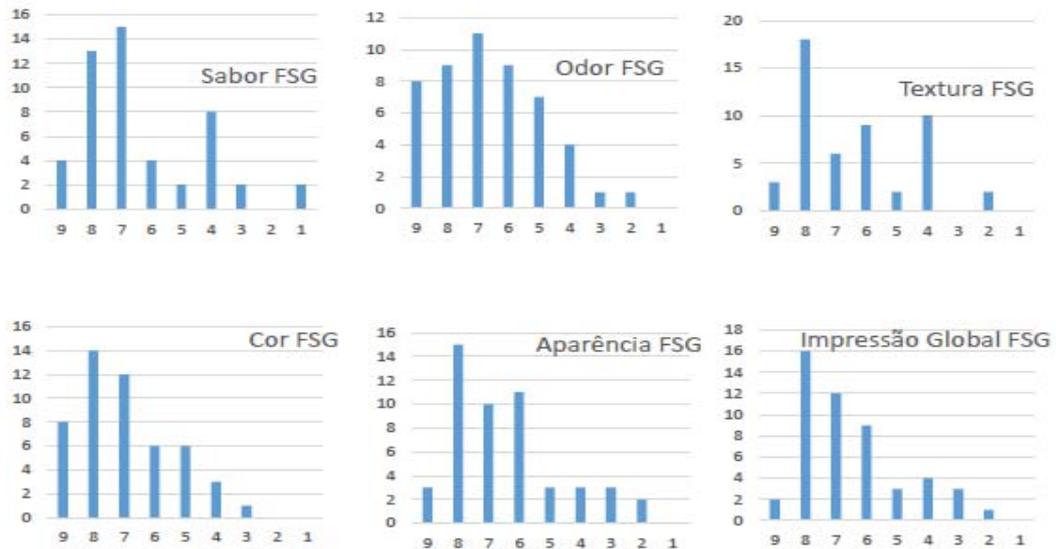
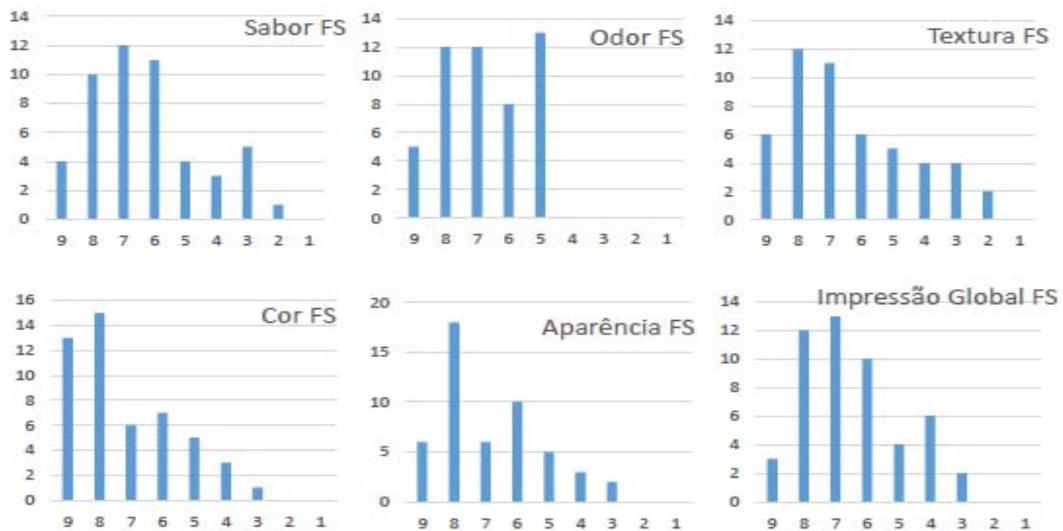


Figura 37: Frequência das notas da aceitação sensorial da formulação de sorvete contendo *Spirulina* pura, em número de pessoas



4.3.3.2 Intenção de compra

O teste de intenção de compra apresentou resultados satisfatórios. A avaliação revelou que a maioria dos provadores compraria os sorvetes. Apenas 4% não comprariam a FP, 30% não comprariam a FSM e a FSG e 28% não comprariam a FS. A intenção de compra para os

dois sorvetes adicionados de microcápsulas foi a mesma. Em média, 76,5% dos provadores comprariam os sorvetes.

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos na avaliação da intenção de compra.

Tabela 12: Intenção de compra das formulações de sorvete

	Com certeza compraria	Compraria	Talvez comprasse, talvez não	Não compraria	Com certeza não compraria
FP	6	25	17	2	0
FSM	2	17	16	13	2
FSG	5	18	12	13	2
FS	4	13	19	13	1

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica.

4.3.3.3 CATA

A utilização do questionário CATA é uma opção simples para reunir informações sobre a percepção das características sensoriais dos consumidores em relação aos produtos. Tem sido usado para identificar produtos ideais (BRUZZONE et al., 2015).

A frequência de uso de cada atributo sensorial foi determinada pela contagem do número de consumidores que usaram aquele termo para descrever cada amostra no questionário CATA, sendo os resultados apresentados na Tabela 13.

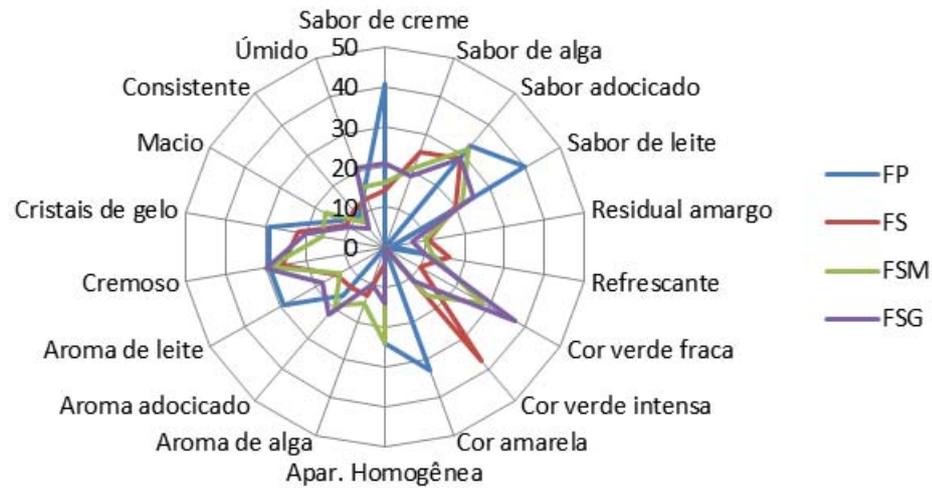
Tabela 13: Frequência de respostas no questionário CATA

Atributo	FP	FSM	FSG	FS
Sabor de creme	41	16	21	14
Sabor de alga	0	21	19	25
Sabor adocicado	33	32	29	29
Sabor de leite	40	22	25	20
Gosto amargo	1	5	5	3
Residual amargo	2	10	7	11
Refrescante	10	12	10	16
Cor verde fraca	0	28	35	10
Cor verde intensa	0	16	11	37
Cor amarela	33	0	0	0
Aparência homogênea	24	24	14	4
Aroma de alga	0	15	10	13
Aroma adocicado	16	19	22	13
Aroma de leite	29	13	18	14
Cremoso	29	29	30	26
Cristais de gelo	29	16	20	22
Textura elástica	0	0	2	2
Úmido	15	16	21	13
Arenoso	0	4	5	4
Macio	13	17	10	11
Consistente	10	8	6	12
Gomoso	1	1	2	2

Os atributos sabor de creme, sabor de leite e aroma de leite foram os mais citados pelos provadores para a formulação padrão. Os atributos sabor de alga e odor de alga foram citados para as 3 formulações com *Spirulina*, o que demonstra que apesar de serem percebidos pelos julgadores, não afetam a aceitabilidade das amostras, conforme verificado anteriormente.

A cor amarela foi citada somente para a formulação padrão, enquanto as cores verde fraca e verde intensa foram citadas para os sorvetes com *Spirulina*. A aparência homogênea foi menos identificada no sorvete com *Spirulina* pura, onde era possível ver o pó da microalga. Os sorvetes foram considerados cremosos e com sabor adocicado. Os atributos gosto amargo, arenoso, gomoso e textura elástica, considerados atributos não satisfatórios, foram pouco citados entre as amostras, sendo desconsiderados nas análises posteriores. A Figura 38 apresenta as características de cada amostra de sorvete em relação aos atributos mais e menos citados no teste CATA.

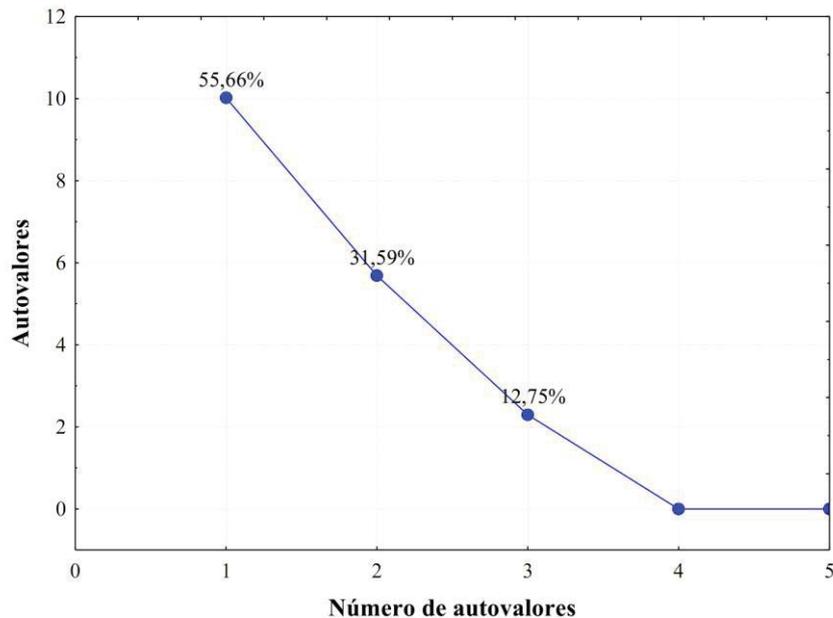
Figura 38: Distribuição da frequência atribuída pelos julgadores aos atributos sensoriais do teste CATA para as diferentes formulações de sorvete.



Fonte: Autor (2017)

A análise de componentes principais (ACP) das frequências de citação dos atributos obtidas no teste CATA demonstrou que a variabilidade entre as amostras pôde ser explicada em 87,25% por dois componentes principais, como mostrado na Figura 39, que apresenta os autovalores do teste.

Figura 39: Autovalores da ACP das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.

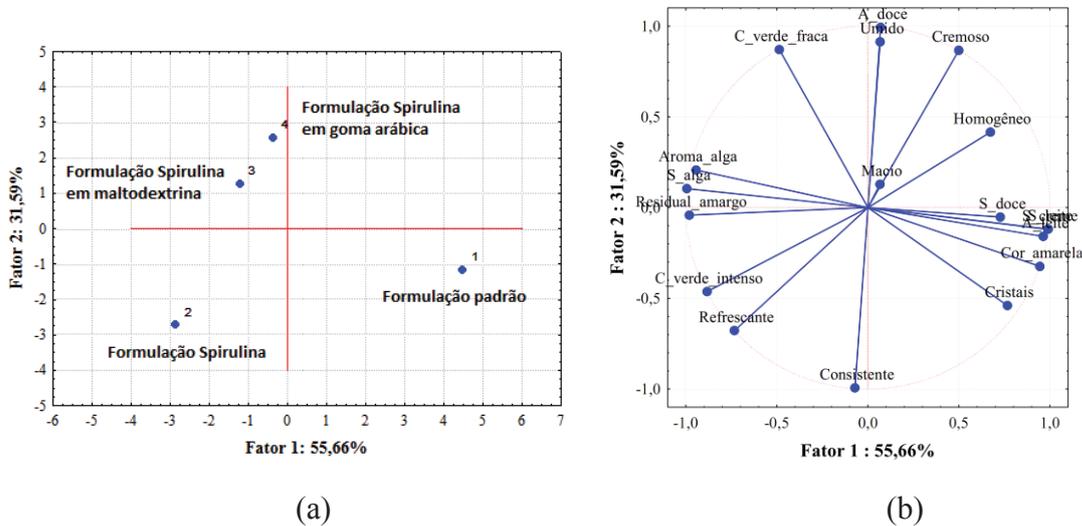


Fonte: Autor (2017)

A Figura 39 apresenta a representação das amostras e dos atributos do teste CATA nas primeira e segunda dimensões da Análise de Componentes Principais. Os atributos mais representados pelo componente principal 1 foram sabor de creme, sabor de alga, sabor de leite, cor verde intenso, cristais, aroma de alga, aroma de leite e residual amargo e cor amarela. Os atributos mais representados pelo componente principal 2 foram úmido, cremoso, cor verde fraca, aroma doce, consistente e refrescante. O componente principal 1 representa melhor os atributos relacionados ao sabor/odor e aparência, enquanto o componente principal 2 representa os parâmetros mais relacionados à textura.

Na relação com as amostras, verifica-se que a formulação padrão foi mais representada pelos atributos de sabor doce, sabor de leite, aroma de leite, cor amarela, todos característicos de um sorvete de creme (CADENA, 2013). A presença de cristais foi o atributo que mais caracterizou essa amostra, o que pode ser explicado pela ausência nesta formulação da goma arábica ou maltodextrina, às quais foram somente nas formulações adicionadas de *Spirulina* encapsulada, ambas formulações posicionadas no quadrante inferior da Figura 40. Esses compostos são considerados agentes de textura e podem contribuir para uma melhor emulsificação e controle da formação de cristais em produtos congelados (CADENA, 2013).

Figura 40: Representação das amostras de sorvete (a) e dos atributos (b) na primeira e segunda dimensões da Análise de Componentes Principais realizada com os dados do teste CATA



1: Formulação padrão (FP); 2 Formulação adicionada de *Spirulina* (FS); 3: Formulação adicionada de *Spirulina* encapsulada em maltodextrina (FSM); 4: Formulação adicionada de *Spirulina* encapsulada em goma arábica (FSG).

A formulação adicionada de *Spirulina* foi mais representada pela cor verde intensa, refrescância e consistência. Os atributos de aroma de alga, sabor de alga e residual amargo representam também a amostra 2 por estarem localizados no quadrante esquerdo. Estes atributos também representam as amostras adicionadas de *Spirulina* encapsulada, mas com menor intensidade, uma vez que estas amostras encontram-se posicionadas mais próximas ao eixo vertical do que a formulação adicionada de *Spirulina* não encapsulada. Assim, pode-se verificar que o encapsulamento da microalga contribuiu para a não percepção do aroma de alga e sabor de alga. Entretanto, isso não contribuiu para uma maior aceitação destas amostras em relação à formulação padrão ou à formulação adicionada de *Spirulina*, como verificado anteriormente.

A formulação adicionada de *Spirulina* encapsulada em goma arábica foi mais representada pelos atributos úmido e aroma doce, e este pode ter sido o fator que contribuiu para a menor aceitabilidade desta amostra em relação à amostra padrão.

5 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou elevadas eficiências de encapsulação em goma arábica (85%) e maltodextrina (89%), com a obtenção de microcápsulas homogêneas, de tamanhos médios de 6,24 μm (maltodextrina) e 3,44 μm (goma arábica).

A microencapsulação da microalga *Spirulina* permite uma leve proteção do potencial antioxidante da microalga em temperaturas de 4°C a 25°C. Há uma perda de cerca de 73% do potencial antioxidante após 7 dias à temperatura ambiente para a *Spirulina* em pó, e de cerca de 66% e 69% dos pós encapsulados em goma arábica e maltodextrina, respectivamente, o que corrobora resultados apresentados pela literatura, que demonstram a instabilidade da ficocianina, bioativo responsável pelo potencial antioxidante, à temperatura. Desta forma, conclui-se que para a manutenção do potencial antioxidante total da microalga, deve-se priorizar a adição em produtos mantidos em temperaturas de congelamento, como o sorvete, proposto neste trabalho.

A proteção do potencial antioxidante se dá em armazenamento, tanto das microcápsulas, como da *Spirulina* em pó, somente em temperaturas de congelamento.

O sorvete adicionado de *Spirulina* apresentou ganho no teor de proteínas em relação à formulação padrão, de 35%, 42% e 53% para as formulações de sorvete com *Spirulina* em maltodextrina, *Spirulina* em goma arábica e *Spirulina* pura, respectivamente.

Todas as formulações de sorvete apresentaram índice de aceitabilidade de 70%, independentemente de serem adicionadas ou não da microalga. A encapsulação da *Spirulina* em goma arábica diminuiu a aceitabilidade do sorvete em relação ao padrão para os parâmetros de cor e aparência. O encapsulamento da *Spirulina* em maltodextrina afetou negativamente a aceitabilidade em relação aos parâmetros de sabor e aceitação global. Os sorvetes desenvolvidos apresentaram intenção de compra média de 76,5%

A realização do teste descritivo com consumidores (CATA) permitiu concluir que o encapsulamento mascara o sabor de alga e aroma de alga, no entanto esse fato não leva a uma maior aceitabilidade das amostras onde a microalga foi encapsulada.

Conclui-se que a adição de *Spirulina* em sorvete pode ser realizada sem microencapsulação com ganho no teor proteico e sem prejuízo do potencial antioxidante e da aceitabilidade.

REFERÊNCIAS

- ABALDE, J.; CID, A.; DIALGO, P.; TORRES, E.; HERRERO, C. **Microalgas: Cultivo e Aplicações**. Universidade da Coruna, 1995.
- AGHBASHLO, M., MOBILI, H., MADADLOU, A., RAFIEE, S. Influence of Wall Material and Inlet Drying Air Temperature on the Microencapsulation of Fish Oil by *Spray Drying*. **Food Bioprocess Technol.** v. 6, p. 1561–1569, 2013.
- AGUILERA, J. M. **Temas en tecnología de alimentos**. Instituto Politécnico Nacional, 1997.
- AKALIN, Ayşe Sibel; KARAGÖZLÜ, Cem; ÜNAL, Gülfem. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 3, p. 889-895, 2008.
- AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 115-123, 2008.
- ANARJAN, N.; TAN, C. P. Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 437 – 447, 2013.
- ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. **Food Research International**. v. 35, p. 171-176, 2002.
- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, n. 5, 2008.
- ANSON, R. Microencapsulation: For enhanced textile performance. **Performance Apparel Markets**, 12, pp. 12-39, 2005.
- ANTELLA, F. S., COSTA, J. A. V., KALIL, S. J. Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**. v. 41 p.43-47, 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18. Ed. Washington: AOAC, 2005.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5. ed. Universidade Federal de Viçosa: UFV, 2011.
- ARGIN-SOYSAL, S.; KOFINAS, P.; LO, Y. M. Effect of complexation conditions on xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels. **Food Hydrocolloids**. n. 23, p. 202-209, 2009.
- ASSIS, L. M., MACHADO, A. R., MOTTA, A. S., COSTA, J. A. V., SOUZA-SOARES, L. A. Development and characterization of nanovesicles containing phenolic compounds of microalgae *Spirulina* Strain LEB-18 and *Chlorella pyrenoidosa*. **Advances in Materials Physics and Chemistry**, p.6-12, 2014.

AUGUSTIN, M. A., HEMAR, Y.. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chemical Society Review**, 38, p. 902–912, 2009.

AUGUSTIN, M. A., SANGUANSRI, P. Nanostructured materials in the food industry. **Advances in Food and Nutrition Research**, 58, p.183–213, 2009.

AZEREDO, H. M. C. DE. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimento e Nutrição**, 16, p. 89-95, 2005.

BACKES, L.T.H. **Ficocianina na proteção da toxicidade da alfa-synucleína e deleção do gene SIR2 em *Saccharomyces cerevisiae***. 146f. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.

BANSODE, S. S., BANARJEE, S. K., GAIKWAD, D. D., JADHAV, S. L. E THORAT, R. M. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 1, p. 38-43, 2010.

BARBOSA-CÁNOVAS GV, ORTEGA-RIVAS E, JULIANO P, YAN H. Bulk properties. In: Food power: physical properties, processing, and functionality. New York: **Kluwer Academic**; p.81-8, 2005.

BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulação de antocianinas. **Biociência & Desenvolvimento**, ano IX, n. 36, p. 18-24, jan./jun. 2006.

BENITES, R.S.R., FORMAGIO, A.S.N., ARGANDONA, E.J.S., VOLOBUFF, C.R.F., TREVIZAN, L.N.F., VIEIRA, M.C. and SILVA, M.S. Contents of constituents and antioxidant activity of seed and pulp extracts of and *Annona coriacea* *Annona sylvatica*. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 75, no. 3, pp. 685-691.

BERTOLIN, T. E.; GUARIENTI C; FARIAS, D.; SOUZA, F.T.; GUTKOSKI,L.C.; COLLA, L.M. Efeito antioxidante da ficocianina em pescado salgado-seco. **Ciências agrotecnológicas**, v. 35, n. 4, 2011.

BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juçara (*Euterpe edulis*): aspectos de interesse para a indústria de alimentos**. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. Curitiba: Appris, 2015.

BOTREL, D. A. et al. Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 47, n. 11, p. 2289-2296, 2012.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the foods and cosmetic industries. In: EL-NOKALY , M; PIATT,D.; CARPENTER,B. **Polymer delivery systems**. Washington, DC: ACS. p. 42-52 (ACS Symposium. Series, v. 520.), 1993.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, A. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT**, v. 28, p. 25 – 30, 1995.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Consulta Pública nº 28, de 01/06/00. Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis, Preparados, Pós para o Preparo e Bases para Gelados Comestíveis. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2000.

BRASIL: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE Nº 1, de 29 de julho de 2005. Dispõe sobre o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade Diário Oficial da União, 08 de agosto de 2005. Seção 1. p. 119.

BRASIL - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Portaria nº 379, de 26 de abril de 1999. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 24 nov. 2017.

CADENA, A., CRUZ, A. G.. Consumer perception of probiotic yogurt: Performance of check all that apply (CATA), projective mapping, sorting and intensity scale. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 601-610, 2013.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v. 5, n. 4, p. 420-428, 2005.

CARNEIRO, H.C.F., TONON, R.V., GROSSO, C.R.F., HUBINGER, M.D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by *spray drying* using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**. V.115, 2013.

CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWANA, N.; BUNNAG, B. Stability of Phycocyanina extracted from *Spirulina sp.*: influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochem**. v. 47, p. 659-664, 2012.

COLLA, L. M. et al. Thermal and photo-stability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. **Brazilian Journal of Biology**, n. AHEAD, p. 0-0, 2016.

COLLIER, T. J.; KANAAN, N. M. e KORDOWER, J. H. Ageing as a primary risk factor for Parkinson's disease: evidence from studies of non-human primates. **Revista Nature Neuroscience**, v. 12, n. 6, p. 359-366, 2011.

COMITRE, A. A.; VAZ, L. B.; SILVA, L. A.; LARROSA, A. P. Q.; PINTO, L. A. A. Secagem a vácuo de *Spirulina sp.* LEB 18: análise das características dos compostos bioativos do produto desidratado. In **XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica** (Unicamp), Campinas, Brasil, 2015.

COMUNIAN, Talita A. et al. Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds. **Food Research International**, v. 88, p. 114-121, 2016.

CORREIA, R. T. P.; MAGALHÃES, M. M. A.; PEDRINI, M. R. S.; CRUZ, V. F.; CLEMENTINO, T. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: Composição química e

propriedades de derretimento. **Revista Ciências Agronômicas**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 251-256, Abr.- Jun., 2008.

COSTA, J. M.G. et al. Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spraydryer. **Journal of Microencapsulation**, London, 2013.

CRUZ, Andressa Tardim; RIGON, Roberta Balansin; CHORILLI, Marlus. FM. Influência do método de preparo na eficiência de encapsulação do fármaco e nas propriedades físico-químicas de nanopartículas lipídicas sólidas contendo resveratrol. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 1, 2016.

DAMÁSIO, M.H.; SILVA, M.A.A.P. **Curso de treinamento em análise sensorial**. Apostila. Campinas: Fundação Tropical de Tecnologia "André Tosello"; 1996.

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

DENG, R.; CHOW, T. J.; Hypolipidemic, Antioxidant, and Antiinflammatory Activities of Microalgae *Spirulina*. **Cardiovascular Therapeutics**, v. 28, p. 33-45, 2010.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Chuangolouring our foods in 12. the last and next millennium. **Internal Journal Food Science Technology** .,v.35, p.5-22, 2000.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.

EDRIS, A.E., KALEMBA, D., ADAMIEC, J., PIATKWOSKI, M. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v.4, p. 326-333, 2016.

FANG, L.; ZHOU, C.; CAI, P.; CHEN, W.; RONG, X.; DAI, K.; LIANG, W.; GU, J. D.; HUANG, Q. Binding characteristics of copper and cadmium by cyanobacterium *Spirulina platensis*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, p. 810-815, 2011.

FAROOQ, S.M.; BOPANA, N.B.; ASOKAN, D.; SEKARAN, S.D.; SHANKAR, E.M.; LI, C.; GOPAL, C.; BAKAR, S.; KARTHIK, H.; EBRAHIM, A.S. C-phycoyanin confers protection against oxalate-mediated oxidative stress and mitochondrial dysfunctions in MDCK cells. **PLOS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

FENNEMA, O. R. **Química de los Alimentos**. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1993.

FERREIRA, D.J., BAVARESCO, J. **Potencial antioxidante da microalga *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) submetida à degradação térmica e à fotodegradação**. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

FIGUEIRA, F. S. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 308-316, 2011.

FORMAGIO, A.S.N., RAMOS, D.D., VIEIRA, M.C., RAMALHO, S.R., SILVA, M.M., ZÁRATE, N.A.H., FOGGIO, M.A. and CARVALHO, J.E.. Phenolic compounds of *Hibiscus*

sabdariffa and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 75, no. 1, pp. 69-76, 2015.

FURUKAWA V. A., SOBRAL, P.J.A. HABITANTE, A. M. Q. GOMES, J.D.F Análise térmica da carne de coelhos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas,v. 24, n. 2, p. 265-269, 2004.

GELIN, J.L., LORIENT, D., POYEN, L., RIZZOTTI, R., DACREMONT, C., MESTE, M.L. Interactions between food components in ice cream II: structure-texture relationship. **Food Hydrocolloids**, v.10, n. 4, p.199-215, 1996.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 7 - 8, p. 330–347, 2004.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 13, p. 497-507, 2002.

JAEGER, Sara R. et al. Check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization by consumers: Investigations into the number of terms used in CATA questions. **Food Quality and Preference**, v. 42, p. 154-164, 2015.

KALIL, S.; COSTA, J. A.; MORAES, C.; BURKERT, J. Extração de ficocianina a partir de diferentes biomassas de *Spirulina* sp. **Revista Brasileira de Agrociência**, 2005.

KAREL, M.; LANGER, R. Controlled release of food additives. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Flavor encapsulation**. Washington, DC: ACS, p.29-36, 1988.

KESTENBAC, H.J.; BOTA FILHO W.J. Microscopia eletrônica transmissão e varredura. **São Paulo: ABM**, 1994.

KING, A.H. Encapsulation of food ingredients. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington, DC: ACS, 1995, p.26-39. (ACS Symposium. Series, 590).

KRISHNAN, S; BHOSALE, R; SINGHAL, RS. Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, n. 1, p. 95-102, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3 ed. São Paulo, v.1 – **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 1985.

LACHANCE, P. A.; NAKAT, Z.; JEONG, W. S. Antioxidants: an integrative approach. **Nutrition**, v.17, p.835-838, 2001.

LAMOUNIER, Marina L.; ARAÚJO, Romilda Aparecida B. M.; LAMOUNIER, Maísa L.; MOZELLE, Maressa C. Desenvolvimento de sorvete enriquecido com fibras de linhaça e lactobacilos vivos e sua viabilidade. **Revista do Instituto de Laticínios “Candido Tostes”**, Artigo Técnico, nº 387, p. 57-63, ago. 2012.

LIANG, R., HUANG, Q., MA, J., SHOEMAKER, C.F., ZHONG, F. Effect of relative humidity on the store stability of *spray-dried* betacarotene nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 225-233, 2013.

LIMA, E.C.; MASINI, J.C. Caracterização ácido-base da superfície de espécies mistas da alga *Spirulina* através de titulação potenciométrica e modelo de distribuição de sítios discretos. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 679-683, 1999.

LORA, Simone Cristina P.; PRUDÊNCIO, Elane Schwinden; BENEDE, Honório Domingos. Avaliação sensorial de sorvetes elaborados com leite de cabra. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 221 – 230, jun. 2006.

LUO, J; FANG, Z. SMITH, R. L. Ultrasound-enhanced conversion of biomassa to biofuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 41; p. 56-93, 2014.

MACEDO, R. V. T. DE; ALEGRE, R. M. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *Spirulina máxima* em dois níveis de temperatura – parte II: PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 183-186, 2001.

MACHADO, A.R., ASSIS, L.M., COSTA, J. A. V., BADIALE-FURLOG, E., MOTTA, A. S. MICHELETTO, Y. M. S., SOUZA-SOARES, L. A. Application of sonication and mixing for nanoencapsulation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in liposomes. **International Food Research Journal**, v. 22, p 96-101, 2015.

MALHEIROS, P. S., MICHELETT, O., Y.M.S., SILVEIRA, N.P., BRANDELLI, A. 2010. Development and characterization of phosphatidylcholine nanovesicles containing the antimicrobial peptide nisin. **Food Research International** 43:1198–1203

MARSHALL, R. T.; GOFF, H. D.; HARTEL, R. W. **Ice cream**. 6th ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publ., 2003. 366p.

MARTINELLI, G.; FOLLI, C.; VISAI, L.; DAGILA, M.; FERRARI, D. Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocianina from *Spirulina platensis* for foods industry applications. **Process Biochemistry**. v. 49, p. 154-159, 2014.

MARTINEZ SE, CHEN Y, HO EA , MARTINEZ SA , DAVIES NM. Pharmacological effects of a Cphycocyaninbased multicomponent nutraceutical in an in vitro canine chondrocyte model of osteoarthritis. **Can J Vet Res**. v.79, n. 3, p.2419, 2015.

MARTINS, F.S., ROSA, C.A., NICOLI, J.R., MACHADO, D.C.M., PENNA, F.J., NEVES, M.J. Efeito do método de conservação na viabilidade, reativação, colonização intestinal e efeito imunomodulador de dois produtos probióticos à base de leveduras. **Revista Brasileira de Medicina**, p.36-41, 2005.

MERTINS, O., SEBEN, M., SCHNEIDER, P.H., POHLMANN, A.R., SILVEIRA, N.P. Caracterização da pureza da fosfatidilcolina da soja através de RNM de 1H e de 31P. **Química Nova**. P.1856-1859, 2008.

MIN, S.K., PARK, J.S., LUO, L., KWON, Y.S., LEE, H.C., SHIM, H.J., KIM, I., LEE, J., SHIN, H.S. Assessment of C-phycocyanin effect on astrocytes-mediated neuroprotection

against oxidative brain injury using 2D and 3D astrocyte tissue model. **Sci Rep**, v. 24, n. 5, p. 144-18, 2015.

MITRA S, SIDDIQUI WA, KHANDELWAL S. C-Phycocyanin protects against acute tributyltin chloride neurotoxicity by modulating glial cell activity along with its anti-oxidant and anti-inflammatory property: A comparative efficacy evaluation with N-acetyl cysteine in adult rat brain. **Chem Biol Interact.**, 2015.

MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; KALIL, S. J. Extração de ficocianina a partir de diferentes biomassas de *Spirulina sp.* **R Bras. Agrobiologia**. Pelotas, v. 13, n. 4, p. 529-532, 2007.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.109-122, 2006.

MORAIS, M.G.; COSTA, J.A.V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 32, n. 4, p. 1245-1251, 2008.

MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. 2007. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Natal, 2007.

NAKAMOTO, H.; HONMA, D. Interaction of a small heat shock protein with light-harvesting cyanobacterial phycocyanins under stress conditions. **FEBS letters**, v. 580, n. 13, p. 3029-3034, 2006.

NUNES, G.L. **Microencapsulação por spray drying do extrato crioconcentrado de erva mate (*Ilex paraguariensis*) empregando maltodextrina como agente encapsulante**. Florianópolis, SC, 92 p., 2014.

OBEIDAT, W. M. Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using the emulsion solvent removal methods. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, n. 3, p. 178-192, 2009.

OZKAM, G.; BILEK, S. Microencapsulation of natural food colourants. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**. v 3, n 3, p. 145-156, 2014.

PAGNUSSATT, F. A.; SPIER, F.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J.A.V, GUTKOSKI, L. C. Technological and nutritional assessment of dry pasta with oatmeal and the microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 296-304, 2014.

PAN, R., LU, R., ZHANG, Y., ZHU, M., ZHU, W.M YANG, R., ZHANG, E., YING, J., XU, T., YI, H., LI, J., SHI, M., ZHOU, L., XU, Z., LI, P., BAO, Q. *Spirulina* phycocyanin induces differential protein expression and apoptosis in SKOV-3 cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1-35, 2015.

PATTERSON, A., FERREIRA, A.P., BANKS, E., SKEENE, K., CLARKE, G., NICHOLSON, S., MALONE, C. R. Modelling drug degradation in a *spray dried* polymer dispersion using a modified Arrhenius equation. **Int J Pharmaceut** v.478 p.1-13, 2014.

- PELC, K., BORDIGNON, L., PEZZINI, M. Z. **Microencapsulação do extrato aquoso de *Spirulina platensis***. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.
- PINTO, M. H., MARTINS, R. G., COSTA, J. A. V. 2009. **Avaliação cinética da produção de biossurfactantes bacterianos**. *Quím. Nova*, 32, 8, 2104-2108.
- PLEONSIL, P., SOOGARUN, S., SUWANWONG, Y. Anti-oxidant activity of holo- and apo-c-phycoyanin and their protective effects on human erythrocytes. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 60, p. 393– 398, 2013.
- QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powder. *Chemical Engineering and Processing*, v. 46, n. 5, p. 386-392, 2007.
- RAMOS, A.L., DECOSTA, D.T. **Estabilidade térmica do potencial antioxidante da microalga *Spirulina platensis***. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.
- RAMOS, A.L., DECOSTA, D.T., GUIMARÃES, E., ORO, T., COLLA, L.M., BERTOLIN, T.E. Estabilidade térmica da microalga *Spirulina platensis* em relação ao potencial antioxidante do extrato aquoso. *Anais XX Sinaferm*, 2015.
- RE, R. PELLEGRINI, N. PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, v.26, n. 9/10, p.1231 -1 237, 1999.
- RESTREPO, John F.; GARCIA-SUCERQUIA, Jorge. Automatic three-dimensional tracking of particles with high-numerical-aperture digital lensless holographic microscopy. *Optics letters*, v. 37, n. 4, p. 752-754, 2012.
- RISTOW, M., SCHMEISSER, S. Extending life span by increasing oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 51, n. 2, p. 327-336, 2011.
- ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.
- ROBERT, Paz et al. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International journal of food science & technology*, v. 45, n. 7, p. 1386-1394, 2010.
- RODRIGUES, R. A. F. **Preparo, caracterização e avaliação funcional de microcápsulas obtidas por *spray drying*, contendo extrato de café crioconcentrado**. Campinas, 2004. 227p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- RODRIGUES-HUEZO et al. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, v. 111, n. 1, p. 102-109, 2012.

RODRIGUES, E. F., VENDRUSCULO, L. P. **Emulsificantes microalgais aplicados em sorvete**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.

ROSA E. D., TSUKADA M., FREITAS L. A. P., **Secagem por atomização na indústria alimentícia: Fundamentos e aplicações**, 2003.

RUTZ, J.K. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.)** 2013. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

SAMPAIO, R. C.; MORAES, C. Estresse oxidativo e envelhecimento: papel do exercício físico. **Revista Motriz**, v. 16, n. 2, p. 506- 515, 2010.

SANT'ANNA, V.; GURAK, P.D.; MARCZAK, D.F.; TESSARO, I.C., Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. **Dyes and Pigments**, v. 98, p. 601-608, 2013.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. Critical Reviews in Food SHIH, C. M.; CHENG, S. N.; WONG, C. S.; KUO, Y. L.; CHOU, T. C. Antiinflammatory and antihyperalgesic activity of C-phycoyanin. **Anesthesia and Analgesia**, v. 108, p. 1303-1310, 2009.

SHALABY, E.A.; SHANAB, S.M.M.. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 42, no. 5, p. 556-564, 2013.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II aplicação de métodos de microencapsulação. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 39(1), p. 1-9, 2003.

SILVA, C. S. Alimentos funcionais: uma tendência de mercado / functional foods: a Market trend. **Egitania Scientia**, n. 16, p. 106, 2015.

SILVA, V. M.. Study of the perception of consumers in relation to different ice cream concepts. **Food Quality and Preference**, v. 36, p. 161-168, 2014.

SILVA, L. A.; **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis***. 91f. Dissertação (Mestrado Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SILVEIRA, S. ; BURKERT, J. F. M. ; COSTA, J. A. V.; KALIL, S J.; BURKERT, C. A.V.; BURKERT, J. F. M.; SILVA, L. A. Purification of *Spirulina platensis* Phycocyanin. **Mémoires de l'Institut Océanographique Paul Ricard**, v. 14, p. 65-66, 2005.

ŠLIUMPAITĖ, I. et al. Antioxidant properties and phenolic composition of wood betony (*Betonica officinalis* L., syn. *Stachys officinalis* L.). **Industrial crops and products**, v. 50, p. 715-722, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, Suplemento I, Abril. 2007.

SOUZA, F. T.; MARGARITES, A. C.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E. Avaliação do potencial antioxidante da ficocianina em sistemas lipídicos óleos de soja e azeite de oliva. **Alimentos e Nutrição**. v. 17, n. 3, p. 275-279, 2006.

SOUZA, J. C. B.; COSTA, M. R.; DE RENSIS, C. M. V. B.; SIVIERI, K. Ice cream: composition, processing and addition of probiotic. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 21, n. 1, p. 155-165, jan./mar. 2010.

SOUZA, J.R.R., FEITOSA, J.P.A., RICARDO, N.M.S.N., TREVISAN, M.T.S., PAULA, H.C.B., ULRICH, C.M., OWEN, R.W. *Spray-drying* encapsulation of mangiferin using natural polymers. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 10-18, 2013.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; AMARAL, M. P. H.; CARVALHO, A. F.; VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 2, jun. 2007.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, 7, p. 12-20, 2006.

TAKEMOTO, E.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**, v.32, n.5, p. 1189-1194, 2009.

TEIXEIRA, M. L., SANTOS, J., SILVEIRA, N. P., BRANDELLI, A. Phospholipid nanovesicles containing a bacteriocin-like substance for controlo of *Listeria monocytogenes*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, p. 49-53, 2008.

THEIVANDRAN, G.; IBRAHIM, M.; MURUGAN, M. Fourier Transform Infrared (Ft-Ir) Spectroscopic Analysis of *Spirulina* fusiformis. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, n. 4, p. 30-32, 2015.

TIWARI, S.; GOEL, A.; JHA, K. K.; SHARMA, A. Microencapsulation techniques and its appliction: a review. **The Pharma Research**, 3, p. 112-116, 2010.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 29(2): 444-450, abr.-jun. 2009

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpeoleraceae* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907-914, 2010.

TOSONI, Solange Fávoro; RODRIGUES, Vanessa Carvalho. **Características físico-químicas e antioxidantes de própolis microencapsulada com diferentes tipos de materiais encapsulantes**. 2013. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

TRINDADE, C. S. F., PINHO, S. C. E ROCHA, G. A. Review: Microencapsulation of food ingredients. **Brazilian Journal Of Food technology**, 11, p. 103-109, 2008.

TRIVEDI, M.K., NAYAK, G., PATIL, S., TALLAPRAGADA, R.M., JANA S., MISHRA, R. Evaluation of the impact of biofield treatment on physical and thermal properties of casein enzyme hydrolysate and casein yeast peptone. **Clin Pharmacol Biopharm**, v.4, p. 1-7, 2015.

VANDENPLAS, Y., HUYS, G., DAUBE, G. Probiotics: an update. **J Pediatr**, v. 91, p. 6-21, 2015.

VERSIC, R.J. **Coacervation for flavor encapsulation** Disponível em: <http://rtdodge.com/RTD-coacervation.html> Acesso em 01 novembro 2015.

VON DER WEID, D., DILLON, J.C., FALQUET, J.. Malnutrition: a silent massacre. **Antenna Technology**, 2000.

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

WALZEM, R. L. Functional Foods. **Trends in Food Science and Technology**. v. 15, p. 518, 2004.

WIRIYAPHAN, C., CHITSOMBOON, B., ROYTRAKUL, S., YONGSAWADIGUL, J. Isolation and identification of antioxidative peptides from hydrolysate of threadfin bream surimi processing byproduct. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1654–1664, 2013.

ZEN, C. K. **Enriquecimento proteico em palhada de soja e feno de azevém utilizando *Spirulina platensis* e *Aspergillus niger***. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2015.

ZHENG, J., INOBUCHI, T., SASAKI, S., MAEDA, Y., MCCARTY, M.F., FUJII, M., IKEDA, N., KOBAYASHI, K., SONODA, N., TAKAYANAGI, R. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. **American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, p. R110–R120, 2013.

ZUIDAM, N.J., NEDOVIC, V.A. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. Holanda: Springer Science, 2010.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa “Encapsulação da microalga *Spirulina platensis* e utilização no desenvolvimento de sorvete”, de responsabilidade da pesquisadora Leticia Moreira Mortari.

Esta pesquisa justifica-se devido à busca de novos ingredientes com propriedades funcionais para a prevenção de doenças.

Os objetivos desta pesquisa são encapsular a microalga *Spirulina platensis*, verificar sua estabilidade em sorvete e avaliar a aceitabilidade do sorvete contendo a microalga.

A sua participação na pesquisa será em um único momento.

Você terá a garantia de receber esclarecimentos sobre qualquer dúvida relacionada à pesquisa e poderá ter acesso aos seus dados em qualquer etapa do processo.

Sua participação nesta pesquisa não é obrigatória e você pode desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento.

Você não terá qualquer despesa para participar da presente pesquisa e não receberá pagamento pela sua participação.

As suas informações serão gravadas e posteriormente destruídas. Os dados relacionados à sua identificação não serão divulgados.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na dissertação de mestrado da pesquisadora. Você terá a garantia do sigilo e da confidencialidade dos dados.

Caso você tenha dúvidas sobre o comportamento dos pesquisadores ou sobre as mudanças ocorridas na pesquisa que não constam no TCLE, e caso se considera prejudicado (a) na sua dignidade e autonomia, você pode entrar em contato com a pesquisadora Leticia Moreira Mortari, pelo telefone (54) 99981-7346, ou com o curso Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, ou também pode consultar o Comitê de Ética em Pesquisa da UPF, pelo telefone (54) 3316-8157, no horário das 08h às 12h e das 13h30min às 17h30min, de segunda a sexta-feira.

Desta forma, se você concorda em participar da pesquisa como consta nas orientações acima, coloque seu nome no local indicado abaixo.

Desde já, agradecemos a sua colaboração e solicitamos a sua assinatura de autorização neste termo, que será também assinado pelo pesquisador responsável em duas vias, sendo que uma ficará com você e outra com o (a) pesquisador (a).

Passo Fundo, ____ de _____ de 2017.

Nome do (a) participante: _____

Assinatura: _____

Nome do (a) pesquisador (a): _____

Assinatura: _____

APÊNDICE B – Tabela de aleatorização e codificação das amostras

Análise Sensorial – Sorvete – Aleatorização das amostras

Julgador	Aleatorização	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra D
1	ABCD	134	247	182	259
2	ABDC	296	382	258	384
3	ACBD	381	453	383	455
4	ACDB	452	515	454	517
5	ADBC	514	686	516	683
6	ADCB	685	745	687	747
7	BACD	749	831	746	840
8	BADC	837	957	839	952
9	BCAD	956	907	958	908
10	BCDA	182	217	194	219
11	BDAC	216	392	218	394
12	BDCA	391	463	393	465
13	CABD	462	525	464	527
14	CADB	524	696	526	698
15	CBAD	695	755	697	758
16	CBDA	754	896	756	898
17	CDAB	895	967	897	969
18	CDBA	966	912	968	913
19	DABC	121	227	123	229
20	DACB	226	303	228	305
21	DBAC	302	473	304	475
22	DBCA	472	535	474	537
23	DCAB	534	610	536	612
24	DCBA	606	766	611	768
25	ABCD	765	806	767	804
26	ABDC	805	977	825	979
27	ACBD	976	917	978	918
28	ACDB	132	237	134	239
29	ADBC	236	313	238	315
30	ADCB	312	483	314	485
31	BACD	482	545	484	547
32	BADC	544	620	546	622
33	BCAD	619	776	621	778
34	BCDA	795	815	734	817
35	BDAC	814	987	816	989
36	BDCA	986	923	985	923
37	CABD	146	252	148	254
38	CADB	251	323	253	325
39	CBAD	322	493	324	495
40	CBDA	492	565	494	567
41	CDAB	564	630	566	632
42	CDBA	629	786	631	782
43	DABC	785	825	787	827
44	DACB	824	997	826	953
45	DBAC	996	927	998	928
46	DBCA	163	272	165	274
47	DCAB	271	333	273	335
48	DCBA	332	405	334	407
49	ABCD	404	574	406	576
50	ABDC	573	639	575	640

APÊNDICE C – Ficha de análise sensorial

Avaliação sensorial de sorvete

Nome: _____

Número da amostra: _____

Data: _____

<p>Prove o sorvete e dê uma nota para cada solicitação abaixo, seguindo a seguinte escala:</p> <p>9 Gostei muitíssimo 8 Gostei muito 7 Gostei moderadamente 6 Gostei ligeiramente 5 Não gostei nem desgostei 4 Desgostei ligeiramente 3 Desgostei moderadamente 2 Desgostei muito 1 Desgostei muitíssimo</p> <p>Sabor: _____ Odor / Aroma: _____ Textura: _____ Cor: _____ Aparência: _____ Impressão global: _____</p>	<p>Se você encontrasse esse sorvete à venda, indique através da escala o grau de certeza de que compraria ou não o sorvete:</p> <p>1 com certeza compraria 2 compraria 3 talvez comprasse, talvez não 4 não compraria 5 com certeza não compraria</p> <p>Resposta: _____</p>																																												
<p>Cheque tudo que se aplica ao produto</p>																																													
<p>Você está recebendo uma amostra de sorvete. Por favor, observe, aspire e prove; em seguida, marque com um X todas as opções que você considera adequadas para descrever o produto:</p>																																													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td>Sabor de creme</td></tr> <tr><td></td><td>Sabor de alga</td></tr> <tr><td></td><td>Sabor Adocicado</td></tr> <tr><td></td><td>Textura elástica</td></tr> <tr><td></td><td>Sabor de Leite</td></tr> <tr><td></td><td>Úmido (Aparência)</td></tr> <tr><td></td><td>Cor Verde Intensa</td></tr> <tr><td></td><td>Cristais de gelo</td></tr> <tr><td></td><td>Aroma de planta/alga</td></tr> <tr><td></td><td>Arenoso</td></tr> <tr><td></td><td>Cremoso</td></tr> </table>		Sabor de creme		Sabor de alga		Sabor Adocicado		Textura elástica		Sabor de Leite		Úmido (Aparência)		Cor Verde Intensa		Cristais de gelo		Aroma de planta/alga		Arenoso		Cremoso	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td>Cor Verde Fraca</td></tr> <tr><td></td><td>Aroma adocicado</td></tr> <tr><td></td><td>Macio</td></tr> <tr><td></td><td>Gosto amargo</td></tr> <tr><td></td><td>Consistente na boca</td></tr> <tr><td></td><td>Aroma de leite</td></tr> <tr><td></td><td>Aparência Homogênea</td></tr> <tr><td></td><td>Gomoso</td></tr> <tr><td></td><td>Residual amargo</td></tr> <tr><td></td><td>Refreshante</td></tr> <tr><td></td><td>Cor amarela</td></tr> </table>		Cor Verde Fraca		Aroma adocicado		Macio		Gosto amargo		Consistente na boca		Aroma de leite		Aparência Homogênea		Gomoso		Residual amargo		Refreshante		Cor amarela
	Sabor de creme																																												
	Sabor de alga																																												
	Sabor Adocicado																																												
	Textura elástica																																												
	Sabor de Leite																																												
	Úmido (Aparência)																																												
	Cor Verde Intensa																																												
	Cristais de gelo																																												
	Aroma de planta/alga																																												
	Arenoso																																												
	Cremoso																																												
	Cor Verde Fraca																																												
	Aroma adocicado																																												
	Macio																																												
	Gosto amargo																																												
	Consistente na boca																																												
	Aroma de leite																																												
	Aparência Homogênea																																												
	Gomoso																																												
	Residual amargo																																												
	Refreshante																																												
	Cor amarela																																												
<p>COMENTÁRIOS:</p>																																													

APÊNDICE D – Artigo

MICROENCAPSULAÇÃO DA MICROALGA *Spirulina platensis* PARA ADIÇÃO EM SORVETE

RESUMO

A prevenção de diversas patologias e a promoção do bem estar tem se alcançado através do uso de compostos antioxidantes. O estresse oxidativo aumenta a incidência de câncer e de outras doenças degenerativas. A *Spirulina platensis* é uma microalga com atividade funcional. Os antioxidantes presentes na microalga *Spirulina* podem sofrer alterações na sua estabilidade, de acordo com as condições de armazenamento, quando adicionada a produtos alimentícios. Os compostos antioxidantes precisam estar ativos e biodisponíveis quando ingeridos, havendo a necessidade de tecnologias que permitam a proteção dos antioxidantes naturais e aumento da estabilidade. A microencapsulação é uma das tecnologias capazes de proteger os antioxidantes de diferentes condições de exposição. Objetivou-se avaliar se a microencapsulação da microalga *Spirulina* ocasiona aumento da estabilidade do potencial antioxidante das cápsulas a baixas temperaturas, e se a microencapsulação afeta a aceitabilidade. A *Spirulina* foi microencapsulada utilizando maltodextrina 20DE e goma arábica, separadamente, utilizando *spray-dryer*. Após a encapsulação, foi realizada a caracterização e testes de estabilidade do potencial antioxidante na *Spirulina* em pó e na *Spirulina* encapsulada em temperaturas de congelamento (-20°C), refrigeração (4°C) e ambiente (25°C). O potencial antioxidante do extrato aquoso da microalga em pó e encapsulada, extraído a partir de metodologias apropriadas para cada amostra, foi determinado pelo método de ABTS. Foi desenvolvido sorvete adicionado de *Spirulina* e de *Spirulina* microencapsuladas em goma arábica e maltodextrina. O sorvete foi caracterizado físico-quimicamente e submetido à avaliação sensorial de aceitabilidade e atributos sensoriais através da metodologia CATA. O processo de encapsulação da *Spirulina* foi realizado com sucesso, com elevadas eficiências de encapsulação em goma arábica (85%) e maltodextrina (89%), obtendo microcápsulas homogêneas, de tamanhos médios de 6,24 µm (maltodextrina) e 3,44 µm (goma arábica). A microencapsulação da *Spirulina* permite uma leve proteção do potencial antioxidante da microalga em temperaturas de 4°C a 25°C. Há uma perda de cerca de 70% do potencial antioxidante após 7 dias à temperatura ambiente para a *Spirulina* em pó, e de cerca de 66% e 70% dos pós encapsulados em goma arábica e maltodextrina, respectivamente. A proteção do potencial antioxidante se dá em armazenamento, tanto das microcápsulas, como da *Spirulina* em pó, somente em temperaturas de congelamento. O sorvete adicionado de *Spirulina* apresentou ganho no teor de proteínas em relação à formulação padrão, de 35%, 42% e 53% para as formulações de sorvete com *Spirulina* em maltodextrina, *Spirulina* em goma arábica e *Spirulina* pura, respectivamente. Todas as formulações de sorvete apresentaram índice de aceitabilidade de 70% e intenção de compra média de 76,5%. O encapsulamento mascara o sabor de alga e aroma de alga, no entanto esse fato não leva a uma maior aceitabilidade dos sorvetes. A adição de *Spirulina* em sorvete pode ser realizada sem microencapsulação com ganho no teor proteico e sem prejuízo do potencial antioxidante e da aceitabilidade.

Palavras-chave: alimentos funcionais, propriedades sensoriais, saúde, estabilidade térmica

ABSTRACT

Prevention of various pathologies and the promotion of well-being has been achieved through the use of antioxidant compounds. Oxidative stress increases the incidence of cancer and other degenerative diseases. *Spirulina platensis* is a microalga with functional activity. The antioxidants present in *Spirulina* microalgae may undergo changes in their stability, according to storage conditions, when added to food products. Antioxidant compounds need to be active and bioavailable when ingested, with the need for technologies that allow the protection of natural antioxidants and increase stability. Microencapsulation is one of the technologies capable of protecting antioxidants from different exposure conditions. The objective of this study was to evaluate whether the microencapsulation of *Spirulina* microalgae increases the stability of the antioxidant potential of the capsules at low temperatures, and whether microencapsulation affects acceptability. *Spirulina* was microencapsulated using 20DE maltodextrin and gum arabic, separately, using spray-dryer. After the encapsulation, the characterization and stability tests of the antioxidant potential in *Spirulina* powder and *Spirulina* encapsulated in freezing temperatures (-20°C), refrigeration (4°C) and ambient (25°C) were performed. The antioxidant potential of the aqueous extract of the powdered and encapsulated microalgae, extracted from appropriate methodologies for each sample, was determined by the ABTS method. *Spirulina* and *Spirulina* microencapsulated ice cream were developed in gum arabic and maltodextrin. The ice cream was characterized physicochemically and submitted to the sensorial evaluation of acceptability and sensorial attributes through CATA methodology. The spirulina encapsulation process was successfully performed with high encapsulation efficiencies in gum arabic (85%) and maltodextrin (89%), obtaining homogeneous microcapsules with a mean size of 6.24 µm (maltodextrin) and 3.44 µm (gum arabic). The microencapsulation of *Spirulina* allows a slight protection of the antioxidant potential of the microalga at temperatures from 4°C to 25°C. There is a loss of about 70% of the antioxidant potential after 7 days at room temperature for *Spirulina* powder, and about 66% and 70% of the powders encapsulated in gum arabic and maltodextrin, respectively. The protection of the antioxidant potential occurs in storage of both microcapsules and *Spirulina* powder only in freezing temperatures. The added *Spirulina* ice cream showed a gain in protein content in relation to the standard formulation of 35%, 42% and 53% for the formulations of *Spirulina* ice cream in maltodextrin, *Spirulina* in gum arabic and pure *Spirulina*, respectively. All the ice cream formulations showed an acceptability index of 70% and an average purchase intention of 76.5%. The encapsulation masks the taste of seaweed and seaweed aroma, however this fact does not lead to a greater acceptability of the ice creams. The addition of *Spirulina* in ice cream can be performed without microencapsulation with gain in the protein content and without prejudice to the antioxidant potential and the acceptability.

Keywords: functional food, health, sensory properties, thermostability

1 INTRODUÇÃO

A *Spirulina platensis* é uma microalga que apresenta potencial nutracêutico, por conter elevados percentuais de proteínas, ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos antioxidantes como a ficocianina (SILVA, 2008; SHALABY; SHANAB, 2013), sendo permitido seu uso como suplemento alimentar pela *Food and Drug Administration* e pela Agência de Vigilância Sanitária do Brasil (VON DER WEID et al, 2000; BRASIL, 2013).

O pigmento ficocianina tem alto potencial antioxidante, com diversas aplicações, tais como proteção de eritrócitos dos danos oxidativos (PLEONSIL, et al., 2013), indução de apoptose nas células cancerígenas ovarianas (PAN et al., 2015), neuroproteção (MIN et al., 2015; MITRA et al., 2015), efeitos benéficos contra inflamação e estresse oxidativo em osteoartrite (MARTINEZ et al., 2015), efeito protetor por danos causados pelo estresse oxidativo, patologias neurodegenerativas (BACKES, 2014), e antioxidante (FAROOQ et al., 2014; WIRIYAPHAN et al., 2013; ŠLIUMPAITĖ et al., 2013; BERTOLIN et al., 2011). Diversos estudos tem mencionado a importância de alimentos e antioxidantes na saúde e longevidade (BENITES et al., 2015; FORMAGIO et al., 2015). Desta forma, o consumo da microalga *Spirulina*, seja como alimento funcional ou como nutracêutico, pode ser uma forma de inserção destes compostos na alimentação.

Apesar do comprovado potencial antioxidante do extrato aquoso da *Spirulina*, o qual contém a ficocianina, este antioxidante apresenta-se instável em elevadas temperaturas (COLLA et al., 2016; RAMOS et al., 2015), desta forma, a proposição de metodologias e processos que possam proteger o potencial antioxidante da microalga *Spirulina* antes de sua adição aos produtos alimentícios é necessária. A encapsulação é um processo que possibilita o empacotamento de partículas em cápsulas comestíveis, mantendo do potencial antioxidante de compostos naturais e sintéticos. A encapsulação é uma opção para a produção de alimentos saudáveis por facilitar a formulação dos mesmos. Entre os métodos de encapsulação, o *spray-dryer* é uma das tecnologias mais simples e favoráveis (EDRIS et al., 2016).

Outro aspecto envolvido com o uso da *Spirulina* encontra-se na necessidade do mascaramento do sabor, do *flavor* e da cor adicionados às formulações. A adição da *Spirulina* em alimentos demonstram que o sabor diminui a aceitabilidade dos produtos. Objetivou-se avaliar se a microencapsulação *Spirulina* ocasiona a proteção do potencial antioxidante da microalga e avaliar os efeitos da microencapsulação nas propriedades sensoriais e físico-químicas de sorvete adicionado de *Spirulina* encapsulada ou não.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Microencapsulação da *Spirulina platensis*

A microalga *Spirulina platensis* utilizada na forma seca, em pó, foi obtida no comércio local, sendo proveniente de importação (*Qingdao Sunrise Biotechnology*, China). A caracterização físico-química da biomassa utilizada, em base seca, indicou a presença de 75g de proteína, 13g de carboidrato, 5 g de lipídio, 13 g de cinzas e 7,5 g de umidade para cada 100 g de *Spirulina*.

Para a obtenção das microcápsulas foram utilizados como agentes encapsulantes a goma arábica (Labsynth, São Paulo) e a maltodextrina 20DE (*Athletica Nutrition*, São Paulo). As microcápsulas foram preparadas de acordo com o protocolo de Anarjan e Tan (2013).

Preparou-se uma solução de goma arábica ou maltodextrina 20DE de 30% (m/v) em água destilada aquecida a 40 °C. Esta solução foi submetida à agitação durante 30 min a 2500 rpm, em agitador magnético (Fisatom modelo 715). A relação *Spirulina*/encapsulante utilizada foi de 1:3 em relação ao teor de sólidos totais. Pesou-se 10 g da microalga previamente triturada com gral e pistilo para redução e homogeneização do tamanho da mesma. Após a trituração, foi peneirada em peneira com abertura de 40 mesh (0,42 mm). A temperatura foi mantida em 40 °C durante todo o processo. Após 30 min no agitador magnético, a suspensão foi submetida à agitação durante 4 min em agitador tipo Turrax (Turratec TE-102, Tecnal), a 12.000 rpm.

A suspensão foi submetido à secagem em *spray-dryer* (LM MSD 1.0), nas seguintes condições: bico tamanho 2 mm, vazão de alimentação do extrato 400 ml/h, temperatura do ar de entrada a 150°C, temperatura de saída do extrato 108°C, vazão do ar de entrada 3,99 m³/min, obtendo as microcápsulas. Após a secagem, as amostras foram acondicionadas em recipientes fechados e armazenadas em freezer, a -20°C até o momento das análises. Como controle, foram preparadas microcápsulas nas mesmas condições, sem adição de *Spirulina*.

Caracterização das microcápsulas

A avaliação das microcápsulas foi realizada através da determinação da eficiência de encapsulação, tamanho de partícula, solubilidade e atividade de água. As determinações foram realizadas na *Spirulina* em pó e nos materiais de encapsulação, como controles.

A eficiência de encapsulação (EE) foi determinada conforme Carneiro et al. (2013). Adicionou-se 15 mL de hexano em 0,2 g de amostra de *Spirulina* microencapsulada. Após a adição, a mistura foi mantida em repouso por 5 min, em temperatura ambiente, no escuro. A suspensão contendo o material microencapsulado foi filtrada em membrana (0,45 μm , Millipore) e em seguida o filtro com o material retido foi seco em estufa a 40°C. Após a secagem, a amostra seca foi redissolvida em 20 mL de água deionizada, com agitação manual por 5 min. A água foi evaporada em estufa a 40 °C e a massa foi medida até peso constante. A maltodextrina 20 DE e a goma arábica são insolúveis em hexano, permitindo a remoção do material não-encapsulado e evitando danos às paredes das microcápsulas.

O tamanho de partícula foi determinado em equipamento Zetasizer. Foi feita uma suspensão a 10% m/v em hexano. A suspensão foi colocada em banho ultrassônico por 5 min para adequada dispersão das partículas, antes da leitura no equipamento.

A *Spirulina* pura, as cápsulas dos agentes encapsulantes e as microcápsulas de *Spirulina* foram analisadas por espectroscopia de infravermelho por transformadas de Fourier (Cary 630 FTIR, Agilent). Foi utilizado aproximadamente 1 mg de cada amostra, nas seguintes condições: região de varredura 4000-650 cm^{-1} , número de acumulações 16 scans.min⁻¹, resolução de 2 cm^{-1} , e o registro dos espectros foi através de Transmitância (%T).

A análise morfológica foi feita em Microscópio Eletrônico (MEV Tescan, modelo Vega LM3). As partículas foram fixadas em *stubs* de alumínio sobre fitas de carbono adesivas. Após a fixação, foram recobertas com uma fina camada de ouro em equipamento Balzer (Baltec SCD50).

A solubilidade em diferentes solventes da *Spirulina* (40 mesh) e dos encapsulantes, foi determinada a partir da dissolução de 0,5 g dos pós em béquer e 50 mL dos solventes álcool etílico, acetona, hexano, benzeno e clorofórmio (individualmente), seguido de agitação em manta magnética a 120 rpm por 30 min. Após foi centrifugado a 8.000 rpm por 15 min. Coletou-se 12,5 mL do sobrenadante e adicionou-se em cadinho de porcelana previamente tarado e pesado (calcinar os cadinhos, lavar, numerar, calcinar novamente e pesar) e em seguida colocou-se no banho a aproximadamente 50 °C até a evaporação do solvente. Após a evaporação, o cadinho foi seco em estufa a 50°C até peso constante (considera-se peso constante até obter diferença de no máximo 10 nas duas últimas casas). Posteriormente, a solubilidade foi determinada de acordo com a equação de Eastman e Moore (1984), com modificações feitas por Cano-Chauca et al. (2005).

A atividade de água foi determinada utilizando equipamento Texto 650, com temperaturas variando entre 20 °C e 22 °C.

Estabilidade térmica do potencial antioxidante

As amostras de *Spirulina* em pó, *Spirulina* encapsulada em goma arábica e *Spirulina* encapsulada em maltodextrina, bem como os controles realizados com as cápsulas vazias foram expostas a temperaturas constantes de -20 °C (freezer Electrolux FE18), 4°C (refrigerador Consul Facilite) e 25 °C (ambiente), a fim de avaliar a influência sobre o potencial antioxidante da *Spirulina*. Para isso, amostras de 0,05 g de *Spirulina* ou 0,2 g de *Spirulina* microencapsulada (devido à relação de 1:3 *Spirulina*:encapsulante) ou ainda 0,15 g das microcápsulas vazias, foram adicionadas em placas de Petri, protegidos da luz com papel alumínio. Foram retiradas alíquotas semanalmente, por 28 dias.

A ficocianina foi extraída da *Spirulina*, das microcápsulas e dos controles. A extração da ficocianina foi feita de acordo com os testes ótimos para cada agente encapsulante, extração no vórtex para a goma arábica e extração na manta magnética por 15 min para a maltodextrina. Após a extração, a solução foi filtrada para a determinação da concentração de ficocianina e potencial antioxidante foi medido por ABTS. A medida do potencial antioxidante por ABTS foi determinada de acordo com Re et al. (1999).

As análises de DSC (Shimadzu, Kyoto, Japão), para as cápsulas de maltodextrina 20 DE, goma arábica, *Spirulina* encapsulada com maltodextrina 20 DE, *Spirulina* encapsulada com goma arábica e *Spirulina* pura. Dois miligramas de cada amostra foram colocados, separadamente em microcadinhos de alumínio, utilizando um microcadinho vazio como referência. As amostras foram analisadas, sob atmosfera de nitrogênio (100 mL.min⁻¹), com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, na faixa de temperatura de 20°C a 200°C.

A TGA foi realizada em TGA Shimadzu, DTG-60, Japan. As amostras foram pesadas e acondicionadas em micro-cadinhos de alfa-alumina, tarados antes da pesagem das amostras. As condições de análise foram: massa da amostra aproximadamente 5,0 mg, atmosfera da câmara, ar sintético na vazão de 100 mL/min, vazão de aquecimento 10°C/min, com faixa de temperatura de 20°C a 600°C.

Desenvolvimento de sorvete adicionado de *Spirulina* em pó e encapsulada

Foi adicionado 1% da *Spirulina* em pó ou microencapsulada no sorvete. Para a elaboração do sorvete utilizou-se 300 g de leite integral, 240 g de leite condensado e 230 g de nata fresca (formulação padrão – FP). Os ingredientes foram homogeneizados em batedeira por 15 minutos e posteriormente adicionados da *Spirulina* encapsulada ou não, sendo os pós incorporados manualmente. Na formulação adicionada de *Spirulina* adicionou-se 7,7 g do pó (Formulação *Spirulina* pura – FP) e nas formulações com *Spirulina* encapsulada, 30,8 g das microcápsulas, correspondendo a 7,7 g de *Spirulina* (Formulação *Spirulina* em Maltodextrina – FSM e Formulação *Spirulina* em Goma arábica – FSG).

Caracterização físico-química das formulações de sorvete

O sorvete foi caracterizado através da determinação de gordura pelo método de Gerber, proteínas por Kjeldahl considerando um fator de conversão de Nitrogênio em proteínas de 6,25, sólidos totais em mufla a 550°C e pH em peagâmetro digital, através das metodologias propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Para a determinação da densidade aparente, 10 g de amostra foram transferidas para uma proveta graduada. A densidade foi calculada dividindo-se a massa pelo volume do sorvete (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

A cor das formulações de sorvete foi avaliada através de um colorímetro, Color Quest II, HunterLab (EUA) calibrado para a cor branca.

O tempo de resistência ao derretimento das formulações de sorvete foi determinado segundo Gelin et al. (1996). Para tanto, 30 g de cada amostra de sorvete foi colocado sobre peneira metálica, apoiada em um funil de vidro e então colocado sobre uma proveta de vidro (100 mL) por meio de um suporte. A proveta foi mantida sobre uma balança analítica para pesagem da massa derretida. A massa de sorvete derretida foi pesada até o término da amostra. Foram estimados o tempo de queda da primeira gota (t_0), o tempo correspondente ao descongelamento de 10% da massa do sorvete (t_{10}), seguindo-se então o cálculo do fator tempo relativo de queda da primeira gota (TPG), definido pela Equação 1 (GELIN, et al, 1996).

$$TPG = T_0 / M \quad (1)$$

Sendo:

T_0 = Tempo médio de queda da primeira gota (s);

M = Massa da amostra (g).

Análise sensorial

As formulações de sorvete foram avaliadas quanto à aceitação em relação aos atributos de sabor, odor/aroma, textura, cor, aparência e impressão global, por meio de ficha sensorial utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos (9 = gostei muitíssimo até 1 = desgostei muitíssimo) (DUTCOSKY, 1996). A avaliação sensorial foi realizada por 50 provadores não treinados, de ambos os gêneros e faixa etária entre 19 e 59 anos. As amostras de sorvete foram apresentadas aos potenciais consumidores à temperatura de -20°C , em copos plásticos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos. A intenção de compra (escala estruturada de cinco pontos (1 = certamente não compraria; 5 = certamente compraria) também foi avaliada. Calculou-se a porcentagem de aceitação de cada atributo sensorial considerando-se a nota 9 como 100% de aceitação.

Além dos testes de aceitabilidade e de intenção de compra, foi solicitado aos participantes que respondessem a um questionário contendo atributos sensoriais para descrever as amostras, utilizando a metodologia CATA, “*Check All That Apply*” (Cheque tudo que se aplica). Os atributos foram selecionados com base em estudos anteriores de análise descritiva quantitativa de sorvete bem como de produtos adicionados de *Spirulina* (JAEGER et al., 2015, CADENA et al., 2013) e foram os seguintes: sabor de creme, sabor de alga, sabor adocicado, sabor de leite, gosto amargo, residual amargo, refrescante, cor verde fraca, cor verde intensa, cor amarela, aparência homogênea, aroma de alga, aroma adocicado, aroma de leite, cremoso, cristais de gelo, textura elástica, úmido, arenoso, macio, consistente e gomoso. Aos consumidores foi solicitado provar cada amostra de sorvete e checar quais termos eram apropriados para descrever as formulações. A apresentação das amostras, tanto no teste de aceitabilidade e intenção de compra, quanto no teste CATA, foi monádica, utilizando luz branca. Entre os testes, foi disponibilizada água para os participantes realizarem a limpeza da cavidade oral entre as degustações das amostras.

Os resultados de aceitabilidade foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias e os resultados do teste CATA foram avaliados através de análise estatística multivariada (Análise de Componentes Principais).

Os provadores estavam cientes da importância dos testes, assegurando motivação e colaboração. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo,

sob número do protocolo 61923416.7.0000.5342, antes da realização dos testes sensoriais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização das microcápsulas

Os valores de solubilidade da *Spirulina platensis* e dos encapsulantes variaram entre 0,16% e 46,51% nos solventes estudados (Tabela 1). Os encapsulantes utilizados apresentaram alta solubilidade em água devido à sua constituição química de polissacarídeos (DAMODARAN, PARKIN; FENNEMA, 2010). A solubilidade está diretamente relacionada à reconstituição dos pós. Propriedades como umidade e atividade de água são essenciais para a estabilidade e o armazenamento dos pós, enquanto a solubilidade está diretamente relacionada à sua reconstituição, sendo assim, a alta solubilidade de microcápsulas feitas com goma arábica e maltodextrina revelam seu potencial como ingrediente em produtos alimentícios (BICUDO, 2014, TOSONI; RODRIGUES, 2013). Os resultados obtidos justificam o uso do hexano no teste de eficiência de encapsulação e também na determinação do tamanho de partícula. Por serem insolúveis nesse solvente, as microcápsulas permaneceram intactas e puderam ser quantificadas.

Tabela 1: Solubilidade da *Spirulina* e dos encapsulantes em solventes

	<i>Spirulina</i>	Goma Arábica	Maltodextrina
Álcool Etílico	1,30% ± 0,03 ^a	0,16% ± 0,23 ^a	0,08% ± 0,00 ^a
Acetona	0,16% ± 0,23 ^a	0,26% ± 0,03 ^a	0,02% ± 0,03 ^a
Hexano	0,75% ± 0,22 ^a	0,52% ± 0,06 ^a	0,44% ± 0,11 ^a
Benzeno	0,65% ± 0,26 ^a	0,22% ± 0,14 ^a	0,48% ± 0,34 ^a
Clorofórmio	5,26% ± 0,79 ^b	1,07% ± 0,56 ^a	16,88% ± 3,10 ^b
Água destilada	22,35% ± 0,23 ^c	80,13% ± 0,56 ^b	88,02% ± 0,49 ^c

Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A EE da *Spirulina* microencapsulada em maltodextrina, a EE foi de 89% ± 0,34 e para a *Spirulina* microencapsulada com goma arábica, obteve-se 85% ± 0,55 de eficiência de encapsulação. Esses resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Rutz (2013), que utilizou diferentes encapsulantes e obteve a maior EE com maltodextrina (85%). Outros trabalhos (ROBERT et al., 2010; TONON et al., 2009) atingiram 86,6% e 82% de EE, respectivamente. Rodriguez-Huezo et al. (2014) encontraram até 87,5% de EE por *spray-*

dryer, encapsulando emulsões de carotenoides em goma arábica. A EE varia entre 70 e 85% utilizando secagem em *spray-dryer*, independente dos parâmetros do processo (SILVA, et al., 2003). Devido às vantagens da maltodextrina em relação à goma arábica (tais como solubilidade elevada, baixa viscosidade e menor custo), a maltodextrina tem sido foco de diversas pesquisas para substituição do encapsulante na encapsulação por *spray-dryer* (KRISHNAN et al., 2005).

A atividade de água (A_w) é importante para a vida de prateleira dos pós. Valores reduzidos de A_w indicam baixa disponibilidade de água para reações químicas e crescimento microbiano, o que é favorável para produtos desidratados (QUEK et al., 2007). Os valores de atividade de água estão na Tabela 2. A secagem em *spray dryer* reduziu a A_w das microcápsulas em relação aos pós antes do processo de microencapsulação, devido às altas temperaturas usadas no processo.

Tabela 2: Atividade de água

Amostras	Atividade de água*
Maltodextrina 20 DE pó	0,405 ± 0,007 ^c
Maltodextrina 20 DE cápsula	0,110 ± 0,002 ^a
<i>Spirulina</i> + Maltodextrina 20 DE	0,138 ± 0,002 ^d
<i>Spirulina platensis</i>	0,648 ± 0,0007 ^b
Goma arábica pó	0,652 ± 0,0007 ^b
Goma arábica cápsula	0,084 ± 0,0007 ^c
<i>Spirulina</i> + goma arábica	0,112 ± 0,002 ^a

*Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A Tabela 3 apresenta o diâmetro médio, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (PZ) das suspensões a 10%.

Tabela 3: Resultados de PZ, PDI e tamanho obtidos no Zetasizer

Amostra	PZ (mV)*	PDI*	Diâmetro (μm)*
<i>Spirulina</i> pura	-25,47 ± 0,46 ^a	0,07 ± 0,03 ^a	0,39 ± 4,60 ^a
Cápsulas Maltodextrina	-17,9 ± 1,42 ^b	0,13 ± 0,05 ^a	0,47 ± 9,56 ^a
<i>Spirulina</i> + maltodextrina	-41,27 ± 2,35 ^c	0,75 ± 0,43 ^b	6,24 ± 681,45 ^b
Goma arábica	-47,07 ± 2,18 ^d	0,84 ± 0,15 ^b	2,59 ± 1948,98 ^a
<i>Spirulina</i> + goma arábica	-52,93 ± 3,03 ^e	0,82 ± 0,21 ^b	3,44 ± 1702,15 ^{ab}

*Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As medidas caracterizaram o processo como microencapsulação, pela formação de cápsulas com diâmetros entre 0,2 a 5000 μm (BARROS; STRINGHETA, 2006). Para o

diâmetro, não houve diferença significativa entre as cápsulas controle e a *Spirulina*. Também não houve diferença significativa entre as microcápsulas contendo *Spirulina*. Entre as microcápsulas controle e as cápsulas com *Spirulina* houve diferença significativa ao nível de 5%. O PDI indica quanto o tamanho da partícula desviou a média, ou seja, quanto mais baixo o PDI mais uniforme é a amostra. O PZ determina a força repulsiva entre as partículas. Quanto maior o valor, em módulo, maior a repulsão entre as partículas, o que evita sua aglomeração e aumenta a estabilidade da suspensão.

Todas as amostras foram estatisticamente diferentes ($p > 0,05$) com relação ao potencial zeta (PZ). De acordo com os resultados, a suspensão mais estável é a de microcápsulas de *Spirulina* com goma arábica, porém todas se mostram estáveis. A suspensão menos estável é a que contém microcápsulas de *Spirulina* com goma arábica. A amostra mais homogênea em relação ao índice de polidispersão foi a de *Spirulina* pura. A *Spirulina* havia sido triturada e peneirada para homogeneização do tamanho antes da produção das cápsulas. A goma arábica produziu microcápsulas de tamanhos variados, com e sem *Spirulina*, o PDI encontrado foi alto. A maltodextrina apresentou PDI baixo nas cápsulas de controle e alto quando associada à *Spirulina*.

Estudo da estabilidade térmica das microcápsulas

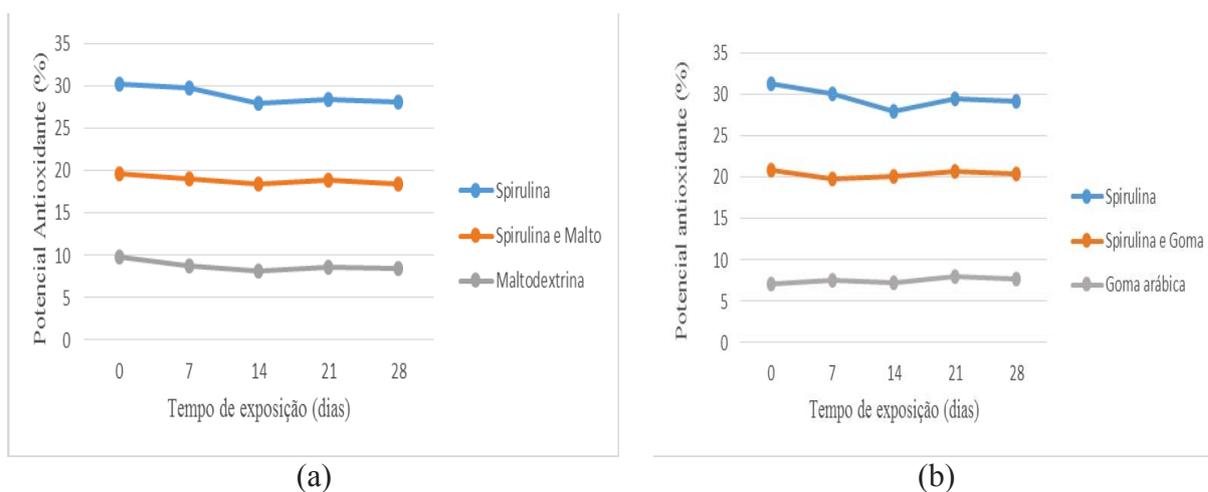
Entre as várias propriedades da *Spirulina platensis*, sua ação antioxidante proveniente da ficocianina é uma das mais importantes. Sabe-se que reações químicas como hidrólise e oxidação podem ocorrer de acordo com as condições ambientais às quais a microalga é exposta, interferindo diretamente na estabilidade dos compostos.

As microcápsulas foram testadas em diferentes temperaturas com o objetivo de observar o seu comportamento frente à temperatura após a sua produção. Nas indústrias alimentícia e farmacêutica é comum a utilização de processos térmicos na fabricação de diversos alimentos e medicamentos.

A Figura 1 apresenta a estabilidade do potencial antioxidante em relação à temperatura de -20°C durante 28 dias, verificando-se que o potencial antioxidante se manteve estável tanto nas microcápsulas quanto na *Spirulina* pura, indicando que nesta temperatura não há degradação do potencial antioxidante. As diferenças existentes entre os potenciais antioxidantes da *Spirulina* encapsulada e não encapsulada deve-se ao fato da não extração completa da ficocianina da *Spirulina* encapsulada, conforme verificado nos testes de extração. Embora tenha sido utilizado o método que melhor se adaptava a cada pó, a extração do

potencial antioxidante da *Spirulina* pura foi sempre superior aos pós encapsulados. Entretanto, a Figura torna possível verificar-se que o potencial antioxidante se mantém ao longo do tempo de armazenamento sob congelamento, o que justifica a proposição de desenvolvimento de um produto como o sorvete.

Figura 1: Potencial antioxidante da *Spirulina* em pó e microencapsulada em (a) maltodextrina e (b) goma arábica, na temperatura de -20°C



A Tabela 4 apresenta a redução do potencial antioxidante das amostras de *Spirulina* em pó e encapsuladas nas temperaturas de 4°C e 25°C no tempo de 7 dias de exposição. Verifica-se que tanto as amostras encapsuladas quanto as não encapsuladas apresentam redução no potencial antioxidante em ambas as temperaturas avaliadas, sendo a maior proteção observada para a *Spirulina* encapsulada em goma arábica na temperatura de exposição de 25°C .

Tabela 4: Redução do potencial antioxidante (%) das amostras no tempo de 7 dias de exposição às temperaturas de 4°C e 25°C

Tipo de cápsula	4°C	25°C
<i>Spirulina</i> em pó	74,1	73,3
<i>Spirulina</i> em goma	70,7	66,8
<i>Spirulina</i> em pó	69,5	68,4
<i>Spirulina</i> em maltodextrina	64,2	69,4

Espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

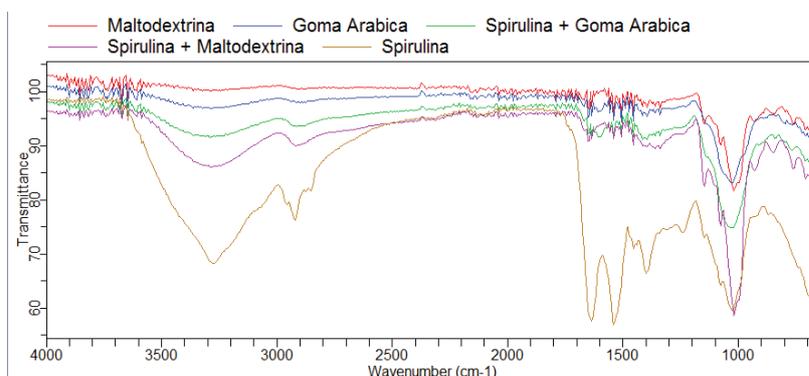
A Figuras 4 (a) e 4 (b) apresentam os espectros obtidos por FTIR das amostras de *Spirulina*, *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina e com goma arábica e das microcápsulas de maltodextrina e de goma arábica, respectivamente. Tanto a maltodextrina quanto a goma arábica e a *Spirulina* pura apresentaram bandas pronunciadas em torno de 1000 cm^{-1} , que são atribuídas às ligações C-O e à deformação angular das ligações =CH e =CH₂. Essas ligações são provenientes de grupos químicos presentes nos carboidratos e lipídeos. A diferença na intensidade das bandas está relacionada à quantidade do componente na amostra (COMUNIAN, et al., 2016).

As bandas 1290 e 1400 cm^{-1} indicam a presença de compostos nitrogenados, assim como as bandas entre 1475 e 1550 cm^{-1} . Entre 1640 e 1680 cm^{-1} estão os alquenos. As bandas localizadas entre 2500 e 3300 cm^{-1} indicam a presença de ácidos carboxílicos. Bandas entre 3200 e 3500 cm^{-1} indicam a presença de álcoois e fenóis. Esses dados indicam que a *Spirulina* possui grande quantidade de proteínas, vitaminas e substâncias antioxidantes (THEIVANDRAN, et al., 2015).

A FTIR das microcápsulas de *Spirulina* é muito semelhante à FTIR dos encapsulantes. O fato dos espectros serem semelhantes sugere que a *Spirulina* foi envolvida pela maltodextrina e pela goma arábica no momento da microencapsulação (COMUNIAN, et al., 2013).

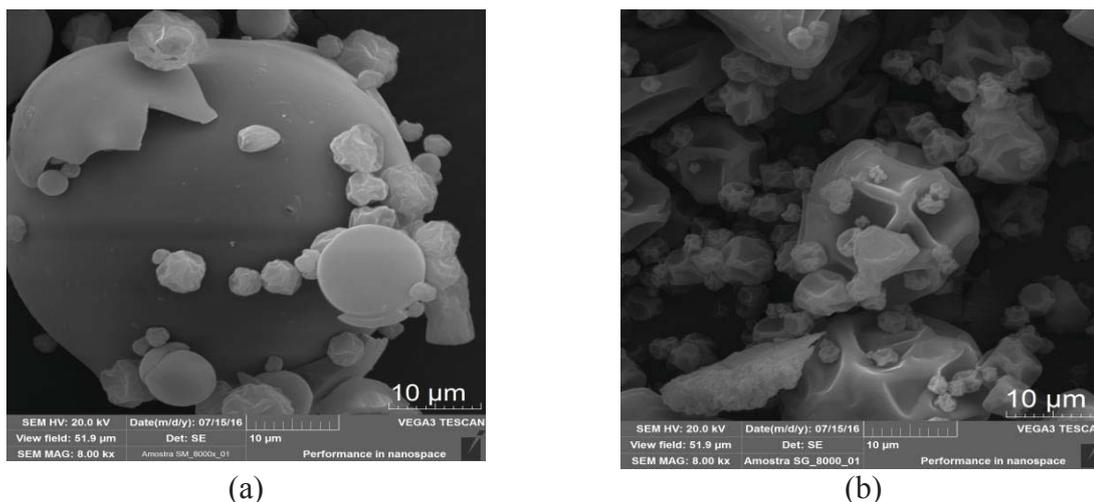
A *Spirulina* apresentou em sua composição bandas referentes à presença de proteínas (amida primária, amida secundária, ácidos carboxílicos), lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos. Bandas semelhantes foram verificados por Fang et al. (2011) para a microalga *Spirulina platensis*.

Figura 4: FTIR das cápsulas de *Spirulina* e maltodextrina e *Spirulina* e goma arábica



A Figura 5 apresenta a análise morfológica das microcápsulas de *Spirulina platensis* encapsuladas com maltodextrina 20DE (Fig 5a) e goma arábica (Fig 5b). Verifica-se que as microcápsulas são predominantemente arredondadas, com aspecto liso e sem rachaduras.

Figura 5: Análise morfológica por MEV da *Spirulina platensis* encapsulada em maltodextrina e goma arábica (aumento 8000X)



Efeito da microencapsulação sobre as propriedades térmicas

A estrutura nativa das proteínas é estabilizada por forças moleculares internas, reduzidas com o aumento da temperatura. Desta forma, acima de determinada temperatura, ocorre uma transição do tipo ordem-desordem, quando as proteínas são desenroladas, ocorrendo um fenômeno conhecido como desnaturação (FURUKAWA, et al., 2004).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) pode ser usada para avaliação do comportamento térmico pela determinação da temperatura máxima suportada pela amostra (GILL, et al., 2010). A temperatura pico é considerada a temperatura de desnaturação da amostra (HE, et al., 2013).

As amostras de *Spirulina*, *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina e com goma arábica e as microcápsulas de maltodextrina e de goma arábica, quando submetidas à DSC, apresentaram os resultados apresentados na Tabela 5, sendo temperatura inicial (T_i), temperatura pico (T_p), temperatura final (T_f) e ΔH (entalpia). As Figuras 6 a 10 apresentam curvas obtidas.

Tabela 5: Calorimetria exploratória diferencial das amostras de *Spirulina* não encapsulada e microencapsulada em maltodextrina e goma arábica

Tratamentos	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	ΔH (J/g)
<i>Spirulina platensis</i>	23,62	64,62	94,74	-12,05
Goma arábica cápsula controle	26,74	70,30	96,88	-14,05
Maltodextrina 20 DE cápsula controle	49,16	70,13	110,47	-7,53
<i>Spirulina</i> +goma arábica	45,27	68,89	97,98	-5,50
<i>Spirulina</i> +maltodextrina 20 DE	24,80	70,33	97,75	-5,39

Temperatura inicial (Ti), temperatura pico (Tp), temperatura final (Tf), ΔH (entalpia)

A *Spirulina* apresentou desnaturação quando a temperatura atingiu 64,62°C. Quando microencapsulada, tanto com maltodextrina quanto com goma arábica, as temperaturas de desnaturação aumentaram para em torno de 69°C e 70°C, respectivamente. Esse atraso no início da desnaturação significa que a microencapsulação protegeu a *Spirulina* do dano térmico e que não há incompatibilidade entre a *Spirulina* e os encapsulantes.

A entalpia de transição indica a energia necessária para que a desnaturação ocorra. As entalpias negativas indicam absorção de energia (MAHENDRA et al., 2015).

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando temperaturas de 20°C a 600°C. As Figuras 11 a 13 mostram os gráficos evidenciando a perda de massa das amostras em função da temperatura.

Figura 11: Análise termogravimétrica da *Spirulina*

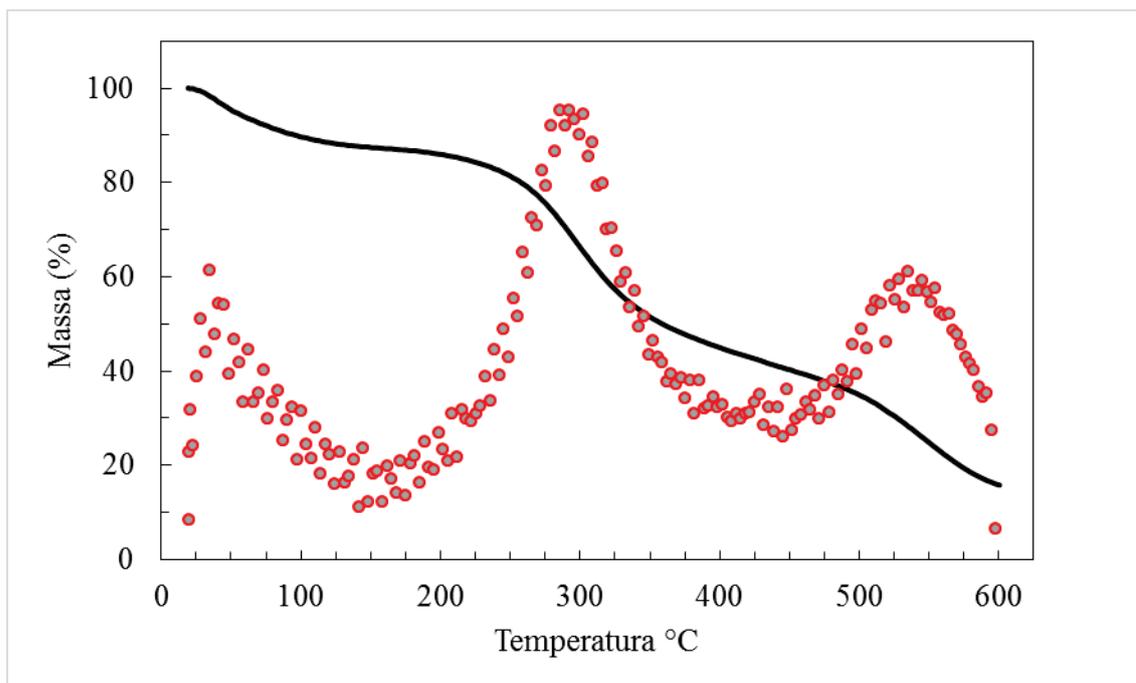


Figura 12: Análise termogravimétrica da microcápsula de *Spirulina* e maltodextrina

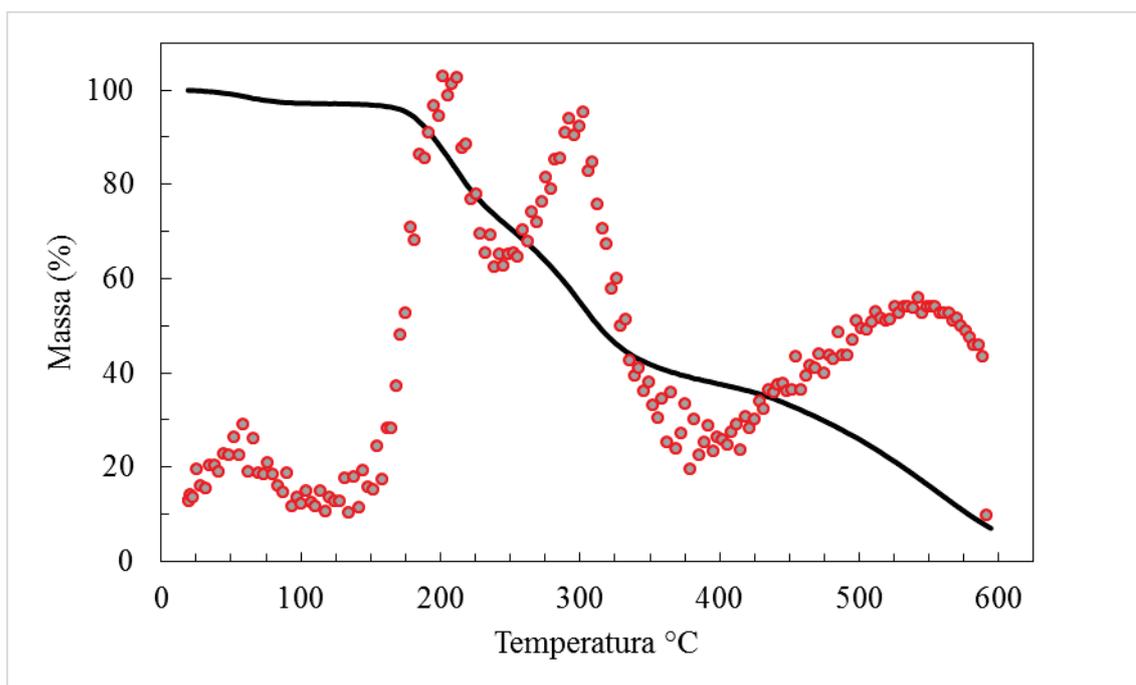
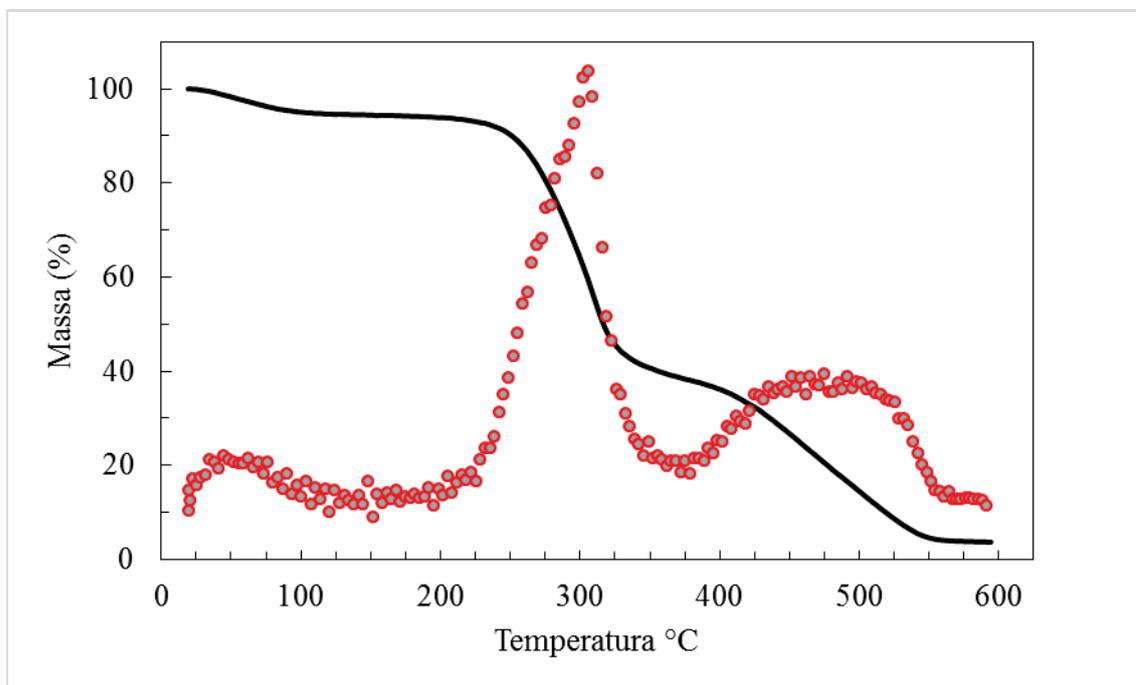


Figura 13: Análise termogravimétrica da *Spirulina* e goma arábica

As Figuras mostram a TGA da microcápsula de *Spirulina* e maltodextrina com 2 eventos principais em 200°C e 300°C. A TGA da *Spirulina* mostra perda de massa logo no início do aquecimento, observado na linha de base como declínio. Nas TGAs das microcápsulas, a perda de massa inicia em temperaturas maiores, o que indica que a microencapsulação promoveu a proteção térmica da *Spirulina* e conseqüentemente o aumento da sua estabilidade.

Todas as amostras, ao final da análise, perderam mais de 85% da massa inicial. Entre as microcápsulas, a *Spirulina* em goma arábica perdeu mais massa, ficando com apenas 3,71% da massa inicial, contra 7,06% da *Spirulina* em maltodextrina. A *Spirulina*, ao final da análise, apresentou 15,83% da massa inicial. Na indústria de alimentos, não são utilizadas rotineiramente temperaturas tão elevadas.

Desenvolvimento de sorvete adicionado de *Spirulina* em pó e encapsulada

Caracterização físico-química das formulações de sorvete

A Tabela 6 apresenta os resultados das determinações físico-químicas obtidas para as formulações de sorvete. Todas as formulações de sorvete produzidas estão adequadas à legislação brasileira (ANVISA, 1999). Para ser considerada sorvete de creme, a formulação

deve possuir no mínimo 2,5% de proteínas, no mínimo 3% de gordura láctea, no mínimo 32% de sólidos totais e densidade aparente mínima de 475 g/L.

Tabela 6: Determinações físico-químicas das formulações de sorvete desenvolvidas

Amostras de sorvete	Proteínas (%)*	Lipídios (%)*	Densidade aparente (g/L)*	Sólidos totais (%)*	pH*
FP	3,50 ± 0,28 ^a	9,00 ± 1,41 ^a	985 ± 7,07 ^a	75,56 ± 2,89 ^{bc}	6,79 ± 0,02 ^a
FSM	4,75 ± 0,07 ^b	9,50 ± 0,71 ^a	1075 ± 7,07 ^b	59,29 ± 0,77 ^a	6,84 ± 0,02 ^{ab}
FSG	4,96 ± 0,07 ^b	10,5 ± 0,71 ^a	985 ± 7,07 ^a	65,01 ± 3,00 ^{ab}	6,89 ± 0,02 ^b
FS	5,37 ± 0,52 ^b	11,0 ± 0,00 ^a	965 ± 7,07 ^a	84,14 ± 5,36 ^c	7,04 ± 0,01 ^c

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A adição da *Spirulina* encapsulada e não encapsulada ocasionou um aumento significativo (p<0,05) na quantidade de proteínas nas formulações de sorvete, levando a um aumento do valor nutricional. O aumento no teor de proteínas em relação à formulação padrão de sorvete, foi de 35%, 42% e 53% para as formulações FSM, FSG e FS, respectivamente. Pães sem glúten incorporados de 3% da *Spirulina* apresentaram maior teor proteico e melhor composição de aminoácidos em relação ao controle, sem microalga (FIGUEIRA et al., 2011). Em um estudo com adição de *Spirulina* e farinha de aveia na massa seca, a microalga proporcionou um aumento no teor de proteína de 20% em comparação à massa sem a adição da mesma (PAGNUSSATT et al., 2014).

O teor de lipídios não sofreu alteração após a adição da *Spirulina*, encapsulada e não encapsulada. Não houve diferença significativa ao nível de 5% entre as formulações.

Os valores de densidade aparente obtidos variaram entre 969,69 a 1089,18 g/L. O conhecimento da densidade é muito importante em processos industriais, no ajuste das condições de estocagem, processamento, embalagem e distribuição. Os produtos obtidos por moagem ou secagem geralmente são caracterizados por sua densidade aparente, que considera o volume do material sólido (BARBOSA-CÁNOVAS, et al., 2005).

A legislação brasileira não estabelece valores de referência para o pH dos sorvetes. O pH e acidez titulável dos sorvetes são parâmetros influenciados pelo sabor empregado na formulação, sendo que sorvetes de frutas normalmente possuem acidez diferenciada de sorvetes de chocolate ou de creme e também pela utilização de leites de diferentes origens (CORREIA et al., 2008).

Os resultados das análises dos parâmetros de cor das formulações de sorvete produzidas são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Parâmetros de cor das amostras de sorvete

Tratamentos	L*	a*	b*
FP	87,14 ± 0,31 ^d	0,71 ± 0,14 ^d	15,37 ± 0,24 ^b
FSM	59,91 ± 0,08 ^b	-13,87 ± 0,10 ^b	15,19 ± 0,03 ^b
FSG	63,44 ± 0,33 ^c	-10,42 ± 0,20 ^c	10,26 ± 0,24 ^a
FS	53,40 ± 0,20 ^a	-17,42 ± 0,07 ^a	10,10 ± 0,22 ^a

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média±Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autor (2017)

A coordenada L* representa a luminosidade. Mede a quantidade de luz que é refletida de uma determinada cor, sendo que 0 indica a coloração preta e 100 indica a coloração branca. Os sorvetes contendo *Spirulina* perderam luminosidade devido à coloração mais escura da microalga. Houve diferença significativa entre todas as amostras testadas quando comparadas ao controle (FP).

O parâmetro a* com valores negativos indica a coloração em direção ao verde, enquanto que a* positivo vai em direção ao vermelho. O parâmetro a* indicou uma tendência ao verde nos 3 sorvetes contendo *Spirulina*. A FS apresentou menor a*, pois continha *Spirulina* não encapsulada e por isso a cor verde mais intensa. A encapsulação com goma arábica e maltodextrina resultou em verde menos intenso. Houve diferença significativa entre todas as amostras testadas.

O parâmetro b*, quando positivo, indica a coloração em direção ao amarelo, enquanto que se negativo vai em direção ao azul. Os valores obtidos para todas as formulações foram positivos, indicando uma tendência ao amarelo. A FP e a FSM apresentaram maior b* por ser amarela.

Os resultados da resistência ao derretimento das formulações de sorvete estão apresentados na Tabela 8. Não houve diferença significativa no tempo de queda da primeira gota (TPG) entre as formulações com microcápsulas. Já no tempo de derretimento de 10% da amostra (TPG 10%), cada uma das formulações se comportou de maneira diferente. A maltodextrina e a goma arábica aceleram o derretimento do sorvete.

Tabela 8: Resistência ao derretimento das formulações desenvolvidas

Amostras de sorvete	TPG (s/g)*	TPG 10%*
FP	59,0 ± 1,41 ^b	71,5 ± 0,71 ^d
FSM	35,5 ± 0,71 ^a	51,0 ± 0,00 ^a
FSG	40,5 ± 2,12 ^a	53,6 ± 0,57 ^b
FS	55,0 ± 1,41 ^b	66,6 ± 0,85 ^c

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fernandes (2016) também encontrou tempos de derretimento menores com a inclusão da maltodextrina nas formulações de sorvete. Os sorvetes que contêm gordura devem derreter mais lentamente do que os sorvetes com baixo teor de gordura, pois a gordura diminui a taxa de transferência de calor (AKALIN et al., 2008). Os sorvetes não adicionados de microcápsulas, FP e FS, derreteram mais lentamente por não conterem os encapsulantes, que aceleram o derretimento.

Análise sensorial

Aceitabilidade

A Tabela 9 apresenta os resultados de índice de aceitabilidade (IA) sensorial para as formulações de sorvete desenvolvidas, na qual se verifica que todas as formulações apresentaram IA superiores a 70 % para todos atributos avaliados. Verifica-se ainda que para os atributos textura e odor/aroma não houve diferença significativa no índice de aceitabilidade das amostras adicionadas de *Spirulina* encapsulada ou não, em relação à FP ($p > 0,05$). Os consumidores não perceberam o odor/aroma da microalga quando esta foi adicionada ao sorvete. A baixa temperatura do sorvete dificulta a liberação dos compostos voláteis, fazendo com que os odores e aromas se tornem menos perceptíveis.

Tabela 9: Índices de aceitabilidade sensorial em relação aos atributos de cor, textura, sabor, odor/aroma, aparência e impressão global das formulações de sorvete desenvolvidas

Formulações	Cor*	Textura*	Sabor*	Odor/aroma*	Aparência*	Impressão Global*
FP	87,1 ± 0,9 ^b	79,1 ± 1,57 ^a	81,3 ± 1,24 ^b	78,4 ± 1,35 ^a	81,8 ± 1,43 ^b	80,9 ± 1,11 ^b
FSM	82,2 ± 1,37 ^{ab}	71,8 ± 1,80 ^a	70,0 ± 1,82 ^a	72,7 ± 1,54 ^a	77,3 ± 1,35 ^{ab}	71,8 ± 1,57 ^a
FSG	77,5 ± 1,56 ^a	71,3 ± 1,86 ^a	72,2 ± 1,92 ^{ab}	73,6 ± 1,74 ^a	71,8 ± 1,81 ^a	72,4 ± 1,71 ^{ab}
FS	80,2 ± 1,66 ^{ab}	71,1 ± 1,99 ^a	71,8 ± 1,68 ^{ab}	75,1 ± 1,35 ^a	76,2 ± 1,63 ^{ab}	72,4 ± 1,54 ^{ab}

FP: Formulação Padrão; FS: Formulação com *Spirulina* pura; FSM: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com maltodextrina; Formulação FSG: Formulação com *Spirulina* microencapsulada com goma arábica. *Resultados Média ± Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para o atributo cor, as formulações com *Spirulina* se mostraram iguais entre si ($p>0,05$), entretanto a única amostra que diferiu da FP em relação à aceitabilidade foi a FSG ($p<0,05$). O mesmo comportamento foi observado para o atributo aparência, desta forma, o encapsulamento de *Spirulina* em goma arábica e sua adição no sorvete afetou os atributos percebidos a partir do sentido da visão. A goma arábica deixou a formulação de sorvete mais opaca que as outras formulações.

O sabor possivelmente tenha sido o atributo que mais influenciou na aceitação global do produto, uma vez que as influências da encapsulação da microalga apresentaram os mesmos efeitos sobre um e outro parâmetro. Não houve diferença entre as amostras adicionadas de *Spirulina* para estes dois parâmetros sensoriais ($p>0,05$), entretanto a FSM apresentou IA inferiores ($p<0,05$) à FP, não adicionada de *Spirulina*.

O encapsulamento da *Spirulina* em goma arábica afeta negativamente os parâmetros de cor e aparência. O sorvete formulado com as microcápsulas de goma arábica apresentou-se mais opaco, com cor verde menos intensa.

O encapsulamento da *Spirulina* em maltodextrina afetou negativamente a aceitabilidade em relação aos parâmetros de sabor e aceitação global. A maltodextrina possui um sabor bem característico, que se sobressaiu neste sorvete. Alguns comentários obtidos na análise sensorial foram “extremamente doce”, “enjoativo”, “a primeira sensação é boa, porém no final se torna amargo”.

O sabor foi o parâmetro que mais influenciou a aceitabilidade. A adição de *Spirulina* não encapsulada não afeta os parâmetros sensoriais do sorvete na concentração utilizada, sendo este um excelente resultado. O sorvete adicionado de *Spirulina* pode ser consumido tão agradavelmente quanto o sorvete padrão, com todos os benefícios que a microalga traz em sua composição.

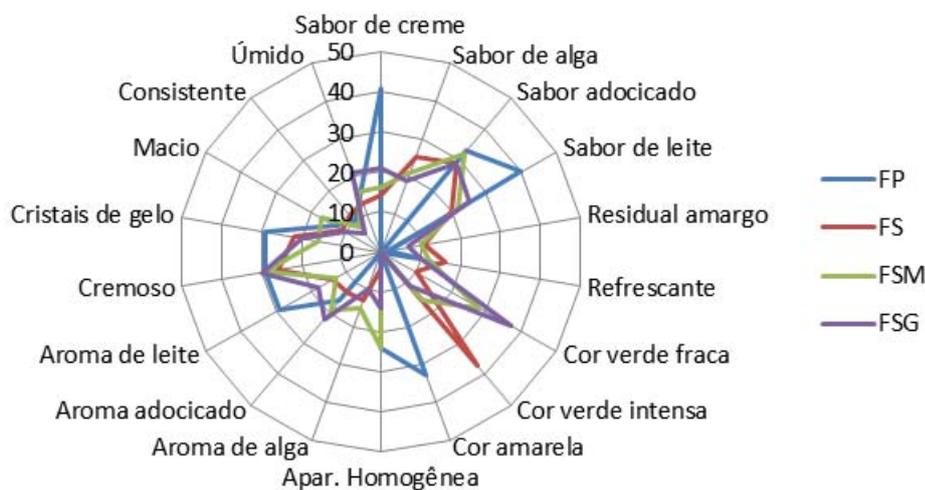
O teste de intenção de compra apresentou resultados satisfatórios. A avaliação revelou que a maioria dos provadores compraria os sorvetes. Apenas 4% não comprariam a FP, 30% não comprariam a FSM e a FSG e 28% não comprariam a FS. A intenção de compra para os dois sorvetes adicionados de microcápsulas foi a mesma. Em média, 76,5% dos provadores comprariam os sorvetes.

CATA

Os atributos sabor de creme, sabor de leite e aroma de leite foram os mais citados pelos provadores para a formulação padrão. Os atributos sabor de alga e odor de alga foram citados para as 3 formulações com *Spirulina*, o que demonstra que apesar de serem percebidos pelos julgadores, não afetam a aceitabilidade das amostras, conforme verificado anteriormente

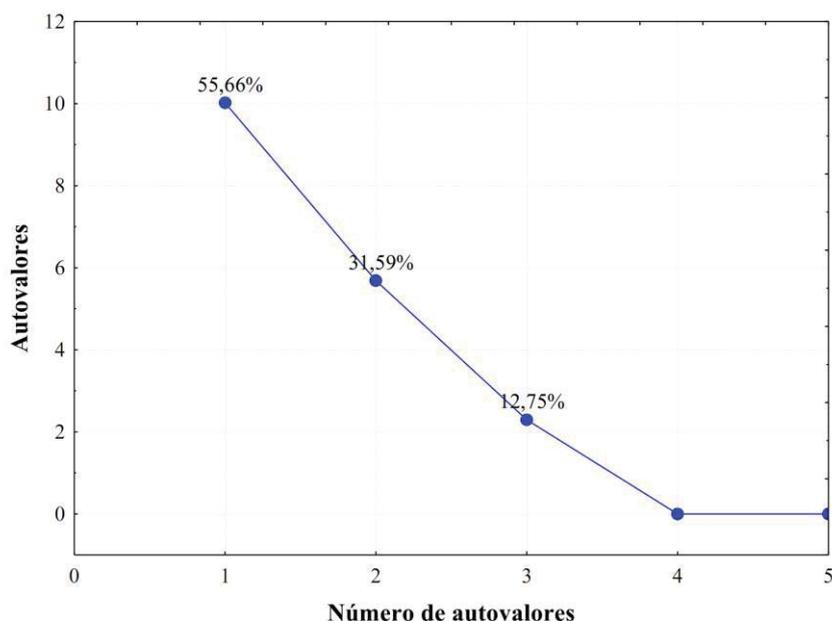
A cor amarela foi citada somente para a FP, enquanto as cores verde fraca e verde intensa foram citadas para os sorvetes com *Spirulina*. A aparência homogênea foi menos identificada no sorvete com *Spirulina* pura, onde era possível ver o pó da microalga. Os sorvetes foram considerados cremosos e com sabor adocicado. Os atributos gosto amargo, arenoso, gomoso e textura elástica, considerados atributos não satisfatórios, foram pouco citados entre as amostras, sendo desconsiderados nas análises posteriores. A Figura 16 apresenta as características de cada amostra de sorvete em relação aos atributos mais e menos citados no teste CATA.

Figura 16: Distribuição da frequência atribuída pelos julgadores aos atributos sensoriais do teste CATA para as diferentes formulações de sorvete.



A análise de componentes principais (ACP) das frequências de citação dos atributos obtidas no teste CATA demonstrou que a variabilidade entre as amostras pôde ser explicada em 87,25% por dois componentes principais, como mostrado na Figura 17, que apresenta os autovalores do teste.

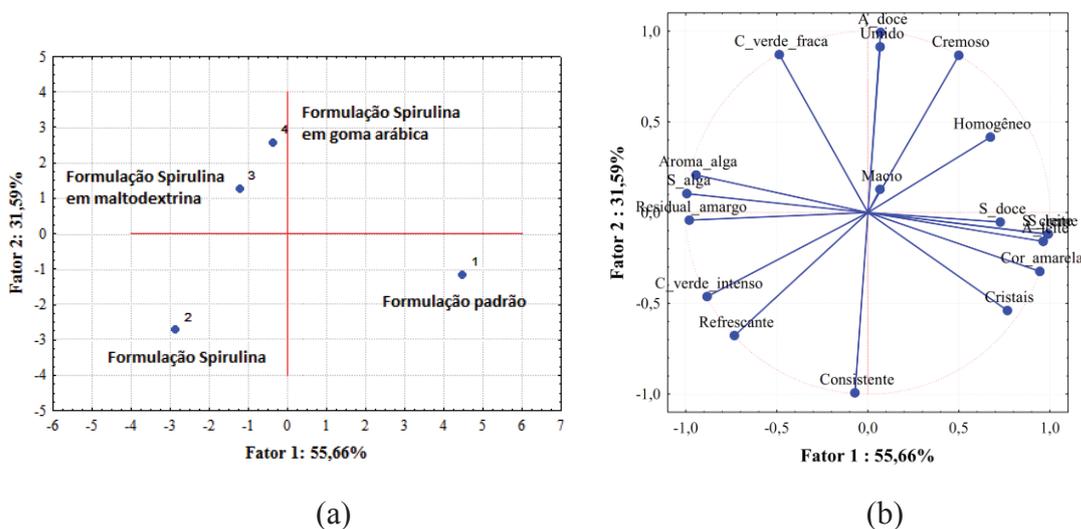
Figura 17: Autovalores da ACP das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.



A Figura 18 apresenta a representação das amostras e dos atributos do teste CATA nas primeira e segunda dimensões da Análise de Componentes Principais. Os atributos mais representados pelo componente principal 1 foram sabor de creme, sabor de alga, sabor de leite, cor verde intenso, cristais, aroma de alga, aroma de leite e residual amargo e cor amarela. Os atributos mais representados pelo componente principal 2 foram úmido, cremoso, cor verde fraca, aroma doce, consistente e refrescante. O componente principal 1 representa melhor os atributos relacionados ao sabor/odor e aparência, enquanto o componente principal 2 representa os parâmetros mais relacionados à textura.

Na relação com as amostras, verifica-se que a FP foi mais representada pelos atributos de sabor doce, sabor de leite, aroma de leite, cor amarela, todos característicos de um sorvete de creme (CADENA, 2013). A presença de cristais foi o atributo que mais caracterizou essa amostra, o que pode ser explicado pela ausência nesta formulação da goma arábica ou maltodextrina, às quais foram somente nas formulações adicionadas de *Spirulina* encapsulada. Esses compostos são considerados agentes de textura e podem contribuir para uma melhor emulsificação e controle da formação de cristais em produtos congelados (CADENA, 2013).

Figura 18: Representação das amostras de sorvete (a) e dos atributos (b) na primeira e segunda dimensões da Análise de Componentes Principais realizada com os dados do teste CATA



1: Formulação padrão (FP); 2 Formulação adicionada de *Spirulina* (FS); 3: Formulação adicionada de *Spirulina* encapsulada em maltodextrina (FSM); 4: Formulação adicionada de *Spirulina* encapsulada em goma arábica (FSG).

A formulação adicionada de *Spirulina* foi mais representada pela cor verde intensa, refrescância e consistência. Os atributos de aroma de alga, sabor de alga e residual amargo representam também a amostra 2 por estarem localizados no quadrante esquerdo da Figura 18a. Estes atributos também representam as amostras adicionadas de *Spirulina* encapsulada, mas com menor intensidade, uma vez que estas amostras encontram-se posicionadas mais próximas ao eixo vertical do que a formulação adicionada de *Spirulina* não encapsulada. Assim, pode-se verificar que o encapsulamento da microalga contribuiu para a não percepção do aroma de alga e sabor de alga. Entretanto, isso não contribuiu para uma maior aceitação destas amostras em relação à FP ou à FS, como verificado anteriormente.

A FSG foi mais representada pelos atributos úmido e aroma doce, e este pode ter sido o fator que contribuiu para a menor aceitabilidade desta amostra em relação à amostra padrão.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou elevadas eficiências de encapsulação em goma arábica (85%) e maltodextrina (89%), com a obtenção de microcápsulas homogêneas, de tamanhos médios de 6,24 μm (maltodextrina) e 3,44 μm (goma arábica).

A microencapsulação da microalga *Spirulina* permite uma leve proteção do potencial antioxidante da microalga em temperaturas de 4°C a 25°C. Há uma perda de cerca de 70% do potencial antioxidante após 7 dias à temperatura ambiente para a *Spirulina* em pó, e de cerca de 66% e 70% dos pós encapsulados em goma arábica e maltodextrina, respectivamente, o que corrobora resultados apresentados pela literatura, que demonstram a instabilidade da ficocianina, bioativo responsável pelo potencial antioxidante, à temperatura. Desta forma, conclui-se que para a manutenção do potencial antioxidante total da microalga, deve-se priorizar a adição em produtos mantidos em temperaturas de congelamento, como o sorvete, proposto neste trabalho.

O sorvete adicionado de *Spirulina* apresentou ganho no teor de proteínas em relação à formulação padrão, de 35%, 42% e 53% para as formulações de sorvete com *Spirulina* em maltodextrina, *Spirulina* em goma arábica e *Spirulina* pura, respectivamente.

Todas as formulações de sorvete apresentaram índice de aceitabilidade de 70%, independentemente de serem adicionadas ou não da microalga. A encapsulação da *Spirulina* em goma arábica diminuiu a aceitabilidade do sorvete em relação ao padrão para os parâmetros de cor e aparência. O encapsulamento da *Spirulina* em maltodextrina afetou negativamente a aceitabilidade em relação aos parâmetros de sabor e aceitação global. Os sorvetes desenvolvidos apresentaram intenção de compra média de 76,5%

A realização do teste descritivo com consumidores (CATA) permitiu concluir que o encapsulamento mascara o sabor de alga e aroma de alga, no entanto esse fato não leva a uma maior aceitabilidade das amostras onde a microalga foi encapsulada.

Conclui-se que a adição de *Spirulina* em sorvete pode ser realizada sem microencapsulação com ganho no teor protéico e sem prejuízo do potencial antioxidante e da aceitabilidade.

REFERÊNCIAS

- AKALIN, Ayşe Sibel; KARAGÖZLÜ, Cem; ÜNAL, Gülfem. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 3, p. 889-895, 2008.
- ANARJAN, N.; TAN, C. P. Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 437 – 447, 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18. Ed. Washington: AOAC, 2005.
- ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE N° 1, de 29 de julho de 2005. Dispõe sobre o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade Diário Oficial da União, 08 de agosto de 2005. Seção 1 . p. 119.
- ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Portaria n° 379, de 26 de abril de 1999. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 24 nov. 2017.
- BACKES, L.T.H. **Ficocianina na proteção da toxicidade da alfa-synucleína e deleção do gene SIR2 em *Saccharomyces cerevisiae***. 146f. Dissertação (Mestrado em Envelhecimento Humano) Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.
- BARBOSA-CÁNOVAS GV, ORTEGA-RIVAS E, JULIANO P, YAN H. Bulk properties. In: *Food power: physical properties, processing, and functionality*. New York: **Kluwer Academic**; p.81-8, 2005.
- BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulação de antocianinas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano IX, n. 36, p. 18-24, jan./jun. 2006.
- BENITES, R.S.R., FORMAGIO, A.S.N., ARGANDONA, E.J.S., VOLOBUFF, C.R.F., TREVIZAN, L.N.F., VIEIRA, M.C. and SILVA, M.S. Contents of constituents and antioxidant activity of seed and pulp extracts of and *Annona coriacea* *Annona sylvatica*. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 75, no. 3, pp. 685-691.
- BERTOLIN, T. E.; GUARIENTI C; FARIAS, D.; SOUZA, F.T.; GUTKOSKI, L.C.; COLLA, L.M. Efeito antioxidante da ficocianina em pescado salgado-seco. **Ciênc. agrotec**, v. 35, n. 4, 2011.
- BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juçara (*Euterpe edulis*): aspectos de interesse para a indústria de alimentos**. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- CADENA, A., CRUZ, A. G.. Consumer perception of probiotic yogurt: Performance of check all that apply (CATA), projective mapping, sorting and intensity scale. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 601-610, 2013.

CARNEIRO, H.C.F., TONON, R.V., GROSSO, C.R.F., HUBINGER, M.D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by *spray drying* using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**. V.115, 2013.

COMUNIAN, Talita A. et al. Protection of echium oil by microencapsulation with phenolic compounds. **Food Research International**, v. 88, p. 114-121, 2016.

CORREIA, R. T. P.; MAGALHÃES, M. M. A.; PEDRINI, M. R. S.; CRUZ, V. F.; CLEMENTINO, T. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: Composição química e propriedades de derretimento. **Rev. Ciên. Agron.**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 251-256, Abr.-Jun., 2008.

CRUZ, Andressa Tardim; RIGON, Roberta Balansin; CHORILLI, Marlus. FM. Influência do método de preparo na eficiência de encapsulação do fármaco e nas propriedades físico-químicas de nanopartículas lipídicas sólidas contendo resveratrol. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 1, 2016.

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

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.

EDRIS, A.E., KALEMBA, D., ADAMIEC, J., PIATKWOSKI, M. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v.4, p. 326-333, 2016.

FANG, L.; ZHOU, C.; CAI, P.; CHEN, W.; RONG, X.; DAI, K.; LIANG, W.; GU, J. D.; HUANG, Q. Binding characteristics of copper and cadmium by cyanobacterium *Spirulina platensis*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, p. 810-815, 2011.

FAROOQ, S.M.; BOPANA, N.B.; ASOKAN, D.; SEKARAN, S.D.; SHANKAR, E.M.; LI, C.; GOPAL, C.; BAKAR, S.; KARTHIK, H.; EBRAHIM, A.S. C-phycoyanin confers protection against oxalate-mediated oxidative stress and mitochondrial dysfunctions in MDCK cells. **PLOS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

FERREIRA, D.J., BAVARESCO, J. **Potencial antioxidante da microalga *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) submetida à degradação térmica e à fotodegradação**. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

FIGUEIRA, F. S. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 308-316, 2011.

FORMAGIO, A.S.N., RAMOS, D.D., VIEIRA, M.C., RAMALHO, S.R., SILVA, M.M., ZÁRATE, N.A.H., FOGLIO, M.A. and CARVALHO, J.E.. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 75, no. 1, pp. 69-76, 2015.

GELIN, J.L., LORIENT, D., POYEN, L., RIZZOTTI, R., DACREMONT, C., MESTE, M.L. Interactions between food components in ice cream II: structure-texture relationship. **Food Hydrocolloids**, v.10, n. 4, p.199-215, 1996.

KAREL, M.; LANGER, R. Controlled release of food additives. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Flavor encapsulation**. Washington, DC: ACS, p.29-36, 1988.

KRISHNAN, S; BHOSALE, R; SINGHAL, RS. Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, n. 1, p. 95-102, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3 ed. São Paulo, v.1 – **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 1985.

MACHADO, A.R., ASSIS, L.M., COSTA, J. A. V., BADIALE-FURLOG, E., MOTTA, A. S. MICHELETTO, Y. M. S., SOUZA-SOARES, L. A. Application of sonication and mixing for nanoencapsulation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in liposomes. **International Food Research Journal**, v. 22, p 96-101, 2015.

MARTINELLI, G.; FOLLI, C.; VISAI, L.; DAGILA, M.; FERRARI, D. Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanina from *Spirulina platensis* for foods industry applications. **Process Biochemistry**. v. 49, p. 154-159, 2014.

MARTINEZ SE, CHEN Y, HO EA , MARTINEZ SA , DAVIES NM. Pharmacological effects of a Cphycocyaninbased multicomponent nutraceutical in an in vitro canine chondrocyte model of osteoarthritis. **Can J Vet Res**. v.79, n. 3, p.2419, 2015.

MIN, S.K., PARK, J.S., LUO, L., KWON, Y.S., LEE, H.C., SHIM, H.J., KIM, I., LEE, J., SHIN, H.S. Assessment of C-phycocyanin effect on astrocytes-mediated neuroprotection against oxidative brain injury using 2D and 3D astrocyte tissue model. **Sci Rep**, v. 24, n. 5, p. 144-18, 2015.

MITRA S, SIDDIQUI WA, KHANDELWAL S. C-Phycocyanin protects against acute tributyltin chloride neurotoxicity by modulating glial cell activity along with its anti-oxidant and anti-inflammatory property: A comparative efficacy evaluation with N-acetyl cysteine in adult rat brain. **Chem Biol Interact.**, 2015.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.109-122, 2006.

NUNES, G.L. **Microencapsulação por spray drying do extrato crioconcentrado de erva mate (*Ilex paraguariensis*) empregando maltodextrina como agente encapsulante**. Florianópolis, SC, 92 p., 2014.

OBEIDAT, W. M. Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using the emulsion solvent removal methods. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, n. 3, p. 178-192, 2009.

OZKAM, G.; BILEK, S. Microencapsulation of natural food colourants. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**. v 3, n 3, p. 145-156, 2014.

PAGNUSSATT, F. A.; SPIER, F.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J.A.V, GUTKOSKI, L. C. Technological and nutritional assessment of dry pasta with oatmeal and the microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 296-304, 2014.

PAN, R., LU, R., ZHANG, Y., ZHU, M., ZHU, W.M YANG, R., ZHANG, E., YING, J., XU, T., YI, H., LI, J., SHI, M., ZHOU, L., XU, Z., LI, P., BAO, Q. *Spirulina* phycocyanin induces differential protein expression and apoptosis in SKOV-3 cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1-35, 2015.

PLEONSIL, P., SOOGARUN, S., SUWANWONG, Y. Anti-oxidant activity of holo- and apo-c-phycocyanin and their protective effects on human erythrocytes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 393– 398, 2013.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powder. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, n. 5, p. 386-392, 2007.

RAMOS, A.L., DECOSTA, D.T., GUIMARÃES, E., ORO, T., COLLA, L.M., BERTOLIN, T.E. Estabilidade térmica da microalga *Spirulina platensis* em relação ao potencial antioxidante do extrato aquoso. Anais XX Sinaferm, 2015.

RE, R. PELLEGRINI, N. PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n. 9/10, p.1231 -1 237, 1999.

RESTREPO, John F.; GARCIA-SUCERQUIA, Jorge. Automatic three-dimensional tracking of particles with high-numerical-aperture digital lensless holographic microscopy. **Optics letters**, v. 37, n. 4, p. 752-754, 2012.

ROBERT, Paz et al. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. **International journal of food science & technology**, v. 45, n. 7, p. 1386-1394, 2010.

RODRIGUES-HUEZO et al. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 102-109, 2012.

RODRIGUES, E. F., VENDRUSCULO, L. P. **Emulsificantes microalgais aplicados em sorvete**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.

RUTZ, J.K. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.)** 2013. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

SANT'ANNA, V.; GURAK, P.D.; MARCZAK, D.F.; TESSARO, I.C., Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. **Dyes and Pigments**, v. 98, p. 601-608, 2013.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food SHIH, C. M.; CHENG, S. N.; WONG, C. S.; KUO, Y. L.; CHOU, T. C. Antiinflammatory and antihyperalgesic activity of C-phycocyanin. **Anesthesia and Analgesia**, v. 108, p. 1303-1310, 2009.*

SHALABY, E.A.; SHANAB, S.M.M.. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 42, no. 5, p. 556-564, 2013.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II aplicação de métodos de microencapsulação. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 39(1), p. 1-9, 2003.

SILVA, C. S. Alimentos funcionais: uma tendência de mercado / functional foods: a Market trend. **Egitania Scientia**, n. 16, p. 106, 2015.

SILVA, L. A.; **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis***. 91f. Dissertação (Mestrado Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

ŠLIUMPAITĖ, I. et al. Antioxidant properties and phenolic composition of wood betony (*Betonica officinalis* L., syn. *Stachys officinalis* L.). **Industrial crops and products**, v. 50, p. 715-722, 2013.

SOUZA, J.R.R., FEITOSA, J.P.A., RICARDO, N.M.S.N., TREVISAN, M.T.S., PAULA, H.C.B., ULRICH, C.M., OWEN, R.W. *Spray-drying* encapsulation of mangiferin using natural polymers. **Food Hydrocolloids**, v. 33, p. 10-18, 2013.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; AMARAL, M. P. H.; CARVALHO, A. F.; VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 2, jun. 2007.

THEIVANDRAN, G.; IBRAHIM, M.; MURUGAN, M. Fourier Transform Infrared (Ft-Ir) Spectroscopic Analysis of *Spirulina fusiformis*. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, n. 4, p. 30-32, 2015.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, 29(2): 444-450, abr.-jun. 2009

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (*Euterpeoleraceae* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, p. 907-914, 2010.

TOSONI, Solange Fávoro; RODRIGUES, Vanessa Carvalho. **Características físico-químicas e antioxidantes de própolis microencapsulada com diferentes tipos de materiais encapsulantes**. 2013. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

TRIVEDI, M.K., NAYAK, G., PATIL, S., TALLAPRAGADA, R.M., JANA S., MISHRA, R. Evaluation of the impact of biofield treatment on physical and thermal properties of casein enzyme hydrolysate and casein yeast peptone. **Clin Pharmacol Biopharm**, v.4, p. 1-7, 2015.

VANDENPLAS, Y., HUYS, G., DAUBE, G. Probiotics: an update. **J Pediatr**, v. 91, p. 6-21, 2015.

VERSIC, R.J. **Coacervation for flavor encapsulation** Disponível em: <http://rtdodge.com/RTD-coacervation.html> Acesso em 01 novembro 2017.

VON DER WEID, D., DILLON, J.C., FALQUET, J. Malnutrition: a silent massacre. **Antenna Technology**, 2000.

WIRIYAPHAN, C., CHITSOMBOON, B., ROYTRAKUL, S., YONGSAWADIGUL, J. Isolation and identification of antioxidative peptides from hydrolysate of threadfin bream surimi processing byproduct. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1654–1664, 2013.

ZEN, C. K. **Enriquecimento proteico em palhada de soja e feno de azevém utilizando *Spirulina platensis* e *Aspergillus niger***. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2015.

ZHENG, J., INOBUCHI, T., SASAKI, S., MAEDA, Y., MCCARTY, M.F., FUJII, M., IKEDA, N., KOBAYASHI, K., SONODA, N., TAKAYANAGI, R. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. **American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, p. R110–R120, 2013.