

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
**DE ALIMENTOS**

**Cindiele Karen Zen**

**Microencapsulação da microalga *Spirulina sp.* para adição em massa  
fresca tipo talharim**

**Passo Fundo**

**2018**



**Cindiele Karen Zen**  
**Engenheira de alimentos**

**Microencapsulação da microalga *Spirulina sp.* para adição em massa  
fresca tipo talharim**

Dissertação de Mestrado apresentada para  
obtenção do título de Mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos  
Orientador: Luciane Maria Colla  
Co-orientador: Luiz Carlos Gutkoski  
Linha de pesquisa: processos biotecnológicos  
e não convencionais na produção de alimentos  
e ingredientes

**Passo Fundo**

**2018**

CIP – Catalogação na Publicação

---

Z54m Zen, Cindiele Karen  
Microencapsulação da microalga *Spirulina* sp. para a  
adição em massa fresca tipo talharim / Cindiele Karen  
Zen. – 2018.  
148 p. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Profa Dra. Luciane Maria Colla.  
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Gutkoski.  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2018.

1. Alimentos funcionais. 2. *Spirulina*. 3. Alimentos –  
Avaliação. I. Colla, Luciane Maria, orientadora. II. Gutkoski,  
Luiz Carlos, coorientador. III. Título.

CDU: 664

---

Catalogação: Bibliotecária Marciéli de Oliveira - CRB 10/2113

**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* sp. para adição em massa fresca  
tipo talharim**

Elaborada por  
**Cindiele Karen Zen**

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)

  
**Luiz Carlos Gutkoski, (Coorientador) Dr., UPF**

  
**Telma Elita Bertolin, Dra., UPF**

  
**Márcia Arocha Gularte, Dra., UFPel**

**Passo Fundo, RS, Brasil  
2018**



Aos meus pais, Ivete e Celso, meu irmão Weliton e meu namorado Jardel por todo apoio, incentivo, compreensão e paciência.

A toda a minha família e amigos, que de uma forma ou outra, fizeram parte desta etapa da minha vida.

Dedico.





## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me iluminar e permitir concluir mais uma etapa na minha vida.

Agradeço a minha família, base fundamental, pela força, confiança, apoio e incentivo em mim depositados para a conclusão de mais uma etapa e por estarem presentes em todos os momentos.

Agradeço a minha orientadora prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciane Maria Colla e ao meu co-orientador Luiz Carlos Gutkoski, pela oportunidade, pela paciência, disponibilidade, pela orientação científica, incentivo e por mostrarem o melhor caminho durante esses anos.

Agradeço a Ana Cláudia Margarites, a Cíntia Guarienti e a Tatiana Oro, que não mediram esforços durante as etapas deste projeto, pela ajuda, pelos ensinamentos, disponibilidade e amizade durante esses anos.

Agradeço as bolsistas de iniciação científica que estiveram ao meu lado durante esses anos, Ana Carolina Mattana, Raíssa Vieira e Débora Rodrigues, sempre ajudando na maioria dos experimentos e nunca me deixaram desanimar, sempre acreditaram que daria certo.

Agradeço aos amigos e colaboradores dos Laboratórios de Bioquímica e Bioprocessos, Cereais, Análise Sensorial, Laboratórios do Parque Científico e Tecnológico da UPF (módulo II), CEPA e Laboratório de Aulas Práticas pelo convívio, apoio e ajuda nas análises, que não mediram esforços na realização dos experimentos.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos, pela convivência, que sempre estiveram presentes em todos os momentos, bons e menos bons, tornando os dias mais alegres.

Agradeço aos meus colegas/amigos da turma do mestrado por dividir momentos de alegrias e de dificuldades, pela união e apoio.

Agradeço aos amigos da turma de mestrado de 2017, por tornarem os dias de pesquisa divertidos e pela ajuda nas análises.

Agradeço ao moinho Tondo S/A pelo fornecimento da farinha de trigo que viabilizou a realização deste trabalho.

Agradeço a Universidade de Passo Fundo, em especial, o Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, o curso de Engenharia de alimentos, professores, alunos e funcionários, pela amizade, apoio e por todo o suporte fornecidos para a realização deste trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de Rio Grande, em especial o professor Jorge Alberto Vieira Costa e Bruna pela realização de algumas análises.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado.

Por fim, agradeço a todos que convivi durante esses anos e que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho. Todos estão guardados na minha memória e no meu coração, sou eternamente grata a vocês.

Muito obrigada!

*Há quem diga que todas as noites são de  
sonhos.*

*Mas há também quem garanta que nem todas,  
só as de verão. No fundo, isto não tem muita  
importância.*

*O que interessa mesmo não é a noite em si,  
são os sonhos. Sonhos que o homem sonha  
sempre, em todos os lugares, em todas as  
épocas do ano, dormindo ou acordado.*

*William Shakespeare*



## RESUMO

Os produtos à base de cereais, como as massas frescas, são opções de alimentos apropriados para a incorporação de ingredientes funcionais, devido à sua conveniência, palatabilidade e por serem consumidas por pessoas de diferentes faixas etárias e de vários lugares. Nos últimos anos, diversos ingredientes foram utilizados na produção de massas frescas para melhorar e/ou conferir propriedades funcionais. As microalgas estão se tornando uma alternativa promissora para aplicação em alimentos, pois são capazes de melhorar o conteúdo nutricional e agregar valor funcional aos alimentos. A *Spirulina sp.* se destaca entre as microalgas, por ser segura para o consumo, apresentar composição química equilibrada, com elevado teor proteico, vitaminas, antioxidantes devido à presença da ficocianina e compostos fenólicos. Por outro lado, tem como característica o seu sabor e odor desagradáveis e ao ser submetida a temperaturas elevadas, pode ter sua capacidade antioxidante afetada. Uma forma de garantir a aceitabilidade do produto pelo consumidor e assegurar as propriedades da *Spirulina* é através da microencapsulação da sua biomassa com uma cápsula insolúvel em água antes de adicioná-la na massa fresca de forma que não modifique as características sensoriais desejadas deste produto. O objetivo da dissertação foi contribuir para o desenvolvimento de alimentos funcionais adicionados da microalga *Spirulina platensis*. O trabalho foi dividido em 2 estudos, sendo estas a elaboração e caracterização das micropartículas ao longo do tempo (0, 7, 14 e 30 dias) e análise sensorial da massa fresca adicionada das micropartículas no tempo inicial. A formação de uma micropartícula com alginato de sódio e cloreto de cálcio foi capaz de aprisionar maior quantidade de *Spirulina* em relação aos sólidos totais, proporção 1:1. Esta microesfera apresentou baixa solubilidade em água e, além disso, protegeu os antioxidantes da *Spirulina sp.* ao ser submetida ao tratamento térmico. Quanto ao estudo da vida de prateleira, a adição da *Spirulina* microencapsulada na massa afetou os parâmetros de cozimento, textura e cor quando comparada a massa controle. A análise sensorial mostrou que não houve diferença na aceitabilidade das formulações em relação ao sabor. O atributo mais citado pelos julgadores na aplicação da metodologia CATA (*Check All That Apply*) foi a textura firme. A massa com *Spirulina* microencapsulada mostrou-se uma alternativa de alimento nutritivo e funcional. O estudo também mostrou que as pessoas estão começando a aceitar a incorporação de ingredientes diferentes para a elaboração de alimentos.

Palavras-chave: *Spirulina*. Massa. Microencapsulação.



## ABSTRACT

Cereal products, such as fresh pasta, are appropriate food options for the incorporation of functional ingredients, because of their convenience, palatability and because they are consumed by people of different age groups and at different places. In recent years, various ingredients have been used in the production of fresh pasta to improve and / or confer functional properties. Microalgae are becoming a promising alternative for food application because they are able to improve nutritional content and add functional value to food. *Spirulina* sp. it stands out among microalgae, because it is safe for consumption, it presents balanced chemical composition, with high protein content, vitamins, antioxidants due to the presence of phycocyanin and phenolic compounds. On the other hand, it has as its characteristic unpleasant taste and odor and when subjected to high temperatures, may have its antioxidant capacity affected. One way of ensuring the acceptability of the product by the consumer and ensuring the properties of *Spirulina* is by microencapsulating its biomass with a water insoluble capsule before adding it to the fresh mass in a way that does not modify the desired sensory characteristics of this product. The objective of the dissertation was to contribute to the development of functional foods added to the microalga *Spirulina platensis*. The work was divided in 2 studies, being the elaboration and characterization of the microparticles over time (0, 7, 14 and 30 days) and sensory analysis of the fresh mass added of the microparticles at the initial time. The formation of a microparticle with sodium alginate and calcium chloride was able to entrap more *Spirulina* in relation to the total solids, ratio 1: 1. This microsphere showed low solubility in water and, in addition, protected the antioxidants of *Spirulina* sp. when subjected to the heat treatment. Regarding the shelf-life study, the addition of microencapsulated *Spirulina* in the mass affected the parameters of cooking, texture and color when compared to the control mass. The sensorial analysis showed that there was no difference in the acceptability of the formulations in relation to the flavor. The attribute most cited by the judges in the application of the CATA (Check All That Apply) methodology was the firm texture. Mass with microencapsulated *Spirulina* proved to be a nutritious and functional food alternative. The study also showed that people are beginning to accept the incorporation of different ingredients for food processing.

Key-words: *Spirulina* sp. Pasta. Microencapsulation





## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Foto microscópica da microalga <i>Spirulina platensis</i> .....	28
Figura 2 – Tipos de cápsulas. ....	31
Figura 3 - Fluxograma dos estudos desenvolvidos no projeto. ....	40
Figura 4 - Fluxograma do processo de produção da massa seca tipo talharim. ....	52
Figura 5 - Ficha de aceitabilidade, intenção de ação e CATA para as massas frescas tipo talharim.....	58
Figura 6 – Formação de esferas de alginato de sódio com cloreto de sódio e quitosana. ....	62
Figura 7 – Formação de esferas de alginato de sódio com a quitosana.....	63
Figura 8 – Perfil de liberação da ficocianina das esferas frente a diferentes pH.....	69
Figura 9 – Micrografia eletrônica da micropartícula definida para incorporar na massa fresca tipo talharim.....	71
Figura 10 – FTIR da <i>Spirulina</i> livre e microencapsulada. ....	74
Figura 11 – Termogravimetria (a) e curva (b) das amostras de <i>Spirulina sp.</i> , esferas vazias e esferas com <i>Spirulina sp.</i> .....	75
Figura 12 - Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.....	92



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Delineamento experimental utilizado para o desenvolvimento de microcápsulas através da técnica de geleificação iônica.....	41
Tabela 2 – Proporção de <i>Spirulina</i> nas formulações das massas frescas tipo talharim.....	52
Tabela 3 – Eficiência de encapsulação de <i>Spirulina platensis</i> utilizando diferentes encapsulantes por concentração de ficocianina.....	61
Tabela 4 – Solubilidade das microcápsulas escolhidas a partir dos testes de encapsulação ....	65
Tabela 5 – Quantificação de proteína micropartícula definida para incorporar na massa .....	66
Tabela 6 – antioxidante da <i>Spirulina</i> livre e microencapsulada antes e após o tratamento térmico.....	67
Tabela 7 – Resultados de PZ, PDI e tamanho de partículas obtidas no zetasizer da micropartícula definida para incorporar na massa fresca tipo talharim.....	73
Tabela 8 – Calorimetria exploratória diferencial da <i>Spirulina</i> livre e microencapsulada.....	76
Tabela 9 – Comportamento do teor de umidade durante o armazenamento das massas alimentícias.....	78
Tabela 10 – Comportamento da atividade de água durante o armazenamento das massas alimentícias.....	79
Tabela 11 – Avaliação da cor ao longo do tempo de armazenamento das massas alimentícias.....	80
Tabela 12 – Perda de cozimento das formulações de massas alimentícias ao longo do tempo.....	82
Tabela 13 – Avaliação do índice de inchaço ao longo do tempo de armazenamento das massas.....	83
Tabela 14 – Avaliação da absorção de água ao longo do tempo de armazenamento das massas.....	84
Tabela 15 – Avaliação do aumento de peso ao longo do tempo de armazenamento das massas.....	85
Tabela 16 – Firmeza das formulações de massas cozidas ao longo do tempo de armazenamento.....	86
Tabela 17 – Adesividade das formulações de massas cozidas ao longo do tempo de armazenamento.....	87
Tabela 18 – Médias dos atributos utilizados para avaliar a aceitabilidade do consumidor da massa fresca.....	89

Tabela 19 – Intenção de consumo avaliadas pelos consumidores. ....	89
Tabela 20 – Frequência (%) das escolhas dos atributos no questionário CATA das massas frescas.....	90

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>27</b>
<b>2.1</b>	<b>ALIMENTOS FUNCIONAIS .....</b>	<b>27</b>
<b>2.2</b>	<b><i>SPIRULINA PLATENSIS</i>.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3</b>	<b>ENCAPSULAÇÃO .....</b>	<b>30</b>
2.3.1	Agentes encapsulantes .....	32
2.3.1.1	<i>Alginato de sódio</i> .....	32
2.3.1.2	<i>Pectina</i> .....	33
2.3.1.3	<i>Quitosana</i> .....	33
2.3.2	Encapsulação por gelificação .....	34
<b>2.4</b>	<b>PRODUTOS À BASE DE TRIGO.....</b>	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>MATÉRIAS-PRIMAS .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>39</b>
<b>3.3</b>	<b>ETAPA 1: ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS.....</b>	<b>40</b>
3.3.1	Eficiência de encapsulação .....	41
3.3.1.1	<i>Determinação da eficiência de encapsulação por quantificação de ficocianina</i> .....	42
3.3.1.2	<i>Determinação da eficiência de encapsulação através de quantificação de proteínas</i> .....	42
3.3.2	Solubilidade em água .....	43
3.3.3	Estabilidade de antioxidantes das microcápsulas frente ao tratamento térmico em água.....	43
3.3.3.1	<i>Estudo 1 - Rompimento com citrato de sódio</i> .....	45
3.3.3.2	<i>Estudo 2 e 3 - Rompimento com água utilizando liquidificador, homogeneizador e congelamento/descongelamento</i> .....	45
3.3.3.3	<i>Estudo 4 - Rompimento com água utilizando congelamento/descongelamento e liquidificador</i> .....	45
3.3.3.4	<i>Estudo 5 - Rompimento das esferas de Spirulina úmidas utilizando água</i> .....	46
3.3.3.5	<i>Estudo 6 - Rompimento das esferas com Spirulina com 20 h de agitação</i> .....	46

3.3.3.6	<i>Estudo 7 - Rompimento das esferas com Spirulina com 20 h de agitação + congelamento/descongelamento</i> .....	47
3.3.3.7	<i>Avaliação do potencial antioxidante pelo método do radical ABTS</i> .....	47
3.3.4	Perfil de liberação da ficocianina das microcápsulas.....	48
3.3.5	Análise morfológica.....	48
3.3.6	Tamanho das partículas.....	48
3.3.7	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho .....	49
3.3.8	Termogravimetria.....	49
3.3.9	Calorimetria exploratória diferencial .....	49
3.3.10	Tratamento dos dados .....	50
<b>3.4</b>	<b>ETAPA 2: ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE SENSORIAL DAS MASSAS FRESCAS TIPO TALHARIM</b> .....	<b>50</b>
3.4.1	Caracterização da farinha de trigo .....	50
3.4.1.1	<i>Composição química</i> .....	50
3.4.1.2	<i>Granulometria</i> .....	51
3.4.1.3	<i>Atividade de água</i> .....	51
3.4.1.4	<i>Número de queda</i> .....	51
3.4.1.5	<i>Alveografia</i> .....	51
3.4.2	Elaboração das formulações das massas frescas.....	51
3.4.3	Análise da qualidade das massas frescas tipo talharim.....	53
3.4.3.1	<i>Teor de umidade</i> .....	53
3.4.3.2	<i>Atividade de água</i> .....	54
3.4.3.3	<i>Avaliação de cor</i> .....	54
3.4.4	Teste de cozimento.....	54
3.4.4.1	<i>Tempo de cozimento</i> .....	54
3.4.4.2	<i>Perda no cozimento</i> .....	54
3.4.4.3	<i>Índice de inchaço</i> .....	55
3.4.4.4	<i>Absorção de água</i> .....	55
3.4.4.5	<i>Aumento de peso</i> .....	55
3.4.5	Textura .....	55
3.4.6	Tratamento dos dados .....	55
<b>3.5</b>	<b>ANÁLISE SENSORIAL</b> .....	<b>56</b>
3.5.1	Tratamento dos dados .....	59
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>61</b>

<b>4.1</b>	<b>ETAPA 1: ELABORAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS .....</b>	<b>61</b>
4.1.1	Eficiência de encapsulação da cápsula definida para a adição em talharim utilizando <i>Spirulina sp.</i> comercial.....	66
4.1.2	Estabilidade da <i>Spirulina</i> e das microcápsulas frente ao tratamento térmico .....	67
4.1.3	Perfil de liberação das microesferas .....	69
4.1.4	Análise morfológica .....	70
4.1.5	Tamanho de partícula .....	72
4.1.6	Avaliação de espectroscopia na região do infravermelho .....	73
4.1.7	Termogravimetria .....	74
4.1.8	Calorimetria exploratória diferencial .....	75
<b>4.2</b>	<b>ETAPA 2: ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE SENSORIAL DAS MASSAS FRESCAS.....</b>	<b>76</b>
4.2.1	Caracterização da farinha de trigo .....	76
4.2.2	Análises da qualidade das massas frescas tipo talharim.....	78
4.2.2.1	<i>Umidade</i> .....	78
4.2.2.2	<i>Atividade de água</i> .....	78
4.2.2.3	<i>Cor</i> .....	79
4.2.2.4	<i>Cozimento</i> .....	81
4.2.3	Análise sensorial.....	88
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>95</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>97</b>
	<b>APÊNDICE A – ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>115</b>
	<b>APÊNDICE B – DEFINIÇÕES DO EQUIPAMENTO PARA ELABORAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS.....</b>	<b>135</b>
	<b>APÊNDICE C – ELABORAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS.....</b>	<b>139</b>
	<b>APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....</b>	<b>143</b>
	<b>APÊNDICE E – FICHA DE CADASTRO PARA REALIZAÇÃO DE ANÁLISE SENSORIAL.....</b>	<b>145</b>
	<b>APÊNDICE F – ALEATORIZAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA A ANÁLISE SENSORIAL.....</b>	<b>147</b>





## 1 INTRODUÇÃO

A tendência do consumidor é utilizar alimentos que sejam práticos, de fácil preparo, mas que não se destinam apenas a satisfazer suas necessidades nutricionais básicas, mas que passam a oferecer maiores benefícios à saúde (DE VITA et al., 2017). Neste contexto, além dos alimentos naturalmente funcionais, tem se desenvolvido alimentos enriquecidos com substâncias naturais para que sejam consumidos com a finalidade de redução do risco de doenças, os quais são considerados alimentos funcionais (BRASIL, 1999). Dentre os ingredientes funcionais, encontram-se os antioxidantes e as fibras (PAUCAR-MENACHO et al., 2008).

A presença de antioxidantes em alimentos é fundamental para controlar ou prevenir os processos de oxidação que levam à deterioração do produto, visto que os antioxidantes sequestram os radicais livres (SHAHIDI; ZHONG, 2015). O consumo de antioxidantes através da dieta fornece o aporte de antioxidantes exógenos, contribuindo com sistema antioxidante endógeno na neutralização dos radicais livres, que podem prejudicar as células do organismo, levando ao envelhecimento precoce e até mesmo ao câncer (SHINDE; GANU; NAIK, 2012). Considerando estes fatores, busca-se o desenvolvimento de alimentos industrializados que possam ser veículos de antioxidantes e outros ingredientes funcionais, disponibilizando estes compostos para a manutenção da integridade nutricional e funcional do produto industrializado e tornando-o uma opção saudável ao consumidor.

A massa fresca tipo talharim é um alimento de fácil preparo, consumida por pessoas em diferentes faixas etárias e em larga escala (OLIVIERO; FOGLIANO, 2016). O ingrediente principal da massa fresca é a farinha de trigo branca que é constituída basicamente por carboidratos. Diante disso, torna-se uma boa alternativa de alimento para a incorporação de ingredientes de forma que melhore o aspecto da massa, aumente o teor de proteínas e também confira propriedades funcionais, através das fibras e antioxidantes.

A microalga *Spirulina* é considerada segura para o consumo (BELAY et al., 1993), apresenta elevado teor proteico (46 % a 63 %) (BECKER, 2007), vitaminas, minerais (BELAY et al., 1993), além de ser considerada uma boa fonte de antioxidantes naturais, como os pigmentos solúveis em água, a ficocianina e os compostos fenólicos (ISMAIEL; EL-AYOUTY; PIERCEY-NORMORE, 2016), sendo uma fonte ideal de ingredientes funcionais para ser incorporada em alimentos básicos, como a massa fresca tipo talharim, com a finalidade de agregar valor nutricional e transformá-la em um alimento funcional.

Uma das desvantagens da adição da microalga em alimentos é o seu sabor e odor característicos, que não são bem aceitos pelo consumidor, principalmente em regiões em que não há o hábito de consumo da microalga. Além disso, sabe-se que a ficocianina, principal antioxidante presente na microalga *Spirulina*, bem como os compostos fenólicos, são instáveis à temperatura. Desta forma, as condições de processamento de alimentos podem acarretar em perdas do potencial antioxidante da microalga nos produtos em que estiver sendo adicionada. Pesquisas realizadas demonstram a instabilidade do potencial antioxidante da *Spirulina* em sistemas lipídicos e aquosos. Para manter o potencial do antioxidante, a biomassa deve ser armazenada de forma adequada devido à instabilidade térmica e fotolítica (COLLA et al., 2017). A encapsulação, com agentes solúveis em água, não promove a proteção do antioxidante (MORTARI, 2018).

Uma forma de proteger os antioxidantes e mascarar o sabor e o odor desagradáveis da *Spirulina platensis* é através do uso da técnica de microencapsulação, com agentes insolúveis em água. A microencapsulação consiste no aprisionamento da biomassa da microalga em substâncias que atuam como revestimento, controlando a liberação da biomassa em local determinado. Esta técnica atua como uma barreira das condições adversas do ambiente (SÁNCHEZ et al., 2016). Portanto, a microencapsulação além de proteger os antioxidantes da degradação, poderá contribuir para mascarar o sabor e odor característicos da microalga.

A presente dissertação se enquadra na linha de pesquisa de “processos biotecnológicos e não convencionais na produção de alimentos e ingredientes”, dentro do projeto de pesquisa de “desenvolvimento de produtos e processos para a indústria de alimentos”. A microencapsulação como processo de proteção de antioxidantes para serem adicionados à massa para obtenção de um alimento funcional, aliado ainda ao fato de que a fonte de antioxidantes é a biomassa microalgal obtida por processos biotecnológicos inclui este projeto nesta linha de pesquisa, na grande área de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Este projeto é de grande interesse para as indústrias de produtos à base de cereais e aos consumidores, pois será um produto com maior teor de nutrientes.

Objetivou-se desenvolver massa alimentícia tipo talharim adicionada de *Spirulina* microencapsulada. Os objetivos específicos foram: desenvolver microcápsulas de *Spirulina platensis* utilizando agentes encapsulantes insolúveis em água e caracterizar as microcápsulas obtidas; verificar se a microencapsulação mantém as propriedades antioxidantes da *Spirulina* nas condições de processamento da massa alimentícia; avaliar se a adição da *Spirulina* microencapsulada altera as propriedades tecnológicas e as características físico-químicas na

massa fresca tipo talharim ao longo do tempo; avaliar se a adição de *Spirulina* livre e encapsulada altera as características sensoriais da massa tipo talharim.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os consumidores estão cada vez mais preocupados com a sua saúde e isso levou ao interesse em alimentos que contem ingredientes bioativos ou funcionais (HYGREEVA; PANDEY; RADHAKRISHMA, 2014). Os alimentos funcionais definem-se basicamente por alimentos que apresentem um efeito potencialmente positivo sobre a saúde além da nutrição básica, ajudando a promover condições de saúde ótimas e a reduzir o risco de doenças não transmissíveis (GRANATO et al., 2017).

Os alimentos funcionais incluem os alimentos tradicionais com substâncias bioativas de ocorrência natural, como fibras dietéticas; os alimentos suplementados com substâncias bioativas, como antioxidantes, probióticos; e derivados de ingredientes alimentares introduzidas em alimentos convencionais, como os prebióticos (AL-SHERAJI et al., 2013). Diante disso, percebe-se que os alimentos funcionais não são medicamentos como cápsulas, por exemplo, mas são consumidos como parte de uma dieta normal (GRAJEK; OLEJNIK; SIP, 2005).

Os antioxidantes naturais, por exemplo, ao serem consumidos, podem prevenir o surgimento de várias doenças (YASHIN et al., 2013). Porém, antioxidantes de origem natural, geralmente são facilmente oxidados e sensíveis ao calor e a luz, limitando a sua aplicação, tornando-se um desafio para a indústria (CHAO et al., 2011; LOZANO-VAZQUEZ et al., 2015).

Os alimentos funcionais estão ganhando destaque e estão se tornando parte da dieta diária do consumidor. Estima-se que em 2020, o mercado global de alimentos e bebidas funcionais, possa valer 192 bilhões de dólares (KAUR; SINGH, 2017). Por mais que cresça em um ritmo bom, ainda é desafiador para os fabricantes desses alimentos, pois estes deverão atender as expectativas dos consumidores (MENEZES et al., 2011).

### 2.2 *SPIRULINA PLATENSIS*

A microalga *Spirulina* ou também chamada de *Arthrospira*, é unicelular e fotossintetizante, compreende as cianobactérias filamentosas com formato espiral (Figura 1). Os filamentos helicoidais têm comprimento de aproximadamente 200 a 300  $\mu\text{m}$  e 5 a 10  $\mu\text{m}$

de largura. A microalga cresce em ambientes aquáticos e salinos, têm alta tolerância a pH alcalino e é de fácil cultivo (CHRONAKIS et al., 2000; CIFERRI; TIBONI, 1985; RANGEL-YAGUI et al., 2004).

Figura 1- Foto microscópica da microalga *Spirulina platensis*



Fonte: Silva, (2008).

A célula da *Spirulina* possui uma membrana plasmática contornada por multicamadas da parede celular e estas são recobertas por uma cápsula formada de polissacarídeos. A possibilidade de assimilação e digestão da *Spirulina* se dá pela ausência de celulose (BLINKOVA; GOROBETS; BATURO, 2001; VONSHAK; TOMASELLI, 2000).

A composição química da *Spirulina platensis* é variável, dependente das condições de cultivo, mas em base seca, geralmente apresenta elevado teor proteico (46% a 63%), carboidratos (8% a 14%) e lipídios (4% a 9%) (BECKER, 2007). Além disso, esta microalga é considerada uma das fontes mais ricas em pró-vitamina A (beta-caroteno) e ferro absorvível, apresenta altos níveis de vitaminas, C e as do grupo B (B1, B2, B3, B6 e B12), minerais (potássio, cobre, cálcio, manganês, magnésio, fósforo, sódio e zinco) (BELAY et al., 1993; HABIB et al., 2008). Ainda contém outros compostos bioativos, como carotenoides, ficocianina, clorofila, vitaminas e ácidos graxos polinsaturados (incluindo os gama linolênico e linoleico) (LEMES et al., 2012). Apresenta alta digestibilidade, baixa concentração de ácidos nucleicos e perfil de aminoácidos semelhante ao recomendado pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) (ROMERO GARCÍA; ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA, 2012).

A *Spirulina* possui propriedades nutricionais e terapêuticas, fazendo dela um ótimo alimento ou ingrediente alimentar, além de uma alternativa eficiente para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos (AMBROSI et al., 2008).

A microalga *Spirulina platensis* é utilizada na alimentação há muitos anos devido ao alto teor proteico, alta digestibilidade e pela composição de aminoácidos essenciais (DEMIR;

TÜKEL, 2010). O uso da *Spirulina* é autorizado como complemento alimentar no Japão, Europa e Estados Unidos pelo FDA (*Food and Drug Administration*) sem causar efeitos tóxicos ao organismo (BELAY et al., 1993), pois é classificada como GRAS (*Generally Recognizes As Safe*), o que garante seu uso de forma segura e nutritiva tanto na alimentação humana, quanto animal (ESTRADA; BESCÓS; DEL FRESNO, 2001; WANG et al., 2007). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2009) permite a comercialização da *Spirulina* na forma de cápsulas, comprimidos e tabletes. Em outras formas de apresentação, é permitido desde que o produto final ao qual o microrganismo foi adicionado seja devidamente registrado, atendendo os requisitos específicos para o registro de novos alimentos. Também deve apresentar especificações dos ingredientes, incluindo a identificação da espécie da alga e o local de cultivo (ANVISA, 2008).

A *Spirulina platensis*, além das proteínas convencionais, contém ficobiliproteínas, que são proteínas coloridas, solúveis em água, que funcionam como receptores de luz para a fotossíntese. A estrutura destes é constituída por cromóforos ligados a resíduos de cisteína de uma apoenzima. As ficobiliproteínas são classificadas com base nas suas cores, a ficoeritrina (rosa-vermelha), aloficocianina (verde-azul) e a ficocianina (azul) (SANTIAGO-SANTOS et al., 2004).

A ficocianina, um pigmento de coloração azulada, é utilizada nas indústrias como corante natural. Além desta função, alguns pesquisadores observaram que pode apresentar atividade anti-inflamatória, antioxidante e propriedades contra o câncer (REDDY et al., 2003; SOUZA et al., 2006; VONSHAK, 1997). A fração proteica da *Spirulina* pode conter até 20% de ficocianina em massa seca da *Spirulina*, sendo considerada uma boa fonte deste pigmento (SU et al., 2014).

A ficocianina é estável por longos períodos em temperaturas mais baixas, mas ao submeter a temperaturas elevadas, acima de 40°C, torna-se instável (SARADA; PILLAI; RAVISHANKAR, 1999). A degradação da ficocianina depende da agregação da proteína, sendo que é influenciada pela luminosidade, pH, temperatura e concentração proteica (JESPERSEN et al., 2005).

Alguns autores estudaram a influência da temperatura sobre a ficocianina e constataram que a 60 °C e 70 °C ocorreu a desnaturação (EDWARDS et al., 1997), já outros autores relataram a estabilidade da ficocianina nas temperaturas de 9 °C a 25 °C em relação ao pH do extrato na faixa de 5 e 7,5 (SARADA; PILLAI; RAVISHANKAR, 1999).

O interesse na ficocianina se dá por ser considerada um poderoso antioxidante natural (BERMEJO; PIÑERO; VILLAR, 2008; ERIKSEN, 2008; ESTRADA; BESCÓS; DEL

FRESNO, 2001; SPOLAORE et al., 2006), sendo que os antioxidantes nos alimentos têm a capacidade de aumentar a vida de prateleira, principalmente por retardar ou inibir a oxidação lipídica (MAQSOOD; BENJAKUL; SHAHIDI, 2013), pois agem como sequestrantes de radicais e como proteção contra a propagação da cadeia oxidativa (LÓPEZ et al., 2011).

A maioria dos antioxidantes são compostos aromáticos que contêm pelo menos uma hidroxila. Os compostos fenólicos apresentam um ou mais grupos de hidroxilas que são utilizados como antioxidantes (ARAÚJO, 1995).

A classificação dos antioxidantes se dá pela sua origem, sendo sintéticos ou naturais. Os antioxidantes sintéticos são voláteis e podem se decompor em temperaturas altas; são adicionados nos alimentos sem a intenção de nutrir, mas retardar as alterações oxidativas do alimento. Os mais utilizados pela indústria são os compostos fenólicos butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o galato de propila (PG) (TAKEMOTO; TEIXEIRA FILHO; GODOY, 2009).

O uso e a quantidade dos antioxidantes sintéticos são controlados no Brasil pelo Ministério da Saúde, sendo que algumas pesquisas mostraram que determinadas quantidades destes são tóxicos para os animais. Diante disso, a indústria está tentando substituir os antioxidantes sintéticos pelos naturais, de forma que não apresente risco à saúde do consumidor (BOROSKI et al., 2015). Porém, essa substituição ainda é um desafio para a indústria.

Os antioxidantes naturais atuam na manutenção da saúde e prevenção de doenças, além de manterem as propriedades sensoriais e químicas dos alimentos, evitando o processo oxidativo. Os mais conhecidos são as enzimas, as vitaminas e os compostos fenólicos, sendo que os antioxidantes mais abundantes encontrados na natureza pertencem ao grupo dos compostos fenólicos (BOROSKI et al., 2015).

### **2.3 ENCAPSULAÇÃO**

A encapsulação com biopolímeros é um processo que tem chamado à atenção dos estudiosos devido à variedade de aplicação, pois pode ser aplicado em muitas áreas, como na agrícola, farmacêutica, médica e de alimentos (BUREY et al., 2009).

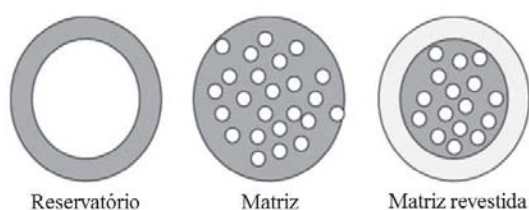
O processo de encapsulação consiste no aprisionamento de células, enzimas ou ingredientes alimentares (compostos de sabor, pigmentos, acidulantes, nutrientes, conservantes) (GIBBS et al., 1999) em substâncias que atuam como revestimento, controlando a liberação do material encapsulado em local determinado (BAKOWSKA-



BARCZAK; KOLODZIEJCZYK, 2011), além disso, a encapsulação também é utilizada para mascarar odores ou sabores desagradáveis (GIBBS et al., 1999). O material interno à cápsula é denominado de material ativo, recheio ou núcleo, enquanto o externo, agente encapsulante, parede ou membrana, sendo que estes materiais de revestimento podem ser heterogêneos ou homogêneos (SUN et al., 2013).

As cápsulas formadas podem ser caracterizadas como reservatório, matriz e matriz revestida (Figura 2). As cápsulas do tipo reservatório apresentam uma camada ou uma cápsula em torno do material núcleo, já o tipo matriz, tem o material núcleo disperso sobre o material encapsulante e/ou sob a superfície, enquanto que a combinação da cápsula do tipo reservatório com a do tipo matriz, forma um terceiro tipo, a matriz revestida (ZUIDAM; NEDOVIC, 2010), ou seja, é uma camada adicional a cápsula já formada.

Figura 2 – Tipos de cápsulas.



Fonte: ZUIDAM; NEDOVIC (2010).

O objetivo da microencapsulação é construir uma barreira entre o componente da cápsula e as condições adversas do ambiente (SÁNCHEZ et al., 2016) como a umidade, luz, oxigênio (FANG; BHANDARI, 2010), pH e liberá-lo em locais específicos do organismo (MENEZES et al., 2013).

O mecanismo de liberação do material núcleo da cápsula é de acordo com a natureza do agente encapsulante, sendo que a liberação pode ser pela difusão através da membrana da parede da cápsula ou pelos poros presentes na estrutura da cápsula, também pode ser através do relaxamento das cadeias poliméricas da cápsula ou por estímulos ambientais como alterações no pH, força iônica, temperatura, entre outros (JAGTAP; MOHAN; SHUKLA, 2016).

As cápsulas, partículas ou esferas são classificadas de acordo com o seu tamanho, sendo macrocápsulas ( $> 800 \mu\text{m}$ ), microcápsulas ( $3 \mu\text{m} - 800 \mu\text{m}$ ) e nanocápsulas ( $< 1 \mu\text{m}$ ) (LEE, 2014). As microcápsulas podem ter formato esférico, tubular, oval ou irregular (KHADIRAN et al., 2015), sendo que o formato varia em função do método e do material

encapsulante escolhido. A elaboração das microcápsulas pode ser realizada por três técnicas métodos, tais como químicos, físico-químicos e físico-mecânico.

A escolha do método depende da aplicação da microcápsula, o tamanho desejado, o mecanismo de liberação e as propriedades físico-químicas do material ativo e do agente encapsulante.

### **2.3.1 Agentes encapsulantes**

Os agentes encapsulantes utilizados no processo de encapsulação podem ser polímeros naturais ou sintéticos, dependendo do material núcleo, o processo de encapsulação e as características desejadas (SÁNCHEZ et al., 2016). Estes devem ser de grau alimentício, biodegradáveis e capazes de proteger o material núcleo, além de proporcionar uma boa estabilidade durante o processamento e também nos produtos finais. Os materiais mais utilizados para aplicação em alimentos são os polissacarídeos (NEDOVIC et al., 2011).

A escolha do agente encapsulante depende de alguns fatores, entre eles o processo utilizado para a formação da microcápsula, o mecanismo de liberação ideal e a não reatividade com o material a ser encapsulado (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). A função do agente encapsulante é proteger o material núcleo, garantindo uma liberação controlada (WÜRTH; FOERST; KULOZIK, 2016), mas, além disso, também pode ser utilizado como cobertura para a microcápsula.

#### *2.3.1.1 Alginato de sódio*

O alginato é um polímero natural, extraído a partir de algas marrons. Caracteriza-se por ser um polissacarídeo aniônico linear, composto de ácidos  $\alpha$ -L-gulurônicos (unidades G) e ácidos  $\beta$ -D-manurônico (unidades M), ligados de forma linear por ligações glicosídicas  $\alpha$  (1, 4) (EL-GHAFFAR et al., 2012).

Os géis de alginato são formados na presença de cátions divalentes e trivalentes através da ligação iônica, formada entre a carga positiva e os pontos de ligação negativos presentes na estrutura do alginato quando está em solução aquosa (CRUZ et al., 2017).

O mecanismo que regula a capacidade de gelificação está diretamente correlacionado com a quantidade de blocos G presentes na cadeia, pois apenas o ácido  $\alpha$ -L-gulurônico tem função na formação do hidrogel. Este mecanismo é o modelo caixa de ovo, no qual os blocos G formam cavidades que funcionam como um local de ligação para os cátions bivalentes e se

organizam por toda a volta criando uma estrutura comparável a uma caixa de ovo (SIKORSKI et al., 2007; STEWART et al., 2014).

#### 2.3.1.2 *Pectina*

A pectina é um polissacarídeo linear, solúvel em água e derivado principalmente da casca de frutas cítricas ou do bagaço da maçã. A estrutura da pectina é uma cadeia linear de D-galacturonico com ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1,4), ocasionalmente é interrompida por L-ramnose ligada a 1,2 e pelo menos 17 monossacarídeos diferentes (NESIC et al., 2017).

Uma importante habilidade da pectina é a formação de gel. A formação de hidrogel pela pectina pode ser induzida através da reticulação com íons de cálcio e ocorre uma reação sinérgica com o alginato (AXELOS et al., 1991).

Na indústria de alimentos, a pectina é reconhecida como segura (GRAS) pela Food and Drug Administration e em produtos alimentícios é usada como agente gelificante, estabilizante ou espessante (ESPITIA et al., 2014). Porém, a pectina é resistente às proteases, mas é degradada pela flora bacteriana do cólon (URBANO, 2004).

#### 2.3.1.3 *Quitosana*

A quitosana é um polissacarídeo catiônico, de origem animal, composta por unidades  $\beta$ -(1-4) ligada a D-glucosamina (unidade desacetilado) e N-acetil-D-glucosamina (unidade de acetilação). A obtenção da quitosana ocorre através da desacetilação alcalina da quitina, presente no exoesqueleto de insetos, crustáceos e na parede celular de fungos.

A quitosana, considerada uma amina catiônica, possui grupamentos disponíveis para as reações químicas, sendo que estes podem adquirir carga positiva em soluções ácidas o que explica a sua capacidade de se solubilizar em ácidos orgânicos (TOLEDO; SOUZA SOARES, 2016). A quitosana é insolúvel em água, apresenta solubilidade em soluções de ácidos diluídas em pH abaixo de 6,0 (DASH et al., 2011).

A quitosana tem ganhado atenção entre os diferentes agentes encapsulantes para liberação controlada (YAN et al., 2014). Apresenta baixa toxicidade, é uma fonte renovável, biodegradável e biocompatível, além disso, possui atividade microbiana, antifúngica e antioxidante (ELSABEE; ABDOL, 2013).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2016), a alegação da quitosana é que esta auxilia na redução da absorção do colesterol e da gordura, mas o seu consumo deve

estar associado a hábitos de vida saudáveis e uma alimentação de forma equilibrada. Esta alegação pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para o consumo forneça no mínimo 3 g de quitosana.

Ahmadi et al. (2015), descrevem que a quitosana por ser uma molécula catiônica, que suas cargas positivas tem a capacidade de se ligar com os lipídios carregados negativamente, gorduras e ácidos biliares. A quitosana pode ser solubilizada em soluções ácidas e ao elevar o pH, pode ocorrer a precipitação devido à desprotonação dos grupos amino. Portanto, quando a quitosana entrar em contato com o pH do estômago, ela solubiliza e pode atrair gotículas negativas de triglicerídios, ácidos graxos, ácidos biliares, colesterol, ligando-se às gotículas de gordura presentes no estômago e depois precipita antes de serem absorvidos na corrente sanguínea (CZECHOWSKA-BISKUP et al., 2005).

A capacidade da ligação entre a quitosana e a gordura se deve pelas características físicas e químicas da quitosana, incluindo o grau de desacetilação, peso molecular e a viscosidade (VAHOUNY et al., 1983). A quitosana com alto peso molecular e alto grau de desacetilação (> 90%), proporciona uma melhor ligação com a gordura (DEUCHI et al., 1995).

A solubilidade dos hidrogéis de quitosana depende da associação com outros polímeros, sendo que são sensíveis a pH ácidos e básicos. Uma característica da quitosana é a possibilidade de modificações estruturais, obtendo interação química e resistência mecânica, sendo que as interações químicas podem ser alcançadas através do uso de agentes reticulantes (GEORGE; ABRAHAM, 2006; TORRES et al., 2005). A reticulação das cadeias poliméricas da quitosana é uma alternativa para a solubilidade do hidrogel de quitosana em meio ácido.

Os hidrogéis são redes reticuladas formadas pelos mesmos ou diferentes polímeros, que apresentam elevada capacidade de absorção de água (AHMADI et al., 2015). Os grupos hidrofílicos permitem a absorção de líquidos aquosos e água, logo, o hidrogel irá expandir, mas devido à estrutura das ligações cruzadas evitará a sua dissolução, ou perda da sua integridade estrutural, ocupando assim um volume maior (PEPPAS, 2000).

### **2.3.2 Encapsulação por gelificação**

A técnica de gelificação iônica ou extrusão é um processo físico que tem como finalidade a microencapsulação do bioativo desejado em polímeros, tais como alginato e pectina. Este método consiste em lançar a solução contendo o polímero e o agente bioativo por gotejamento, através de um bocal de alta pressão, em uma solução contendo cloreto de

cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ), para que ocorra a solidificação por gelatinização iônica. Nesse processo, o cálcio difunde-se para o interior das gotas do polímero (BUREY et al., 2008).

Portanto, quando duas soluções com cargas opostas são misturadas, pode-se dizer que estes complexos de polieletrólitos formados são resultado de interações eletrostáticas entre os dois íons (YAO et al., 1997).

A gelificação iônica pode ocorrer por duas técnicas, a gelificação interna e externa. Na gelificação externa é introduzida uma solução polimérica com carga negativa em uma solução iônica carregada positivamente. A gelificação ocorre através da difusão dos cátions para dentro da solução do hidrocolóide, formando superfícies sólidas e núcleos não gelificados (CHAN; LEE; HENG, 2006).

As partículas são produzidas através da formação da gota e endurecimento desta. Após a formação, as partículas ficam sob agitação por um determinado período de tempo, pois as ligações cruzadas desenvolvem-se lentamente da superfície para o interior da partícula gelificada (ROCHA, 2001).

A técnica de gelificação interna é baseada na mistura de uma forma inativa do íon de reticulação com a solução do polímero carregado negativamente. Este método permite uma formação lenta e controlada dos géis, resultando em uma distribuição homogênea do polímero, como por exemplo, alginato (VICINI et al., 2015).

As partículas obtidas por gelificação apresentam baixa resistência mecânica e elevada porosidade, podendo ocasionar a difusão do material encapsulado. Uma alternativa para que isso não ocorra é o recobrimento com polieletrólito de carga oposta à apresentada pelo gel, por interação eletrostática (BERGER, 2004; PATIL, et al., 2010).

## **2.4 PRODUTOS À BASE DE TRIGO**

O consumo de alimentos à base de cereais é muito importante, pois fornece uma parte significativa de energia e proteína na dieta humana (HENRY; RANGAN; FURTADO, 2015). O Brasil produziu 4.241.602 toneladas de trigo na safra de 2017 (IBGE, 2018), sendo que a moagem do endosperma deste grão resulta na farinha que é o principal ingrediente para a elaboração de muitos produtos.

O grão de trigo é uma boa fonte de carboidratos, proteínas e fibras, sendo que é a principal matéria-prima utilizada para a elaboração de alimentos consumidos diariamente, seja na forma de massas, pães, biscoitos, entre outros, logo está diretamente ligada na qualidade destes produtos (SCHEUER et al., 2011).

A farinha de trigo é um produto elaborado a partir das espécies de trigo do gênero *Triticum* ou por combinações por meio de trituração ou moagem dos grãos de trigo (BRASIL, 2005), retirando o máximo de endosperma, livre de farelo e germe (GUTKOSKI; ANTUNES; ROMAN, 1999). As principais espécies de trigo indicadas para a elaboração de massas alimentícias de alta qualidade são o *Triticum durum* (trigo duro) (HOSENEY; ROGERS, 1990). A farinha produzida a partir de *Triticum durum* tem qualidade de glúten para a produção de massas alimentícias e apresenta coloração amarelada devido aos pigmentos carotenoides (CHANG; FLORES, 2004).

A composição da farinha de trigo, em geral, é de aproximadamente 70% a 75% de amido, 12% a 14% de água, 8% a 16% de proteínas. Os constituintes menores, como os polissacarídeos não amiláceos compreendem 2% a 3%, os lipídeos 2% e minerais 1% (MORITA et al., 2002).

A determinação da qualidade da farinha de trigo é fundamental para saber a capacidade que a farinha terá para obter um produto final com características ideais que atraia o consumidor. A qualidade da farinha é determinada por análises físicas, químicas, enzimáticas e reológicas que dependem do tipo e do produto que se deseja obter (RASPER, 1991).

A avaliação reológica da farinha é de suma importância, pois ajuda a prever as características de processamento da massa e a qualidade do produto final, sendo que as características reológicas dependem da qualidade e da quantidade das proteínas presentes no grão de trigo (GUTKOSKI; FILHO; TROMBETTA, 2002). E que por sua vez, a composição proteica do trigo influencia nas propriedades da farinha, logo, influencia na qualidade da massa.

Os principais tipos de proteínas presentes na farinha de trigo são as albuminas (solúveis em água), as globulinas (solúveis em soluções salinas), as gliadinas (solúveis em água e álcool) e as gluteninas (parcialmente solúveis em água e soluções de ácidos diluídos) (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

Geralmente as proteínas do trigo são divididas em dois grupos, um formado pelas albuminas e globulinas, não formadoras de glúten, que representam 15% das proteínas totais do trigo e outro, formado pelas gliadinas e gluteninas, formadoras de glúten, que compreendem os 85% das proteínas do grão (NASCIMENTO, 2008).

As gliadinas, proteínas de cadeia simples, extremamente pegajosas, são responsáveis pela consistência e viscosidade da massa, e apresentam pouca resistência a extensão. As gluteninas, proteínas de cadeias ramificadas, são responsáveis pela extensibilidade da massa.

A mistura da farinha de trigo e os demais ingredientes da massa com água, sob homogeneização mecânica, ocasiona a hidratação das proteínas do trigo (gliadinas e gluteninas), formando um complexo protéico pela sua associação através de pontes de dissulfeto a que se denominam de glúten (MANDARINO, 1994).

Neste contexto, o trigo é o único cereal que contém as proteínas em quantidade e com qualidade necessárias para a fabricação de massas, visto que é um alimento básico produzido a partir de cereais, consumida em muitos países como uma porção dominante da dieta (OLIVIERO; FOGLIANO, 2016). São produzidas em vários países, sendo que no ano de 2017, o Brasil ficou em terceiro lugar, enquanto a Itália em primeiro no ranking de vendas de toneladas de massas alimentícias (ABIMAPI, 2018). A massa tornou-se popular devido às características sensoriais e por ser considerada de fácil e rápido preparo e de baixo custo (WÓJTOWICZ; MOŚCICKI, 2014), tornando-se uma opção apropriada para ser transformada em alimento funcional através da incorporação de ingredientes adequados (PRABHASANKAR et al., 2009), já que é um alimento à base de carboidratos (HAGER et al., 2013), com teor reduzido de fibras, vitaminas, minerais e proteínas (MINGUITA et al., 2015).

A massa é definida como um produto não fermentado, obtida pelo amassamento mecânico da farinha de trigo (*Triticum aestivum* L. e/ou de outras espécies do gênero *Triticum*), e/ou derivados de trigo *Durum* (*Triticum durum* L.) com água, com adição ou não de outros ingredientes permitidos (BRASIL, 2005). O cozimento das massas requer alguns minutos para gelatinizar completamente o amido, pois tradicionalmente são produzidas com trigo duro (WÓJTOWICZ; MOŚCICKI, 2014).

A elaboração da massa é um processo relativamente simples. Geralmente a massa fresca comercial é produzida com trigo duro, ovo fresco pasteurizado e água, aproximadamente 35%, enquanto que as massas secas apresentam teor de umidade de 11,5% (IAMETTI et al., 1999). Portanto, a massa fresca é submetida a um processo parcial de secagem, logo, a vida de prateleira é em torno de 30 dias (MALUF et al., 2010).

A adição de ovos na massa tem como finalidade melhorar a cor, sabor e aumentar o valor nutricional (IAMETTI et al., 1999). Por outro lado, a adição de compostos bioativos na massa pode ser afetada durante o preparo e o cozimento da mesma (KILL; TURNBULL, 2007).

Ao se tratar da qualidade da massa, os parâmetros mais importantes para os consumidores são a textura e a aparência, durante e após o cozimento, além do sabor e odor. Outros parâmetros que devem ser inclusos é o tempo de cozimento, a quantificação de água

absorvida, as características de superfície e as propriedades reológicas da pasta (CASAGRANDE et al., 1999; LEMES et al., 2012; ORMENESE et al., 2004).

Em relação a nomenclatura das massas, estas é de acordo com a sua forma, tipo e as substâncias adicionais e a classificação se dá pelo teor de umidade, formato e composição. Quanto ao teor de umidade, são divididas em massa fresca e seca. O formato é dividido em massa comprida ou longa (tipo espaguete, talharim), massa curta (tipo concha) e massinha (tipo alfabeto, estrelinha). A composição é dividida em massa mista (mistura de farinha de trigo com outras farinhas), massa recheada (contém recheio com diferentes substâncias alimentícias aprovadas) e massa glutinada, super ou hiperglutinadas (preparada com farinha de trigo com adição de glúten) (BRASIL, 2000).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Curso de Engenharia de Alimentos e no Parque Científico e Tecnológico da Universidade de Passo Fundo.

#### 3.1 MATÉRIAS-PRIMAS

A biomassa da microalga *Spirulina platensis*, cultivada na planta piloto do projeto de biorrefinarias de microalgas, foi utilizada no estudo do processo de elaboração das microcápsulas. A biomassa foi padronizada em 40 mesh ou abertura de 420 µm.

A produção de microcápsulas para a adição na massa fresca foi realizada com a biomassa seca da microalga *Spirulina sp.* comercial (Qingdao sunrise biotechnology co. ltd).

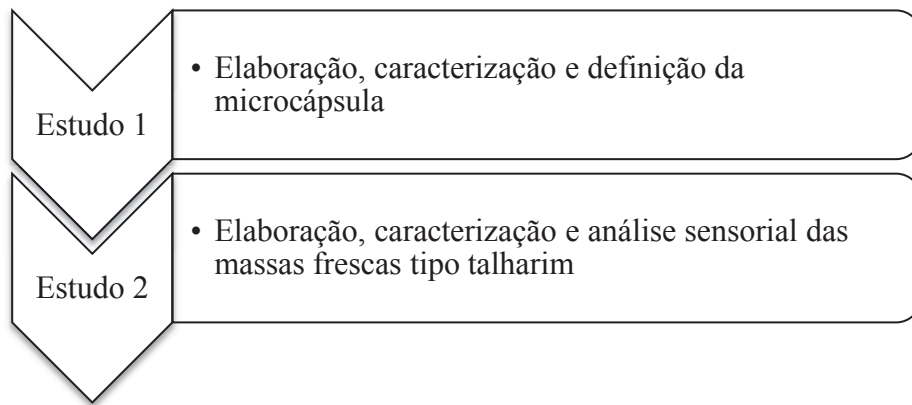
Os reagentes utilizados como encapsulantes na elaboração das microcápsulas foram a quitosana (Audaz Brasil), o alginato de sódio (Dinâmica), o cloreto de cálcio (Merck) e a pectina (Vetec).

As massas foram elaboradas com farinha de trigo comercial própria para massas frescas, doada pelo moinho Tondo S/A.

#### 3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi estruturada em dois estudos (Figura 3). No estudo 1 foram elaboradas e caracterizadas as microcápsulas com *Spirulina platensis*, em seguida, definiu-se a microcápsula para incorporar na massa fresca. No estudo 2 foram elaboradas 4 formulações de massas frescas tipo talharim, sendo estas adicionadas da *Spirulina sp* livre, *Spirulina sp.* microencapsulada, microcápsulas vazias e a massa controle (sem adição de *Spirulina* livre ou encapsulada). A quantidade de *Spirulina* adicionada nas massas frescas foi de acordo com a ingestão diária permitida pelo FDA (3 g). As massas foram caracterizadas nos tempos de 0, 7, 14 e 30 dias para avaliar a qualidade destas durante o período de armazenamento. Ainda nesta etapa, foi realizada a análise sensorial utilizando as escalas de aceitabilidade e intenção de ação e ainda a aplicação da metodologia CATA (*Check All That Apply*), ou Marque tudo que se aplica ao produto.

Figura 3 - Fluxograma dos estudos desenvolvidos no projeto.



Fonte: O Autor (2016).

### 3.3 ETAPA 1: ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS

As microcápsulas foram elaboradas pela técnica de gelificação iônica. A escolha da microcápsula para incorporar na massa fresca tipo talharim foi baseada: no processo de encapsulação, nos agentes encapsulantes utilizados, na quantidade de material núcleo capaz de aprisionar e na solubilidade.

Desenvolveram-se 12 tipos de microcápsulas, conforme delineamento da Tabela 1, que apresenta as principais variações de cada método. O Apêndice B exhibe as definições do equipamento para a elaboração das microcápsulas e o Apêndice C mostra o detalhamento de cada metodologia.

Tabela 1 – Delineamento experimental utilizado para o desenvolvimento de microcápsulas através da técnica de geleificação iônica.

Teste	Encapsulantes	<i>Spirulina platensis</i>	Metodologia utilizada
1	alginato de sódio (1,5%) reticulado em cloreto de cálcio (1,1%) e revestida com quitosana (0,36%)	0,9 g	Ren et al. (2016)
2	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na mistura de cloreto de cálcio (1,1%) e quitosana (0,36%)	0,9 g	Ren et al. (2016)
3	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na solução de quitosana (0,36%)	0,9 g	Ren et al. (2016)
4	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na solução de quitosana (1,2%)	0,9 g	Ren et al. (2016)
5	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na solução de quitosana purificada (1,2%)	0,9 g	Ren et al. (2016)
6	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	3,7 g	Ren et al. (2016)
7	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	1,85 g	Ren et al. (2016)
8	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	1,23 g	Ren et al. (2016)
9	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	0,9 g	Ren et al. (2016)
10	alginato de sódio (1,5%) e pectina (1,5%), reticulados no cloreto de cálcio (2,0%)	5,50 g	Koo et al. (2014)
11	alginato de sódio (1,5%) e pectina (1,5%), reticulados no cloreto de cálcio (2,0%)	2,75 g	Koo et al. (2014)
12	alginato de sódio (1,5%) e pectina (1,5%), reticulados no cloreto de cálcio (2,0%)	1,83 g	Koo et al. (2014)

### 3.3.1 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi determinada por métodos diferentes em cada fase do projeto. Na fase de elaboração dos diferentes tipos de microcápsulas, a eficiência de encapsulação foi calculada em função da concentração de ficocianina liberada pela *Spirulina* não encapsulada. Nesta etapa, foi utilizada *Spirulina platensis* produzida na planta piloto da UPF Parque.

Após definir a microcápsula para aplicar na massa, as microcápsulas foram produzidas com *Spirulina sp.* comercial. Entretanto, a biomassa comercial pode apresentar mesclas de espécies de *Spirulina* (*platensis* ou *máxima*), verificando-se ao longo dos estudos que o

cálculo de eficiência de encapsulação por concentração de ficocianina não era adequada. Assim, na segunda etapa o cálculo da eficiência de encapsulação foi determinado por proteína através do método de Kjeldhal (AOAC, 1995).

### 3.3.1.1 Determinação da eficiência de encapsulação por quantificação de ficocianina

A eficiência de encapsulação foi determinada de acordo com a quantidade de ficocianina extraída na *Spirulina platensis* não encapsulada (livre), comparada com a ficocianina perdida nas etapas de encapsulação (separação das cápsulas da solução de coleta e a lavagem das cápsulas), utilizando a Equação 1. A concentração de ficocianina (Co) dos extratos foi calculada de acordo com Bennett e Bogorad (1973), Equação 1.1.

Eficiência de encapsulação (%)

$$= \frac{(Co \text{ da } Spirulina \text{ livre} - Co \text{ perdida na encapsulação})}{Co \text{ da } Spirulina \text{ livre}} * 100\% \quad (1)$$

$$Co \left( \frac{mg \text{ ficocianina}}{mL} \right) = \frac{Abs_{615} - 0,474 \cdot (Abs_{652})}{5,34} \quad (1.1)$$

A obtenção do extrato aquoso da ficocianina da *Spirulina* livre foi de acordo com Neves (2003) modificado por Mortari (2017). Submeteu-se 0,9 g de *Spirulina platensis*, com granulometria média de 40 mesh com 100 mL de água em ultrassom, por 9 ciclos, sendo que o ciclo 1 corresponde a 5 min ligado e 5 min desligado. Posteriormente o extrato aquoso foi centrifugado e filtrado.

### 3.3.1.2 Determinação da eficiência de encapsulação através de quantificação de proteínas

A eficiência de encapsulação por quantificação de proteínas (Equação 2) tem como objetivo comprovar a presença de proteínas na biomassa de *Spirulina sp.* microencapsulada. Foi quantificada a proteína na *Spirulina* livre, nas microcápsulas com *Spirulina* e nas microcápsulas vazias.

A quantificação de proteína foi realizada pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995), utilizando o fator de conversão 6,25 para converter o valor de nitrogênio total em proteína

bruta. Posteriormente realizou-se um balanço de massa para determinar a eficiência de encapsulação.

$$\text{Eficiência de encapsulação(\%)} = \left( \frac{\left( \frac{g \text{ proteína}}{g \text{ de Spirulina microencapsulada}} \right)}{\left( \frac{g \text{ proteína}}{g \text{ de Spirulina}} \right) / \frac{g \text{ de microcápsula}}{g \text{ de microcápsula}}} \right) * 100 \quad (2)$$

$$\frac{\left( \frac{g \text{ proteína}}{g \text{ de Spirulina}} \right)}{g \text{ de microcápsula}} = \frac{(g \text{ de Spirulina da microcápsula} * \left( \frac{g \text{ proteína}}{g \text{ de Spirulina}} \right))}{g \text{ da microcápsula}} \quad (2.1)$$

### 3.3.2 Solubilidade em água

A solubilidade das microcápsulas foi determinada pelo método gravimétrico publicado por Eastman e Moore (1984) e citado por Cano-Chauca et al. (2005) com modificações voltadas para o cozimento da massa. Esta metodologia consistiu na mistura de 0,5 g das cápsulas em 50 mL de água destilada. As microcápsulas foram adicionadas somente quando a água entrou em ebulição, sendo mantidas nesta condição por 5 min. Posteriormente, essa solução foi arrefecida até temperatura ambiente, centrifugada a 6800 rpm por 15 min, sendo coletados 12,5 mL do sobrenadante e adicionados em cadinho de porcelana previamente pesado e tarado, mantendo em estufa a 105 °C, até a evaporação completa da água.

O percentual de solubilidade foi calculado de acordo com a equação 3.

$$\% \text{ de solubilidade} = \left( \frac{(gramas \text{ de sólidos em } 12,5 \text{ mL de solução}) * 4}{massa \text{ da amostra}} \right) * 100 \quad (3)$$

### 3.3.3 Estabilidade de antioxidantes das microcápsulas frente ao tratamento térmico em água

A microcápsula escolhida para ser adicionada na massa fresca, foi submetida a tratamento térmico a 100 °C durante 5 min, a fim de verificar o efeito da proteção da encapsulação sobre o potencial antioxidante da *Spirulina sp.* Este tratamento térmico corresponde ao tempo de cozimento da massa fresca, produto alimentício, onde as microcápsulas foram adicionadas na etapa posterior deste trabalho.

O potencial antioxidante foi avaliado utilizando o ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico (ABTS) como um radical livre, de acordo com o método descrito por Re et al. (1999), a partir de extratos aquosos, obtidos a partir de diferentes metodologias de extração, conforme Quadro 1. Para tal, foram utilizadas amostras de *Spirulina* comercial seca em pó e encapsulada. Portanto, os testes foram realizados utilizando-se 0,71 g de *Spirulina*/100 mL de solução, ou 1,23 g de esferas com *Spirulina*/100 mL de solução, a fim de manter a mesma relação de *Spirulina* nos testes.

Quadro 1 - Metodologias de extração dos antioxidantes utilizadas nos estudos de rompimento da *Spirulina* e esferas para determinação da estabilidade do potencial antioxidante durante tratamento térmico.

Estudo	amostra	Abreviação	Condição
1	<i>Spirulina</i> com citrato e agitação	1	S
	Esfera de <i>Spirulina</i> com citrato e agitação	1 E	
2	<i>Spirulina</i> com água, liquidificador e 3 ciclos congelamento/descongelamento	2	S SC
	Esfera de <i>Spirulina</i> com água, liquidificador e 3 ciclos congelamento/descongelamento	2 E	E EC
3	<i>Spirulina</i> com água, turrax e 3 ciclos congelamento/descongelamento	3	S SC
	Esfera de <i>Spirulina</i> com água, turrax e 3 ciclos congelamento/descongelamento	3 E	E EC
4	<i>Spirulina</i> com água, 3 ciclos de congelamento/descongelamento e liquidificador	4	S SC
	Esfera de <i>Spirulina</i> com água, 3 ciclos de congelamento/descongelamento e liquidificador	4 E	E EC
5	<i>Spirulina</i> , maceração e 3 ciclos de congelamento/descongelamento	5	S SC
	Esfera de <i>Spirulina</i> úmida, maceração e 3 ciclos de congelamento/descongelamento	5 E	E EC
6	<i>Spirulina</i> com água, 20 h de agitação	6	S SC
	Esfera de <i>Spirulina</i> com água, 20 h de agitação	6 E	E EC
7	<i>Spirulina</i> com água, 20 h de agitação e 3 ciclos de congelamento/descongelamento	7	S SC
	Esfera de <i>Spirulina</i> com água, 20 h de agitação e 3 ciclos de congelamento/descongelamento	7	E EC

Legenda: S: *Spirulina sp.* sem aquecimento; SC: *Spirulina sp.* com aquecimento; E: esfera de *Spirulina sp.* sem aquecimento; EC: esfera de *Spirulina sp.* com aquecimento

### 3.3.3.1 *Estudo 1 - Rompimento com citrato de sódio*

A capacidade antioxidante da *Spirulina* aprisionada nas esferas e da *Spirulina* livre foi estimada de acordo com Belšćak-Cvitanović et al. (2016) através da dissolução destas esferas em uma solução de citrato de sódio 2%, sob agitação vigorosa em um agitador mecânico a temperatura ambiente, por 5 min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 5000 rpm e filtradas para a determinação do potencial antioxidante.

### 3.3.3.2 *Estudo 2 e 3 - Rompimento com água utilizando liquidificador, homogeneizador e congelamento/descongelamento*

O estudo sem tratamento térmico consistiu na agitação da *Spirulina* livre e das esferas em água utilizando liquidificador (Mondial) (Estudo 2), velocidade máxima, por 2 min ou no homogeneizador do tipo turratec (Tecnal TE-102) (Estudo 3), velocidade de 4000 rpm, por 2 min. Após, foi realizado o rompimento da parede celular da microalga por 3 ciclos de congelamento e descongelamento das suspensões, sendo que um ciclo correspondeu a 3 h de congelamento (-18 °C) e 3 h de descongelamento (4 °C). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 5000 rpm e filtradas para a determinação do potencial antioxidante.

No estudo com amostras submetidas a tratamento térmico, a *Spirulina* e as esferas foram adicionadas em 100 mL de água, quando esta atingiu à temperatura de ebulição, permanecendo por 5 min, e posteriormente, as amostras foram arrefecidas e submetidas ao teste de extração.

### 3.3.3.3 *Estudo 4 - Rompimento com água utilizando congelamento/descongelamento e liquidificador*

Este estudo foi realizado na ordem inversa que o anterior. As amostras de *Spirulina* e esferas com *Spirulina* foram adicionadas em 100 mL de água e submetidas a 3 ciclos de congelamento/descongelamento, sendo que um ciclo correspondeu a 3 h de congelamento (-18 °C) e 3 h de descongelamento (4 °C). Posteriormente, as suspensões foram agitadas em liquidificador (Mondial), velocidade máxima, por 2 min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 15 min e filtradas em papel filtro para determinação do potencial antioxidante do filtrado.

O estudo com tratamento térmico foi realizado antes da etapa de congelamento e descongelamento das amostras. A *Spirulina* e as esferas com *Spirulina* foram adicionadas na água quando atingiu-se a temperatura de ebulição, permanecendo em contato por 5 min, em seguida arrefeceu-se e seguiu-se os procedimentos conforme descrito acima.

#### 3.3.3.4 Estudo 5 - Rompimento das esferas de *Spirulina* úmidas utilizando água

As esferas de *Spirulina*, elaboradas com alginato de cálcio são liofilizadas, o que dificulta o seu rompimento. Diante disso, este estudo visou o rompimento destas esferas sem passar pela etapa de liofilização na sua elaboração, ou seja, trabalhou-se com esferas úmidas. Para isso, determinou-se a umidade das esferas de *Spirulina* para corresponder aos outros estudos de rompimento.

As suspensões com água de *Spirulina* e esferas com *Spirulina* úmidas foram maceradas por 5 min com o auxílio do pistilo e almofariz. Posteriormente, realizou-se 3 ciclos de congelamento/descongelamento, visto que 1 ciclo corresponde a 3 h de congelamento (-18 °C) e 3 h de descongelamento (4 °C). Após, as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 15 min, filtradas em papel filtro e determinado o potencial antioxidante do filtrado.

No estudo do tratamento térmico, a *Spirulina* e as esferas com *Spirulina* foram adicionadas em 100 mL de água, quando atingiu à temperatura de ebulição, permanecendo por 5 min, e posteriormente, as amostras foram arrefecidas. As etapas posteriores ao arrefecimento seguiram conforme descrito anteriormente.

#### 3.3.3.5 Estudo 6 - Rompimento das esferas com *Spirulina* com 20 h de agitação

O teste foi executado de acordo com López-Córdoba, Deladino e Martino (2014), com pequenas modificações. As suspensões de *Spirulina* e as esferas de *Spirulina* com água foram colocadas em um agitador orbital (IAOH125 P.H.D), a 140 rpm, durante 20 h a 37 °C. Enquanto que o tratamento térmico das amostras foi realizado antes de colocá-las no agitador orbital por 20 h. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 5000 rpm e filtradas para a determinação do potencial antioxidante.



### 3.3.3.6 *Estudo 7 - Rompimento das esferas com Spirulina com 20 h de agitação + congelamento/descongelamento*

Este estudo seguiu da mesma maneira que o anterior, porém, após as 20 h que a *Spirulina* e as esferas de *Spirulina* ficaram em contato com a água, estas foram armazenadas em frascos de plástico e submetidas a 3 ciclos de congelamento/descongelamento, sendo que 1 ciclo corresponde a 3 h de congelamento (-18 °C) e 3 h de descongelamento (4 °C). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 5000 rpm e filtradas para a determinação do potencial antioxidante.

O tratamento térmico das amostras foi realizado antes destas ficarem em contato com a água por 20 h.

### 3.3.3.7 *Avaliação do potencial antioxidante pelo método do radical ABTS*

O método ABTS (ácido 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico) descrito por Ré et al. (1999), determina a atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS<sup>•+</sup>. Consiste na geração do radical livre ABTS<sup>•+</sup>, que apresenta cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 734 nm. Ao adicionar um antioxidante, ocorre a redução do ABTS<sup>•+</sup> a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional.

O radical catiônico ABTS foi preparado a partir da reação da solução estoque de ABTS (7 mmol/L) com a solução de persulfato de potássio (2,45 mmol/L), ambas soluções dissolvidas em água, a uma razão de 1:1 v/v. Essa solução permaneceu em repouso no escuro, a temperatura ambiente, entre 12 a 16 h antes da utilização.

O espectrofotômetro foi zerado com água a 734 nm para a leitura das amostras. Para a leitura da absorbância do ensaio branco ( $A_0$ ) em espectrofotômetro, o radical formado foi diluído em etanol 96° até obter uma absorbância de 0,70 nm (+- 0,05 nm) a um comprimento de onda de 734 nm.

Em ambiente protegido da luz, foi adicionado 10 µL da amostra em 1000 µL do radical ABTS diluído, seguido de homogeneização em agitador por 3 s e a solução permaneceu no escuro por 6 min para reagir. Após foi realizada a leitura da absorbância ( $A_f$ ), em triplicata. Os resultados foram expressos em mmol de trolox/g de *Spirulina*. Para isso foi previamente construída uma curva utilizando o trolox.

### 3.3.4 Perfil de liberação da ficocianina das microcápsulas

O estudo do perfil de liberação da ficocianina foi conduzido com 1 g de amostra de *Spirulina* livre e encapsulada (de acordo com a eficiência de encapsulação) em 100 mL de fluido gastrointestinal simulado. O método foi de acordo com Najafi-Soulari, Shekarchizadeh e Kadivar (2016), onde as amostras foram colocadas em solução de ácido clorídrico 0,1 M com pH ajustado para 1,2 como meio de fluido gástrico simulado. O fluido intestinal foi simulado colocando as amostras em contato com o tampão fosfato de sódio pH 7,5. Os fluidos com suas respectivas amostras foram incubados a 37 °C sob agitação constante a 100 rpm. Foram retiradas amostras para determinar a concentração de ficocianina ( $C_o$ ), de acordo com a equação (4), em intervalos de 60 min.

$$C_o \left( \frac{mg \text{ ficocianina}}{mL} \right) = \frac{Abs_{615} - 0,474 \cdot (Abs_{652})}{5,34} \quad (4)$$

### 3.3.5 Análise morfológica

A morfologia da *Spirulina* livre, das microcápsulas vazias e das microcápsulas com *Spirulina* foi avaliada pelo microscópio eletrônico de varredura (MEV), que tem como objetivo verificar a estrutura da microcápsula formada.

As amostras foram colocadas sobre *stubs* e recobertas com uma camada de ouro em metalizador Quorum Q150R ES e em seguida, foram micrografadas em microscópio eletrônico de varredura Tescan – Vega 3 LM.

### 3.3.6 Tamanho das partículas

As amostras secas de *Spirulina* livre, esferas vazias e a *Spirulina* microencapsulada foram dispersas em água filtrada para medir as distribuições de tamanho de partícula e avaliou-se o potencial zeta destas utilizando um difratômetro a laser Zetasizer Nano ZS90, (Malvern, United Kingdom).

### 3.3.7 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

A biomassa da *Spirulina sp.* livre e as microcápsulas foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (Perkin Elmer FT-IR Spectrum Bx ATR). Os espectros obtidos por infravermelho das micropartículas foram avaliados frente aos espectros da *Spirulina sp.*, cápsulas vazias e a *Spirulina* microencapsulada.

### 3.3.8 Termogravimetria

A termogravimetria (TG) é um sistema capaz de medir continuamente a massa de um material enquanto este é submetido a uma programação controlada de temperatura. É um método termoanalítico que permite verificar as alterações que o aquecimento pode causar nas substâncias, como modificações da estrutura molecular, além de estabelecer a faixa de temperatura em que as mesmas sofrem processos de decomposição (GIRON, 2002).

As análises termogravimétricas da *Spirulina sp.*, das cápsulas vazias e das microcápsulas com *Spirulina* foram realizadas no laboratório da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

As curvas termogravimétricas foram obtidas em um TGA 60 Shimadzu. As amostras foram pesadas e acondicionadas em micro-cadinhos de alfa-alumina pré-tarados na termobalança. As condições de análise foram as seguintes: massa da amostra aproximadamente 5,0 mg; atmosfera da câmara, nitrogênio na vazão de 100 mL/min, razão de aquecimento 10 °C/min, com faixa de temperatura de 30 a 600 °C (AGGARWALL; DOLLIMORE, 1998).

### 3.3.9 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é um método de análise térmica, este permite avaliar as variações de entalpia que ocorrem com uma substância e um material de referência em função da temperatura, enquanto essas são submetidas a uma programação controlada de temperatura. O DSC é utilizado para o estudo do comportamento térmico de polímeros, permitindo monitorar as propriedades térmicas e as transições de fase dos mesmos e auxiliando o desenvolvimento dos processos alimentícios (JI et al., 2004).

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram obtidas por uma célula calorimétrica (Shimadzu, Kyoto, Japão), modelo DSC-60. Foram realizadas para as amostras de biomassa de *Spirulina sp.*, cápsulas vazias e a *Spirulina* microencapsulada.

Aproximadamente 5 mg das amostras foram acondicionadas em micro cadinhos de alumínio pré-tarados, os quais foram selados e frente a estes, antes do início do processo, foi colocado no calorímetro um micro-cadinho vazio, idêntico ao da amostra, utilizado como referência (AGGARWALL; DOLLIMORE, 1998).

As amostras foram analisadas sob atmosfera de nitrogênio de 50 mL/min, com taxa de aquecimento de 10 °C/min e faixa de temperatura entre 35 a 200 °C (LI et al., 2014).

### **3.3.10 Tratamento dos dados**

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%, utilizando o Programa *Statistica 7.0*, para avaliar o comportamento da biomassa microencapsulada, com exceção da análise morfológica, calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria e avaliação por espectroscopia na região do infravermelho.

## **3.4 ETAPA 2: ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE SENSORIAL DAS MASSAS FRESCAS TIPO TALHARIM**

### **3.4.1 Caracterização da farinha de trigo**

A farinha de trigo própria para a elaboração de massas foi caracterizada quanto à composição química, atividade de água e número de queda.

#### *3.4.1.1 Composição química*

A farinha de trigo foi caracterizada quanto à composição química aproximada pela determinação dos teores de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e fibra bruta, utilizando-se, respectivamente, os métodos 44-15A, 46-13A, 30-10, 08-01 e 32-10 da AACC (2010). O teor de carboidratos foi calculado por diferença, sem considerar o teor de fibra.

#### 3.4.1.2 Granulometria

A determinação de granulometria média da farinha foi realizada pelo método nº 66-20.01 da AACC (2009). Este ensaio avalia a faixa de granulação e a distribuição dos tamanhos das partículas através do processo de peneiragem.

#### 3.4.1.3 Atividade de água

A determinação da atividade de água foi realizada em equipamento Testo 650 AW (Testo do Brasil) a 25 °C.

#### 3.4.1.4 Número de queda

O número de queda (*falling number*) foi determinado pelo método nº 56-81.03 da AACC (2010), utilizando o equipamento Falling Number (modelo FN 1800, Perten Instruments, USA).

#### 3.4.1.5 Alveografia

As propriedades viscoelásticas da farinha foram analisadas por alveografia, método nº 54-30 da AACC (2009), em alveógrafo (modelo NG, marca Chopin, França). Os parâmetros considerados foram tenacidade (P) e extensibilidade (L) expressos em milímetros (mm), relação ente P/L e a força de glúten (W) expressa em  $10^{-4}$  J.

### 3.4.2 Elaboração das formulações das massas frescas

As formulações das massas frescas tipo talharim foram produzidas no laboratório de panificação da Universidade de Passo Fundo, de acordo com a Tabela 2. As massas foram formuladas de acordo com o limite de ingestão diária de *Spirulina platensis* permitido pelo FDA, por porção de massa fresca (100 g).

As etapas do processo de produção estão apresentadas na Figura 4, seguido da descrição destas.

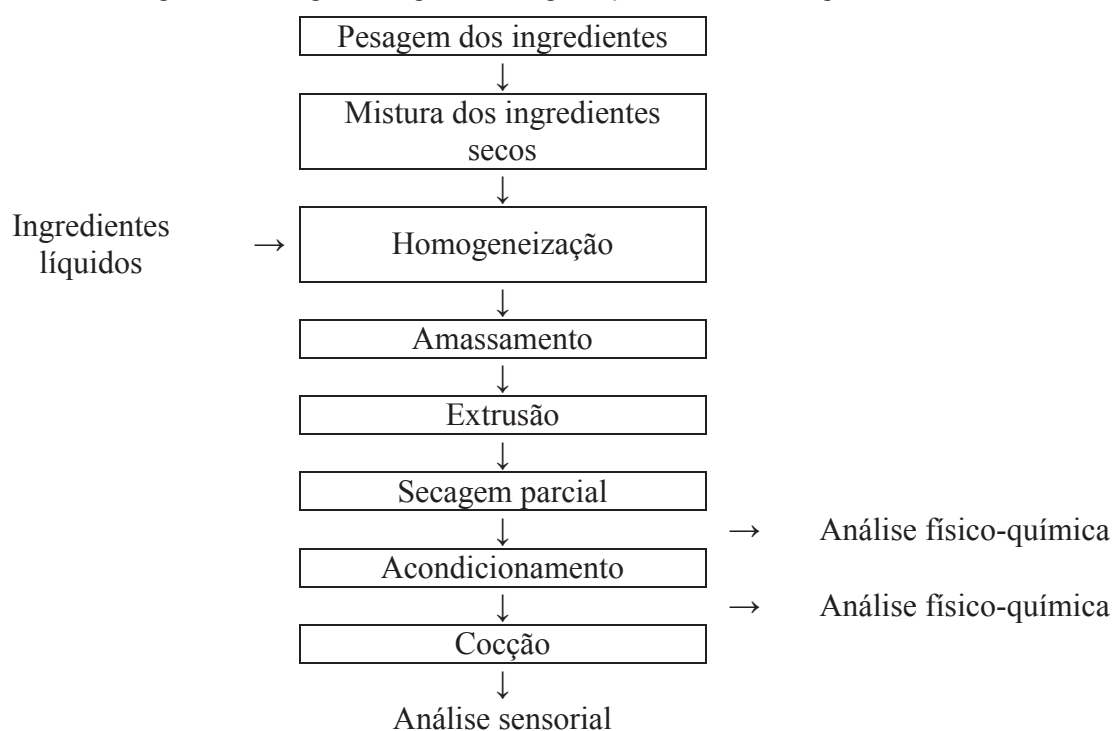
Tabela 2 – Proporção de *Spirulina* nas formulações das massas frescas tipo talharim.

Formulação	Especificação
1	Farinha de trigo
2	Farinha de trigo + cápsulas vazias
3	Farinha de trigo + 3,0 g <i>Spirulina platensis</i>
4	Farinha de trigo + 3,0 g <i>Spirulina platensis</i> microencapsulada

Fonte: O Autor (2016).

A massa foi produzida de acordo com as proporções descritas por Pagnussatt et al. (2014), com algumas modificações. Foi utilizado 0,1 g de Estearoil - 2 lactil lactato de sódio (SSL), 5 g de ovo pasteurizado, 100 g de farinha de trigo, 0,002 g de sorbato de potássio e *Spirulina* livre, encapsulada e as esferas vazias foram adicionadas de acordo com o delineamento da Tabela 4. Foi adicionada água suficiente para se obter o teor de umidade final de 32%. Os ingredientes foram misturados por 15 min em um misturador vertical (Kitchen Aid, USA). Em seguida, a mistura foi processada em uma extrusora (Pastaia I Italvisa, Brasil) para obter o formato da massa tipo talharim.

Figura 4 - Fluxograma do processo de produção da massa seca tipo talharim.



a) Mistura dos ingredientes: é a primeira etapa do processo que consiste na homogeneização dos ingredientes secos com os ingredientes líquidos, dosados em proporções

determinadas (GARIB, 2002). A proporção de água depende da variedade do trigo, umidade inicial e granulometria (EL-DASH; GERMANI, 1994).

b) Amassamento: no processo de mistura os ingredientes apenas entram em contato, pois é durante o amassamento que é desenvolvido a estrutura da massa e essa se torna homogênea. Nesta etapa as proteínas da farinha absorvem a água e formam uma rede, conhecida por glúten, que dará à massa elasticidade e resistência, que são fundamentais para a sua modelagem (GUERREIRO, 2006).

c) Extrusão: a massa é empurrada por uma rosca sem fim para a matriz que através da força aplicada, diminuirá o diâmetro e aumentará o comprimento, caracterizando a massa tipo talharim (BONATTO; KENNEDY, 2008). Neste processo, é gerada uma quantidade de calor considerável e ao atingir o comprimento ideal, a massa é cortada manualmente.

d) Secagem: as massas frescas passaram por um processo de secagem parcial, com a finalidade de eliminar o excesso de água adsorvida na fase anterior da produção (COMELLI, 2011). Após a secagem, devem apresentar umidade máxima de 35% de acordo com a legislação em vigor (BRASIL, 2005).

e) Acondicionamento: a função desta etapa é de manter o produto livre de contaminação e protegê-lo de danos causados durante o transporte e a estocagem (EL-DASH; GERMANI, 1994). Para isto, as massas foram acondicionadas em embalagens plásticas, seladas e mantidas sob refrigeração durante o período dos testes de vida útil por 30 dias.

### **3.4.3 Análise da qualidade das massas frescas tipo talharim**

As massas frescas foram avaliadas quanto a umidade, atividade de água, cor, textura e cozimento pelo período de 30 dias, com coletas de amostras no tempo inicial (0 dias), 7 dias, 14 dias e 30 dias.

#### *3.4.3.1 Teor de umidade*

A determinação do teor de umidade foi realizada em estufa a temperatura de 105 °C por 4 h, até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

### 3.4.3.2 *Atividade de água*

A determinação da atividade de água foi realizada em equipamento Testo 650 AW (Testo do Brasil) a 25 °C.

### 3.4.3.3 *Avaliação de cor*

A avaliação da cor das massas foi realizada utilizando o aparelho espectrofotômetro de refletância difusa (modelo ColorQuest II, HunterLab, EUA), com sensor ótico geométrico de esfera. Foram obtidos os valores de L\* (luminosidade) que variam de zero (preto) a 100 (branco) e coordenadas de cromaticidade -a\* (verde) até +a\* (vermelho), e -b\* (azul) até +b\* (amarelo).

## 3.4.4 **Teste de cozimento**

O teste de cozimento consiste na avaliação do tempo de cozimento, o aumento de peso da massa cozida, a perda de sólidos solúveis na água de cozimento e o aumento de volume.

### 3.4.4.1 *Tempo de cozimento*

O tempo de cozimento da massa foi determinado através do cozimento de 10 g de massa tipo talharim em 140 mL de água. O tempo ótimo de cozimento foi avaliado, em intervalos de 1 em 1 min, pela compressão da massa cozida entre lâminas de vidro, até o eixo central esbranquiçado desaparecer, segundo método n° 66-50.01 (AACC, 2010).

### 3.4.4.2 *Perda no cozimento*

A massa foi cozida pelo tempo ótimo de cozimento. Posteriormente, a água do cozimento foi evaporada em estufa a 105 °C e o resíduo foi pesado e relatado como porcentagem do peso da massa original, segundo o método n° 66-50 (AACC, 2010).



#### 3.4.4.3 Índice de inchaço

A determinação do índice de inchaço foi de acordo com o método n° 66-50 (AACC, 2010). A massa cozida, 5 g, foi seca em estufa a 105°C até peso constante.

#### 3.4.4.4 Absorção de água

A absorção de água da massa foi determinada de acordo com Tudorică et al. (2002), em porcentagem, como a diferença entre o peso da massa cozida e o peso da massa crua, dividido pelo peso da massa crua.

#### 3.4.4.5 Aumento de peso

O aumento de peso da massa cozida foi determinado pelo método n° 16-50 (AACC, 2010) através da pesagem da massa antes e após o cozimento, de acordo com o tempo ideal. O valor de aumento de peso é a relação entre os pesos da massa cozida e a massa crua (10 g), expressa em porcentagem (%).

### 3.4.5 Textura

A firmeza da massa cozida foi avaliada de acordo com o método 66-50.01 da AACC (2010). A força máxima necessária para cortar a massa foi feita no texturômetro, utilizando o probe HDP/LKB. Para a operação do aparelho, utilizou-se velocidade de 0,17 mm/s e distância de 4,5 mm.

A adesividade da massa cozida foi determinada de acordo com Ormenese e Chang (2003). A adesividade é a força máxima necessária para separar o probe HDP/PFS da superfície da amostra após o contato. As condições de operação do aparelho foram velocidade de 0,50 mm/s e distância de 5 mm.

### 3.4.6 Tratamento dos dados

Os resultados das quatro formulações testadas (massa controle com farinha de trigo, massa com incorporação das micropartículas vazias, massa com biomassa da *Spirulina sp.* livre e massa com biomassa de microalga microencapsulada) foram comparados ao longo do

tempo de armazenamento, em triplicatas, e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95% para avaliar a influência da adição da *Spirulina sp.* microencapsulada e livre na massa fresca.

### 3.5 ANÁLISE SENSORIAL

O projeto foi encaminhado ao comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo, número do parecer 2.143.384, antes da realização da análise sensorial, sendo aprovado pela Comissão de avaliação.

A aplicação dos testes de análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA) da Universidade de Passo Fundo.

Por se tratar de uma pesquisa com seres humanos, a análise sensorial exigiu o termo de consentimento livre e esclarecido, como apresentado no Apêndice D. Não puderam fazer parte desta pesquisa os participantes alérgicos a glúten, ovo, peixe ou qualquer um dos componentes da massa fresca. Para isso, utilizou-se uma ficha de avaliação, conforme apresentado no apêndice E.

Os participantes, estudantes de graduação e pós-graduação e os professores da Universidade de Passo Fundo, se dispuseram voluntariamente a participar do teste.

O levantamento dos termos descritivos foi realizado por um painel de 12 avaliadores previamente selecionados, utilizando o método rede ou Kelly's Repertory Grid Method segundo Moskowitz (1983). Foram utilizadas as amostras de massa controle e massa com *Spirulina* livre para representar a variação entre as amostras a serem analisadas posteriormente, devido a grande diferença quanto às características sensoriais.

As amostras foram apresentadas em pares aos avaliadores. Solicitou-se para que descrevessem as similaridades e diferenças percebidas entre as amostras com relação à aparência e cor, aroma e sabor, e textura. Após o levantamento dos termos descritivos pelo método de rede e de acordo com o consenso da equipe, foi elaborada uma lista de termos que melhor caracterizava as amostras. A lista com os termos foi utilizada para a aplicação da metodologia CATA (*Check All That Apply*) ou Marque tudo que se aplica.

Os consumidores, totalizando 50, receberam as amostras das 4 formulações de massa fresca tipo talharim (controle, esferas vazias, *Spirulina* encapsulada e *Spirulina* livre), de forma monádica, aleatorizadas e codificadas (Apêndice F), utilizando luz branca, e uma ficha (Figura 5) para avaliar os 3 testes propostos, sendo, aceitabilidade, intenção de consumo e

CATA. Entre cada amostra, foi disponibilizada água para os participantes realizarem a limpeza da cavidade oral.

A lista com os atributos sensoriais foi utilizada para os consumidores selecionarem o que caracterizava a amostra, de forma fácil e rápida (ARES et al., 2014).

A aceitabilidade é um teste afetivo que expressa o quanto o consumidor gostou ou desgostou da amostra. O teste foi aplicado utilizando uma escala hedônica, balanceada com o mesmo número de categorias positivas e negativas. A consideração de aceitabilidade da amostra foi com índice de aceitabilidade igual ou superior a 70% (DUTCOSKY, 1996).

O teste de atitude de consumo foi proposto para avaliação da intenção de consumo das massas frescas, se a mesma estivesse disponível ao consumidor (DUTCOSKY, 1996). O teste foi realizado através de uma escala de sete pontos, na qual os consumidores assinalaram a intenção de consumo do produto que mais lhe agradava.

Figura 5 - Ficha de aceitabilidade, intenção de ação e CATA para as massas frescas tipo talharim.

## Avaliação sensorial de MASSA FRESCA

Nome: \_\_\_\_\_  
 Número da amostra: \_\_\_\_\_ Data: 07/12/2017

Por favor, prove a amostra de MASSA FRESCA e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto.

- 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

Cor: \_\_\_\_\_  
 Textura: \_\_\_\_\_  
 Aparência: \_\_\_\_\_  
 Odor/aroma: \_\_\_\_\_  
 Sabor: \_\_\_\_\_  
 Impressão global: \_\_\_\_\_

Se você tivesse a oportunidade de comer esta massa fresca, indique através da escala abaixo, o grau de certeza de que comeria ou não a massa.

7 -	Eu comeria isto, muito frequentemente
6 -	Eu comeria isto, frequentemente
5 -	Eu comeria isto, mas não sairia da minha rotina
4 -	Eu não gosto, mas se fosse preciso, comeria
3 -	Eu comeria isto se não tivesse outra escolha
2 -	Eu comeria isto raramente
1 -	Eu não comeria isto de jeito nenhum

Resposta: \_\_\_\_\_

## Cheque tudo que se aplica ao produto

Você está recebendo uma amostra de MASSA FRESCA. Por favor, observe, aspire e prove. Em seguida, marque com um X todas as opções que você considera adequadas para descrever o produto:

<input type="checkbox"/>	Textura rugosa
<input type="checkbox"/>	Residual amargo
<input type="checkbox"/>	Textura pegajosa
<input type="checkbox"/>	Sabor de alga
<input type="checkbox"/>	Cor uniforme
<input type="checkbox"/>	Bordas lisas
<input type="checkbox"/>	Odor de farinha
<input type="checkbox"/>	Textura firme
<input type="checkbox"/>	Adesividade (gruda no dente)
<input type="checkbox"/>	Cor não uniforme

<input type="checkbox"/>	Cor creme
<input type="checkbox"/>	Odor de alga
<input type="checkbox"/>	Odor de peixe fresco
<input type="checkbox"/>	Bordas serrilhadas
<input type="checkbox"/>	Gosto de farinha
<input type="checkbox"/>	Levemente adstringente
<input type="checkbox"/>	Cor verde musgo
<input type="checkbox"/>	Presença de pontos verdes
<input type="checkbox"/>	Sabor de peixe cru
<input type="checkbox"/>	Cor verde

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_

### 3.5.1 Tratamento dos dados

O índice de aceitabilidade foi calculado para todos os atributos avaliados. Os resultados das 4 formulações de massas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95 %.

A análise dos dados obtidas com a metodologia CATA foi realizada através de análise estatística multivariada (Análise de Componentes Principais) utilizando o Programa *Statistica* 7.0.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ETAPA 1: ELABORAÇÃO DAS MICROCAPSULAS

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados de eficiência de encapsulação para os testes de elaboração das microcapsulas com diferentes agentes encapsulantes.

Tabela 3 – Eficiência de encapsulação de *Spirulina platensis* utilizando diferentes encapsulantes por concentração de ficocianina.

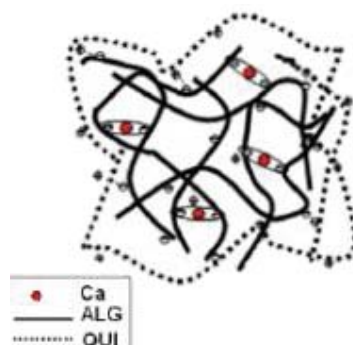
Teste	Encapsulantes	<i>Spirulina platensis</i>	Eficiência de encapsulação (%)
1	alginato de sódio (1,5%) reticulado em cloreto de cálcio (1,1%) e revestida com quitosana (0,36%)	0,92 g	62,67± 0,89 <sup>e</sup>
2	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na mistura de cloreto de cálcio (1,1%) e quitosana (0,36%)	0,92 g	38,80± 0,36 <sup>b</sup>
3	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na solução de quitosana (0,36%)	0,92 g	33,59± 0,98 <sup>a</sup>
4	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na solução de quitosana (1,2%)	0,9 g	44,52± 0,89 <sup>c</sup>
5	alginato de sódio (1,5%) reticuladas na solução de quitosana purificada (1,2%)	0,9 g	85,39± 2,03 <sup>j</sup>
6	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	3,7 g	71,94± 0,34 <sup>h</sup>
7	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	1,85 g	66,05± 0,36 <sup>f</sup>
8	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	1,23 g	68,54± 0,27 <sup>g</sup>
9	alginato de sódio (1,5%) reticulado com cloreto de cálcio (1,1%)	0,9 g	80,56± 0,52 <sup>i</sup>
10	alginato de sódio (1,5%) e pectina (1,5%), reticulados no cloreto de cálcio (2,0%)	5,5 g	58,05± 0,20 <sup>d</sup>
11	alginato de sódio (1,5%) e pectina (1,5%), reticulados no cloreto de cálcio (2,0%)	2,75 g	62,25± 0,46 <sup>e</sup>
12	alginato de sódio (1,5%) e pectina (1,5%), reticulados no cloreto de cálcio (2,0%)	1,83 g	69,85± 0,34 <sup>gh</sup>

Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp).

Os testes 1 e 11 (Tabela 3) apresentaram eficiência de encapsulação estatisticamente igual ( $p > 0,05$ ), sendo que o experimento 11 aprisionou maior quantidade de *Spirulina platensis*. O teste 11 indicou boa interação entre a pectina e o alginato de sódio, visto que estes tem a capacidade de formar esferas insolúveis em água na presença de cátions divalentes. Neste processo de encapsulação, os íons de cálcio induzem associações de cadeias - cadeia que estabelecem zonas de junção responsáveis pela formação de gel por alginato de sódio e pectina, com interações químicas entre íons de cálcio e blocos de guluronato e galacturonato em alginato e pectina, respectivamente (BRACCINI; PÉREZ, 2001).

Enquanto que o teste 1 consistiu no revestimento da esfera de alginato de cálcio utilizando a solução de quitosana (Figura 6). A adição de um policátion, no caso a quitosana, teve como finalidade reduzir a permeabilidade das microesferas do alginato (POLK et al., 1994), porém, ao comparar com o teste 9, sendo que a primeira etapa é igual ao teste 1, a eficiência de encapsulação diminuiu.

Figura 6 – Formação de esferas de alginato de sódio com cloreto de sódio e quitosana.



Fonte: Abreu (2008).

O alginato de sódio geralmente é utilizado como matriz, porque ele sofre uma gelificação rápida na presença de íons cálcio (LI et al., 2002), enquanto que a quitosana é utilizada para reforçar a microcápsula de alginato, aumentar a sua estabilidade (RIBEIRO et al., 2005) e impedir a rápida erosão do gel de alginato (TØNNESEN; KARLSEN, 2002). A etapa do revestimento com quitosana é realizada em pH ácido, porém a liberação do material núcleo a partir de esferas de alginato em soluções de baixo pH é significativamente reduzida. Em pH ácido, o alginato de sódio hidratado é convertido em uma camada porosa, insolúvel. Porém, ocorre um intumescimento, deixando de proporcionar a retenção adequada do material núcleo (GEORGE; ABRAHAM, 2006). Então, como o alginato tem uma tendência a adquirir poros em sua estrutura, pode ter ocorrido à difusão da *Spirulina* (BHATTARAI et al., 2011)

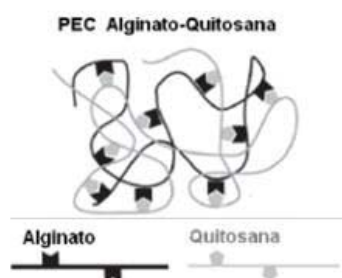


na etapa de revestimento com a quitosana, levando então a diminuição da eficiência de encapsulação do teste 1.

Pretendendo diminuir a perda de ficocianina dos três testes anteriormente citados, uma alternativa estudada foi a encapsulação de 0,9 g de *Spirulina* com alginato de sódio (1,5%) na mistura das soluções de cloreto de cálcio (1,1%) e quitosana (0,36%) (teste 2), com o objetivo de reduzir uma etapa de encapsulação (Tabela 3). Porém, o resultado foi insatisfatório, obteve-se a segunda menor média (38,8%) de eficiência de encapsulação.

Diante destes resultados, no teste 3 foi suposto que poderia ocorrer a formação de esferas somente com a atração iônica do alginato de sódio (1,5%) e a quitosana (0,36%) já que o alginato de sódio é aniônico e a quitosana e o cloreto de cálcio são catiônicos (Figura 7). Ao verificar a eficiência de encapsulação, percebeu-se que a atração não foi suficiente, gerando o menor valor de eficiência, 33,59% (Tabela 3). Acreditou-se que isso ocorreu devido à baixa concentração de quitosana. Diante disso, aumentou-se a concentração de quitosana para 1,2% (teste 4). Este aumento proporcionou uma melhoria na eficiência de encapsulação para 44,5% (Tabela 3), mas ainda é considerando um aumento insuficiente.

Figura 7 – Formação de esferas de alginato de sódio com a quitosana.



Fonte: Abreu (2008).

Como a quitosana utilizada nos testes anteriores (1, 2, 3 e 4) não era pura, pode ter havido a influência de interferentes, dificultando a formação das cápsulas. A partir desse resultado, foi purificada quantidade suficiente de quitosana de forma que se obteve uma solução com 1,2% de quitosana pura para produzir cápsulas (teste 5). Esse teste com alginato de sódio (1,5%) e quitosana pura (1,2%) apresentou o melhor resultado de eficiência de encapsulação, de 85,39% (Tabela 3), sendo esta a maior eficiência de todos os testes realizados. Esse tipo de cápsula poderia ser o ideal para aplicar na massa, porém, o custo de purificação da quitosana é muito elevado, tornando-se inviável.

Analisando estes resultados e considerando as possíveis justificativas, a alternativa foi testar diferentes concentrações de *Spirulina* em relação aos sólidos na formação de cápsulas somente com alginato de sódio (1,5%) reticuladas em cloreto de cálcio (1,1%). Os testes 6, 7, 8 e 9, com proporção de *Spirulina* e sólidos de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, apresentaram bons resultados de eficiência de encapsulação, sendo eles 71,94%, 66,05%, 68,54% e 80,56%, respectivamente. Isso indica que é possível aprisionar maior quantidade de *Spirulina* em menor teor de sólidos. Poderia otimizar as eficiências através do aumento do volume da solução de cloreto de cálcio 1,1% e/ou aumentar a concentração da solução.

Nas etapas iniciais do projeto objetivava-se utilizar fibra na formação de cápsulas. Dado os resultados com a quitosana, foram realizados os testes 10, 11 e 12 utilizando alginato de sódio (1,5%) com a pectina (1,5%), proporção 80:20 (alginato:pectina), reticuladas em cloreto de cálcio (2%) avaliando diferentes concentrações de *Spirulina*. Observou-se que nestes testes ocorreu à formação de cápsulas e alguns estudos relatam que o alginato pode formar complexos fortes com outros polieletrólitos naturais, como a pectina. Estes são submetidos à associação cadeia-cadeia, formando hidrogéis após a adição de cations divalentes, como é o caso do  $\text{Ca}^{2+}$  (LIU et al., 2003).

Os testes 10, 11 e 12 foram realizados na proporção de *Spirulina* e sólidos 1:1, 1:2 e 1:3, apresentando uma eficiência de encapsulação de 58,05%, 62,25% e 69,85%, respectivamente. O teste 12 não apresentou diferença significativa entre os testes 6 e 8, com alginato de sódio e cloreto de cálcio.

Avaliando os resultados de eficiência de encapsulação, o teste com a quitosana purificada (Teste 5) apresentou maior eficiência, mas diante do seu elevado custo, torna-se inviável. Por outro lado, o teste com alginato e cloreto de cálcio na proporção 1:4 (Teste 9) apresentou a segunda melhor eficiência, mas um ponto negativo é a grande quantidade de sólidos para encapsular somente 0,9 g de *Spirulina*.

Entretanto, as esferas de alginato de sódio e cloreto de cálcio na proporção 1:1 (Teste 6) apresentaram boa eficiência aprisionando maior quantidade de *Spirulina*, não apresentando diferença significativa com as cápsulas de alginato de sódio com pectina 1:3 (*Spirulina*:sólidos) (teste 12) e este por sua vez não diferiu significativamente das esferas de alginato de sódio com cloreto de cálcio 1:3 (*Spirulina*:sólidos), teste 8. A vantagem da esfera de alginato de sódio e cloreto de cálcio na proporção 1:1 é que no momento de adicionar na massa fresca, terá menor quantidade de material de parede, se comparado com o resultado do teste 12, já que estas esferas podem ter um sabor desagradável em virtude do alginato ser

oriundo de algas e o cloreto pode deixar um residual amargo, o que diminuiria a aceitabilidade do produto pelo consumidor.

A Tabela 4 apresenta a solubilidade das microcápsulas referentes aos testes de encapsulação 1, 6, 9 e 12, escolhidas para o seguimento dos estudos em função das justificativas já apresentadas. A solubilidade das microcápsulas em água é um fator essencial, visto que pode possibilitar a inserção dessas em diferentes produtos alimentícios (BENDER et al., 2016). Neste caso, é um fator muito importante já que as microcápsulas serão aplicadas na massa e o preparo desta consiste no cozimento em água.

Tabela 4 – Solubilidade das microcápsulas escolhidas a partir dos testes de encapsulação

Teste	Método de encapsulação	Solubilidade (%)
1	Cápsulas de alginato de sódio com <i>Spirulina</i> , reticuladas com cloreto de cálcio e revestidas com quitosana 0,36% (1:4 – <i>Sp.</i> :sólidos)	2,49±0,37 <sup>a</sup>
6	Cápsulas de alginato de sódio com <i>Spirulina</i> , reticulado com cloreto de cálcio (1:1 – <i>sp.</i> :sólidos)	8,64±1,82 <sup>c</sup>
9	Cápsulas de alginato de sódio com <i>Spirulina</i> , reticuladas com cloreto de cálcio 1,1% (1:4 – <i>Sp.</i> :sólidos)	3,11±1,01 <sup>ab</sup>
12	Cápsulas de alginato de sódio e pectina com <i>Spirulina</i> , reticuladas com cloreto de cálcio 2% (1:3 – <i>Sp.</i> :sólidos)	7,66±0,78 <sup>bc</sup>

Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ao nível de 95% de confiança (média±dp).

A solubilidade das cápsulas analisadas (Tabela 4) foi baixa e apesar das diferenças estatísticas, qualquer uma poderia ser utilizada para incorporar na massa fresca.

O alginato de sódio é solúvel em água, mas ao ser gotejado em solução com cátions divalentes torna-se insolúvel (EL-GHAFFAR et al., 2012) e ao ser revestido com quitosana, permite a formação de uma esfera mais rígida, o que dificulta a sua solubilização em água, isso é identificado na Tabela 4, visto que a cápsula com revestimento de quitosana (Teste 1) apresentou menor teor de solubilidade. Diante disso, a escolha de uma cápsula revestida é interessante, pois poderá proteger mais a *Spirulina* durante a cocção da massa. Por outro lado, pode não ser necessário o revestimento, quando se trata da interação das esferas com a massa, pois estas não estarão em contato direto com a água, somente as que ficarem na superfície da massa.

Entretanto, comparando a outros 3 tipos de cápsulas, é interessante ressaltar que a esfera de alginato de cálcio 1:1 (Teste 6), apesar de apresentar maior solubilidade em relação as outras, é capaz de aprisionar maior quantidade de *Spirulina*. Essa vantagem é interessante porque adiciona-se no produto menor quantidade de material de parede, que pode conter residual amargo.

Desta forma, a microcápsula escolhida para prosseguir nos testes de caracterização e aplicação na massa fresca tipo talharim foi a do teste 6, preparada com alginato de sódio 1,5 % (100 mL) adicionado de 3,7 g de *Spirulina sp.* comercial, atomizado em cloreto de cálcio 1,1% (200 mL), proporção de 1:1 de *Spirulina*:sólidos totais (Tabela 4 ou 3).

#### 4.1.1 Eficiência de encapsulação da cápsula definida para a adição em talharim utilizando *Spirulina sp.* comercial

A extração de compostos de coloração verde a partir da *Spirulina sp.* comercial influenciou a determinação da eficiência de encapsulação, através da determinação de ficocianina por método espectrofotométrico. Desta forma, por se tratar de uma microalga com 55% de proteína (Tabela 5), encapsulada com um material de parede não proteico, determinou-se a eficiência de encapsulação por quantificação da proteína.

Tabela 5 – Quantificação de proteína micropartícula definida para incorporar na massa.

Amostra	Proteína em base seca (%)
<i>Spirulina sp.</i>	55,18±0,57
<i>Spirulina</i> microencapsulada	34,34±0,09
Esfera vazia	0,60±0,06

Teoricamente, para 1 g de esfera com *Spirulina*, 0,71 g da esfera é *Spirulina* e 0,29 g é encapsulante. Então, com base no teor de proteína, a *Spirulina* microencapsulada deveria ter 39 % de proteína, logo, a eficiência de encapsulação foi 87,66 %. Diante disso, 1 g de esfera com *Spirulina* tem 0,62 g de *Spirulina* na esfera. Portanto, este resultado mostra que a microencapsulação da *Spirulina sp.* utilizando o bico atomizador do spray dryer mostrou-se eficiente.

#### 4.1.2 Estabilidade da *Spirulina* e das microcápsulas frente ao tratamento térmico

O tratamento térmico da *Spirulina* livre, em todos os testes (Tabela 6) resultou em uma diminuição considerável do seu potencial antioxidante, se comparado com a *Spirulina* livre sem aquecimento, isso comprova que a ficocianina é termoinstável (TELLO-IRELAND et al., 2011), visto que as temperaturas acima de 41 °C, a fração proteica desnatura-se, levando a mudanças na sua coloração (SILVEIRA et al., 2007).

Tabela 6 – antioxidante da *Spirulina* livre e microencapsulada antes e após o tratamento térmico.

Teste	Sem aquecimento			Com aquecimento			
	<i>Spirulina</i> sp.*	Teste	Esfere de <i>Spirulina</i> *	Teste	<i>Spirulina</i> sp.*	Teste	Esfere de <i>Spirulina</i> *
1 S	142,85±10,59 <sup>cd</sup>	1 E	97,91±6,36 <sup>d</sup>	2 SC	70,45±1,06 <sup>b</sup>	2 EC	48,06±0,29 <sup>a</sup>
2 S	176,92±9,89 <sup>e</sup>	2 E	50,22±1,06 <sup>ab</sup>	3 SC	80,00±5,60 <sup>b</sup>	3 EC	46,23±3,00 <sup>a</sup>
3 S	108,89±0,71 <sup>ab</sup>	3 E	43,98±5,65 <sup>a</sup>	4 SC	71,89±10,90 <sup>b</sup>	4 EC	55,96±2,82 <sup>ab</sup>
4 S	146,84±1,41 <sup>cd</sup>	4 E	53,47±1,41 <sup>ab</sup>	5 SC	49,97±2,47 <sup>a</sup>	5 EC	47,48±4,59 <sup>a</sup>
5 S	129,87±6,00 <sup>bc</sup>	5 E	61,96±1,77 <sup>b</sup>	6 SC	79,93±1,06 <sup>b</sup>	6 EC	94,00±9,28 <sup>c</sup>
6 S	157,83±4,59 <sup>de</sup>	6 E	79,93±1,06 <sup>c</sup>	7 SC	65,70±0,35 <sup>ab</sup>	7 EC	73,19±1,06 <sup>b</sup>
7 S	101,15±1,77 <sup>a</sup>	7 E	93,66±3,18 <sup>cd</sup>				

Resultados em média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

\*Resultados expressos em Equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina*.

Legenda: S: *Spirulina* sp. sem aquecimento; SC: *Spirulina* sp. com aquecimento; E: esfera de *Spirulina* sp. sem aquecimento; EC: esfera de *Spirulina* sp. com aquecimento; 1: Rompimento com citrato de sódio; 2: Rompimento com água utilizando liquidificador e congelamento/descongelamento; 3: Rompimento com água utilizando turrax e congelamento/descongelamento; 4: Rompimento com água utilizando congelamento/descongelamento e liquidificador; 5: Rompimento das esferas de *Spirulina* úmidas com água utilizando maceração e congelamento/descongelamento; 6: Rompimento com água por 20 h de agitação; 7: Rompimento com água por 20 h de agitação e congelamento/descongelamento.

A esfera com *Spirulina* tem a finalidade de proteger os antioxidantes das condições ambientais, como neste caso a temperatura. Porém, observa-se que não foi possível obter a total ruptura das esferas e/ou da parede celular da microalga com os métodos utilizados (Tabela 6). O potencial antioxidante da *Spirulina* livre foi superior ao obtido nas esferas de *Spirulina*, ambos sem tratamento térmico, logo, isso indica a presença de efeito de barreira da esfera para a extração.

O maior potencial antioxidante da *Spirulina* livre (2 S),  $176,92 \pm 9,89$  equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina* (Tabela 6), foi com o rompimento da membrana celular da *Spirulina* através da técnica de homogeneização no liquidificador e posteriormente, 3 ciclos de congelamento e descongelamento. Acker e McGann (2003) sugerem que, quando a célula está congelada, existe uma formação de gelo intracelular na qual acarreta danos à célula e assim ocorre a extração de substâncias intracelulares.

O rompimento da *Spirulina* microencapsulada utilizando citrato (1 E) e a técnica do contato da esfera com *Spirulina* na água, por 20 h e 3 ciclos de congelamento/descongelamento (7 E) apresentaram em torno de 95 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina* (Tabela 6).

A composição do meio no qual as microesferas estão inseridas tem efeito na taxa de liberação do material de interesse (ASSIFAOU; CHAMBIN; CAYOT, 2011). Os meios de liberação do núcleo que contem agentes quelantes, tais como sais de fosfato ou alta concentração de íons monovalentes (íons do citrato de sódio), tem a capacidade de trocar os reticulantes da microesfera, neste caso,  $\text{Ca}^{2+}$  pelos íons monovalentes (Na), logo, desestabilizam as microesferas, contribuindo com a aceleração da liberação do material protegido (KIM et al., 2008).

A liberação da *Spirulina* do material encapsulante do estudo 7 E (20 h de agitação e 3 ciclos de congelamento/descongelamento) pode ter ocorrido através da difusão, a mesma conclusão foi observada por Córdoba et al. (2013). Visto que os mecanismos mais importantes que regulam a taxa de liberação do material núcleo é a difusão, o inchaço, a erosão e a pressão osmótica (POTHAKAMURY; BARBOSA-CÁNOVAS, 1995).

A liberação do material ativo pode estar vinculada a reticulação, pois o grau de ligação cruzada do alginato é influenciado pela concentração da solução de reticulação, bem como o tempo do tratamento (TATESHITA et al., 1993). Geralmente, quanto maior a concentração da solução de  $\text{Ca}^{2+}$  e/ou quanto mais tempo à duração da etapa de reticulação, maior é o grau de reticulação ou ligação cruzada, logo, a liberação do material protegido será mais lenta (HENG; CHAN; WONG, 2003; RAJINIKANTH; SANKAR; MISHRA, 2003).

Neste contexto, o rompimento das esferas utilizando citrato é o mais indicado, porém se submeter às microesferas sob aquecimento neste meio, a *Spirulina* seria liberada ao meio e não teria a proteção durante o aquecimento, diminuindo assim os seus antioxidantes. Em virtude disso foram feitos os estudos com métodos físicos para romper a esfera com *Spirulina*.

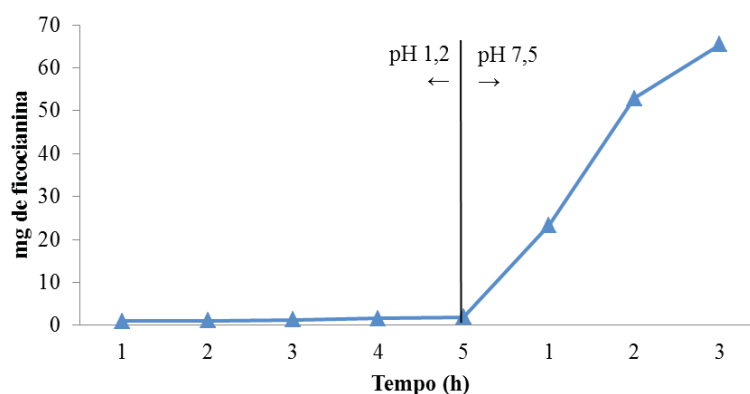
A formação de uma microesfera de alginato de cálcio com *Spirulina* teve a capacidade de reduzir as perdas do potencial antioxidante da microalga, quando esta é submetida a elevadas temperaturas. Isto é um indicativo de que esta esfera com *Spirulina* pode ser adicionada em massas frescas, já que o tempo de cocção consiste em 5 min e a estrutura do alimento poderá contribuir com a proteção da esfera durante o aquecimento.

#### 4.1.3 Perfil de liberação das microesferas

Geralmente o tempo no fluido gástrico em pH ácido é de 1 a 2 h (YAN et al., 2014). De acordo com a Figura 8, as microesferas elaboradas foram mantidas por cerca de 5 h em pH ácido, mantendo-se estáveis, sem a liberação do bioativo antioxidante, a ficocianina. Quando expostas ao pH 7,5, que simula o fluido intestinal, as microesferas se desintegram, apresentando liberação gradual do material núcleo.

A liberação da ficocianina no pH 7,5 foi 98%, enquanto que no pH ácido não houve liberação. Este resultado é bem interessante, visto que o pigmento da ficocianina é sensível em meios ácidos, sendo que é extraído tons verdes em um pH mais baixo (FALKEBORG et al., 2018). De acordo com Chaiklahan, Chirasuwan e Bunnag (2012), a ficocianina é altamente solúvel em pH 7, mas é insolúvel em soluções ácidas. A pH 3,0, a ficocianina é desnaturada em 25%.

Figura 8 – Perfil de liberação da ficocianina das esferas frente a diferentes pH.





As esferas de alginato de cálcio são capazes de encolher em pH ácido, não liberando o material ativo e inchar em pH neutro ou básico, tornando-se poroso, ocorrendo por fim a dissolução da matriz do alginato de cálcio. Portanto, isso resulta na liberação do material ativo (GEORGE; ABRAHAM, 2006; PATEL et al., 2017). O efeito da elevada taxa de liberação inicial no pH 7,5 pode ser atribuído à presença de partículas de *Spirulina* aderidas na superfície das esferas, conforme observado na Figura 9, morfologia da *Spirulina* e das esferas.

As microesferas de alginato de cálcio são instáveis na presença de moléculas quelantes de cátions tais como o fosfato, presente em fluidos biológicos (BLANDÓN et al., 2016). Isso leva a conclusão de que em pH básico, simulando o fluido intestinal, induziu a liberação da ficocianina das microesferas, uma vez que isso ocorre devido a substituição dos íons de cálcio das microesferas por íons de sódio, do tampão, esta troca iônica aumenta a liberação do composto, neste caso, a ficocianina (LEE et al., 2003; KIM et al., 2008).

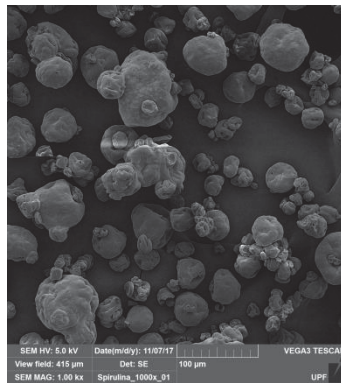
#### 4.1.4 Análise morfológica

As micrografias eletrônicas de varredura (Figura 9) exibem a forma e a morfologia superficial da *Spirulina sp.* comercial (a), bem como das esferas vazias (b) e das esferas com *Spirulina sp.* comercial (c). As depressões observadas nas partículas da biomassa de *Spirulina sp.* comercial (Figura 9 a) são características do processo de secagem em spray drying (TRINDADE; GROSSO, 2000).

As microesferas elaboradas foram liofilizadas, este processo remove a água das esferas ocasionando assim, um enfraquecimento na estrutura da matriz, achatando as paredes e encolhendo as microesferas e, podem levar até a formação de rachaduras (Figura 9 b) (ZOHAR-PEREZ; CHET; NUSSINOVITCH, 2004; ALVES et al., 2017).



Figura 9 – Micrografia eletrônica da micropartícula definida para incorporar na massa fresca tipo talharim

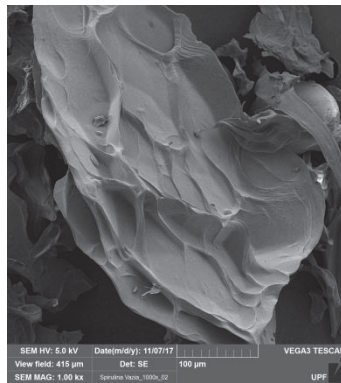


1000 x

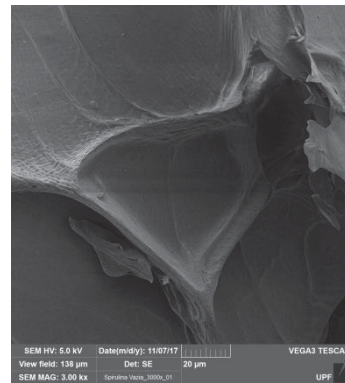


3000 x

*Spirulina sp.* comercial (a)

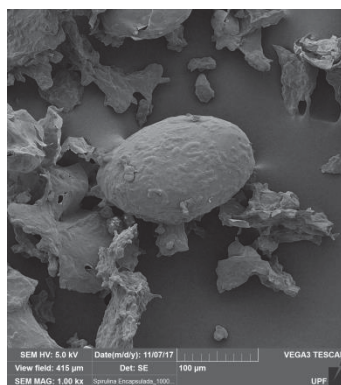


1000 x

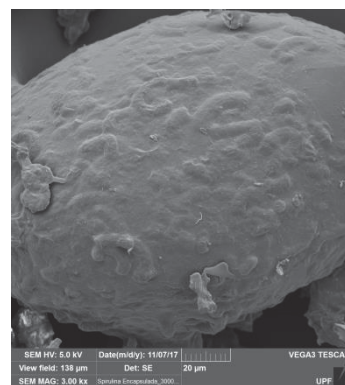


3000 x

Esfera vazia (b)



1000 x



3000 x

Esfera com *Spirulina sp.* comercial (c)

A *Spirulina sp.*, além de ficar aprisionada no interior da microesfera, conforme a eficiência de encapsulação, também ficou incorporada na superfície da microesfera (Figura 9 c), isso pode ter ocorrido devido a migração da *Spirulina* junto com as moléculas da água durante o processo de liofilização (MAESTRELLI et al., 2017). Portanto, caracteriza-se como

esfera ou microesfera, pois uma micro ou nanocápsula é uma esfera com uma parede uniforme em torno dela e neste caso (LEE, 2014), não tem uma camada de revestimento na esfera.

O enchimento da matriz de alginato de cálcio com *Spirulina* pode ter atuado também como suporte estrutural para controlar o encolhimento da matriz, como ocorreu nas esferas vazias. As microesferas apresentaram formato irregular, superfície enrugada, relativamente ásperas, que é característico deste tipo de sistema, devido ao colapso da matriz durante a etapa da secagem (CHAN et al., 2011).

#### 4.1.5 Tamanho de partícula

A determinação do tamanho de partícula é muito importante, pois pode influenciar nas características sensoriais, tais como textura e aparência do alimento a qual a partícula será adicionada (BURGAIN et al., 2011).

A Tabela 7 apresenta o diâmetro médio, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (PZ) das suspensões a 10% formuladas a temperatura de 25°C.

Em relação ao tamanho médio de partícula, quando encapsulou a microalga o tamanho aumentou (66,45 µm) em relação à *Spirulina sp.* livre (6,19 µm) e a esfera vazia (1,40 µm). Entretanto, a cápsula elaborada caracteriza-se como microesfera, pois se enquadram na faixa de tamanho de 3 a 800 µm (LEE, 2014). Segundo Burgain e colaboradores (2011), o tamanho de partícula desejável para não afetar as características sensoriais do alimento é abaixo de 100 µm.

A *Spirulina sp.* caracterizou-se pelo tamanho micro e estas microcápsulas frequentemente apresentam forma esférica, mas também podem ter formas irregulares (LEE, 2014), como foi percebido na análise morfológica.

O potencial zeta (PZ) das suspensões possibilita avaliar se o comportamento da amostra é estável em uma dispersão. O PZ determina a força repulsiva entre as amostras, logo, valores pequenos do PZ, como a esfera vazia e a *Spirulina* microencapsulada, esta relacionadas com a instabilidade de dispersão e a aglomeração do sistema coloidal (CRCAREVSKA; DODOV; GORACINOVA, 2008), pois não haverá força para impedir que as partículas se unam. Enquanto que a *Spirulina sp.* apresentou potencial zeta superior a -30 mV caracterizando-a com uma boa estabilidade da suspensão devido a repulsão das partículas, sendo que é a carga superficial que previne a agregação das partículas (MOHANRAJ; CHEN,

2006). A *Spirulina sp.* caracteriza-se como fortemente aniônica, isso se dá pela maioria das membranas celulares serem carregadas negativamente (CLOGSTON; PATRI, 2011).

Portanto, diante dos resultados (Tabela 7), as partículas diferiram em relação ao PZ, sendo que a mais estável é a *Spirulina* e a menos estável é a esfera vazia, enquanto que a *Spirulina* microencapsulada apesar de ficar próxima a -30 mV é considerada instável. Os resultados indicam um aumento no potencial zeta negativo após a microencapsulação da *Spirulina*. O potencial zeta da esfera vazia apresentou menor carga superficial negativa em comparação com a esfera com *Spirulina*, isso é devido ao cálcio ali presente que se liga aos grupos carboxílicos carregados negativamente do alginato.

Tabela 7 – Resultados de PZ, PDI e tamanho de partículas obtidas no zetasizer da micropartícula definida para incorporar na massa fresca tipo talharim.

Amostra	PZ (mV)	PDI	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )
<i>Spirulina</i>	-34,87 $\pm$ 2,08 <sup>a</sup>	1,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	6,19 $\pm$ 5,74 <sup>a</sup>
Esfera vazia	-11,53 $\pm$ 2,10 <sup>c</sup>	1,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	1,40 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>
<i>Spirulina</i> microencapsulada	-21,60 $\pm$ 2,40 <sup>b</sup>	0,91 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	66,45 $\pm$ 29,08 <sup>b</sup>

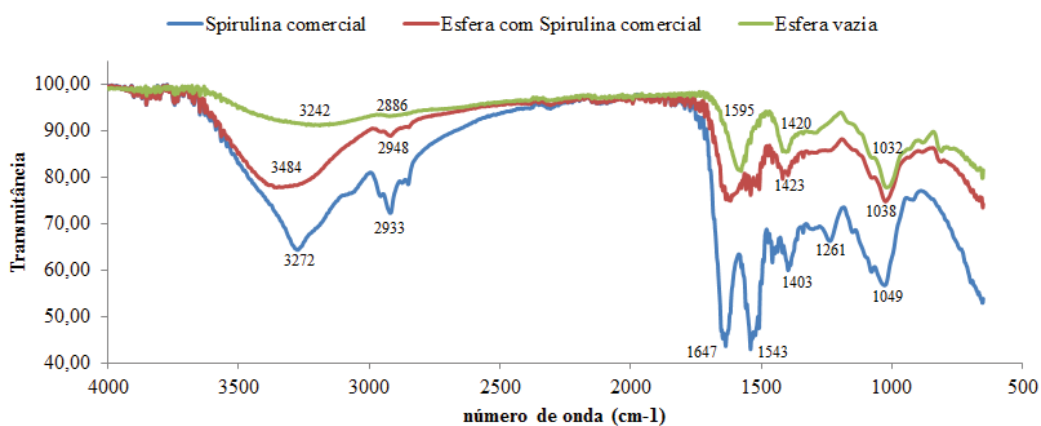
média $\pm$ desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

O índice de polidispersão (PDI) fornece informações sobre a distribuição de tamanho das partículas e a homogeneidade. Quanto o tamanho da partícula desviou da média, portanto, quanto mais baixo o valor do PDI, mais uniforme é a amostra.

As amostras não apresentaram diferença entre si (Tabela 7), porém, apresentaram valores de PDI próximo a 1, isso indica a formação de sistemas polidispersos. Portanto, a amostra de *Spirulina* livre, microencapsulada e as esferas vazias não eram uniformes, apresentaram uma distribuição heterogênea no tamanho das partículas e isso também é percebido na análise morfológica (GUERRA-ROSAS et al., 2016).

#### 4.1.6 Avaliação de espectroscopia na região do infravermelho

A faixa de frequência de 3500  $\text{cm}^{-1}$  a 3200  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 10) representa a vibração de estiramento O-H, indicando a presença de álcoois e fenóis. A banda observada a 3272,60  $\text{cm}^{-1}$  e 2933,41  $\text{cm}^{-1}$  da *Spirulina* são atribuídas à vibração de estiramento -NH de amina secundária (proteína) e grupos funcionais -OH (hidroxilo) presentes na proteína da *Spirulina*. As outras bandas, 1647,48  $\text{cm}^{-1}$ , 1403,34  $\text{cm}^{-1}$  e 1049,25  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas como O=C-NH (amida de proteína), -COO<sup>-</sup> e grupo carboxilato, respectivamente (SUGANYA et al., 2015).

Figura 10 – FTIR da *Spirulina* livre e microencapsulada.

Fonte: O autor (2017).

As áreas de alguns picos (Figura 10) observados na *Spirulina* foram alteradas após a microencapsulação. A intensidade do pico 3272,60  $\text{cm}^{-1}$  da *Spirulina* diminuiu ao ser microencapsulada, aumentando a banda. Comparando os picos 1543,12  $\text{cm}^{-1}$  e o 1261,70  $\text{cm}^{-1}$  da *Spirulina*, estes sumiram ao encapsular a microalga, isso indica que houve encapsulação, ou seja, as esferas de alginato de cálcio conseguiram interagir com a microalga.

Uma variação notável foi na região do pico 1647  $\text{cm}^{-1}$  da *Spirulina* (Figura 10), a mesma foi observada por Çelekli e Bozkurt (2011), sendo que quando encapsulada, alterou para frequência mais baixa, 1636  $\text{cm}^{-1}$ .

Nas esferas vazias (Figura 10), a banda larga em 3242,78  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 10) é atribuída as vibrações de estiramento O-H. E a banda 2886,82  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a vibração de estiramento assimétrico C-H (HE et al., 2012). Os picos a 1420,12 e 1595,30  $\text{cm}^{-1}$  estão associados às vibrações de estiramento simétricas e assimétricas do carboxilato, respectivamente (PAPAGEORGIOU et al., 2010). O pico de absorção a 1032,47  $\text{cm}^{-1}$  é devido a vibrações de estiramento de C-O-C de estrutura de polissacarídeos.

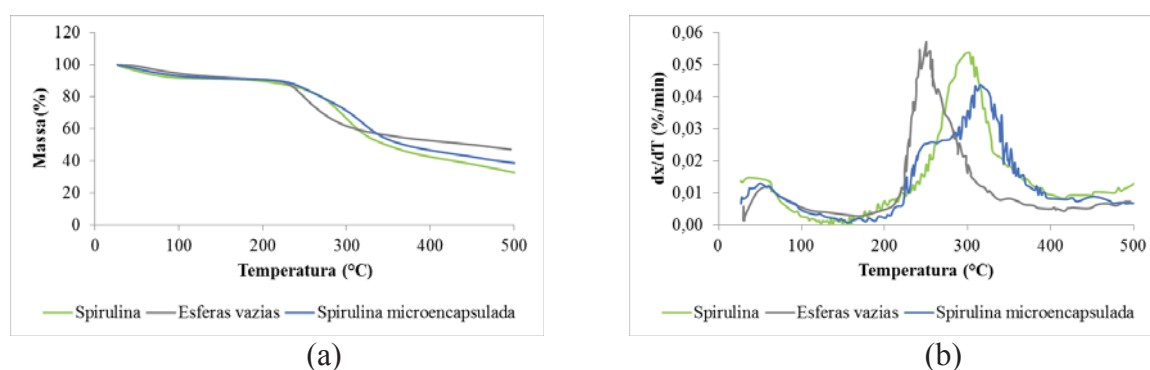
A interação entre o alginato de sódio com o cloreto de cálcio limita o alongamento C-H, tornando o pico 2886,82  $\text{cm}^{-1}$  de absorção mais fraca (Figura 10), mas com a microencapsulação da microalga, o pico passa para 2948,32  $\text{cm}^{-1}$  (HE et al., 2012).

#### 4.1.7 Termogravimetria

A termogravimetria possibilita prever a taxa de decomposição térmica da biomassa da *Spirulina sp.* A *Spirulina* microencapsulada (Figura 11 a) tem uma perda de massa menor que

a *Spirulina sp.* livre, dentro da faixa de temperatura avaliada. Observa-se duas regiões principais de perda de massa nas amostras (Figura 11 b), sendo que a primeira região de 26°C a 127°C foi caracterizada por uma leve perda de massa, nas esferas vazias, *Spirulina* microencapsulada e na *Spirulina* livre, de 6 %, 7 % e 8 %, respectivamente. Esta perda de massa é caracterizada pela remoção da água, logo, a perda depende fortemente do teor de umidade da amostra.

Figura 11 – Termogravimetria (a) e curva (b) das amostras de *Spirulina sp.*, esferas vazias e esferas com *Spirulina sp.*



As derivadas das curvas de perda de massa das amostras (Figura 11 b) apresentam um pico principal, em torno de 250 °C para esferas vazias, 270 °C para a *Spirulina sp.* livre e 310 °C para a *Spirulina* microencapsulada que corresponde a perdas de massa de 30 %, 34 % e 27 %, respectivamente, devido a decomposição térmica dos carboidratos e proteínas (CHEN et al., 2014). Acima de 200 °C, caracterizado como segundo estágio, os componentes das amostras, tais como, carboidratos, proteínas e outros componentes menores, são decompostos e liberam substâncias voláteis (RIZZO et al., 2013).

#### 4.1.8 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica que permite avaliar a desnaturação térmica de proteínas. A desnaturação térmica induz a picos endotérmicos pronunciados, estes representam os pontos de máxima absorção de energia calorífica pelas amostras (CHRONAKIS, 2001). A *Spirulina* livre, microencapsulada e as esferas vazias apresentaram eventos endotérmicos, como a *Spirulina* é composta predominantemente por proteínas, pode-se associá-la a desnaturação.

A temperatura de desnaturação da *Spirulina* livre foi 64,62 °C (Tabela 8). Ao encapsular a microalga, a temperatura de desnaturação passou a ser 102,68 °C, enquanto as esferas vazias apresentaram desnaturação a 102,30 °C isso significa que a cápsula conseguiu proteger a microalga do dano térmico.

Tabela 8 – Calorimetria exploratória diferencial da *Spirulina* livre e microencapsulada.

Tratamentos	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	ΔH (J/g)
<i>Spirulina sp.</i>	23,62	64,62	94,74	-12,05
Esferas vazias	64,70	102,30	148,02	-370,23
<i>Spirulina</i> microencapsulada	64,52	102,68	104,52	-266,91

Ti: temperatura inicial; Tp: temperatura do pico; Tf: temperatura final; ΔH: entalpia

A temperatura pode influenciar na estabilidade térmica das proteínas, quanto maior a temperatura de desnaturação, mais termodinamicamente estável são as proteínas (COLOMBO, RIBOTTA; LEON, 2010; LI et al., 2014).

A desnaturação está relacionada com o rompimento de ligações intramoleculares, causado pela absorção de energia. As mudanças nas entalpias de desnaturação podem estar associadas com mudanças nas forças de ligação entre as moléculas. O estado conformacional das proteínas com forças de ligação mais fraca, demanda menos energia para se desdobrar, e como consequência tem-se uma redução na entalpia (FRYDENBERG et al., 2016). A diminuição de entalpia pode estar associada a agregação de moléculas de proteína (CHRONAKIS, 2001).

## 4.2 ETAPA 2: ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE SENSORIAL DAS MASSAS FRESCAS

### 4.2.1 Caracterização da farinha de trigo

O teor de nutrientes das massas é determinado pelas matérias-primas utilizadas (HAGER et al., 2013). A farinha de trigo apresentou umidade de 13,15%, estando dentro do permitido pela legislação, sendo que o teor máximo é 15% (BRASIL, 2005).

O teor de proteína foi de 10,22%, é considerado o principal indicador da qualidade e do uso final da farinha e o teor de cinzas foi 0,42%, isso indica uma farinha Tipo 1, visto que para proteína, o teor mínimo é 7,5% e cinzas, o teor máximo é 0,8% (BRASIL, 2005). Para o teor de lipídios, obteve-se 1,48% e 87,88% de carboidratos.



De acordo com a granulometria, a farinha utilizada pode ser enquadrada na classificação da farinha em tipo 1, pois para ser considerada neste tipo, 95% da farinha deve passar pela peneira com abertura de 250  $\mu\text{m}$  (BRASIL, 2005). A granulometria da farinha é uma característica muito importante no preparo de massas. O resultado obtido indicou uniformidade da farinha em relação ao tamanho de partículas, o que permite uma hidratação uniforme e conseqüentemente a elaboração de massa com melhor qualidade sensorial, visto que a absorção da água ocorre de forma homogênea, resultando no cozimento uniforme da massa (SILVA et al., 2009).

A atividade de água foi de  $0,65 \pm 0,01$ , considerando-a adequada para farinhas (SISSONS, 2008).

A determinação do número de queda tem como finalidade avaliar a atividade da enzima  $\alpha$ -amilase (LÉON, 2007; MARES; MRVA, 2008), visto que essa enzima degrada o amido em oligossacarídeos e monossacarídeos. O número de queda detecta a perda de viscosidade da suspensão de farinha ocasionada pela ação da enzima sobre o amido (CARVALHO; BELEIA, 2015).

A farinha de trigo utilizada para a elaboração das massas apresentou número de queda de 347 segundos, sabe-se que acima de 300 s considera-se baixa atividade da enzima  $\alpha$ -amilase (ĆURIĆ; ĐUGUM; BAUMAN, 2002). Essa análise é uma medida indireta da atividade da enzima  $\alpha$ -amilase (BRASIL, 2010) que tem a função de quebrar a molécula de amido em açúcares fermentescíveis, gerando produção de gases na fermentação e aumento do volume. Portanto, como a massa não é um produto fermentado, deseja-se que ela apresente baixa atividade enzimática.

A alveografia é um teste reológico que avalia as características viscoelásticas da massa, pela medida da força e da extensibilidade da farinha. Este teste permite determinar se essa farinha está adequada para elaboração de massas frescas ou se deve ser destinada a elaboração de outros produtos (MÓDENES; SILVA, TRIGUEROS, 2009).

O valor de tenacidade (P) para a farinha branca foi de 107 mm Hg. A extensibilidade (L) apresentou valor de 65,5 mm. A farinha utilizada apresentou maior tenacidade (P) e menor extensibilidade (L). A relação entre a tenacidade/extensibilidade (P/L) expressa o equilíbrio da massa, foi obtido 1,64, o que caracteriza para elaboração de massas alimentícias, visto que acima de 1,21 caracteriza uma farinha tenaz (MÓDENES; SILVA, TRIGUEROS, 2009).

O valor da força de glúten (W) foi  $181,5 \cdot 10^{-4}$  J caracteriza elaboração de pães. A força de glúten mostra o trabalho de deformação da massa. A força do glúten é usada para avaliar a

capacidade das proteínas para formar uma rede que promova boa qualidade de cozimento (SISSONS, 2008).

#### 4.2.2 Análises da qualidade das massas frescas tipo talharim

Avaliar as propriedades reológicas da massa é muito importante para prever as propriedades do produto finalizado.

##### 4.2.2.1 Umidade

As formulações, com exceção da massa controle, mantiveram o teor de umidade, sem diferença significativa, ao longo dos 30 dias em torno de 31% (Tabela 9). De acordo com a Anvisa (2000), os padrões de identidade e qualidade de massa alimentícia, nesse valor é considerado ideal e permitido pela legislação, já que o aceitável é de no máximo 35% de umidade final para massas frescas.

Tabela 9 – Comportamento do teor de umidade durante o armazenamento das massas alimentícias.

Massa	Tempo (dias)			
	0	7	14	30
Massa controle	29,67±1,85 <sup>abA</sup>	32,02±0,60 <sup>bA</sup>	32,21±0,19 <sup>bA</sup>	28,09±0,26 <sup>aA</sup>
Massa com esferas vazias	30,86±0,09 <sup>aA</sup>	31,44±0,60 <sup>aA</sup>	31,85±0,26 <sup>aA</sup>	31,61±0,43 <sup>aB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	31,27±0,22 <sup>aA</sup>	32,36±0,54 <sup>aA</sup>	31,83±1,28 <sup>aA</sup>	31,25±0,18 <sup>aB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	30,64±0,63 <sup>aA</sup>	31,88±1,10 <sup>aA</sup>	32,17±0,46 <sup>aA</sup>	30,49±0,23 <sup>aB</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais, minúsculas, na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Não houve diferença significativa entre as formulações no decorrer do tempo, com exceção aos 30 dias. A massa controle perdeu água para o ambiente da embalagem, o que pode ter ocasionado a diminuição do teor de umidade ao final dos 30 dias.

##### 4.2.2.2 Atividade de água

Os valores de atividade de água das formulações (Tabela 10) estão de acordo com o definido para massas frescas (ARMELLINI et al., 2018). A atividade de água ( $A_w$ ) é um fator intrínseco dos alimentos que interfere no desenvolvimento microbiano. O valor obtido nas formulações possibilita o crescimento bacteriano e fúngico, tornando-se necessário controle



microbiológico durante o preparo e no acondicionamento (ANDRADE-MOLINA et al., 2013).

Tabela 10 – Comportamento da atividade de água durante o armazenamento das massas alimentícias.

Massa	Tempo (dias)			
	0	7	14	30
Massa controle	0,97±0,003 <sup>bcC</sup>	0,96±0,007 <sup>abA</sup>	0,97±0,005 <sup>bA</sup>	0,95±0,004 <sup>aA</sup>
Massa com esferas vazias	0,90±0,011 <sup>aA</sup>	0,99±0,009 <sup>cB</sup>	0,97±0,011 <sup>bcA</sup>	0,94±0,006 <sup>bA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	0,94±0,006 <sup>abB</sup>	0,99±0,002 <sup>bB</sup>	0,99±0,002 <sup>bA</sup>	0,98±0,005 <sup>bB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	0,95±0,009 <sup>abC</sup>	0,96±0,00005 <sup>aA</sup>	0,98±0,002 <sup>bA</sup>	0,97±0,002 <sup>abB</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A  $A_w$  da massa controle diminuiu após os 30 dias de armazenamento (Tabela 10), provavelmente devido a redução do teor de umidade. O mesmo foi percebido por Andrade-Molina et al. (2013).

Houve diferença na  $A_w$  entre as formulações (Tabela 10), visto que a massa com *Spirulina sp.* microencapsulada apresentou menor  $A_w$  ao comparar com a massa controle no tempo inicial. Percebe-se então que adição das microcápsulas interferiu na  $A_w$ . As microcápsulas são liofilizadas, isto é um fator importante, pois a remoção da água é fundamental para o armazenamento, visto que pouca água livre disponível para reações bioquímicas prolonga o prazo de validade (HOLKEM et al., 2016). Ao avaliar o tempo final entre as formulações houve o efeito contrário, a massa com *Spirulina sp.* microencapsulada apresentou maior  $A_w$  ao comparar com a massa controle. Porém, verificou-se que todas as formulações apresentaram crescimento fúngico, o que indica que a vida útil das 4 formulações de massas é menor que 30 dias, portanto o tempo de armazenamento da massa fresca tipo talharim é provável de 14 dias.

Diante disso, verifica-se que a atividade de água e o teor de umidade são parâmetros de controle fundamentais e necessários para obter boa estabilidade de armazenamento (SAMAPUNDO et al., 2007), embora as massas frescas apresentem elevados teores.

#### 4.2.2.3 Cor

A cor da massa fresca é um atributo de qualidade muito importante e que tem influência direta na aceitabilidade do consumidor. É o primeiro parâmetro de qualidade que o consumidor avalia no momento da compra da massa (ARANIBAR et al., 2018). A cor desse tipo de massa depende das características da matéria-prima e do método de processamento

(ZARDETTO; ROSA, 2009). Neste estudo não houve mudança no tipo de extrusão, desta maneira, a cor foi somente afetada pela matéria-prima adicionada na massa, no caso, a *Spirulina* livre ou microencapsulada.

Comparou-se a cor de cada massa fresca ao longo do tempo de armazenamento. O parâmetro L\* mede a quantidade de luz que é refletida de uma cor, representa a luminosidade, sendo que 0 é a coloração preta e 100 é a coloração branca. Pode-se observar que houve diferenças significativas para luminosidade entre as formulações (Tabela 11). A massa com esferas vazias apresentou maior valor de L\*, isso é devido à presença das esferas vazias por apresentarem coloração esbranquiçada. A cor das esferas, para o parâmetro L\*, não afetou na massa com *Spirulina sp.* microencapsulada, visto que a *Spirulina* fica dispersa em todo o material do agente encapsulante, predominando assim a cor característica da microalga e não da microesfera.

Tabela 11 – Avaliação da cor ao longo do tempo de armazenamento das massas alimentícias.

Massas	Parâmetro	Tempo (dias)			
		0	7	14	30
Massa controle	L*	62,83±0,87 <sup>aB</sup>	72,06±0,14 <sup>cC</sup>	71,42±0,88 <sup>cC</sup>	68,67±0,10 <sup>bC</sup>
	a*	1,14±0,04 <sup>aC</sup>	4,78±0,08 <sup>bD</sup>	4,72±0,07 <sup>bC</sup>	5,21±0,01 <sup>cD</sup>
	b*	16,40±0,16 <sup>aC</sup>	31,44±0,60 <sup>bD</sup>	30,63±0,42 <sup>bC</sup>	31,27±0,03 <sup>bD</sup>
Massa com esferas vazias	L*	65,84±0,61 <sup>aC</sup>	75,12±0,97 <sup>dD</sup>	72,92±0,44 <sup>cC</sup>	68,59±0,02 <sup>bC</sup>
	a*	0,93±0,04 <sup>aC</sup>	3,80±0,25 <sup>bC</sup>	3,98±0,11 <sup>bC</sup>	5,04±0,01 <sup>cC</sup>
	b*	15,12±0,28 <sup>aB</sup>	26,65±0,86 <sup>dC</sup>	25,07±0,16 <sup>cB</sup>	23,95±0,01 <sup>bC</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	L*	32,34±0,50 <sup>aA</sup>	36,31±0,98 <sup>bB</sup>	31,89±1,78 <sup>aB</sup>	31,72±0,09 <sup>aB</sup>
	a*	-5,69±0,06 <sup>aB</sup>	-4,19±0,24 <sup>cB</sup>	-4,96±0,67 <sup>abB</sup>	-4,38±0,03 <sup>bcB</sup>
	b*	6,51±0,14 <sup>bA</sup>	5,35±0,24 <sup>aA</sup>	6,31±0,77 <sup>bA</sup>	5,79±0,02 <sup>abA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	L*	30,72±0,21 <sup>bA</sup>	30,20±0,53 <sup>bA</sup>	28,72±0,97 <sup>aA</sup>	27,35±0,15 <sup>aA</sup>
	a*	-8,55±1,28 <sup>cA</sup>	-11,52±0,31 <sup>aA</sup>	-10,95±0,80 <sup>abA</sup>	-9,46±0,03 <sup>bcA</sup>
	b*	6,00±0,61 <sup>aA</sup>	7,61±0,25 <sup>bB</sup>	6,89±0,38 <sup>abA</sup>	6,24±0,03 <sup>aB</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

O parâmetro a\* pode ser positivo ou negativo, indicam direção para o vermelho ou verde, respectivamente. Observa-se que a massa com *Spirulina sp.* livre e microencapsulada (Tabela 11) apresentou uma tendência para a tonalidade verde, em todos os tempos de estudo, visto que é a cor característica desta microalga. A massa com *Spirulina sp.* encapsulada apresentou valores maiores de a\*, isso mostra que o material de parede influenciou na coloração da microalga. Então, comparando os parâmetros L\* e a\* para a *Spirulina*

microencapsulada, percebe-se que há uma boa interação do material ativo com o material encapsulante.

O parâmetro  $b^*$ , positivo indica tendência à coloração amarela, e negativo, coloração azul. Observa-se que os valores para este parâmetro são todos positivos (Tabela 11), o que indica que não houve dano na célula da *Spirulina* ou rompimento da estrutura da microesfera que poderia ocasionar na liberação da ficocianina, cuja tonalidade é azul.

Observa-se que a massa controle aumentou o valor de  $b^*$  ao longo do tempo, por se tratar de uma massa padrão, é um atributo muito importante. A tendência à coloração amarela que é devido à presença dos pigmentos carotenoides (CHANG; FLORES, 2004). Ao comparar entre as formulações, verifica-se, nos diferentes tempos, que a massa controle e a massa com esferas vazias tenderam para a coloração amarela.

#### 4.2.2.4 Cozimento

A qualidade da massa pode ser estimada a partir das análises de cozimento, tais como tempo de cozimento, aumento de peso, perda de cozimento e absorção de água (ÖZYURT et al., 2015).

##### 4.2.2.4.1 Tempo de cozimento

O tempo de cozimento ótimo para as 4 formulações de massa foi de 5 min. Bastos et al. (2016) relataram que o tempo de cozimento ótimo de macarrão fresco variou de 2 a 4 min. O tempo pode estar relacionado com a variedade do trigo utilizada para a fabricação da farinha e o processo de preparação da massa. Por se tratar de massa fresca, esta não tem a etapa de secagem, logo, o tempo de cozimento não é tão longo quanto é para massas as secas.

##### 4.2.2.4.2 Perda no cozimento

A determinação da perda de cozimento é um indicador importante da qualidade da massa (KHAN et al., 2013), portanto, quanto menor a quantidade de resíduos, maior é a qualidade da massa (FOIS et al., 2018). Uma vez que durante o cozimento da massa, o amido solúvel e outros componentes solúveis, incluindo polissacarídeos não amiláceos, são parcialmente lixiviados para a água e, como resultado, a água de cozimento torna-se espessa (GULL; PRASAD; KUMAR, 2016).

A incorporação da microalga, livre ou microencapsulada, não afetou a perda de cozimento no tempo inicial (Tabela 12) esse resultado é importante visto que é um indicativo geralmente usado para avaliar o desempenho do cozimento por parte dos consumidores e da indústria (FRADIQUE et al., 2010).

Avaliando ao longo do tempo (Tabela 12), somente a formulação da massa que utilizou *Spirulina sp.* microencapsulada não teve diferença significativa, portanto, não apresentou aumento na perda de sólidos.

Apesar da perda de cozimento das formulações das massas frescas (Tabela 12) ter sido inferior a 12%, considera-se uma massa de boa qualidade (HOSENEY, 1999). Enquanto Dick e Youngs (1998), relataram que para massas, o limite aceitável do percentual de perda de cozimento é 8%, sendo assim, somente as formulações do tempo inicial apresentaram-se aceitáveis.

Tabela 12 – Perda de cozimento das formulações de massas alimentícias ao longo do tempo.

Massas	Tempo (dias)			
	0	7	14	30
	(%)	(%)	(%)	(%)
Massa controle	7,71±0,34 <sup>aA</sup>	8,05±0,87 <sup>abA</sup>	9,89±0,55 <sup>bA</sup>	9,92±0,19 <sup>bA</sup>
Massa com esferas vazias	8,13±0,61 <sup>aA</sup>	9,94±0,10 <sup>abB</sup>	11,72±0,60 <sup>bAB</sup>	12,34±1,66 <sup>bA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	8,52±0,06 <sup>aA</sup>	9,42±0,37 <sup>aAB</sup>	10,46±0,39 <sup>aAB</sup>	10,75±1,15 <sup>aA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	8,26±0,67 <sup>aA</sup>	11,82±0,15 <sup>bC</sup>	12,02±0,75 <sup>bB</sup>	12,18±0,59 <sup>bA</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A massa com *Spirulina* livre, no tempo de armazenamento de 7 dias (Tabela 12), apresentou maior perda de sólidos em relação as outras formulações. Este aumento pode ser devido a incorporação de ingredientes não tradicionais à massa, como a *Spirulina sp.*, que pode afetar negativamente a rede de amido-glúten permitindo que mais amido gelatinizado seja lixiviado da massa durante o cozimento (ARAVIND et al., 2012).

A incorporação das esferas e da *Spirulina sp.* livres pode enfraquecer a estrutura da massa, ou seja, enfraquecer a rede de glúten, que é responsável por manter a amilose durante o cozimento, mantendo assim a integridade física da massa durante a cocção (FOSCHIA et al., 2015). Uma vez que as proteínas da *Spirulina* não são capazes de desenvolver uma rede de glúten, logo, o obstáculo esférico acaba interferindo na formação dessa rede, aumentando a perda de sólidos.

Comparando o tempo inicial, 0 dias, e o tempo final, 30 dias (Tabela 12), percebe-se que a adição da *Spirulina* livre, microencapsulada e as esferas vazias não afetaram a perda de cozimento. Özyurt et al. (2015) também não observou a perda de cozimento com a adição de *Spirulina* em diferentes concentrações (5, 10 e 15%) na massa.

#### 4.2.2.4.3 Índice de inchaço

O índice de inchaço é um indicador da água absorvida devido à hidratação das proteínas e gelatinização do amido na massa cozida (FOLCHI et al., 2015). Avaliando cada formulação ao longo do tempo (Tabela 13), a massa controle não apresentou aumento no índice de inchaço. Observa-se também que não houve diferença, no índice de inchaço entre as 4 formulações de massa para cada tempo analisado. Isso indica que durante o cozimento da massa, as esferas, bem como a *Spirulina sp.* livre e microencapsulada não competiram com o amido da massa quando compara-se em cada tempo (FICCO et al., 2016), portanto, o amido não absorveu nem menos e nem mais água que teria como consequência a diminuição ou aumento do inchaço, respectivamente.

Tabela 13 – Avaliação do índice de inchaço ao longo do tempo de armazenamento das massas.

Amostra	Tempo (dias)			
	0 (%)	7 (%)	14 (%)	30 (%)
Massa controle	1,08±0,77 <sup>aA</sup>	1,40±0,13 <sup>aA</sup>	2,06±0,07 <sup>aA</sup>	1,98±0,04 <sup>aA</sup>
Massa com esferas vazias	1,69±0,07 <sup>aA</sup>	1,73±0,04 <sup>abA</sup>	1,92±0,06 <sup>ba</sup>	1,94±0,04 <sup>ba</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	1,64±0,02 <sup>aA</sup>	1,59±0,11 <sup>aA</sup>	1,90±0,04 <sup>ba</sup>	2,05±0,01 <sup>ba</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	1,56±0,03 <sup>aA</sup>	1,70±0,05 <sup>abA</sup>	2,07±0,16 <sup>ba</sup>	2,03±0,05 <sup>ba</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Ao comparar ao longo do tempo (Tabela 13), o aumento do índice de inchaço nas formulações da massa com *Spirulina sp.* livre e microencapsulada, pode ser devido à falta de uma rede contínua de proteínas. A incorporação das microesferas e da *Spirulina*, causa uma alta hidratação do amido, aumentando o peso da massa. Outro fator é o processo de extrusão que pode enfraquecer a matriz proteica, influenciando assim, na estrutura da massa (ZARDETTO; ROSA, 2009).

## 4.2.2.4.4 Absorção de água

A adição da *Spirulina* microencapsulada pode ter promovido maior teor de lixiviação do amido, que resultou em menor capacidade de absorção de água durante o cozimento (Tabela 14), quando comparada com as outras formulações no tempo inicial. A presença dessas microcápsulas, não solúveis, pode ter dificultado a difusão da água para a matriz do glúten (ARMELLINI et al., 2018). O mesmo foi observado por Cárdenas-Hernández et al. (2016).

Tabela 14 – Avaliação da absorção de água ao longo do tempo de armazenamento das massas.

Amostra	Tempo (dias)			
	0 (%)	7 (%)	14 (%)	30 (%)
Massa controle	93,39±1,99 <sup>abB</sup>	84,05±2,57 <sup>aA</sup>	95,44±2,78 <sup>abAB</sup>	104,00±1,50 <sup>bB</sup>
Massa com esferas vazias	82,25±0,79 <sup>aA</sup>	130,46±2,55 <sup>cB</sup>	99,12±0,76 <sup>bB</sup>	99,15±0,38 <sup>bB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	78,56±0,30 <sup>aA</sup>	134,80±7,28 <sup>bB</sup>	82,79±0,88 <sup>aA</sup>	90,52±0,86 <sup>aA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	86,04±1,89 <sup>aAB</sup>	139,28±1,42 <sup>bB</sup>	92,85±4,79 <sup>aAB</sup>	92,90±1,04 <sup>aA</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A massa controle foi a que apresentou maior capacidade de absorção de água, tanto no tempo inicial, quanto final (Tabela 14).

A absorção de água das massas está relacionada com a granulometria da farinha, visto que se a massa foi produzida com partícula de farinha de trigo desuniforme poderá apresentar manchas esbranquiçadas, devido a variações na taxa de absorção de água, visto que é mais rápida para partículas finas (PAGNUSSATT et al., 2014). A variação na taxa de absorção de água da massa controle, ao longo do tempo (Tabela 14) e o aumento da absorção aos 30 dias, não se deve a granulometria da farinha, visto que esta apresentou tamanho uniforme, mas sim, pode estar ligada a perda de umidade desta formulação.

## 4.2.2.4.5 Aumento de peso

O aumento de peso das massas está relacionado com o glúten. A principal função tecnológica do glúten é a formação de uma rede interna capaz de reter os componentes das massas (DOXASTAKIS et al., 2007). A massa controle e a massa com a adição da *Spirulina*

livre apresentaram maior peso no tempo inicial (Tabela 15), isso pode ser devido a não formação de uma rede proteica contínua, causa alta hidratação do amido, aumentando o peso da massa ou a *Spirulina* parece diluir a força do glúten, enfraquecendo a estrutura geral do espaguete (ZARDETTO; ROSA, 2009).

Tabela 15 – Avaliação do aumento de peso ao longo do tempo de armazenamento das massas.

Amostra	Tempo (dias)			
	0 (%)	7 (%)	14 (%)	30 (%)
Massa controle	193,39±1,99 <sup>abB</sup>	184,05±2,57 <sup>aA</sup>	195,44±2,78 <sup>abAB</sup>	204,00±1,50 <sup>bB</sup>
Massa com esferas vazias	182,25±0,79 <sup>aA</sup>	230,46±2,55 <sup>cB</sup>	199,12±0,76 <sup>bB</sup>	199,15±0,38 <sup>bB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	178,56±0,30 <sup>aA</sup>	234,80±7,28 <sup>bB</sup>	182,79±0,88 <sup>aA</sup>	190,52±0,86 <sup>aA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	186,04±1,89 <sup>aAB</sup>	239,28±1,42 <sup>bB</sup>	192,85±4,79 <sup>aAB</sup>	192,90±1,04 <sup>aA</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A diminuição do peso nos 14 dias (Tabela 15) da massa com *Spirulina* microencapsulada pode ser devido a maior perda de cozimento nesta formulação. A massa com *Spirulina* microencapsulada e as esferas vazias apresentou menor peso ao comparar com a controle no tempo inicial.

#### 4.2.2.4.6 Textura

O desenvolvimento de parâmetros de textura é um ponto crítico para garantir a aceitação dos produtos pelo consumidor (DESAI; BRENNAN; BRENNAN, 2018).

As propriedades de textura da massa são afetadas, principalmente, pela rede estrutural da matriz de amidos, glúten, pelas adições de proteína e outros ingredientes (CHANG; WU, 2008).

Observando a Tabela 16, houve um aumento significativo na firmeza quando a massa foi incorporada com *Spirulina* microencapsulada no tempo 0 dias. A firmeza aumentou de 1,62 N na massa controle para 2,34 N na massa com *Spirulina* encapsulada. A massa controle, no tempo inicial, apresentou menor firmeza que os outros tipos de massas, mas ao final dos 30 dias de armazenamento, a firmeza da massa controle foi maior que as outras massas. Esse aumento pode estar relacionado com o teor de umidade, pois segundo Foschia et al. (2015), o menor teor de umidade é responsável pelo maior valor de firmeza da massa. A massa



controle, nos 30 dias, foi a que apresentou menor teor de umidade, como consequência, maior firmeza. A firmeza é um parâmetro interessante, pois está associada com a força necessária para comprimir a massa entre os dentes (ARMELLINI et al., 2018).

A adição da microalga microencapsulada afetou positivamente a textura da massa fresca, quando comparada à massa controle, no tempo inicial. O aumento da firmeza da massa com *Spirulina* microencapsulada pode estar relacionada com a absorção de água, visto que nessa massa, a absorção foi menor ao comparar com a massa controle e massa com *Spirulina* livre. O mesmo foi observado por Fradique et al. (2010), massa com *Spirulina* apresentou maior firmeza. Portanto, a absorção de água durante o cozimento é responsável pela textura da massa fresca cozida (DOXASTAKIS et al., 2007), isso confirma que a adição da *Spirulina* microencapsulada promoveu um maior teor de lixiviação do amido, resultou em uma menor capacidade de absorção de água durante o cozimento, como consequência, aumentou a firmeza da massa com *Spirulina* microencapsulada. A massa com *Spirulina* livre também apresentou lixiviação do amido, menor capacidade de absorção de água e maior perda de cozimento ao longo do tempo, aumentando a firmeza da massa.

Outro fator que influencia na textura da massa é a atividade da  $\alpha$ -amilase, sendo que elevadas atividades da  $\alpha$ -amilase influencia de forma negativa, resultando em textura suave e aumentando a perda de sólidos durante o cozimento (HAGER et al., 2013), neste caso, a farinha utilizada apresentou baixa atividade da enzima  $\alpha$ -amilase e isso é um indicativo que comprova a textura mais firme.

Tabela 16 – Firmeza das formulações de massas cozidas ao longo do tempo de armazenamento.

Amostra	Tempo (dias)			
	0	7	14	30
	N	N	N	N
Massa controle	1,62±0,02 <sup>aA</sup>	2,57±0,002 <sup>cB</sup>	2,45±0,04 <sup>bB</sup>	2,89±0,01 <sup>dC</sup>
Massa com esferas vazias	1,82±0,01 <sup>aB</sup>	2,24±0,02 <sup>bA</sup>	2,24±0,04 <sup>bA</sup>	2,47±0,03 <sup>cB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	2,34±0,04 <sup>aC</sup>	2,55±0,05 <sup>bB</sup>	2,78±0,03 <sup>cC</sup>	2,24±0,05 <sup>aA</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> livre	1,89±0,02 <sup>aB</sup>	2,82±0,01 <sup>cC</sup>	2,62±0,08 <sup>bBC</sup>	2,48±0,01 <sup>bB</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A massa com *Spirulina* microencapsulada, ao final da vida de prateleira (Tabela 16), não apresentou diferença no valor de firmeza, sendo o menor ao longo do tempo. Ao comparar com as demais formulações, observa-se que aos 30 dias, a massa com *Spirulina*



microencapsulada apresentou menor teor de firmeza. Essa diminuição da firmeza pode ser atribuída pelo enfraquecimento da rede de glúten, por não ser uma matriz contínua, devido à presença das microcápsulas, tornando-a fraca (BRUINSMA et al., 1978). Visto que a firmeza é um reflexo da força de ligação e da integridade da matriz de proteína da massa após o processo de cozimento (DEXTER; MATSUO, 1979).

As diferenças na qualidade de cozimento, no que se refere à firmeza, são atribuídas principalmente ao glúten. Portanto, massas com alto teor de glúten são internamente mais firmes do que as massas com baixo teor de glúten após o cozimento. Estudos mostram que a adição de proteína resulta em maior firmeza da massa (DOXASTAKIS et al., 2007), já a adição de fibra reduz a firmeza, devido a destruição da matriz proteína-amido dentro da estrutura da massa (SOZER et al., 2007). Por se tratar de uma esfera, a biomassa está disposta por todo o material encapsulante, portanto, a biomassa na parte mais externa pode ter influenciado na rede de glúten, mas a proteína da *Spirulina* não tem capacidade de formar a rede de glúten. Chang e Wu (2008) e Fradique et al. (2010) perceberam que a adição de algas marinhas não fortalecem as estruturas de rede da massa.

A adesividade da massa é relacionada à quantidade de grânulos de amido que exsudam da matriz da massa para a água de cozimento e cobre a superfície do produto (DEXTER, MATSUO E MACGREGOR, 1985). Diante disso, massa com *Spirulina* livre, aos 7 dias (Tabela 17) apresentou maior adesividade e se comparar este mesmo tempo com a perda de cozimento, verifica-se que entre as formulações, foi a que apresentou maior perda e maior firmeza. Enquanto que a massa com *Spirulina* microencapsulada, no tempo inicial, foi igual a massa controle em relação a adesividade e conseqüentemente, apresentou maior firmeza.

Tabela 17 – Adesividade das formulações de massas cozidas ao longo do tempo de armazenamento.

Amostra	Tempo (dias)			
	0	7	14	30
	N	N	N	N
Massa controle	2,86±0,32 <sup>bAB</sup>	2,28±0,02 <sup>abA</sup>	2,05±0,05 <sup>aB</sup>	1,96±0,06 <sup>aA</sup>
Massa com esferas vazias	3,30±0,20 <sup>bB</sup>	2,19±0,002 <sup>aA</sup>	2,25±0,01 <sup>aC</sup>	2,29±0,02 <sup>aB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	2,87±0,12 <sup>cAB</sup>	2,28±0,04 <sup>aA</sup>	2,54±0,01 <sup>bD</sup>	2,38±0,01 <sup>abB</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	2,48±0,02 <sup>cA</sup>	2,49±0,03 <sup>cB</sup>	1,77±0,04 <sup>aA</sup>	2,07±0,01 <sup>bA</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A massa com *Spirulina* microencapsulada e livre foi a que apresentou maior adesividade em relação às outras massas ao longo do tempo, isso indica que as microcápsulas

e a *Spirulina* interferiram na matriz da massa. Isso tem haver com a uniformidade da massa, visto que esta começa a mudar com a difusão da água do exterior para o interior da massa. Sendo que na superfície da massa, os grânulos de amido não ficam mais intactos e a matriz proteica começa a se decompor devido à desnaturação. Sabe-se que a força da matriz proteica e a continuidade dessa matriz formada, durante a mistura e a extrusão da massa, são importantes na determinação das características de textura da massa. Visto que uma rede de glúten mais forte resulta em uma massa menos adesiva (SOZER; DALGIÇ; KAYA, 2007).

As condições de processamento da massa, bem como o glúten e o amido, determinam a qualidade de cozimento da massa. Uma boa qualidade de cozimento é definida através de uma alta absorção de água, baixas perdas de cozimento e textura firme (BRUNEL et al., 2010). Diante dos resultados, a perda de cozimento não foi afetada com a adição das esferas vazias, bem como da *Spirulina sp.* livre e microencapsulada. Enquanto que a massa com *Spirulina* livre apresentou maior absorção de água, sendo igual a controle, no tempo inicial. Porém, a textura da massa é considerada como o aspecto de qualidade mais importante (DE MARCO et al., 2014), em virtude disso, no tempo inicial, a massa com *Spirulina* microencapsulada apresentou maior firmeza que a massa com *Spirulina* livre.

#### 4.2.3 Análise sensorial

A análise sensorial é uma boa forma de avaliar a qualidade de cozimento da massa, porém, se os avaliadores não forem treinados, poderá haver dificuldade (SISSONS, 2008). Portanto, os estudos de qualidade de massa anteriores estão correlacionados com a análise sensorial.

Na Tabela 18 estão apresentados os valores médios para cada atributo das amostras das massas. Não foram observadas diferenças significativas entre os 4 tipos de massa nos atributos de textura, odor/aroma, sabor e impressão global. Isso significa que as pessoas estão começando a aceitar a incorporação de outros ingredientes nos alimentos que não estão acostumadas a consumir no dia a dia. Quanto à cor e a aparência, a mais aceita foi à massa com *Spirulina* livre, seguida da massa com *Spirulina* microencapsulada e a massa controle, isso pode ser um indicativo do apelo à busca de alimentos que tragam algum benefício a sua saúde, e a cor, neste caso, induz o consumidor. Portanto, a tendência atual para alimentos mais saudáveis pode representar a oportunidade de introduzir este tipo de massa.

Em relação às formulações, a cor foi significativamente diferente na análise de qualidade das massas. A cor, uma das principais características de qualidade e aparência

visual, do produto, desempenha papel fundamental no momento de escolha do consumidor. Muitas vezes a cor é comprometida quando se utiliza matérias-primas não tradicionais para a elaboração das massas frescas, visto que é um alimento a base de carboidrato (HAGER et al., 2013). A massa fresca com *Spirulina* livre resultou em uma cor muito atraente e foi bem aceita pelos avaliadores. A massa com esferas vazias apresentou menor aceitabilidade em relação à cor pelos consumidores, isso pode ser atribuído à presença das esferas vazias, por apresentarem coloração esbranquiçada. Ao relacionar com os resultados de cor, a massa com esferas vazias foi a que apresentou maior valor de L\* que tendenciou a coloração branca.

Tabela 18 – Médias dos atributos utilizados para avaliar a aceitabilidade do consumidor da massa fresca.

Amostra	Massa controle	Massa com esferas vazias	Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	Massa com <i>Spirulina</i>
Cor	7,20±1,36 <sup>ab</sup>	6,98±1,59 <sup>a</sup>	7,31±1,39 <sup>ab</sup>	7,76±1,24 <sup>b</sup>
Textura	7,67±1,07 <sup>a</sup>	7,57±1,36 <sup>a</sup>	7,71±0,83 <sup>a</sup>	8,10±0,81 <sup>a</sup>
Aparência	7,53±1,16 <sup>ab</sup>	7,27±1,39 <sup>a</sup>	7,37±1,11 <sup>ab</sup>	7,90±1,01 <sup>b</sup>
Odor/ aroma	7,57±1,17 <sup>a</sup>	7,71±1,12 <sup>a</sup>	7,33±1,41 <sup>a</sup>	7,35±1,57 <sup>a</sup>
Sabor	7,65±1,43 <sup>a</sup>	7,73±1,08 <sup>a</sup>	7,51±1,30 <sup>a</sup>	7,90±0,98 <sup>a</sup>
Impressão global	7,51±1,22 <sup>a</sup>	7,65±1,11 <sup>a</sup>	7,55±1,03 <sup>a</sup>	7,94±0,86 <sup>a</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Diante da nossa pesquisa, utilizando a escala de intenção de consumo (Tabela 19), a nota atribuída foi 5, isso indica que as pessoas comeriam, mas não sairiam da sua rotina, independente do tipo de massa.

Tabela 19 – Intenção de consumo avaliadas pelos consumidores.

Amostra	Intenção de consumo
Massa controle	5,78±0,97 <sup>a</sup>
Massa com esferas vazias	5,75±1,02 <sup>a</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	5,27±1,27 <sup>a</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	5,75±1,00 <sup>a</sup>

O questionário CATA tem como finalidade reunir as informações dos produtos em relação à percepção das características sensoriais do consumidor. A frequência de escolha de cada atributo pelo consumidor está apresentada na Tabela 20.

Tabela 20 – Frequência (%) das escolhas dos atributos no questionário CATA das massas frescas.

Atributo	Massa controle	Massa com esferas vazias	Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	Massa com <i>Spirulina</i>
Adesividade (gruda no dente)	7	3	6	3
Bordas lisas	32	22	22	29
Bordas serrilhadas	1	1	5	0
Cor creme	46	37	0	0
Cor não uniforme	2	2	16	4
Cor uniforme	42	38	22	39
Cor verde	0	0	19	22
Cor verde musgo	0	0	38	36
Gosto de farinha	18	19	11	11
Levemente adstringente	0	5	3	2
Odor de alga	0	1	10	15
Odor de farinha	16	17	6	7
Odor de peixe fresco	0	0	5	2
Presença de pontos verdes	0	0	32	3
Residual amargo	0	3	6	6
Sabor de alga	0	0	12	8
Sabor peixe cru	0	0	0	1
Textura firme	31	31	24	29
Textura pegajosa	9	6	7	7
Textura rugosa	1	3	4	2

Os atributos, de maior frequência nas quatro formulações de massas foram bordas lisas, cor uniforme e textura firme. Em relação à textura firme, ao comparar com a análise de no texturômetro, percebe-se que as massas, com exceção a massa controle, apresentaram maior firmeza.

Os atributos cor creme, cor uniforme, bordas lisas e textura firme foram os mais citados pelos provadores para a formulação da massa controle e massa com esferas vazias. Já a formulação com *Spirulina* microencapsulada, apresentou como termos mais citados a cor verde musgo, a presença de pontos verdes, bordas lisas e a textura firme. Em relação à formulação com *Spirulina* livre, os atributos mais citados foram iguais ao da massa com *Spirulina* microencapsulada, além da cor verde. Percebe-se que os atributos de cor verde e textura firme foram identificados nas análises de qualidade da massa e também percebidos pelos consumidores, mas isso não afetou a aceitabilidade das massas, muito pelo contrário, preferiram as massas com a cor verde.

A presença de pontos verdes também foi citada na massa com *Spirulina* microencapsulada, mas isso não afetou a aceitabilidade dos consumidores com relação à

aparência. A cor é um atributo que atrai o consumidor e a adição da biomassa da microalga, como ingrediente natural na massa, tornou-a com aparência atraente e inovadora, podendo se tornar um alimento funcional amplamente apreciado e consumido em um futuro próximo (BATISTA et al., 2017).

As quatro formulações de massas foram consideradas, em comum, os atributos com menor frequência adesividade, cor não uniforme, gosto e odor de farinha e textura pegajosa e rugosa.

Os atributos menos citados, além dos que já foram mencionados, para a massa controle foi bordas serrilhadas, enquanto que para a massa com esferas vazias, os consumidores mencionaram a presença de bordas serrilhadas além do residual amargo, odor de alga e levemente adstringente, que são característicos das esferas de alginato de sódio e cloreto de cálcio.

A massa com *Spirulina* microencapsulada apresentou com menos frequência os atributos levemente adstringente, bordas serrilhadas, odor de peixe fresco, sabor de alga, residual amargo, além dos comuns entre as formulações que já foram mencionados. Enquanto que para a massa com *Spirulina* livre, foram citados com menor frequência a presença de pontos verdes, residual amargo, sabor de alga e de peixe cru, odor de peixe fresco e levemente adstringente. Observa-se que somente 12 consumidores, perceberam o sabor de alga na *Spirulina* microencapsulada, isso pode ser um indicativo de que a microcápsula foi capaz de mascarar o sabor característico da microalga. Apesar de alguns consumidores perceberem o residual amargo e o sabor levemente adstringente, esses atributos não foram parâmetros decisivos para a aceitabilidade, visto que não houve diferença entre as formulações para sabor e odor.

A cor creme foi citada somente para a massa controle e massa com esferas vazias, como esperado. A cor verde e verde musgo foram citados para a massa com *Spirulina* livre e microencapsulada, sendo que o termo com maior frequência foi à cor verde musgo para ambas as massas. A massa com *Spirulina* microencapsulada apresentou cor não uniforme, isso se dá pela presença das microcápsulas, visto que os consumidores identificaram a presença de pontos verdes nesta massa.

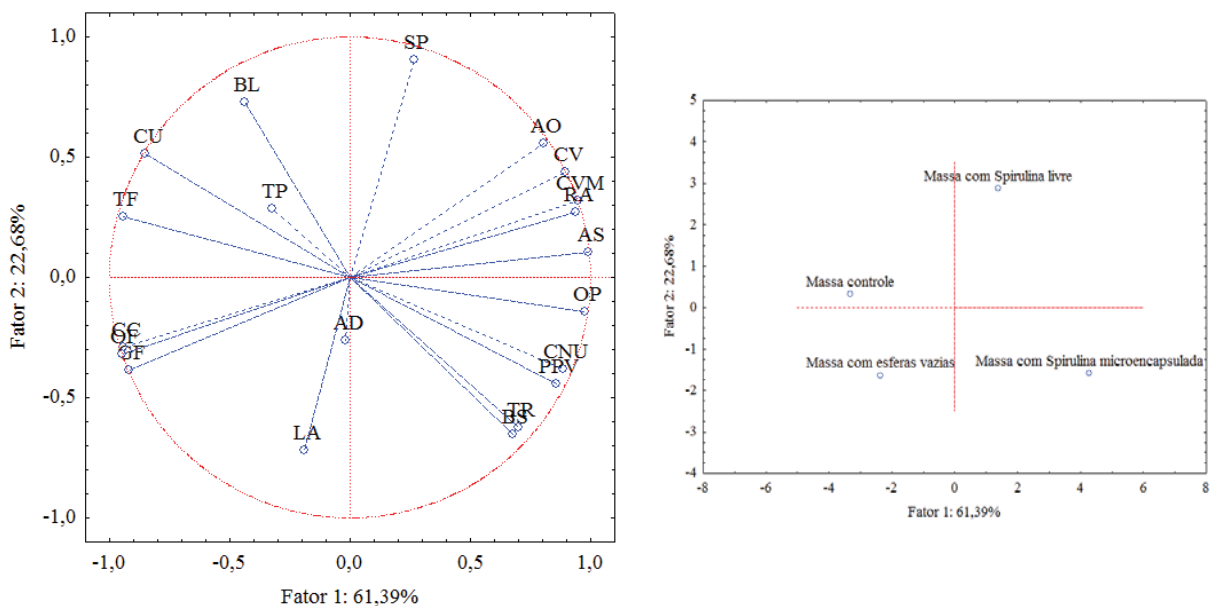
A análise de componentes principais dos dados do método CATA (Figura 12) mostra que a variabilidade das amostras pôde ser explicada em 84,07% por dois componentes principais.

A massa controle foi mais bem representada pelos atributos de textura firme e pegajosa, cor uniforme e bordas lisas (Figura 12). A massa com esferas vazias foi

representada pela adesividade, sabor levemente adstringente, gosto e odor de farinha e cor creme. Enquanto que a massa com *Spirulina* microencapsulada, os atributos foram odor de peixe fresco, cor não uniforme, presença de pontos verdes, textura rugosa e bordas serrilhadas. Já a massa com *Spirulina* livre, sabor de alga e de peixe cru, residual amargo, odor de alga, cor verde musgo e cor verde.

A massa controle se relaciona com a massa com esferas vazias, por estar no mesmo quadrante (Figura 12), mas a presença das microcápsulas influencia a percepção do consumidor, porque ambas as massas com esferas (vazia ou com *Spirulina*), estão no quadrante inferior. A massa com *Spirulina* microencapsulada é definida pelos mesmos atributos que a massa com esferas vazias, a única exceção é o odor de peixe fresco e a presença de pontos verdes, que faz a massa com *Spirulina* livre ficar no quadrante superior. A massa com *Spirulina* livre é definida pelos mesmos atributos que a massa com *Spirulina* microencapsulada, sendo que a exceção é para o odor de alga e sabor de peixe cru que faz a massa com *Spirulina* livre ficar sozinha no quadrante superior.

Figura 12 - Número de autovalores dos componentes das frequências dos termos do teste CATA e percentuais de explicação obtidos.



AD: Adesividade (gruda no dente); BL: Bordas lisas; BS: Bordas serrilhadas; CC: Cor creme; CNU: Cor não uniforme; CU: Cor uniforme; CV: Cor verde; CVM: Cor verde musgo; GF: Gosto de farinha; LA: Levemente adstringente; AO: Odor de alga; OF: Odor de farinha; OP: Odor de peixe fresco; PPV: Presença de pontos verdes; RA: Residual amargo; AS: Sabor de alga; SP: Sabor de peixe cru; TF: Textura firme; TP: Textura pegajosa; TR: Textura rugosa.

A massa controle e massa a com *Spirulina* microencapsulada, são mais bem representados pelos atributos relacionados à textura e a aparência, enquanto as esferas vazias

e da *Spirulina* livre, são representados pelos parâmetros mais relacionados ao gosto/sabor e cor.

A utilização da metodologia CATA é uma boa ferramenta para coletar informações sobre a percepção dos consumidores em relação às características sensoriais dos produtos, isso pode contribuir para as melhorias no desenvolvimento do produto (BRUZZONE et al., 2015).





## 5 CONCLUSÃO

O processo de microencapsulação por gelificação iônica possibilitou a formação de microesferas de alginato de cálcio com *Spirulina sp.* A microesfera mostrou-se capaz de aprisionar maior quantidade de material ativo, *Spirulina*, em menor teor de sólidos (1:1 em relação ao teor de sólidos) quando comparado aos outros tipos de microcápsulas desenvolvidas. A solubilidade da microesfera definida para aplicação nas formulações das massas é considerada baixa (8,64%), mostrando-se ideal para adicioná-la em massas frescas.

A *Spirulina sp.* apresentou elevado potencial antioxidante (101,15 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina*), mas sofre redução de 35% desse potencial ao ser submetida ao aquecimento (65,70 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina*). A encapsulação da *Spirulina* com alginato de cálcio permitiu a manutenção do potencial antioxidante, sendo que as esferas com *Spirulina* apresentaram 93,66 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina* antes do aquecimento e 73,19 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina* depois do tratamento térmico, uma perda de 21,8 % em comparação com 35% na *Spirulina* não encapsulada.

Uma boa qualidade de cozimento é definida através de uma alta absorção de água, baixas perdas de cozimento e textura firme. Diante dos resultados, a perda de cozimento não foi afetada com a adição da *Spirulina sp.* livre e microencapsulada. A massa com *Spirulina* livre apresentou maior absorção de água, sendo igual a controle. Porém, a textura da massa é considerada como o aspecto de qualidade mais importante, em virtude disso, no tempo inicial, a massa com *Spirulina* microencapsulada foi igual à massa controle em relação à adesividade e apresentou maior firmeza em relação às outras massas. O estudo de armazenamento mostrou que as características de textura são afetadas ao longo do tempo e que a perda de umidade da massa proporciona maior firmeza desta.

Na análise sensorial, as 4 formulações de massas frescas não apresentaram diferença significativa em relação aos atributos de textura, odor/aroma, sabor e impressão global. Quanto à cor e a aparência, a mais aceita foi à massa com *Spirulina* livre, seguida da massa com *Spirulina* microencapsulada que não apresentou diferença com a massa controle. O CATA mostrou que a textura firme foi um dos atributos das massas mais citados pelos consumidores. A massa controle e a massa com *Spirulina* microencapsulada são representadas pelos atributos relacionados à textura e a aparência, enquanto a massa com esferas vazias e a massa com *Spirulina* livre, são representados pelo gosto/sabor e cor.

Embora os consumidores apreciaram mais a massa com *Spirulina sp.* livre devido a cor e aparência, os resultados do tratamento térmico indicam que é preciso encapsular para proteger os antioxidantes da degradação térmica. Visto que as pessoas estão se preocupando cada vez mais com a sua saúde, e buscam consumir alimentos não só nutritivos, mas que tragam benefícios.

Diante disso, este estudo mostrou que a massa adicionada de *Spirulina* apresentou elevada aceitabilidade pelos consumidores. Isso pode ser um indicativo do apelo à busca de alimentos que tragam algum benefício a sua saúde, e a cor, neste caso, induz o consumidor. A massa adicionada de *Spirulina* encapsulada, no entanto, permitiu a proteção do potencial antioxidante desta, sendo este o ingrediente diferenciado na massa fresca tipo talharim. Por fim, devido à tendência atual de alimentos mais saudáveis, a massa com *Spirulina* microencapsulada pode representar uma oportunidade de introduzir este tipo de massa desenvolvida aos consumidores.

## REFERÊNCIAS

- AACC - American Association of Cereal Chemists. **Approved methods**. 11<sup>a</sup>. ed., Saint Paulo, 2009.
- AACC. American Association of Cereal Chemists. **Approved Methods of Analysis**., 11<sup>a</sup>.ed., 2010. AACC International, Saint Paul, MN, U.S.A.
- ABIMAPI. ABIMAPI - Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados. Disponível em: <<https://www.abimapi.com.br/estatistica-massas.php>>. Acesso em: 05 abr. 2018.
- ABREU, F. O. M da S. 2008. **Síntese e caracterização de hidrogéis biodegradáveis à base de quitosana com morfologia controlada com potencial aplicação como carreadores de fármacos**. Tese (Doutorado em engenharia de minas, metalúrgica e de materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 2008.
- ACKER, J. P.; MCGANN, L. E. Protective effect of intracellular ice during freezing?. **Cryobiology**, v. 46, n. 2, p. 197-202, 2003.
- AGGARWALL, P.; DOLLIMORE, D. The effect of chemical modification on starch studied using thermal analysis, **Thermochimica Acta**, v. 324, p. 1- 8, 1998.
- AHMADI, F.; OVEISI, Z.; SAMANI, S. M.; AMOOZGAR, Z. Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1–16, 2015.
- AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M.; HASSAN, F. A. Prebiotics as functional foods: A review. **Journal Of Functional Foods**, v. 5, p. 1542-1553, 2013.
- ALVES, A. I.; RODRIGUES, M. Z.; RIBEIRO PINTO, M. R. M.; LAGO VANZELA, E. S.; STRINGHETA, P. C.; PERRONE, Í. T.; RAMOS, A. M. Morphological characterization of pequi extract microencapsulated through spray drying. **International Journal of Food Properties**, p. 1-8, 2017.
- AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde de Spirulina spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, p. 109-117, 2008.
- ANDRADE-MOLINA, T. P. de C.; Shirai, M. A.; Grossmann, M. V. E.; Yamashita, F. Active biodegradable packaging for fresh pasta. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 25-29, 2013.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Consulta Pública nº 86, de 7 de dezembro de 2005. 08 dez. 2005. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[12925-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[12925-1-0].PDF)>. Acesso em: 26 set. 2016.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Jul. 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/ALIMENTOS/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/ALIMENTOS/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 23 set. 2016.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. VII - Lista dos Novos Alimentos aprovados. Maio. 2009. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos\\_ingredientes.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm)>. Acesso em: 18 set. 2016.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16th ed. Washington, 1995.

ARANIBAR, C.; PIGNI, N. B.; MARTINEZ, M.; AGUIRRE, A.; RIBOTTA, P.; WUNDERLIN, D.; BORNEO, R. Utilization of a partially-deoiled chia flour to improve the nutritional and antioxidant properties of wheat pasta. **LWT-Food Science and Technology**, v. 89, p. 381-387, 2018.

ARAVIND, N.; SISSONS, M. J.; FELLOWS, C. M.; BLAZEK, J.; GILBERT, E. P. Effect of inulin soluble dietary fibre addition on technological, sensory, and structural properties of durum wheat spaghetti. **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 993-1002, 2012.

ARES, G.; DAUBER, C.; FERNÁNDEZ, E.; GIMÉNEZ, A.; VARELA, P. Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. **Food Quality and Preference**, v. 32, p. 65-76, 2014.

ARMELLINI, R.; PEINADO, I.; PITTIA, P.; SCAMPICCHIO, M.; HEREDIA, A.; ANDRES, A. Effect of saffron (*Crocus sativus* L.) enrichment on antioxidant and sensorial properties of wheat flour pasta. **Food Chemistry**, v. 254, p. 55-63, 2018.

ASSIFAOU, A.; CHAMBIN, O.; CAYOT, P. Drug release from calcium and zinc pectinate beads: Impact of dissolution medium composition. **Carbohydrate polymers**, v. 85, n. 2, p. 388-393, 2011.

AXELOS, M. A.V.; THIBAUT, J. F. **The chemistry of low-methoxyl pectin gelation** R.H. Walter (Ed.), *The Chemistry and Technology of Pectin*. Food Science and Technology, Academic Press Inc., San Diego, CA (1991), p. 109–118, 1991.

BAKOWSKA-BARCZAK, A. M.; KOLODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1301–1309, 2011.

BASTOS, G. M.; JÚNIOR, M. S. S.; CALIARI, M.; ARAUJO PEREIRA, A. L.; MORAIS, C. C.; CAMPOS, M. R. H. Physical and sensory quality of gluten-free spaghetti processed from amaranth flour and potato pulp. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 128-136, 2016.

BATISTA, A. P.; NICCOLAI, A.; FRADINHO, P.; FRAGOSO, S.; BURSIC, I.; RODOLFI, L.; BIONDI, N.; TREDICI, M. R.; SOUSA, I.; RAYMUNDO, A. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. **Algal Research**, v. 26, p. 161-171, 2017.

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

BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 2, p. 235–241, 1993.

BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; BUŠIĆ, A.; BARIŠIĆ, L.; VRSALJKO, D.; KARLOVIĆ, S.; ŠPOLJARIĆ, I.; VOJVODIĆ, A.; MRŠIĆ, G.; KOMES, D. Emulsion templated microencapsulation of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) polyphenols and  $\beta$ -carotene by ionotropic gelation of alginate and pectin. **Food hydrocolloids**, v. 57, p. 139-152, 2016.

BENDER, L. E.; GUARIENTI, C.; PRIGOL, A. C.; BERTOLIN, T. E. Solubilidade de microcápsulas de Spirulina produzidas pela técnica de Spray drying com diferentes agentes encapsulantes. III Semana do conhecimento, 2016. Disponível em: <<http://semanadoconhecimento.upf.br/download/anais-2016/ciencias-agrarias/Leticia-Eduarda-Bender-SOLUBILIDADE.pdf>>. Acesso em: 24 maio 2016.

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

BERGER, J.; REIST, M.; MAYER, J.M.; FELT, O.; PEPPAS, N.A.; GURNYB, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p.19–34, 2004.

BERMEJO, P.; PIÑERO, E.; VILLAR, Á. M. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 436–445, 2008.

BHATTARAI, R.S.; DHANDAPANI, N.V.; SHRESTHA, A. Drug delivery using alginate and chitosan beads: An Overview. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 4, p. 192-6, 2011.

BLANDÓN, L. M.; ISLAN, G. A.; CASTRO, G. R.; NOSEDA, M. D.; THOMAZ-SOCCOL, V.; SOCCOL, C. R. Kefiran-alginate gel microspheres for oral delivery of ciprofloxacin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 706-715, 2016.

BLANDÓN, L. M.; ISLAN, G. A.; CASTRO, G. R.; NOSEDA, M. D.; THOMAZ-SOCCOL, V.; SOCCOL, C. R. Kefiran-alginate gel microspheres for oral delivery of ciprofloxacin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 706-715, 2016.

BLINKOVA, L. P.; GOROBETS, O. B.; BATURO, A. P. Biological activity of Spirulina. **Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, I Immunobiologii**, n. 2, p. 114–118, 2001.

BOBBIO, P. A; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. São Paulo; Varela. 3ªed; 2000.

BONATTO, F; KENNEDY, M. **Manual de boas práticas: fabricação de macarrão com ovos**. Fertay Ind.e Comercio de Alimentos, Ponta Grossa, PR, 2008.

BOROSKI, M.; DE AGUIAR, A. C.; BOEING, J. S.; ROTTA, E. M.; WIBBY, C. L.; BONAFÉ, E. G.; DE SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Enhancement of pasta antioxidant activity with oregano and carrot leaf. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 696–700, 2011.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. **Antioxidantes: princípios e métodos**. 1.ed. Appris, 2015.

BRACCINI, I.; PÉREZ, S. P. Molecular Basis of Ca<sup>2+</sup>-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. **Biomacromolecules**, v. 2, p. 1089-1096, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária– RDC nº 93, de 31 de outubro de 2000 . Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Massa Alimentícia. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 31 de outubro de 2000.

BRASIL. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1 dez. 2010. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=358389789>>. Acesso em: 23 set. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 jun. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 38, de 1 de dez. de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1 de dez. de 2010.

BRASIL. Resolução nº 16, de abril de 1999. Diário Oficial da União, Ministério da Saúde, Brasília, DF, 3 dez. 1999. Seção 1, p. 23.

BRUNEEL, C.; PAREYT, B.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. The impact of the protein network on the pasting and cooking properties of dry pasta products. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 371-378, 2010.

BRUZZONE, F.; VIDAL, L.; ANTÚNEZ, L.; GIMÉNEZ, A.; DELIZA, R.; ARES, G. Comparison of intensity scales and CATA questions in new product development: Sensory characterisation and directions for product reformulation of milk desserts. **Food Quality and Preference**, v. 44, p. 183-193, 2015.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GIDLEY, M. Gel particles from spray-dried disordered polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 206–213, 2009.

BUREY, P.; BHANDARI, B. R.; HOWES, T.; GODLEY, M. J. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 361-377, 2008.

BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of food engineering**, v. 104, n. 4, p. 467-483, 2011.

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**, v. 5, n. 4, p. 420–428, 2005.

CÁRDENAS-HERNÁNDEZ, A.; BETA, T.; LOARCA-PIÑA, G.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; NIETO-BARRERA, J. O.; MENDOZA, S. Improved functional properties of pasta: Enrichment with amaranth seed flour and dried amaranth leaves. **Journal of Cereal Science**, v. 72, p. 84-90, 2016.

CARVALHO, P. T.; PINO BELEIA, A. D. P. Alterações físico-químicas e atividade enzimática de trigo com germinação pré-colheita. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 3, 2015.



CASAGRANDE, D. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SALGADO, J. M.; PIZZINATO, A.; NOVAES, N. J. Análise tecnológica, nutricional e sensorial de macarrão elaborado com farinha de trigo adicionada de farinha de feijão-guandu. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, 1999.

ÇELEKLI, A.; BOZKURT, H. Bio-sorption of cadmium and nickel ions using *Spirulina platensis*: kinetic and equilibrium studies. **Desalination**, v. 275, n. 1-3, p. 141-147, 2011.

CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 659-664, 2012.

CHAN, E. S.; WONG, S. L.; LEE, P. P.; LEE, J. S.; TI, T. B.; ZHANG, Z.; PONCELET, D.; RAVINDRA, P.; PHAN, S. H.; YIM, Z. H. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 225-232, 2011.

CHAN, L.W.; LEE, H.Y.; HENG, P.W.S. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. **Carbohydrate Polymers**, v.63, p.176–187, 2006.

CHANG, H. C.; WU, L.C. Texture and quality properties of Chinese fresh egg noodles formulated with green seaweed (*Monostroma nitidum*) powder. **Journal of food science**, v. 73, n. 8, 2008.

CHANG, Y. K.; FLORES, H. E. M. Qualidade tecnológica de massas alimentícias frescas elaboradas de semolina de trigo durum (*T. durum* L.) e farinha de trigo (*T. aestivum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 487–493, 2004.

CHAO, J.; WANG, H.; ZHAO, W.; ZHANG, M.; ZHANG, L. Investigation of the inclusion behavior of chlorogenic acid with hydroxypropyl-cyclodextrin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, n. 1, p. 277-282, 2011.

CHEN, W. H.; WU, Z. Y.; CHANG, J. S. Isothermal and non-isothermal torrefaction characteristics and kinetics of microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource technology**, v. 155, p. 245-251, 2014.

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

CHRONAKIS, I. S.; GALATANU, A. N.; NYLANDER, T.; LINDMAN, B. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air/water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 173, n. 1–3, p. 181–192, 2000.

CIFERRI, O.; TIBONI, O. The Biochemistry and Industrial Potential of *Spirulina*. **Annual Review of Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 503–526, 1985.

CLOGSTON J.D.; PATRI A.K. Zeta Potential Measurement. In: McNeil S. (eds) *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, New York, NY: Humana press, vol 697, 2011.

COLLA, L. M.; BERTOL, C. D.; FERREIRA, D. J.; BAVARESCO, J.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E. Thermal and photo-stability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 2, p. 332-339, 2017.

COLOMBO, A.; RIBOTTA, P. B.; LEON, A. E. Differential Scanning Calorimetry (DSC) Studies on the Thermal Properties of Peanut Proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4434-4439, 2010

COMELLI, C.; CHIARINI, E.; PRADO, S. P. T.; OLIVEIRA, M. A.; BERGAMINI, A. M. M. Avaliação microbiológica e da rotulagem de massas alimentícias frescas e refrigeradas comercializadas em feiras livres e supermercados. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, n. 2, p. 251-258, 2011.

CÓRDOBA, A. L.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. **Carbohydrate polymers**, v. 95, n. 1, p. 315-323, 2013.

CRUZ, A.; COITO, L.; ESPLUGAS, S.; SANS, C. Study of the contribution of homogeneous catalysis on heterogeneous Fe (III)/alginate mediated photo-Fenton process. **Chemical Engineering Journal**, v. 318, p. 272-280, 2017.

ĆURIĆ, D.; ĐUGUM, J.; BAUMAN, I. The influence of fungal  $\alpha$ -amylase supplementation on amylolytic activity and baking quality of flour. **International journal of food science & technology**, v. 37, n. 6, p. 673-680, 2002.

CZECHOWSKA-BISKUP, R.; ROKITA, B.; ULANSKI, P.; ROSIAK, J. M. Radiation-induced and sonochemical degradation of chitosan as a way to increase its fat-binding capacity. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 236, n. 1-4, p. 383-390, 2005.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R. M.; CHIELLINI, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science, Special Issue on Biomaterials**. v. 36, n. 8, p. 981-1014, 2011.

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

DE VITA, P.; PLATANI, C.; FRAGASSO, M.; FICCO, D. B. M.; COLECCHIA, S. A.; DEL NOBILE, M. A.; PADALINO, L.; DI GENNARO, S. PETROZZA, A. Selenium-enriched durum wheat improves the nutritional profile of pasta without altering its organoleptic properties. **Food Chemistry**, v. 214, p. 374-382, 2017.

DEMIR, B. S.; TÜKEL, S. S. **Purification and characterization of lipase from *Spirulina platensis***. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, Enzyme Engineering: A creative way for the solution of many worldwide problems Selected Papers from International Enzyme Engineering Symposium (IEES'08)*. v. 64, n. 3-4, p. 123-128, 2010.

DESAI, A.; BRENNAN, M. A.; BRENNAN, C. S. The effect of semolina replacement with protein powder from fish (*Pseudophycis bachus*) on the physicochemical characteristics of pasta. **LWT-Food Science and Technology**, v. 89, p. 52-57, 2018.



DEUCHI, K.; KANAUCHI, O.; IMASATO, Y.; KOBAYASHI, E. Effect of the Viscosity or Deacetylation Degree of Chitosan on Fecal Fat Excreted from Rats Fed on a High-fat Diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 59, n. 5, p. 781–785, 1995.

DEXTER, J. E.; MATSUO, R. R. Changes in spaghetti protein solubility during cooking. *Cereal Chemistry*, 1979.

DEXTER, J. E.; MATSUO, R. R.; MACGREGOR, A. W. Relationship of instrumental assessment of spaghetti cooking quality to the type and amount of material reused from cooked spaghetti. *Journal of Cereal Science*, v. 3, p. 39-53, 1985.

DICK, J.W.; YOUNGS, V.L. **Evaluation of durum wheat, semolina and pasta in the United States**. In *Durum Wheat Chemistry and Technology* (G. Fabriani and C. Lintas, eds.), American Association of Cereal Chemists Inc., St. Paul, MN., p. 237–248, 1998.

DOXASTAKIS, G.; PAPAGEORGIOU, M.; MANDALOU, D.; IRAKLI, M.; PAPALAMPROU, E. D'AGOSTINA, A.; RESTA, D.; BOSCHIN, G.; ARNOLDI, A. Technological properties and non-enzymatic browning of white lupin protein enriched spaghetti. *Food Chemistry*, v. 101, n. 1, p. 57-64, 2007.

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

EDWARDS, M. R.; HAUER, C.; STACK, R. F.; EISELE, L. E.; MACCOLL, R. Thermophilic C-phycoerythrin: effect of temperature, monomer stability, and structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, v. 1321, n. 2, p. 157–164, 1997.

EL-DASH, A.; GERMANI, R. **Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinhas mistas na produção de massas alimentícias**. Brasília: EMBRAPA-SPI. v.5, 38p, 1994.

EL-GHAFFAR, M. A. ABD.; HASHEM, M. S.; EL-AWADY, M. K.; RABIE, A. M. PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, n. 2, p. 667-675, 2012.

ELSABEE, M. Z.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: a review. *Materials Science & Engineering*. v. 33, n. 4, p. 1819–1841, 2013.

ERIKSEN, N. T. Production of phycoerythrin--a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 80, n. 1, p. 1–14, 2008.

ESPITIA, P. J. P.; DU, W-X.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; SOARES, N. F. F.; MCHUGH, T. H. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, v. 35, p. 287-296, 2014.

ESTRADA, J. E. P.; BESCÓS, P. B.; DEL FRESNO, A. M. V. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *II Farmaco*, v. 56, n. 5–7, p. 497–500, 2001.

FALKEBORG, M. F.; RODA-SERRAT, M. C.; BURNÆS, K. L.; NIELSEN, A. L. D. Stabilising phycoerythrin by anionic micelles. *Food chemistry*, v. 239, p. 771-780, 2018  
FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, n. 10, p. 510–523, 2010.

- FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C. D.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.
- FICCO, D. B. M.; DE SIMONE, V.; DE LEONARDIS, A. M.; GIOVANNIELLO, V.; DEL NOBILE, M. A., PADALINO, L.; DE VITA, P. Use of purple durum wheat to produce naturally functional fresh and dry pasta. **Food chemistry**, v. 205, p. 187-195, 2016.
- FOIS, S.; PIU, P. P.; SANNA, M.; ROGGIO, T.; CATZEDDU, P. Starch digestibility and properties of fresh pasta made with semolina-based liquid sourdough. **LWT**, v. 89, p. 496-502, 2018.
- FOSCHIA, M.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A.; BRENNAN, M. A.; BRENNAN, C. S. How combinations of dietary fibres can affect physicochemical characteristics of pasta. **LWT-Food Science and Technology**, v. 61, n. 1, p. 41-46, 2015.
- FRADIQUE, M.; BATISTA, A. P.; NUNES, M. C.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; RAYMUNDO, A. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1656-1664, 2010.
- FRYDENBERG, R. P.; HAMMERSHØJ, M.; ANDERSEN, U.; GREVE, M. T.; WIKING, L. Protein denaturation of whey protein isolates (WPIs) induced by high intensity ultrasound during heat gelation. **Food Chemistry**, v. 192, p. 415–423, 2016.
- GARIB, Carolina Costa. **Alimentação balanceada: uma proposta alternativa de merenda escolar**. 2002. 82p. Dissertação (mestrado em Engenharia de Produção). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, UFSC, Florianópolis.
- GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, n. 1, p. 1–14, 2006.
- GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n. 3, p. 213–224, 1999.
- GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, p. 335-357, 2002.
- GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods: A review. **Acta Biochimica Polonica**, v. 52, p. 665–671, 2005.
- GRANATO, D.; NUNES, D. S.; BARBA, F.J. An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62, p.13-22, 2017.
- GUERRA-ROSAS, M. I.; MORALES-CASTRO, J.; OCHOA-MARTÍNEZ, L. A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; MARTÍN-BELLOSO, O. Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 438-446, 2016.
- GUERREIRO, LILIAN. **Dossiê técnico: massas alimentícias**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro – REDETEC, set. 2006.

GULL, A.; PRASAD, K.; KUMAR, P. Nutritional, antioxidant, microstructural and pasting properties of functional pasta. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2016.

GULREZ, S. K. H.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O. Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications. **Progress in Molecular and Environmental Bioengineering**, v. 51, p. 117–150, 2003.

GUTKOSKI, L. C.; ANTUNES, E.; ROMAN, I. T. Avaliação do grau de extração de farinhas de trigo e de milho em moinho tipo colonial. **Boletim Ceppa**, Curitiba, v. 17, n.2, p. 153-166, 1999.

GUTKOSKI, L. C.; FILHO, O. R.; TROMBETTA, C. Correlação entre o teor de proteínas em grãos de trigo e a qualidade industrial das farinhas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 1, 2002.

HABIB, M. A. B.; PARVIN, M.; HUNTINGTON, T. C.; HASAN, M. R. A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2008.

HAGER, A.-S.; CZERNY, M.; BEZ, J.; ZANNINI, E.; ARENDT, E. K. Starch properties, in vitro digestibility and sensory evaluation of fresh egg pasta produced from oat, teff and wheat flour. **Journal of Cereal Science**, v. 58, n. 1, p. 156–163, 2013.

HE, Y.; ZHANG, N.; GONG, Q.; QIU, H.; WANG, W.; LIU, Y.; GAO, J. Alginate/graphene oxide fibers with enhanced mechanical strength prepared by wet spinning. **Carbohydrate polymers**, v. 88, n. 3, p. 1100-1108, 2012.

HENG, P. W. S.; CHAN, L. W.; WONG, T. W. Formation of alginate microspheres produced using emulsification technique. *Journal of microencapsulation*, v. 20, n. 3, p. 401-413, 2003.

HENRY, R. J.; RANGAN, P.; FURTADO, A. Developing Cereals Acceptable to Consumers for Production in New and Variable Climates. **Procedia Environmental Sciences**, v. 29, p. 9–10, 2015.

HOSENEY, C. **Principles of cereal science and technology** (pp. 269–274). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists, p. 269-274, 1999.

HOSENEY, R. C.; ROGERS, D. E. The formation and properties of wheat flour doughs. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 29, n. 2, p. 73–93, 1990.

HYGREEVA, D.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA, K. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 47-57, 2014.

IAMETTI, S.; DONNIZZELLI, E.; PITTIA, P.; ROVERE, P. P.; SQUARCINA, N.; BONOMI, F. Characterization of High-Pressure-Treated Egg Albumen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 9, p. 3611–3616, 1999.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Agrícola: janeiro de 2016. p. 12, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>>. Acesso em: 05 abr. 2018.

- Instituto Adolfo Lutz (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005, 1020 p.
- ISMAIEL, M. M. S.; EL-AYOUTY, Y. M.; PIERCEY-NORMORE, M. Role of pH on antioxidants production by *Spirulina (Arthrospira) platensis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 298–304, 2016.
- ISMAIEL, M. M. S.; EL-AYOUTY, Y. M.; PIERCEY-NORMORE, M. Role of pH on antioxidants production by *Spirulina (Arthrospira) platensis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 298–304, 2016.
- JAGTAP, S. B.; MOHAN, M. S.; SHUKLA, P. G. Improved performance of microcapsules with polymer nanocomposite wall: Preparation and characterization. **Polymer**, v. 83, p. 27–33, 2016.
- JESPERSEN, L.; STROMDAHL, L. D.; OLSEN, K.; SKIBSTED, L. H. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. **European Food Research and Technology**, v. 220, n. 3–4, p. 261–266, 2005.
- JI, I.; SEETHARAMAN, K.; WHITE, P. J. Optimizing a small-scale corn starch extraction method for use in laboratory. **Cereal Chemistry**, v.1, n. 81, p. 55-58, 2004.
- KAUR, N.; SINGH, D. P. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. **Appetite**, v. 112, p. 167-187, 2017.
- KHADIRAN, T.; HUSSEIN, M. Z.; ZAINAL, Z.; RUSLI, R. Encapsulation techniques for organic phase change materials as thermal energy storage medium: A review. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, v. 143, p. 78–98, 2015.
- KHAN, I.; YOUSIF, A.; JOHNSON, S. K.; GAMLATH, S. Effect of sorghum flour addition on resistant starch content, phenolic profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta. **Food research international**, v. 54, n. 1, p. 578-586, 2013.
- KILL, R. C.; TURNBULL, K. (EDS.). **Pasta and semolina technology**. Malden, MA: Blackwell Science, 2007.
- KIM, W. T.; CHUNG, H.; SHIN, I. S.; YAM, K. L.; CHUNG, D. Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 4, p. 566-573, 2008.
- KIM, W. T.; CHUNG, H.; SHIN, I. S.; YAM, K. L.; CHUNG, D. Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n.4, p. 566-573, 2008.
- KOO, S. Y.; CHA, K. H.; SONG, D-G.; CHUNG, D.; PAN, C-H. Microencapsulation of peppermint oil in an alginate-pectin matrix using a coaxial electrospray system. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 733–739, 2014.
- LEE, B. H. **Fundamentals of food biotechnology**. 2 edição, página 120, capítulo 1, editora: Wiley Blackwell, 2014.

- LEE, D. W.; HWANG, S. J.; PARK, J. B.; PARK, H. J. Preparation and release characteristics of polymer-coated and blended alginate microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, p. 179 – 192, 2003.
- LEMES, A. C.; TAKEUCHI, K. P.; DE CARVALHO, J. C. M.; DANESI, E. D. G. Fresh pasta production enriched with *Spirulina platensis* biomass. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 5, p. 741–750, 2012.
- LÉON, A. E. **De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación em Iberoamérica**. Córdoba: Hugo Báez, 2007, 473p.
- LI, S.; WANG, X.; ZHANG, X.; YANG, R.; ZHANG, H.; ZHU, L.; HOU, X. Studies on alginate–chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits. **Journal of Controlled Release**, v. 84, p. 87–98, 2002.
- LI, S.; WEI, Y.; FANG, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, B. DSC study on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 1633-1638, 2014.
- LÓPEZ, A.; RICO, M.; RIVERO, A.; DE TANGIL, M. S. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 1104–1109, 2011.
- LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Release of yerba mate antioxidants from corn starch–alginate capsules as affected by structure. **Carbohydrate polymers**, v. 99, p. 150-157, 2014.
- LOZANO-VAZQUEZ, G.; LOBATO-CALLEROS, C.; ESCALONA-BUENDIA, H.; CHAVEZ, G.; ALVAREZRAMIREZ, J.; VERNON-CARTER, E. J. Effect of the weight ratio of alginate modified tapioca starch on the physicochemical properties and release kinetics of chlorogenic acid containing beads. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 301-311, 2015.
- MAESTRELLI, F.; MURA, P.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. L.; CÓZAR-BERNAL, M. J.; RABASCO, A. M.; MANNELLI, L. D. C.; GHELARDINI, C. Calcium alginate microspheres containing metformin hydrochloride niosomes and chitosomes aimed for oral therapy of type 2 diabetes mellitus. **International journal of pharmaceutics**, v. 530, n. 1-2, p. 430-439, 2017.
- MALUF, M. L. F.; WEIRICH, C. E.; DALLAGNOL, J. M.; SIMÕES, M. R.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R. Elaboração de massa fresca de macarrão enriquecida com pescado defumado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 84-90, 2010.
- MANDARINO, J. M. G. Componentes do trigo: características físico-químicas, funcionais e tecnológicas. Londrina, **Embrapa**, 1994. 36 p.
- MANSER, J. Optimale Parameter für die Teigwarenherstellung am Beispiel von Langwaren. **Getreide Mehl Brot**, 35, 75-83, 1981.
- MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S.; SHAHIDI, F. Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 2, p. 162–179, 2013.
- MARES, D.; MRVA, K. Late-maturity  $\alpha$ -amylase: Low falling number in wheat in the absence of preharvest sprouting. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 1, p. 6-17, 2008.



MENEZES, C. R. DE.; BARIN, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência rural**, v. 43, n. 7, p. 1309–1316, 2013.

MENEZES, E.; DELIZA, R.; CHAN, H. L.; GUINARD, J-X. Preferences and attitudes towards açai-based products among North American consumers. **Food Research International**, v. 44, 1997-2008, 2011.

MINGUITA, A. P. DA S.; CARVALHO, J. L. V. DE.; OLIVEIRA, E. M. M.; GALDEANO, M. C. Produção e caracterização de massas alimentícias a base de alimentos biofortificados: trigo, arroz polido e feijão carioca com casca. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1895–1901, 2015.

MÓDENES, A. N.; SILVA, A. M da; TRIGUEROS, D. E. G.. Avaliação das propriedades reológicas do trigo armazenado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 508-512, 2009.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles-a review. **Tropical journal of pharmaceutical research**, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

MORITA, N.; MAEDA, T.; MIYAZAKI, M.; YAMAMORI, M.; MIURA, H.; OHTSUKA, I. Dough and Baking Properties of High-Amylose and Waxy Wheat Flours. **Cereal Chemistry**. v. 79, p. 491–495, 2002.

MORTARI, L. **Encapsulação da microalga *Spirulina platensis* e utilização no desenvolvimento de sorvete**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo/RS, 2018.

MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods: marketing and R&D approaches**. Food & Nutrition Press, Inc., 1983.

NAJAFI-SOULARI, S.; SHEKARCHIZADEH, H.; KADIVAR, M. Encapsulation optimization of lemon balm antioxidants in calcium alginate hydrogels. **Journal of Biomaterials science, Polymer edition**, v. 27, n. 16, p. 1631-1644, 2016.

NASCIMENTO, I. S. B. 2008. **Partição de glutenina de farinha de trigo especial em sistemas aquosos bifásicos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA, 2008.

NEDOVIC, V.; KALUSEVIC, A.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; BUGARSKI, B. **An overview of encapsulation technologies for food applications**. Procedia Food Science, 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11). v. 1, p. 1806–1815, 2011.

NESIC, A.; ONJIA, A.; DAVIDOVIC, S.; DIMITRIJEVIC, S.; ERRICO, M. E.; SANTAGATA, F.; MALINCONICO, M. Design of pectin-sodium alginate based films for potential healthcare application: Study of chemico-physical interactions between the components of films and assessment of their antimicrobial activity. **Carbohydrate polymers**, v. 157, p. 981-990, 2017.

NEVES, L. C. M. 2003. Obtenção da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase utilizando *Saccharomyces cerevisiae* W303-181. Dissertação (Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica). Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2003.

- NORDSTIERNA, L.; ABDALLA, A. A.; NORDIN, M.; NYDÉN, M. Comparison of release behaviour from microcapsules and microspheres. **Progress in Organic Coatings**, v. 69, n. 1, p. 49-51, 2010.
- OLIVIERO, T.; FOGLIANO, V. Food design strategies to increase vegetable intake: The case of vegetable enriched pasta. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 58–64, 2016.
- ORMENESE, R. DE C. S. C.; CHANG, Y. K. Macarrão de Arroz: Características de Cozimento e Textura em Comparação com o Macarrão Convencional e Aceitação pelo Consumidor. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 1, p. 91-97, 2003.
- ORMENESE, R. DE C. S. C.; MISUMI, L.; ZAMBRANO, F.; FARIA, E. V. DE. Influência do uso de ovo líquido pasteurizado e ovo desidratado nas características da massa alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 255–260, 2004.
- ÖZYURT, G.; USLU, L.; YUVKA, I.; GÖKDOĞAN, S.; ATCI, G.; AK, B.; IŞIK, O. Evaluation of the cooking quality characteristics of pasta enriched with *Spirulina platensis*. **Journal of Food Quality**, v. 38, n. 4, p. 268-272, 2015.
- 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.
- PAPAGEORGIU, S. K.; KOUVELOU, E. P.; FAVVAS, E. P.; SAPALIDIS, A. A.; ROMANOS, G. E.; KATSAROS, F. K. Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. **Carbohydrate research**, v. 345, n. 4, p. 469-473, 2010.
- PATEL, H.; ABOUGHALY, M. H. H.; SCHRYER-PRAGA, J.; CHADWICK, K. The effect of ionotropic gelation residence time on alginate cross-linking and properties. **Carbohydr. Polymers**, v. 155, p. 362–371, 2017.
- PATIL, J.S.; KAMALAPUR, M.V.; MARAPUR, S.D.; KADAM, D.V. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to design hydrogel particulate 10 sustained, modulated drug delivery system: a review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v.5, n.1, p.241 – 248, 2010.
- PAUCAR-MENACHO, L. M.; DA SILVA, L. H.; BARRETTO, P. A. DE A.; MAZAL, G.; FAKHOURI, F. M.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Desenvolvimento de massa alimentícia fresca funcional com a adição de isolado protéico de soja e povidona utilizando pàprica como corante. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 767–778, 2008.
- PEPPAS, N. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27–46, 3 jul. 2000.
- POLK, A.; AMSDEN, B.; DE YAO, K.; PENG, T.; GOOSEN, M. F. A. Controlled Release of Albumin from Chitosan-Alginate Microcapsules. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, N. V. 83, p. 178-185, 1994.
- POTHAKAMURY, U.; R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in food science & technology**, v. 6, n. 12, p. 397-406, 1995.

PRABHASANKAR, P.; GANESAN, P.; BHASKAR, N.; HIROSE, A.; STEPHEN, N.; GOWDA, L. R.; HOSOKAWA, M.; MIYASHITA, K. Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 501–508, 2009.

QIAN, R. Q.; GLANVILLE, R. W. **Methods for purifying chitosan**. US Pat. 6,896,809 B2, 24 maio 2005.

RAJINIKANTH, P.; SANKAR, C.; MISHRA, B. Sodium alginate microspheres of metoprolol tartrate for intranasal systemic delivery: development and evaluation. **Drug delivery**, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2003.

RANGEL-YAGUI, C. DE O.; DANESI, E. D. G.; DE CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 2, p. 133–141, 2004.

RASPER, V. F. Quality Evaluation of Cereal Products. **Handbooks of Cereal Science and Technology**, p. 595- 638, 1991.

RE, R.; PELEGRINE, N. PROTEGGENTE, A; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

REDDY, M. C.; SUBHASHINI, J.; MAHIPAL, S. V.; BHAT, V. B.; SRINIVAS, P. R.; KIRANMAI, G.; MADYASTHA, K. M.; REDDANNA, P. C-Phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 304, n. 2, p. 385–392, 2003.

REN, Y.; XIE, H.; LIU, X.; YANG, F.; YU, W.; MA, X. Tuning the formation and stability of microcapsules by environmental conditions and chitosan structure. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 9, p. 1090-1100, 2016.

RIBEIRO, A. J.; SILVA, C.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 25, p.31-40, 2005.

RIZZO, A. M.; PRUSSI, M.; BETTUCCI, L.; LIBELLI, I. M.; CHIARAMONTI, D. Characterization of microalga *Chlorella* as a fuel and its thermogravimetric behavior. **Applied energy**, v. 102, p. 24-31, 2013.

ROCHA, W. S.; GROSSO, C. R. F. Permeação de solutos de diferentes massas moleculares de cálcio e acetofitalato de celulose. **Sitientibus**, n. 35, p. 125-148, 2006.

ROMERO GARCÍA, J. M.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M. Development of a process for the production of l-amino-acids concentrates from microalgae by enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 164–170, 2012.

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

SÁNCHEZ, F. M.; GARCÍA, F.; CALVO, P.; BERNALTE, M. J.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response



surface methodology. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 34, p. 243–249, 2016.

SANTIAGO-SANTOS, M. C.; PONCE-NOYOLA, T.; OLVERA-RAMÍREZ, R.; ORTEGA-LÓPEZ, J.; CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. Extraction and purification of phycocyanin from *Calothrix* sp. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 12, p. 2047–2052, 2004.

SARADA, R.; PILLAI, M. G.; RAVISHANKAR, G. A. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. **Process Biochemistry**, v. 34, n. 8, p. 795–801, 1999.

SCHEUER, P. M.; DE FRANCISCO, A.; DE MIRANDA, M. Z.; LIMBERGER, V. M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v. 13, p. 211–222, 2011.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757–781, 2015.

SHINDE, A.; GANU, J.; NAIK, P. Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. **Journal of Dental and Allied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 63, 2012.

SIKORSKI, P.; MO, F.; SKJAK-BRAEK, G.; STOKKE, B. T. Evidence for egg-box-compatible interactions in calcium-alginate gels from fiber X-ray diffraction. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 2098–2103, 2007.

SILVA, L. A. **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis***. 2008. 22 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SILVA, R. F. da; ASCHERI, J. L. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; MODESTA, R. C. D.; Aceitabilidade de biscoitos e bolos à base de arroz com café extrusados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 29, n. 4, p. 815-819, 2009.

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

SISSONS, M. Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. **Food**, v. 2, n. 2, p. 75-90, 2008.

SOUZA, F. T.; MARGARITES, A. C.; COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E. Avaliação do potencial antioxidante da ficocianina em sistema lipídico óleo de soja e azeite de oliva. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 3, p. 275–279, 2006.

SOZER, N.; DALGIC, A. C.; KAYA, A. Thermal, textural and cooking properties of spaghetti enriched with resistant starch. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 2, p. 476-484, 2007.

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

STEWART, M. B.; GRAY, S. R.; VASILJEVIC, T.; ORBELL, J. D. Exploring the molecular basis for the metal-mediated assembly of alginate gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 246–253, 2014.

SU, C.-H.; LIU, C.-S.; YANG, P.-C.; SYU, K.-S.; CHIUH, C.-C. Solid–liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors. **Separation and Purification Technology**, v. 123, p. 64–68, 2014.

SUGANYA, K. U.; GOVINDARAJU, K.; KUMAR, V. G.; DHAS, T. S.; KARTHICK, V.; SINGARAVELU, G.; ELANCHEZHIAN, M. Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. **Materials Science and Engineering: C**, v. 47, p. 351-356, 2015.

SUN, P.; ZENG, M.; HE, Z.; QIN, F.; CHEN, J. Controlled Release of Fluidized Bed-Coated Menthol Powder with a Gelatin Coating. **Drying Technology**, v. 31, n. 13–14, p. 1619–1626, 2013.

TAKEMOTO, E.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Validation of methodology for the simultaneous determination of synthetic antioxidants in vegetables oils, margarine and vegetables hydrogenated fats by HPLC/UV. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189–1194, 2009.

TATESHITA, K.; SUGAWARA, S.; IMAI, T.; OTAGIRI, M. Preparation and evaluation of a controlled-release formulation of nifedipine using alginate gel beads. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 16, n. 4, p. 420-424, 1993.

TELLO-IRELAND, C.; LEMUS-MONDACA, R.; VEJA-GÁLVEZ, A.; LÓPEZ, J.; DI SCALA, K. Influence of hot-air temperature on drying kinetics, functional properties, colour, phycobiliproteins, antioxidant capacity, texture and agar yield of alga *Gracilaria chilensis*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2112–2118, 2011.

TOLEDO, A. M. N.; SOUZA SOARES, L. A. Bionanopartículas: principais aspectos e aplicações da matéria orgânica em escala nanométrica. **HOLOS**, v. 1, p. 340, 2016.

TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Alginate in Drug Delivery Systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 621–630, 2002.

TORRES, M. A.; VIEIRA, R. S.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros**, v. 15, n. 4, p. 306–312, 2005.

TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 169-176, 2000.

TUDORICA, C. M.; KURI, V.; BRENNAN, C. S. Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 2, p. 347-356, 2002.

URBANO, A. P. A. 2004. **Microencapsulação de fármacos peptídicos em pectina pelo método de emulsificação/gelificação interna**. Albumina como fármaco modelo. Dissertação (Mestrado em Farmácia, Área farmacocência e Biogalênica), Universidade de Coimbra, Coimbra, 2004.

- VAHOUNY, G. V.; SATCHITHANANDAM, S.; CASSIDY, M. M.; LIGHTFOOT, F. B.; FURDA, I. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 38, n. 2, p. 278–284, 1983.
- VICINI, S.; CASTELLANO, M.; MAURI, M.; MARSANO, E. Gelling process for sodium alginate: New technical approach by using calcium rich micro-spheres. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 767–774, 2015.
- VONSHAK, A. **Spirulina Platensis Arthrospira: Physiology, Cell-Biology And Biotechnology**. CRC Press, 1997.
- VONSHAK, A.; TOMASELLI, L. **Arthrospira (Spirulina): Systematics and Ecophysiology**. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds.). *The Ecology of Cyanobacteria*. Springer Netherlands, p. 505–522, 2000.
- WANG, L.; PAN, B.; SHENG, J.; XU, J.; HU, Q. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, v. 105, n. 1, p. 36–41, 2007.
- WÓJTOWICZ, A.; MOŚCICKI, L. Influence of legume type and addition level on quality characteristics, texture and microstructure of enriched precooked pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1175–1185, 2014.
- WÜRTH, R.; FOERST, P.; KULOZIK, U. Development and evaluation of a spray drying microencapsulation process for water-insoluble milk protein capsules. **International Dairy Journal**, v. 61, p. 99–106, 2016.
- YAN, M.; LIU, B.; JIAO, X.; QIN, S. Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, n. 1, p. 89–97, 2014.
- YAO, K. D.; TU, H.; CHENG, F.; ZHANG, J. W.; LIU, J. pH-sensitivity of the swelling of a chitosan-pectin polyelectrolyte complex. **Die Angewandte Makromolekulare Chemie**, v. 245, p. 63–72, 1997.
- YASHIN, A.; YASHIN, Y.; WANG, J.; NEMZER, B. Antioxidant and antiradical activity of coffee. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 230–245, 2013.
- ZARDETTO, S.; DALLA ROSA, M. Effect of extrusion process on properties of cooked, fresh egg pasta. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 1, p. 70–77, 2009.
- ZOHAR-PEREZ, C.; CHET, I.; NUSSINOVITCH, A. Irregular textural features of dried alginate–filler beads. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 249–258, 2004.
- ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. New York, NY: Springer-Verlag New York, 2010.



## APÊNDICE A – Artigo científico

### ENCAPSULAÇÃO DA MICROALGA *Spirulina sp.* PARA INCORPORAÇÃO EM MASSA ALIMENTÍCIA FRESCA

#### RESUMO

Produtos à base de cereais, como as massas frescas, são opções de alimentos comuns, apropriados para a incorporação de ingredientes funcionais, devido à sua conveniência, palatabilidade e por serem consumidas por pessoas de todas as idades e de vários lugares. Nos últimos anos, diversos ingredientes foram utilizados na produção de massas frescas para melhorar e/ou conferir propriedades funcionais. As microalgas estão se tornando uma alternativa promissora para aplicação em alimentos, pois são capazes de melhorar o conteúdo nutricional e agregar valor funcional aos alimentos. A *Spirulina sp.* se destaca entre as microalgas, por ser segura para o consumo, apresentar composição química equilibrada, com elevado teor proteico, vitaminas, antioxidantes devido à presença da ficocianina e compostos fenólicos, mas por outro lado, ao ser submetida a temperaturas elevadas, afeta a sua capacidade antioxidante. Uma forma de assegurar as propriedades da *Spirulina* é através da microencapsulação da sua biomassa com uma cápsula insolúvel em água antes de adicioná-la na massa fresca de forma que não modifique as características sensoriais desejadas deste produto. Desta forma, objetivou-se estudar o comportamento da microcápsula com *Spirulina platensis* para adição em massa fresca. A formação de uma microesfera com alginato de sódio e cloreto de cálcio conseguiu aprisionar maior quantidade de *Spirulina* em relação aos sólidos totais, proporção 1:1. Apresentou baixa solubilidade em água. Além disso, esta microesfera conseguiu proteger os antioxidantes da *Spirulina sp.* ao ser submetida ao tratamento térmico. Este estudo mostrou que a microesfera de alginato de cálcio com *Spirulina sp.* é indicada para aplicar em alimentos que consistem na cocção em água, como no caso, a massa fresca.

**PALAVRAS CHAVE:** *Spirulina sp.* antioxidantes. Microencapsulação

#### ABSTRACT

Cereal products, such as fresh pasta, are common food options suitable for the incorporation of functional ingredients because of their convenience, palatability and being consumed by people of all ages and from various places. In recent years, various ingredients have been used in the production of fresh pasta to improve and / or confer functional properties. Microalgae are becoming a promising alternative for food application because they are able to improve nutritional content and add functional value to food. *Spirulina sp.* It is notable among microalgae, because it is safe for consumption, presenting a balanced chemical composition, with high protein content, vitamins, antioxidants due to the presence of phycocyanin and phenolic compounds, but on the other hand, when subjected to high temperatures, affects its antioxidant capacity. One way of ensuring the properties of *Spirulina* is by microencapsulating its biomass with a water-insoluble capsule before adding it to the fresh mass so as not to modify the desired sensory characteristics of this product. The objective of this study was to study the behavior of the microcapsule with *Spirulina platensis* for fresh mass addition. The formation of a microsphere with sodium alginate and calcium chloride was able to trap more *Spirulina* in relation to the total solids, ratio 1: 1. It presented low

solubility in water. In addition, this microsphere has been able to protect the antioxidants of *Spirulina sp.* when subjected to the heat treatment. This study showed that the calcium alginate microsphere with *Spirulina sp.* is indicated to apply in foods that consist of cooking in water, as in the case, the fresh mass.

KEYWORDS: *Spirulina sp.* Antioxidants. Microencapsulation.

## 1 INTRODUÇÃO

A massa é considerada, em todo o mundo, um alimento popular básico. Consumida pelo seu baixo custo e fácil preparo (BIERNACKA et al., 2017). É produzida com a sêmola de trigo, tendo como principal ingrediente, a farinha de trigo. Apresenta elevado teor de carboidratos complexos, tornando-a uma boa fonte de energia na nutrição humana (ARANIBAR et al., 2018).

A massa é tradicionalmente fabricada usando apenas farinha de trigo duro, mas nos últimos anos, os consumidores buscam por alimentos que não satisfaçam somente as suas necessidades nutricionais básicas, mas que apresentem também funcionalidade ou que tenham algum ingrediente alimentar que exerça um efeito benéfico na saúde do consumidor e/ou que reduza o risco de doenças crônicas.

Neste contexto, a incorporação de microalgas, tais como a *Spirulina*, é uma alternativa, já que pode ser usada como ingrediente alimentar funcional em uma variedade de produtos alimentares. A microalga *Spirulina* é considerada segura para o consumo (BELAY et al., 1993), apresenta elevado teor proteico (46 % a 63 %) (BECKER, 2007), vitaminas, minerais (BELAY et al., 1993), além de ser considerada uma boa fonte de antioxidantes naturais, como os pigmentos solúveis em água, a ficocianina e os compostos fenólicos (ISMAIEL; EL-AYOUTY; PIERCEY-NORMORE, 2016), Entretanto, a adição da biomassa de *Spirulina* em alimentos que necessitam de aquecimento para o preparo, como a massa fresca, é um desafio, visto que os antioxidantes naturais são termoinstáveis ao serem submetidos a elevadas temperaturas (TELLO-IRELAND et al., 2011).

Uma alternativa para proteger os antioxidantes da *Spirulina* é através da técnica de microencapsulação, utilizando agentes encapsulantes insolúveis em água, devido a cocção da massa em água. A técnica de gelificação iônica, para formação das microesferas, é muito utilizada, visto que a solução de alginato de sódio, contendo o material que deseja proteger, é atomizada em uma solução de cátions divalentes, tais como o cloreto de cálcio (LUPPO et al., 2014).

Este estudo tem como objetivo desenvolver e caracterizar as microesferas de alginato de cálcio carregadas com *Spirulina* por gelificação iônica para possível aplicação em massas frescas. Foram avaliados a eficiência de encapsulação, tamanho e forma das microesferas, FTIR, TGA e estabilidade do potencial antioxidante.

## 2 MATERIAIS

O alginato de sódio (viscosidade média) foi adquirido da Vetec, o cloreto de sódio da Merck. A biomassa seca da microalga *Spirulina sp.* comercial (qingdao sunrise biotechnology co. ltd). Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

## 3 MÉTODOLOGIA

### 3.1 Preparo das microcápsulas

A fim de obter suspensões com uma distribuição homogênea, a *Spirulina* (3,7 g) foi adicionada na solução de alginato de sódio (1,5% p/v). A solução foi preparada por dissolução em água destilada a 24 °C. A diluição foi deixada agitar a 200 rpm em um agitador magnético durante a noite. Posteriormente a adição da *Spirulina*, agitou-se por 30 min antes de atomizar a mistura em cloreto de cálcio (1,1%) utilizando o extensor do bico do *Spray-dryer* (LM MSD 1.0). Em seguida, as microcápsulas foram filtradas, lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL) e liofilizadas.

### 3.2 Caracterização das microcápsulas

#### 3.2.1 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação da microcápsula foi calculada, através de um balanço de massa, por quantificação de proteínas, que tem como objetivo comprovar a presença de proteínas na biomassa de *Spirulina sp.* microencapsulada. Foi quantificada a proteína na *Spirulina* livre, nas microcápsulas com *Spirulina* e nas microcápsulas vazias.

A quantificação de proteína foi realizada pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995), utilizando o fator de conversão 6,25 para converter o valor de nitrogênio total em proteína bruta.

#### 3.2.2 Solubilidade

A solubilidade das microcápsulas foi determinada de acordo com Eastman e Moore (1984) e citado por Cano-Chauca et al. (2005) com modificações da solubilidade das cápsulas voltadas para o cozimento da massa. Esta metodologia consistiu na mistura de 0,5 g das



cápsulas em 50 mL de água destilada. As microcápsulas foram adicionadas somente quando a água entrou em ebulição por 5 min. Posteriormente, essa solução foi arrefecida até temperatura ambiente, centrifugada a 6800 rpm por 15 min, sendo coletados 12,5 mL do sobrenadante e adicionados em cadinho de porcelana previamente pesado e tarado, mantendo em estufa a 105 °C, até a evaporação completa da água.

O percentual de solubilidade foi calculado de acordo com a equação 1.

$$\% \text{ de solubilidade} = \left( \frac{(\text{gramas de sólidos em 12,5 mL de solução}) * 4}{\text{massa da amostra}} \right) * 100 \quad (1)$$

### 3.2.3 Estabilidade da microcápsula frente ao tratamento térmico em água

A microcápsula foi submetida a tratamento térmico a 100°C durante 5 min, a fim de verificar o efeito da proteção da encapsulação sobre o potencial antioxidante da *Spirulina sp.*. Este tratamento térmico corresponde ao tempo de cozimento da massa fresca. O potencial antioxidante foi avaliado utilizando o ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico (ABTS) como um radical livre, de acordo com o método descrito por Re et al. (1999), a partir de extratos aquosos.

Para tal, foram utilizadas amostras de *Spirulina* comercial seca em pó (*Spirulina* livre – 0,7 g) e encapsulada (esferas contendo *Spirulina* – 1 g), sendo que as microcápsulas foram de acordo como a eficiência de encapsulação.

A obtenção do extrato aquoso foi executado de acordo com López-Córdoba, Deladino e Martino (2014), com pequenas modificações. As suspensões de *Spirulina* e as esferas de *Spirulina* com água foram colocadas em um agitador orbital (IAOH 125 P.H.D), a 140 rpm, durante 20 h a 37 °C, posteriormente foram submetidos a 3 ciclos de congelamento/descongelamento, sendo que 1 ciclo correspondeu a 3 h congelando e 3 h descongelando. Enquanto que o tratamento térmico das amostras foi realizado antes de colocá-las no agitador orbital por 20 h. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 5000 rpm e filtradas para a determinação do potencial antioxidante.

### 3.2.4 Perfil de liberação das microcápsulas

O estudo do perfil de liberação foi conduzido com 1 g de amostra de *Spirulina* livre e encapsulada (de acordo com a eficiência de encapsulação) em 100 mL de fluido gastrointestinal simulado. O método foi de acordo com Najafi-Soulari, Shekarchizadeh e Kadivar (2016), onde as amostras foram colocadas em solução de ácido clorídrico 0,1 M com



pH ajustado para 1,2 como meio de fluido gástrico simulado. O fluido intestinal foi simulado colocando as amostras em contato com o tampão fosfato de sódio pH 7,5. Os fluidos com suas respectivas amostras foram incubados a 37 °C sob agitação constante a 100 rpm. Foram retiradas amostras para determinar a concentração de ficocianina em intervalos de 60 min.

### 3.2.5 Análise morfológica

A morfologia das microcápsulas e da *Spirulina* pura foi avaliada pelo microscópio eletrônico de varredura (MEV) Tescan – Vega 3 LM.

### 3.2.6 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

A biomassa da *Spirulina sp.*, as microcápsulas vazias e com *Spirulina* foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (Perkin Elmer FT-IR Spectrum Bx ATR). Os espectros obtidos por infravermelho das micropartículas foram avaliados frente aos espectros da *Spirulina sp.*, cápsulas vazias e a *Spirulina* microencapsulada.

### 3.2.7 Termogravimetria

As curvas termogravimétricas da *Spirulina sp.*, das cápsulas vazias e das microcápsulas com *Spirulina* foram obtidas em um TGA 60 Shimadzu. As condições de análise foram as seguintes: massa da amostra aproximadamente 5,0 mg; atmosfera da câmara, ar sintético na vazão de 100 mL/min, razão de aquecimento 10 °C/min, com faixa de temperatura de 30 a 600 °C (AGGARWALL; DOLLIMORE, 1998).

### 3.2.8 Tamanho das partículas

As amostras secas de *Spirulina* livre, esferas vazias e a *Spirulina* microencapsulada foram dispersas em água filtrada para medir as distribuições de tamanho de partícula e avaliou-se o potencial zeta destas.

## 3.3 Elaboração da massa fresca

As formulações das massas frescas tipo talharim foram produzidas no laboratório de panificação da Universidade de Passo Fundo, de acordo com a Tabela 1. As massas foram formuladas de acordo com o limite de ingestão diária de *Spirulina platensis* permitido pelo FDA, por porção de massa fresca (100 g).

Tabela 1 – Proporção de *Spirulina* nas formulações das massas frescas tipo talharim.

Formulação	Especificação
1	Farinha de trigo
2	Farinha de trigo + cápsulas vazias
3	Farinha de trigo + 3,0 g <i>Spirulina platensis</i>
4	Farinha de trigo + 3,0 g <i>Spirulina platensis</i> microencapsulada

Fonte: O Autor (2016).

A massa foi produzida de acordo com as proporções descritas por Pagnussatt et al. (2014), com algumas modificações. Foi utilizado 0,1 g de Estearoil - 2 lactil lactato de sódio (SSL), 5 g de ovo pasteurizado, 100 g de farinha de trigo, 0,002 g de sorbato de potássio e *Spirulina* livre, encapsulada e as esferas vazias foram adicionadas de acordo com o delineamento da Tabela 1. Foi adicionada água suficiente para se obter o teor de umidade final de 32%. Os ingredientes foram misturados por 15 min em um misturador vertical (Kitchen Aid, USA). Em seguida, a mistura foi processada em uma extrusora (Pastaia I Italvisa, Brasil) para obter o formato da massa tipo talharim.

### 3.3.1 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada com 50 consumidores, estes receberam as amostras das 4 formulações de massa fresca tipo talharim (controle, esferas vazias, *Spirulina* encapsulada e *Spirulina* livre), de forma monádica, aleatorizadas e codificadas, utilizando luz branca, e uma ficha para avaliar a aceitabilidade e a intenção de consumo. Entre cada amostra, foi disponibilizada água para os participantes realizarem a limpeza da cavidade oral.

O teste de aceitabilidade foi aplicado utilizando uma escala hedônica, balanceada com o mesmo número de categorias positivas e negativas para que o consumidor pudesse expressar o quanto gostou ou desgostou da amostra. A consideração de aceitabilidade da amostra foi com índice de aceitabilidade igual ou superior a 70% (DUTCOSKY, 1996).

O teste de atitude de consumo foi proposto para avaliação da intenção de consumo das massas frescas, se a mesma estivesse disponível ao consumidor (DUTCOSKY, 1996). O teste foi realizado através de uma escala de sete pontos, na qual os consumidores assinalaram a intenção de consumo do produto que mais lhe agradava.

### 3.4 Tratamento dos dados

Os resultados da *Spirulina* livre, esferas vazias e a *Spirulina* microencapsulada, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95% para avaliar comportamento da biomassa microencapsulada, com exceção da análise morfológica, termogravimetria e avaliação por espectroscopia na região do infravermelho. Quanto a análise sensorial, o índice de aceitabilidade foi calculado para todos os atributos avaliados. Os resultados das 4 formulações de massas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95 %.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Eficiência de encapsulação

O alginato de sódio geralmente é utilizado como matriz, porque ele sofre gelificação rápida na presença de íons cálcio (LI et al., 2002). A vantagem da esfera de alginato de sódio e cloreto de cálcio na proporção 1:1 em relação aos sólidos, é que no momento de adicionar na massa fresca, terá menor quantidade de material de parede, já que estas esferas podem ter um sabor desagradável em virtude do alginato ser oriundo de algas e o cloreto pode deixar um residual amargo, o que diminuiria a aceitabilidade do produto pelo consumidor.

Por se tratar de uma microalga com 55% de proteína (Tabela 2), encapsulada com um material de parede não proteico, realizou-se a eficiência de encapsulação por proteína.

Tabela 2 – Quantificação de proteína das amostras.

Amostra	Proteína em base seca (%)
<i>Spirulina sp.</i>	55,18±0,57
<i>Spirulina</i> microencapsulada	34,34±0,09
Esfera vazia	0,60±0,06

Teoricamente, para 1 g de esfera com *Spirulina*, 0,71 g da esfera é *Spirulina* e 0,29 g é encapsulante. Então, com base no teor de proteína, a *Spirulina* microencapsulada deveria ter 39 % de proteína, logo, a eficiência de encapsulação é 87,66 %. Diante disso, 1 g de esfera com *Spirulina* tem 0,62 g de *Spirulina* na esfera. Portanto, este resultado mostra que a microencapsulação da *Spirulina sp.* utilizando o bico atomizador do *spray dryer* mostrou-se eficiente. Isso indica que é possível aprisionar maior quantidade de *Spirulina* em menor teor de sólidos. No caso da proporção 1:1, poderia otimizar essa eficiência através do aumento do volume da solução de cloreto de cálcio 1,1% e/ou aumentar a concentração da solução.

## 4.2 Solubilidade

O alginato de sódio é solúvel em água, mas ao gotejar em uma solução com cátions divalentes torna-se insolúvel (EL-GHAFFAR et al., 2012).

A solubilidade das microcápsulas em água é um fator essencial, visto que pode possibilitar a inserção dessas em diferentes produtos alimentícios (BENDER et al., 2016). Neste caso, é um fator muito importante já que as microcápsulas serão aplicadas na massa e o preparo desta consiste no cozimento em água. A microcápsula de *Spirulina* com alginato de cálcio apresentou  $8,64\% \pm 1,82$  de solubilidade. Esse teor obtido é considerado baixo e além do mais, ao incorporar a microcápsula na massa fresca, a estrutura da massa poderá ajudar a proteger esta microcápsula.

## 4.3 Estabilidade da microcápsula frente ao tratamento térmico em água

O tratamento térmico da *Spirulina* livre (Tabela 3) resultou em uma diminuição considerável do seu potencial antioxidante, se comparar com a *Spirulina* livre sem aquecimento, isso comprova que a ficocianina é termoinstável (TELLO-IRELAND et al., 2011), visto que a temperaturas acima de  $41\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a fração proteica desnatura-se, levando a mudanças na sua coloração (SILVEIRA et al., 2007).

Tabela 3 - Potencial antioxidante da *Spirulina* livre e microencapsulada antes e após o tratamento térmico.

Amostra	Sem aquecimento*	Com aquecimento*
<i>Spirulina</i>	$101,15 \pm 1,77^b$	$65,70 \pm 0,35^a$
Esfera de <i>Spirulina</i>	$93,66 \pm 3,18^a$	$73,19 \pm 1,06^a$

Legenda: \*Equivalente a mmol de trolox/g de *Sp.*; média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A composição do meio ao qual as microesferas estão inseridas tem efeito na taxa de liberação do material de interesse (ASSIFAOU; CHAMBIN; CAYOT, 2011). Os meios de liberação do núcleo que contem agentes quelantes, tais como sais de fosfato ou alta concentração de íons monovalentes (íons do citrato de sódio), estes tem a capacidade de trocar os reticulantes da microesfera, neste caso,  $\text{Ca}^{2+}$  pelos íons monovalentes, logo, desestabilizam as microesferas, contribuindo com a aceleração da liberação do material protegido (KIM et al., 2008).

A liberação do material ativo pode estar vinculada a reticulação, visto que o grau de ligação cruzada do alginato é influenciado pela concentração da solução de reticulação, bem como o tempo do tratamento (TATESHITA et al., 1993). Geralmente, quanto maior a

concentração da solução de  $\text{Ca}^{2+}$  e/ou quanto mais tempo à duração da etapa de reticulação, maior é o grau de reticulação ou ligação cruzada, logo, a liberação do material protegido será mais lenta (HENG; CHAN; WONG, 2003; RAJINIKANTH; SANKAR; MISHRA, 2003).

Neste contexto, o rompimento das esferas utilizando citrato seria o mais indicado, porém se submeter às microesferas sob aquecimento neste meio, a *Spirulina* seria liberada ao meio e não teria a proteção durante o aquecimento, prejudicando assim os seus antioxidantes. Em virtude disso foram feitos os estudos com métodos físicos para romper a esfera com *Spirulina*.

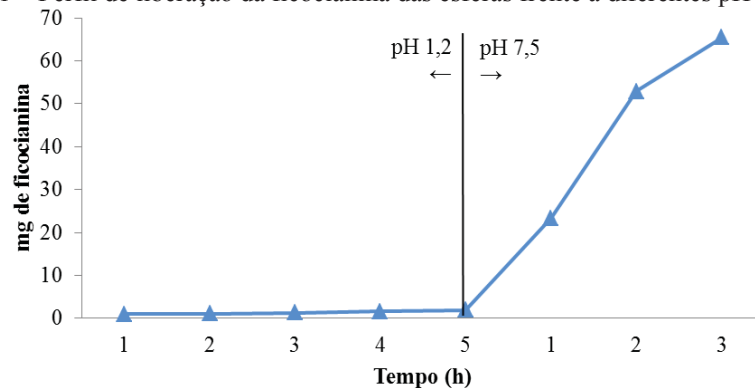
A esfera com *Spirulina* tem a finalidade de proteger os antioxidantes das condições ambientais, como neste caso a temperatura. Observa-se (Tabela 2) que não foi possível obter a total ruptura da esfera e/ou da parede celular da microalga com o método utilizado neste estudo. Se comparar o potencial antioxidante da *Spirulina* livre com o obtido nas esferas de *Spirulina*, ambos sem tratamento térmico deveriam apresentar valores próximos, logo, isso indica que tem efeito de barreira da esfera, para a extração.

No entanto, comparando a *Spirulina* livre sem tratamento térmico, apresentou 101,15 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina*, mas ao aquecer, caiu para 65,70 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina*. Isso significa que após o aquecimento, teve uma redução de 35% do potencial antioxidante. Enquanto que a esfera de *Spirulina*, sem tratamento térmico, apresentou 93,66 equivalente a mmol de trolox/g de *Spirulina*, e ao aquecer, reduziu para 73,19. Portanto, após o aquecimento, ocorreu uma perda de 21,8 % na *Spirulina* encapsulada em comparação com 35% na *Spirulina* não encapsulada. Diante disso, comprova-se que a esfera conseguiu proteger os antioxidantes da *Spirulina*, mostrando que esse tipo de microesfera é o indicado para adicionar em alimentos que consistem em cocção em água.

#### 4.4 Perfil de liberação das microcápsulas

A Figura 1, mostra o comportamento da microesfera nos pH's. Observou-se que as microesferas foram estáveis no fluido ácido, não liberando a ficocianina. Quando expostas ao pH 7,5, que simula o fluido intestinal, as microesferas se desintegram, apresentando liberação gradual do material núcleo. Este resultado é bem interessante, visto que o pigmento da ficocianina é sensível em meios ácidos, sendo que é extraído tons verdes em um pH mais baixo (FALKEBORG et al., 2018). De acordo com Chaiklahan, Chirasuwan e Bunnag (2012), a ficocianina é altamente solúvel em pH 7, mas é insolúvel em soluções ácidas. A pH 3,0, a ficocianina é desnaturada em 25%.

Figura 1 – Perfil de liberação da ficocianina das esferas frente a diferentes pH



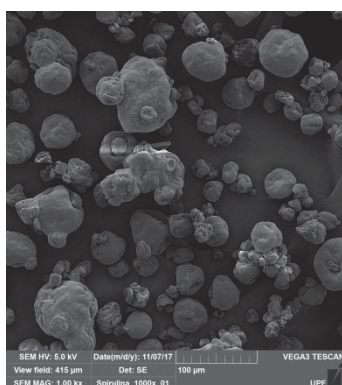
As esferas de alginato de cálcio são capazes de encolher em pH ácido, não liberando o material ativo e inchar em pH neutro ou básico, tornando-se poroso, ocorrendo por fim a dissolução da matriz do alginato de cálcio. Portanto, isso resulta na liberação do material ativo (GEORGE; ABRAHAM, 2006; PATEL et al., 2017). O efeito da elevada taxa de liberação inicial no pH 7,5 pode ser atribuído à presença de partículas de *Spirulina* aderidas na superfície das esferas, conforme observado na Figura 2, morfologia da *Spirulina* e das esferas. As microesferas de alginato de cálcio são instáveis na presença de moléculas quelantes de cátions tais como o fosfato, presente em fluidos biológicos (BLANDÓN et al., 2016). Isso leva a conclusão de que em pH básico, simulando o fluido intestinal, induziu a liberação da ficocianina das microesferas, uma vez que isso ocorre devido a substituição dos íons de cálcio das microesferas por íons de sódio, do tampão, esta troca iônica aumenta a liberação do composto, neste caso, a ficocianina (LEE et al., 2003; KIM et al., 2008).

#### 4.5 Análise morfológica

A Figura 2 apresenta as micrografias eletrônicas de varredura, exibem a forma e a morfologia superficial da *Spirulina sp.* comercial (a), bem como as esferas vazias (b) e com *Spirulina sp.* comercial (c). As depressões observadas nas partículas da biomassa de *Spirulina sp.* comercial (Figura 2 a) são características do processo de secagem em *spray drying* (TRINDADE; GROSSO, 2000).

As microesferas elaboradas foram liofilizadas, este processo remove a água das esferas ocasionando assim um enfraquecimento na estrutura da matriz, achatando as paredes e encolhendo as microesferas e podem levar até a formação de rachaduras (Figura 2 b) (ZOHAR-PEREZ; CHET; NUSSINOVITCH, 2004; ALVES et al., 2017).

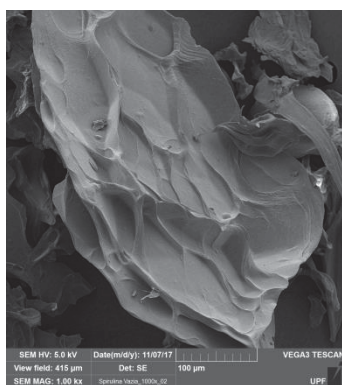


Figura 2 – Micrografia eletrônica da *Spirulina* e das esferas

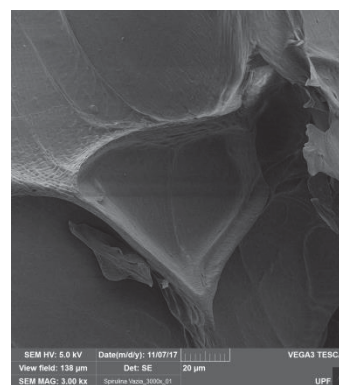
1000 x



3000 x

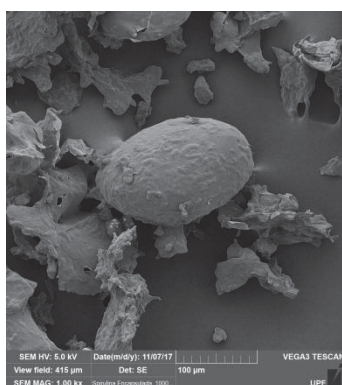
*Spirulina sp.* comercial (a)

1000 x

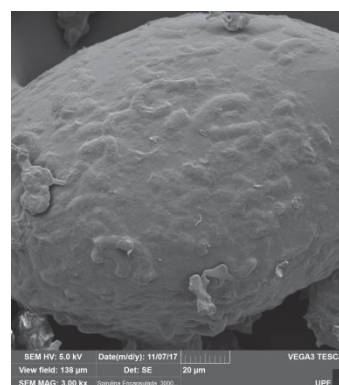


3000 x

Esfera vazia (a)



1000 x



3000 x

Esfera com *Spirulina sp.* comercial

A *Spirulina sp.*, além de ficar aprisionada no interior da microesfera, conforme a eficiência de encapsulação, também ficou incorporada na superfície da microesfera (Figura 2 c), isso pode ter ocorrido devido a migração da *Spirulina* junto com as moléculas da água durante o processo de liofilização (MAESTRELLI et al., 2017). O enchimento da matriz de

alginate de cálcio com *Spirulina* pode ter atuado também como suporte estrutural para controlar o encolhimento da matriz, como ocorreu nas esferas vazias. As microesferas apresentaram formato irregular, superfície enrugada, relativamente ásperas, que é característico deste tipo de sistema, devido ao colapso da matriz durante a etapa da secagem (CHAN et al., 2011).

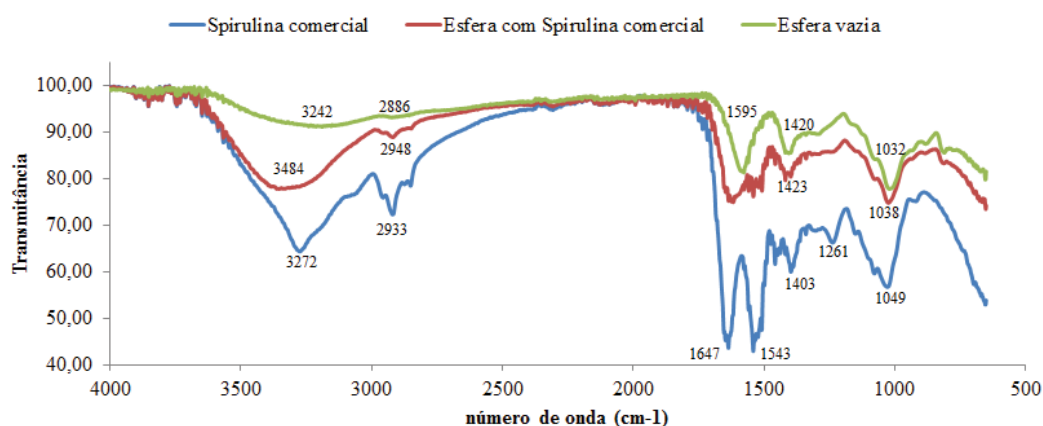
#### 4.6 Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

A Figura 3 apresenta a faixa de frequência de  $3500\text{ cm}^{-1}$  a  $3200\text{ cm}^{-1}$  que representam a vibração de estiramento O-H, indicando a presença de álcoois e fenóis. A banda observada a  $3272,60\text{ cm}^{-1}$  e  $2933,41\text{ cm}^{-1}$  da *Spirulina* são atribuídas à vibração de estiramento -NH de amina secundária (proteína) e grupos funcionais -OH (hidroxilo) presentes na proteína da *Spirulina*. As outras bandas,  $1647,48\text{ cm}^{-1}$ ,  $1403,34\text{ cm}^{-1}$  e  $1049,25\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas como O=C-NH (amida de proteína),  $\text{-COO}^-$  e grupo carboxilato, respectivamente (SUGANYA et al., 2015).

As áreas de alguns picos (Figura 3) observados na *Spirulina* foram alteradas após a microencapsulação. A intensidade do pico  $3272,60\text{ cm}^{-1}$  da *Spirulina* diminuiu ao ser microencapsulada, aumentando a banda. Comparando os picos  $1543,12\text{ cm}^{-1}$  e o  $1261,70\text{ cm}^{-1}$  da *Spirulina*, estes sumiram ao encapsular a microalga, isso indica que houve encapsulação, ou seja, as esferas de alginato de cálcio conseguiram proteger a microalga.

Uma variação notável foi na região do pico  $1647\text{ cm}^{-1}$  da *Spirulina* (Figura 3), a mesma foi observada por Çelekli e Bozkurt (2011), sendo que quando encapsulada, alterou para frequência mais baixa,  $1636\text{ cm}^{-1}$ .

Figura 3 – FTIR da *Spirulina* livre e microencapsulada.





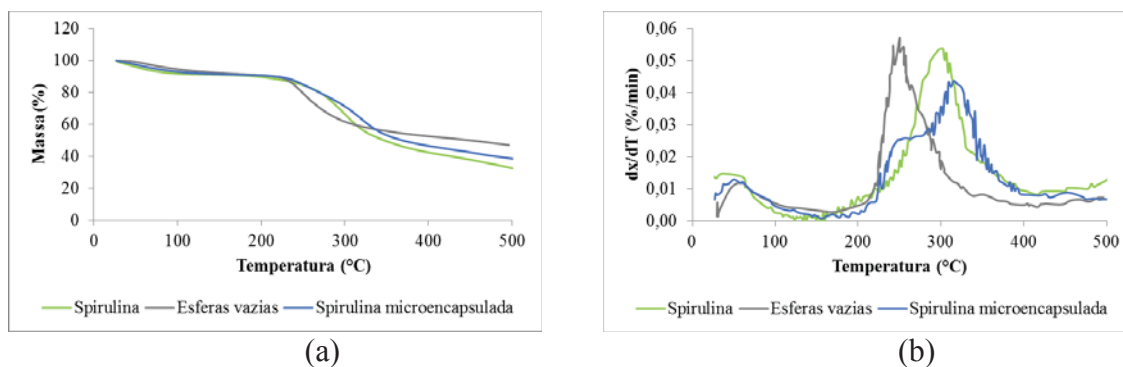
Nas esferas vazias (Figura 4), a banda larga em  $3242,78\text{ cm}^{-1}$  é atribuída as vibrações de estiramento O-H. E a banda  $2886,82\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibração de estiramento assimétrico C-H (HE et al., 2012). Os picos a  $1420,12$  e  $1595,30\text{ cm}^{-1}$  estão associados às vibrações de estiramento simétricas e assimétricas do carboxilato, respectivamente (PAPAGEORGIOU et al., 2010). O pico de absorção a  $1032,47\text{ cm}^{-1}$  é devido a vibrações de estiramento de C-O-C de estrutura de polissacarídeos.

A interação entre o alginato de sódio com o cloreto de cálcio limita o alongamento C-H, tornando o pico  $2886,82\text{ cm}^{-1}$  de absorção mais fraca (Figura 4), mas com a microencapsulação da microalga, o pico passa para  $2948,32\text{ cm}^{-1}$  (HE et al., 2012).

#### 4.7 Termogravimetria

A termogravimetria possibilita prever a taxa de decomposição térmica da biomassa da *Spirulina sp.* Observa-se que a *Spirulina* microencapsulada (Figura 4 a) tem uma perda de peso menor que a *Spirulina sp.* livre, dentro da faixa de temperatura avaliada.

Figura 4 – Termogravimetria (a) e curva (b) das amostras de *Spirulina sp.*, esferas vazias e esferas com *Spirulina*



As curvas das amostras da derivada da termogravimetria (Figura 4 b) apresentam três picos principais, em torno de  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $270\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $310\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para esferas vazias, *Spirulina sp.* livre e microencapsulada, respectivamente, devido a decomposição térmica dos carboidratos e proteínas (CHEN et al., 2014). A primeira fase, até  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  a perda de massa é caracterizado pela remoção da água, logo, a perda de massa depende fortemente do teor de umidade da amostra. Acima de  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ , caracterizado como segundo estágio, os componentes das amostras, tais como, carboidratos, proteínas e outros componentes menores, são decompostos e liberam substâncias voláteis (RIZZO et al., 2013).

O último pico da *Spirulina sp.* livre, 498 °C, é consequência da degradação térmica dos lipídios, pois as temperaturas de decomposição térmica dos lipídios são maiores que as dos carboidratos e proteínas (LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2015).

#### 4.8 Tamanho de partícula

O potencial zeta (PZ) das suspensões a 10% formuladas a temperatura de 25 °C determina a força repulsiva entre as amostras, logo, valores pequenos do PZ, considerando em módulo, estão relacionados com a instabilidade e a aglomeração do sistema coloidal (CRCAREVSKA; DODOV; GORACINOVA, 2008). Diante dos resultados, verifica-se que na Tabela 4, as partículas diferiram em relação ao PZ, sendo que a mais estável é a *Spirulina* e a menos estável é a esfera vazia. Os resultados indicam um aumento no potencial zeta negativo após a microencapsulação da *Spirulina*. O potencial zeta da esfera vazia apresentou menor carga superficial negativa em comparação com a esfera com *Spirulina*, isso é devido ao cálcio ali presente porque liga-se aos grupos carboxílicos carregados negativamente do alginato.

Tabela 4 - Resultados de PZ, PDI e tamanho de partículas obtidas no zetaser.

<b>Amostra</b>	<b>PZ (mV)</b>	<b>PDI</b>	<b>Diâmetro (µm)</b>
<i>Spirulina</i>	-34,87±2,08 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>a</sup>	6,19±5,74 <sup>a</sup>
Esfera vazia	-11,53±2,10 <sup>c</sup>	1,00±0,00 <sup>a</sup>	1,40±0,57 <sup>a</sup>
<i>Spirulina</i> microencapsulada	-21,60±2,40 <sup>b</sup>	0,91±0,16 <sup>a</sup>	66,45±29,08 <sup>b</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

O índice de polidispersão (PDI) indica o quanto o tamanho da partícula desviou a média, portanto, quanto mais baixo o valor do PDI, mais uniforme é a amostra. As partículas não apresentaram diferença entre si (Tabela 4), porém, apresentaram valores próximo a 1, logo, isso indica uma distribuição heterogênea no tamanho das partículas (GUERRA-ROSAS et al., 2016).

Em relação ao tamanho médio, não houve diferença significativa entre a *Spirulina sp.* e a esfera vazia (Tabela 4), mas ao encapsular a microalga, o tamanho aumentou. Entretanto, as amostras elaboradas caracterizam-se como microesferas, pois se enquadram na faixa de tamanho de 3 a 800 µm (LEE, 2014). Caso fosse desejado diminuir o tamanho, Chandrasekar et al. (2017) sugerem que o aumento da concentração de cálcio diminui o tamanho da partícula, pois o cálcio enrolaria mais apertado o núcleo do alginato, devido a maiores

interações entre o cátion divalente e os blocos G no polímero de alginato, talvez essa seria uma forma de diminuir o tamanho da partícula com *Spirulina*.

#### 4.9 Análise sensorial

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios para cada atributo das amostras das massas. Não foram observadas diferenças significativas entre os 4 tipos de massa nos atributos de textura, odor/aroma, sabor e impressão global. Isso significa que as pessoas estão começando a aceitar a incorporação de outros ingredientes nos alimentos que não estão acostumadas a consumir no dia a dia. Quanto à cor e a aparência, a mais aceita foi a massa com *Spirulina* livre, seguida da massa com *Spirulina* microencapsulada e a massa controle, isso pode ser um indicativo do apelo à busca de alimentos que tragam algum benefício a sua saúde, e a cor, neste caso, induz o consumidor. Portanto, a tendência atual para alimentos mais saudáveis pode representar a oportunidade de introduzir este tipo de massa.

Tabela 5 – Médias dos atributos utilizados para avaliar a aceitabilidade do consumidor da massa fresca.

Amostra	Massa controle	Massa com esferas vazias	Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	Massa com <i>Spirulina</i>
Cor	7,20±1,36 <sup>ab</sup>	6,98±1,59 <sup>a</sup>	7,31±1,39 <sup>ab</sup>	7,76±1,24 <sup>b</sup>
Textura	7,67±1,07 <sup>a</sup>	7,57±1,36 <sup>a</sup>	7,71±0,83 <sup>a</sup>	8,10±0,81 <sup>a</sup>
Aparência	7,53±1,16 <sup>ab</sup>	7,27±1,39 <sup>a</sup>	7,37±1,11 <sup>ab</sup>	7,90±1,01 <sup>b</sup>
Odor/ aroma	7,57±1,17 <sup>a</sup>	7,71±1,12 <sup>a</sup>	7,33±1,41 <sup>a</sup>	7,35±1,57 <sup>a</sup>
Sabor	7,65±1,43 <sup>a</sup>	7,73±1,08 <sup>a</sup>	7,51±1,30 <sup>a</sup>	7,90±0,98 <sup>a</sup>
Impressão global	7,51±1,22 <sup>a</sup>	7,65±1,11 <sup>a</sup>	7,55±1,03 <sup>a</sup>	7,94±0,86 <sup>a</sup>

média±desvio padrão; Valores seguidos de letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Em relação às formulações, a cor foi significativamente diferente na análise de qualidade das massas. A cor, uma das principais características de qualidade e aparência visual, do produto, desempenha papel fundamental no momento de escolha do consumidor. Muitas vezes a cor é comprometida quando se utiliza matérias-primas não tradicionais para a elaboração das massas frescas, visto que é um alimento a base de carboidrato (HAGER et al., 2013). A massa fresca com *Spirulina* livre resultou em uma cor muito atraente e foi bem aceita pelos avaliadores. A massa com esferas vazias apresentou menor aceitabilidade em relação à cor pelos consumidores, isso pode ser atribuído à presença das esferas vazias, por apresentarem coloração esbranquiçada. Ao relacionar com os resultados de cor, a massa com esferas vazias foi a que apresentou maior valor de L\* que tendenciou a coloração branca.

Tabela 6 – Intenção de consumo avaliadas pelos consumidores.

Amostra	Intenção de consumo
Massa controle	5,78±0,97 <sup>a</sup>
Massa com esferas vazias	5,75±1,02 <sup>a</sup>
Massa com <i>Spirulina</i> microencapsulada	5,27±1,27 <sup>a</sup>
Massa com <i>Spirulina</i>	5,75±1,00 <sup>a</sup>

Diante da nossa pesquisa, utilizando a escala de intenção de consumo (Tabela 6), a nota atribuída foi 5, isso indica que as pessoas comeriam, mas não sairiam da sua rotina, independente do tipo de massa.

## 5 CONCLUSÃO

A microesfera de alginato de cálcio com *Spirulina* é capaz de aprisionar maior quantidade de material ativo, no caso, *Spirulina*, em menor teor de sólidos. A baixa solubilidade da microesfera mostra que esta é ideal para adicionar em massas, já que o preparo consiste na cocção em água.

A formação de uma microesfera de alginato de cálcio com *Spirulina* foi capaz de reduzir as perdas do potencial antioxidante da microalga quando esta é submetida ao tratamento térmico, sendo indicada para aplicar em alimentos que consistem na cocção em água, como a massa fresca.

A análise sensorial mostrou que os consumidores apreciaram mais a massa com *Spirulina sp.* livre devido a cor e aparência, porém os resultados do tratamento térmico indicam que é preciso encapsular para proteger os antioxidantes da degradação térmica. Visto que as pessoas estão se preocupando cada vez mais com a sua saúde, e buscam consumir alimentos não só nutritivos, mas que tragam benefícios.

## REFERÊNCIAS

AACC - American Association of Cereal Chemists. **Approved methods**. 10<sup>a</sup>. ed., Saint Paul, 1995.

Alves, A. I.; Rodrigues, M. Z.; Ribeiro Pinto, M. R. M.; Lago Vanzela, E. S.; Stringheta, P. C.; Perrone, Í. T.; Ramos, A. M. Morphological characterization of pequi extract microencapsulated through spray drying. **International Journal of Food Properties**, p. 1-8, 2017.

ARANIBAR, C.; PIGNI, N. B.; MARTINEZ, M.; AGUIRRE, A.; RIBOTTA, P.; WUNDERLIN, D.; BORNEO, R. Utilization of a partially-deoiled chia flour to improve the

nutritional and antioxidant properties of wheat pasta. **LWT-Food Science and Technology**, v. 89, p. 381-387, 2018.

ASSIFAOU, A.; CHAMBIN, O.; CAYOT, P.. Drug release from calcium and zinc pectinate beads: Impact of dissolution medium composition. **Carbohydrate polymers**, v. 85, n. 2, p. 388-393, 2011.

BACH, Q. V.; CHEN, W. H. Pyrolysis characteristics and kinetics of microalgae via thermogravimetric analysis (TGA): A state-of-the-art review. **Bioresource technology**, v. 246, p. 88-100, 2017.

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

BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 2, p. 235–241, 1993.

BIERNACKA, B.; DZIKI, D.; GAWLIK-DZIKI, U.; RÓŻYŁO, R.; SIASTAŁA, M. Physical, sensorial, and antioxidant properties of common wheat pasta enriched with carob fiber. **LWT-Food Science and Technology**, v. 77, p. 186-192, 2017.

BLANDÓN, L. M.; ISLAN, G. A.; CASTRO, G. R.; NOSEDA, M. D.; THOMAZ-SOCCOL, V.; SOCCOL, C. R. Kefiran-alginate gel microspheres for oral delivery of ciprofloxacin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 706-715, 2016.

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**, v. 5, n. 4, p. 420–428, 2005.

ÇELEKLI, A.; BOZKURT, H. Bio-sorption of cadmium and nickel ions using *Spirulina platensis*: kinetic and equilibrium studies. **Desalination**, v. 275, n. 1-3, p. 141-147, 2011.

CHAN, E. S.; WONG, S. L.; LEE, P. P.; LEE, J. S.; TI, T. B.; ZHANG, Z.; PONCELET, D.; RAVINDRA, P.; PHAN, S. H.; YIM, Z. H. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 225-232, 2011.

CHANDRASEKAR, V.; COUPLAND, J. N.; ANANTHESWARAN, R. C. Characterization of nisin containing chitosan-alginate microparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 301-307, 2017.

CRCAREVSKA, M. S.; DODOV, M. G.; GORACINOVA, K.. Chitosan coated Ca–alginate microparticles loaded with budesonide for delivery to the inflamed colonic mucosa. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 3, p. 565-578, 2008.]

EL-GHAFFAR, M. A. ABD.; HASHEM, M. S.; EL-AWADY, M. K.; RABIE, A. M. PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 667-675, 2012.

- FALKEBORG, M. F.; RODA-SERRAT, M. C.; BURNÆS, K. L.; NIELSEN, A. L. D. Stabilising phycocyanin by anionic micelles. **Food chemistry**, v. 239, p. 771-780, 2018.
- GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan—a review. **Journal of controlled release**, v. 114, n. 1, p. 1-14, 2006.
- GUERRA-ROSAS, M. I.; MORALES-CASTRO, J.; OCHOA-MARTÍNEZ, L. A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; MARTÍN-BELLOSO, O. Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 438-446, 2016.
- He, Y.; Zhang, N.; Gong, Q.; Qiu, H.; Wang, W.; Liu, Y.; Gao, J. Alginate/graphene oxide fibers with enhanced mechanical strength prepared by wet spinning. **Carbohydrate polymers**, v. 88, n. 3, p. 1100-1108, 2012.
- He, Y.; Zhang, N.; Gong, Q.; Qiu, H.; Wang, W.; Liu, Y.; Gao, J. Alginate/graphene oxide fibers with enhanced mechanical strength prepared by wet spinning. **Carbohydrate polymers**, v. 88, n. 3, p. 1100-1108, 2012.
- HENG, P. W. S.; CHAN, L. W.; WONG, T. W. Formation of alginate microspheres produced using emulsification technique. **Journal of microencapsulation**, v. 20, n.3, p. 401 - 413, 2003.
- ISMAIEL, M. M. S.; EL-AYOUTY, Y. M.; PIERCEY-NORMORE, M. Role of pH on antioxidants production by *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 298–304, abr. 2016.
- KIM, W. T.; CHUNG, H.; SHIN, I. S.; YAM, K. L.; CHUNG, D. Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n.4, p. 566 - 573, 2008.
- LEE, B. H. **Fundamentals of food biotechnology**. 2 edição, página 120, capítulo 1, editora: Wiley Blackwell, 2014.
- LEE, D. W.; HWANG, S. J.; PARK, J. B.; PARK, H. J. Preparation and release characteristics of polymer-coated and blended alginate microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, p. 179 – 192, 2003.
- LI, S.; WANG, X.; ZHANG, X.; YANG, R.; ZHANG, H.; ZHU, L.; HOU, X. Studies on alginate–chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits. **Journal of Controlled Release**, v. 84, p. 87–98, 2002.
- MAESTRELLI, F.; MURA, P.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. L.; CÓZAR-BERNAL, M. J.; RABASCO, A. M.; MANNELLI, L. D. C.; GHELARDINI, C. Calcium alginate microspheres containing metformin hydrochloride niosomes and chitosomes aimed for oral therapy of type 2 diabetes mellitus. **International journal of pharmaceuticals**, v. 530, n. 1-2, p. 430-439, 2017.
- NAJAFI-SOULARI, S.; SHEKARCHIZADEH, H.; KADIVAR, M. Encapsulation optimization of lemon balm antioxidants in calcium alginate hydrogels. **Journal of Biomaterials science, Polymer edition**, v. 27, n. 16, p. 1631-1644, 2016.

- PAPAGEORGIU, S. K.; KOUVELOU, E. P.; FAVVAS, E. P.; SAPALIDIS, A. A.; ROMANOS, G. E.; KATSAROS, F. K. Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. **Carbohydrate research**, v. 345, n. 4, p. 469–473, 2010.
- Patel, H.; AbouGhaly, M. H. H.; Schryer-Praga, J.; Chadwick, K. The effect of ionotropic gelation residence time on alginate cross-linking and properties. **Carbohydr. Polymyres**, v. 155, p. 362–371, 2017.
- RAJINIKANTH, P.; SANKAR, C.; MISHRA, B.. Sodium alginate microspheres of metoprolol tartrate for intranasal systemic delivery: development and evaluation. **Drug delivery**, v. 10, n. 1, p. 21 - 28, 2003.
- RÉ, M. I. Microencapsulation by Spray Drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195–1236, 1 jan. 1999.
- RIZZO, A. M.; PRUSSI, M.; BETTUCCI, L.; LIBELLI, I. M.; CHIARAMONTI, D. Characterization of microalga *Chlorella* as a fuel and its thermogravimetric behavior. **Applied energy**, v. 102, p. 24-31, 2013.
- SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; BURKERT, S. J.; KELIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1629-1634, 2007.
- SUGANYA, K. U.; GOVINDARAJU, K.; KUMAR, V. G.; DHAS, T. S.; KARTHICK, V.; SINGARAVELU, G.; ELANCHEZHIAN, M. Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. **Materials Science and Engineering: C**, v. 47, p. 351-356, 2015.
- TATESHITA, K.; SUGAWARA, S.; IMAI, T.; OTAGIRI, M. Preparation and evaluation of a controlled-release formulation of nifedipine using alginate gel beads. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 16, n. 4, p. 420 - 424, 1993.
- TELLO-IRELAND, C.; LEMUS-MONDACA, R.; VEJA-GÁLVEZ, A.; LÓPEZ, J.; DI SCALA, K. Influence of hot-air temperature on drying kinetics, functional properties, colour, phycobiliproteins, antioxidant capacity, texture and agar yield of alga *Gracilaria chilensis*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2112–2118, 2011.
- TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 169-176, 2000.
- ZOHAR-PEREZ, C.; CHET, I.; NUSSINOVITCH, A. Irregular textural features of dried alginate–filler beads. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 249-258, 2004.

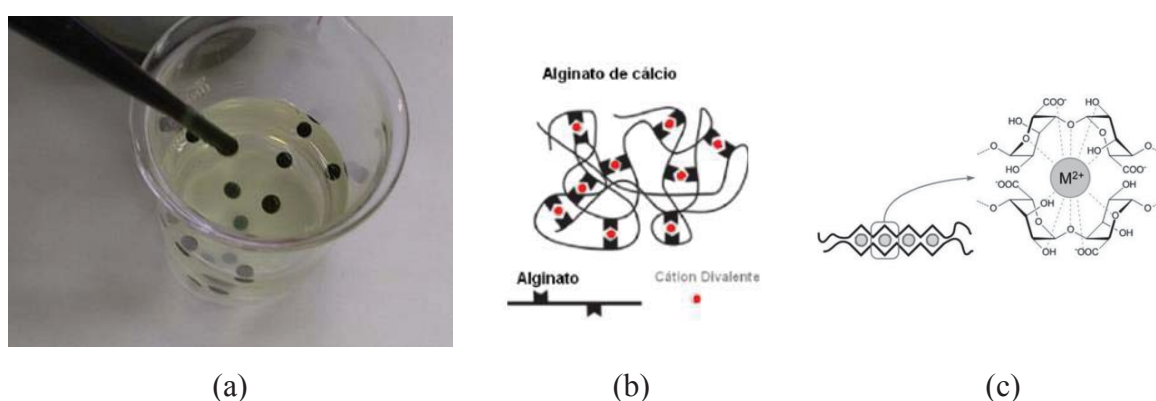




## APÊNDICE B – Definições do equipamento para elaboração das microcápsulas

Primeiramente testou-se a formação das cápsulas por gelificação iônica que consistiu em encapsular a microalga *Spirulina platensis* com alginato de sódio e cloreto de cálcio. Verificou-se que o contato entre o alginato de sódio e o cloreto de cálcio, em solução, formase imediatamente o suporte gelificado (Figura 1 a) (ROCHA; GROSSO, 2006).

Figura 1 – Formação das cápsulas com alginato de sódio e cloreto de cálcio.



Fonte: Abreu, 2008; O autor, 2017.

O suporte gelificado é denominado de esfera. Observou-se que as esferas permaneceram na superfície da solução de cloreto de cálcio e após algum tempo, submergiram. Provavelmente isso ocorreu devido ao aumento da densidade das esferas (ROCHA; GROSSO, 2006).

A formação das esferas ocorreu através da ligação do cátion divalente  $\text{Ca}^{2+}$ , preferencialmente, aos grupos carboxílicos com carga negativa da cadeia do alginato de sódio (GULREZ; AL-ASSAF; PHILLIPS, 2003). Em suma, o cálcio se ligou dentro das cavidades dos resíduos gularônicos, formando assim uma esfera polianiónica (Figura 1 b).

A Figura 1 (c) apresenta a zona de ligação entre quatro resíduos G de duas cadeias diferentes do alginato e um cátion, conhecida como um modelo de caixa de ovo (GRANT et al., 1973). A técnica de gelificação consiste na formação de microsferas, ou seja, o material núcleo é disperso na matriz do polímero (Figura 2) (NORDSTIERNA et al., 2010).

Figura 2 - Microscopia óptica das cápsulas de *Spirulina* com alginato de sódio, reticuladas em cloreto de cálcio.

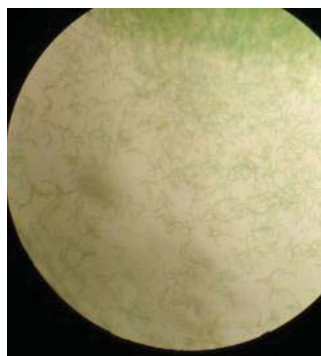


Legenda: (a) aumento de 100 X do corte de uma macrocápsula de alginato de sódio com *Spirulina* reticulada na solução de cloreto de cálcio; (b) aumento de 100 X de microcápsulas de alginato de sódio com *Spirulina* reticulada na solução de cloreto de cálcio.

Para adição das microcápsulas na massa alimentícia foi preciso ajustar o tamanho dessas antes de seguir para os próximos testes. O uso do extensor do bico do *Spray-dryer*, variando o tamanho do bico atomizador e a altura da solução de coleta das esferas até o bico, ajudou a reduzir o tamanho das esferas e a definir as condições ótimas para esta técnica (Tabela 1). Fixou-se a vazão de alimentação em 0,3 L/h, vazão do ar comprimido de 15 L/min e pressão do ar comprimido de 3 bar. O formato do bico é essencial para a formação de microcápsulas e nanocápsulas (KOO et al., 2014).





Percebe-se a formação das microesferas ao comparar o resultado das microscopias ópticas da Tabela 1 com a Figura 3 (*Spirulina* sem cápsula), pois não é verificada o formato helicoidal da *Spirulina*, somente o formato irregular, que é característico da gelificação iônica.

Figura 3 – Microscopia óptica da *Spirulina* 40 mesh com aumento de 100 X.



Fonte: O autor (2017).

Tabela 1 – Estudo do tamanho das esferas de *Spirulina* com alginato de sódio e cloreto de cálcio, com aumento de 100X.

Teste	Abertura do bico (mm)	Altura do bico até a solução (cm)	Microscopia óptica
1A	1	13,5	
1B	1	8,5	
1C	0,7	8,5	
1D	0,7	6	

Fonte: O autor (2017).

Os estudos de formação de cápsulas, foram baseados na condição 1B (Tabela 1) de tamanho de partícula, utilizando o bico número 2 (abertura de 1 mm) e altura do extensor do bico de 8,5 cm, optando-se pelas condições intermediárias. De acordo com as microscopias ópticas não é possível definir um tamanho de esfera ideal, diante disso, foram avaliadas as condições de cada teste.

A altura do extensor do bico de 13,5 cm, no teste 1A (Tabela 1), atomizava as esferas na parede do recipiente de coleta, não deixando estas entrarem em contato direto com a solução de cloreto de cálcio para ocorrer a reticulação. Enquanto que se comparar o teste 1B com o 1C, o menor tamanho de bico (teste 1C) ocasionou na aglomeração das microesferas

até o momento destas entraram em contato com a solução do cloreto de cálcio. O teste 1D, por sua vez, teve uma distância menor, mas como manteve-se a mesma vazão que os testes anteriores, ocorreu a aspersão constante da solução do reticulante, que no final do processo poderia influenciar na quantidade de íons de cálcio disponíveis para a reticulação com o alginato de sódio.

O gotejamento da solução de alginato de sódio muito próximo à superfície da solução de cloreto de cálcio resulta na formação de gotas deformadas ou apresentando caudas (ROCHA; GROSSO, 2006), conforme observado nos testes 1C e 1D (Tabela 1).

## APÊNDICE C – Elaboração das microcápsulas

Teste 1 – Microcápsulas de alginato de sódio, reticuladas com cloreto de cálcio e revestidas com quitosana 0,36%

As microcápsulas foram formadas de acordo com Ren et al. (2016) com algumas modificações. O método consistiu na formação de microcápsulas com 100 mL da solução de alginato de sódio (1,5%) com 0,9 g de *Spirulina*, proporção 1:4 de *Spirulina*:sólidos (antes do revestimento). Agitou-se por 30 min, após a mistura foi atomizada em 200 mL da solução de cloreto de cálcio (1,1%) utilizando o extensor do bico do *Spray-dryer* (LM MSD 1.0).

Posteriormente as cápsulas foram agitadas levemente por 30 min, em seguida foram lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL). Para ocorrer o revestimento com a quitosana, as microcápsulas foram imersas em 135 mL da solução de quitosana (0,36%) preparada com ácido acético 1% por 30 min com agitação leve. Posteriormente foram filtradas, lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL) e liofilizadas.

Teste 2 – Microcápsulas de alginato de sódio, reticuladas na mistura do cloreto de cálcio com a quitosana

A formação das microcápsulas seguiu a mesma maneira que o teste anterior (teste 1), porém, misturou-se as soluções de quitosana e cloreto de cálcio. Portanto, preparou-se 100 mL da solução de alginato de sódio (1,5%) com 0,9 g de *Spirulina*, mantendo a proporção do teste anterior, agitou-se por 30 min.

A atomização do alginato com *Spirulina* foi realizada com o extensor do bico do *Spray-dryer* (LM MSD 1.0), na mistura de 200 mL da solução de cloreto de cálcio (1,1%) com 135 mL da solução de quitosana (0,36%), preparada com ácido acético 1%. Posteriormente agitou-se levemente por 30 min para ocorrer a reticulação das microcápsulas. Em seguida foram filtradas, lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL) e liofilizadas.

Teste 3, 4 e 5 – Microcápsulas de alginato de sódio, reticuladas na solução de quitosana

As microcápsulas foram formadas de acordo com Ren et al. (2016) com algumas modificações. Os testes seguiram da mesma maneira que o teste 1, porém não ocorreu a etapa de reticulação com o cloreto de cálcio.

O método consistiu na formação de microcápsulas utilizando 100 mL da solução de alginato de sódio (1,5%) com 0,9 g de *Spirulina* agitada por 30 min e em seguida atomizada

em 200 mL da solução de quitosana 0,36% (teste 3) ou 1,2% (teste 4) utilizando o extensor do bico do *Spray-dryer* (LM MSD 1.0). Enquanto o teste 5 utilizou-se a quitosana purificada (conforme descrito abaixo) para o preparo da solução de 1,2%.

Após, as microcápsulas permaneceram por 30 min em contato com a solução de quitosana, preparada com ácido acético 1%, com agitação leve. Posteriormente foram filtradas, lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL) e liofilizadas.

A purificação da quitosana foi determinada de acordo com Qian e Glanville (2005), com algumas modificações. Foi preparado uma solução com 2 g de quitosana em 200 mL de ácido acético 1%. Esta solução permaneceu sob agitação, com temperatura de 40°C durante a noite.

No dia seguinte, a solução foi centrifugada a 6800 rpm por 15 min. Após a centrifugação, foi ajustado o pH do sobrenadante para 8,0 com NaOH 1 M. Em seguida, essa solução foi aquecida até 90 °C por 5 min, após resfriou-se até temperatura ambiente. Ajustou-se o pH a 10, centrifugou-se a 6800 rpm por 15 min. O sobrenadante foi descartado e o material sedimentado foi lavado com água destilada com temperatura entre 40-45 °C. Em seguida, secou-se em estufa a 105°C até peso constante.

A determinação do grau de desacetilação foi de acordo com Jiang, Chen e Zhong (2003), com algumas modificações.

Dissolveu-se entre 0,2 a 0,23 g de quitosana em 25 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 N. Avolumou-se a solução até 100 mL com água destilada. Posteriormente o pH foi ajustado até 2,0 e então titulou-se a solução de quitosana com 0,5 mL NaOH 0,1 N em intervalos de 25 s com, sob agitação contínua baixa, até o valor de pH da solução chegar a 6,0. O grau de desacetilação foi calculado de acordo com a equação 1:

$$\text{Grau de desacetilação (\%)} = \frac{\emptyset}{\left[ \frac{W - 161 * \emptyset}{204} + \emptyset \right]} * 100 \quad (1)$$

$$\emptyset = (N_A * V_A - N_B * V_e) / 1000 \quad (2)$$

Em que  $N_A$  é a concentração de HCl (N),  $V_A$  é o volume de HCl (mL),  $N_B$  é a concentração de NaOH (N),  $V_e$  é o volume do NaOH no ponto de extremidade (mL) e  $W$  é a massa da amostra (g).

Testes 6, 7, 8 e 9 - Microcápsulas de alginato de sódio reticuladas com cloreto de cálcio

O procedimento de elaboração das microcápsulas seguiu da mesma maneira que a descrição do teste 1, porém não ocorreu o revestimento com a quitosana.

O método consiste no preparo de 100 mL de solução de alginato de sódio (1,5%) com a quantidade de *Spirulina* de acordo com as proporções. Foram testadas 4 proporções de *Spirulina* com 3,7 g; 1,85 g; 1,23 g e 0,9 g, ou seja 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4, respectivamente, de *Spirulina*:sólidos totais. Após a adição da *Spirulina*, agitou-se por 30 min.

Posteriormente atomizou-se a mistura em 200 mL da solução de cloreto de cálcio (1,1%). Em seguida, as cápsulas foram filtradas, lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL) e liofilizadas.

Testes 10, 11 e 12 - Microcápsulas de alginato de sódio com pectina, reticuladas com cloreto de cálcio

As microcápsulas foram formadas de acordo com Koo et al. (2014) com algumas modificações. O método consistiu na mistura de 80 mL da solução de alginato de sódio (1,5%) e 20 mL da solução de pectina (1,5%) de acordo com as proporções. Testou-se com 5,5 g, 2,75 g e 1,83 g de *Spirulina* nas proporções 1:1, 1:2 e 1:3 de *Spirulina*:sólidos totais, respectivamente. Agitou-se por 30 min e posteriormente atomizou-se em 200 mL da solução de cloreto de cálcio (2%) utilizando o extensor do bico do *Spray-dryer* (LM MSD 1.0).

Posteriormente as cápsulas foram agitadas levemente por 30 min. Em seguida foram filtradas, lavadas 3 vezes com água destilada (300 mL) e liofilizadas.





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

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa sobre “Encapsulação da microalga *Spirulina platensis* para incorporação em massa fresca” de responsabilidade da pesquisadora Cindiele K. Zen, sob orientação da professora Dr<sup>a</sup>. Luciane Maria Colla.

Esta pesquisa justifica-se pela busca de novos produtos com propriedades funcionais através do uso da microalga *Spirulina sp.*, considerada segura para o consumo, visando agregar valor nutricional e funcional a massa fresca, que é constituída basicamente por carboidratos. Para isso, utilizou-se a técnica de microencapsulação da microalga para mascarar o sabor e o odor característicos, além de proteger os antioxidantes da degradação térmica na etapa de cocção da massa. Dentre os objetivos, encontra-se a avaliação da aceitação sensorial e a intenção de compra das formulações com relação ao padrão, além de checar tudo que se aplica ao produto.

A sua participação na pesquisa será em um encontro, junto ao laboratório de análise sensorial do CEPA, na Universidade de Passo Fundo, com duração aproximada de 30 minutos para cada julgador. Você não terá custos para a realização da análise, assim como não receberá pagamento pela sua participação. As massas desenvolvidas não oferecem riscos ao consumidor. Além da *Spirulina sp.*, os demais ingredientes são: farinha de trigo branca, mistura de ovos pasteurizada, emulsificante (SSL), água e os encapsulantes da microalga (alginato de sódio e cloreto de cálcio). Caso possua intolerância, alergia ou qualquer outra reação adversa a qualquer um dos ingredientes você não poderá participar da pesquisa.

Você terá a garantia de receber esclarecimentos sobre qualquer dúvida relacionada à pesquisa e poderá ter acesso aos seus dados em qualquer etapa do estudo. Sua participação não é obrigatória, e, portanto, tem caráter voluntário. Os riscos da sua participação são mínimos. Caso você apresente evidência de qualquer tipo de desconforto o pesquisador se comprometerá em solicitar auxílio e/ou encaminhá-lo para outros profissionais. Você poderá desistir da pesquisa a qualquer momento, retirando seu consentimento sem qualquer prejuízo. Os dados relacionados à sua identificação não serão divulgados. Os resultados da pesquisa serão divulgados, mas 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 responsável pelo projeto, Mestranda Cindiele Karen Zen (54) 99998-1246, com o 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 8h às 12 h e das 13h30min às 17h30min, de segunda a sexta-feira.

Dessa forma, se você concorda em participar da pesquisa como consta nas explicações e 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 pela pesquisadora responsável em duas vias, sendo que uma ficará com você e outra com a pesquisadora.

Passo Fundo, 07 de dezembro de 2017.

Nome do (a) participante: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome da pesquisadora: Cindiele Karen Zen

Assinatura: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE E – Ficha de cadastro para realização de análise sensorial

Ficha de cadastro para a análise sensorial de massas frescas

Nº: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Data: 07/12/2017

<b>1) Faixa etária:</b> <input type="checkbox"/> menos de 18 anos <input type="checkbox"/> 18 a 25 anos <input type="checkbox"/> 26 a 30 anos <input type="checkbox"/> 31 a 40 anos <input type="checkbox"/> 41 a 50 anos <input type="checkbox"/> mais de 50 anos	<b>2) Sexo:</b> <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/> Masculino	<b>3) Você tem alguma alergia ou intolerância alimentar, das indicadas abaixo, que restrinja o consumo?</b> <input type="checkbox"/> ovo <input type="checkbox"/> frutos do mar <input type="checkbox"/> glúten <input type="checkbox"/> trigo <input type="checkbox"/> outra _____
<b>4) Você gosta de massa fresca sem recheio?</b> <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não		<b>5) Indique a sua frequência de consumo de massas frescas sem recheio.</b>
<b>6) Se você costuma consumir massa fresca, sem recheio, qual o tipo:</b> <input type="checkbox"/> Tradicional <input type="checkbox"/> com ingredientes (espinafre ou cenoura ou beterraba)		<input type="checkbox"/> diariamente <input type="checkbox"/> 1 vez por semana <input type="checkbox"/> 2 vezes por semana <input type="checkbox"/> mais que 2 vezes por semana <input type="checkbox"/> ocasionalmente (menos de 2 vezes por mês)



## APÊNDICE F – Aleatorização das amostras para a análise sensorial

Codificação	Amostra
<b>A</b>	Massa controle (sem <i>Spirulina</i> )
<b>B</b>	Massa com esferas vazias
<b>C</b>	Massa com <i>Spirulina</i> encapsulada
<b>D</b>	Massa com <i>Spirulina</i>

Nome	Julgador	Aleatorização	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra D
	1	ABCD	134	296	381	452
	2	ABDC	514	685	749	837
	3	ACBD	956	182	216	391
	4	ACDB	462	524	695	754
	5	ADBC	895	966	121	226
	6	ADCB	302	472	534	606
	7	BACD	765	805	976	132
	8	BADC	236	312	482	544
	9	BCAD	619	795	814	986
	10	BCDA	146	251	322	492
	11	BDAC	564	629	785	824
	12	BDCA	996	163	271	332
	13	CABD	404	573	193	214
	14	CADB	385	456	518	689
	15	CBAD	748	850	962	136
	16	CBDA	247	382	453	515
	17	CDAB	686	745	831	957
	18	CDBA	907	217	392	463
	19	DABC	525	696	755	896
	20	DACB	967	912	227	303
	21	DBAC	473	535	610	766
	22	DBCA	806	977	917	237
	23	DCAB	313	483	545	620
	24	DCBA	776	815	987	923
	25	ABCD	252	323	493	565
	26	ABDC	630	786	825	997
	27	ACBD	927	272	333	405
	28	ACDB	574	639	217	286
	29	ADBC	457	519	690	749
	30	ADCB	851	961	901	251
	31	BACD	182	258	383	454
	32	BADC	516	687	746	839
	33	BCAD	958	194	218	393
	34	BCDA	464	526	697	759
	35	BDAC	897	968	123	228
	36	BDCA	304	474	536	611
	37	CABD	767	825	978	134

	38	CADB	238	314	484	546
	39	CBAD	621	734	816	985
	40	CBDA	148	253	324	494
	41	CDAB	566	631	787	826
	42	CDBA	998	165	273	334
	43	DABC	406	575	154	219
	44	DACB	387	458	520	691
	45	DBAC	750	852	962	128
	46	DBCA	259	384	455	517
	47	DCAB	683	747	840	952
	48	DCBA	908	219	394	465
	49	ABCD	527	698	758	898
	50	ABDC	969	913	229	305
	51	ACBD	475	537	612	768
	52	ACDB	804	979	918	239
	53	ADBC	315	485	547	622
	54	ADCB	778	817	989	923
	55	BACD	254	325	495	567
	56	BADC	632	782	827	953
	57	BCAD	928	274	335	407
	58	BCDA	576	640	213	386
	59	BDAC	459	521	692	751
	60	BDCA	853	963	910	273