

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**KATHARINA KARDINELE DA SILVA BARROS**

**Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para alimentação humana**

**JOÃO PESSOA  
2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

KATHARINA KARDINELE DA SILVA BARROS

**Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para  
alimentação humana**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. **JOÃO ANDRADE DA SILVA**

JOÃO PESSOA  
2010

B277p Barros, Katharina Kardinele da Silva.  
Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para  
alimentação humana / Katharina Kardinele da Silva Barros. -- João Pessoa: [s.n.],  
2010.

110 f. : il.

Orientador: João Andrade da Silva.  
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT.

1. Tecnologia de Alimentos. 2. *Spirulina platensis*. 3. Macarrão. 4. Avaliação  
sensorial.

UFPB/BC

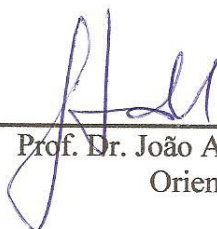
CDU: 664(043)

KATHARINA KARDINELE DA SILVA BARROS

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*)  
PARA ALIMENTAÇÃO HUMANA

Dissertação aprovada em: 16 / 09 / 2010

Banca Examinadora:

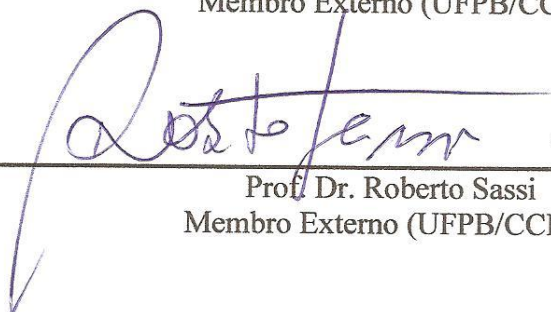


---

Prof. Dr. João Andrade da Silva  
Orientador

---

Profª. Dra. Maria José de Carvalho Costa  
Membro Externo (UFPB/CCS)



---

Prof. Dr. Roberto Sassi  
Membro Externo (UFPB/CCEN)

## DEDICO

*A Deus que ilumina o caminho pelo qual devo seguir, fazendo-me transpor as barreiras e sempre me mostrando Seu amor misericordioso, e a Maria que com seu coração de mãe sempre me consolou nos momentos de aflição.*

*Aos meus pais Carlos Alberto Barros e Maria de Fátima da S. Barros por me possibilitarem o aprendizado, onde nunca mediram esforços para minha formação, me fazendo crescer espiritual e profissionalmente. Sem vocês essa vitória não seria possível. Amor incondicional!*

*As minhas irmãs de sangue e coração Karla Kárita, Karolina Karim, Gizely Cavalcanti e Dandara Gomes pelo amor, apoio e orações, pelo companheirismo e alegrias compartilhadas, por aturarem meu estresse (desculpa!?), e mesmo assim me amarem. Obrigada!*

*Ao meu marido Renato, um dos principais causadores de minha felicidade. Obrigada por toda dedicação, compreensão, pelas madrugadas e fins de semana abdicados em prol dessa dissertação. Você foi o “Anjo” que Deus me deu de presente... essa vitória é nossa! Amo-te.*

*A minha segunda família Roberto, Rosa, Patrícia, André e Elisa pelo amor, pelas alegrias proporcionadas, pela compreensão e incentivo. Muito obrigada!*

*Ao meu orientador prof. Dr. João Andrade da Silva pela dedicação irrestrita, pela confiança, por compartilhar seus conhecimentos e experiências, pelas valiosas horas de conversa, por sua amizade e preciosa orientação.*

*Ao meu eterno orientador prof. Dr. Roberto Sassi que me apresentou e me iniciou nesse maravilhoso campo de pesquisa, por sempre insistir no meu engrandecimento profissional, pelas oportunidades concedidas, pelos “carões”, e por nunca me fazer desistir! Só Deus poderá retribuir tamanha dedicação.*

## AGRADECIMENTOS

A todos os meus familiares e amigos pelo apoio, incentivo e pelas orações.

Ao meu avô que agora está no céu a zelar por nós! Embora não entendesse bem o que era “essa tal de dissertação”, nunca deixou de me incentivar.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e a todos os professores pela oportunidade concedida para a realização do mestrado e para o meu crescimento profissional, em especial a profa. Dra. Janeeyre Ferreira Maciel pela amizade e ao prof. Dr. José Marcelino Oliveira Cavaleiro pelo imenso apoio.

A Capes, pela concessão da bolsa possibilitando a dedicação ao curso e desenvolvimento deste trabalho.

À profa. Dra. Maria José de Carvalho Costa, pela honra e presteza de participar das Bancas do Exame de Qualificação e Defesa e pela certeza das suas valiosas contribuições para melhoria desta pesquisa.

Ao prof. Dr. Ricardo Targino por todo auxílio, serenidade e contribuição para a realização da avaliação sensorial. Muito obrigada!

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Gilvandro, Claudionor, Eunice, Vanessa e Humberto pela dedicação, atenção, profissionalismo e amizade.

À profa. Dra. Cristiane Francisca da Costa pela disponibilidade e presteza em me ensinar estatística, dedicando horas do seu dia para que eu pudesse aprender essa, agora menos, complicada análise. Não teria conseguido sem você. Muito obrigada!

A todos os colegas de Mestrado, Alline, Ingrid, Tatiana, Cristine, Cristiane, Naára, Ana Débora, Salete, Julio, Rosana e Alane pelo convívio alegre, horas de estudos, pelas palavras de motivação nas horas difíceis, e companheirismo; e aos agregados do Doutorado, Olivaldo, Kassandra, Poliana, Juan Carlos, João Paulo, Fátima, Ruth e Jaqueline, pela amizade, apoio e ajuda.

Ao recém Doutor Juan Carlos pelas horas de discussão sobre nossa querida *Spirulina*.

Aos meus companheiros de laboratório e funcionários do LEA, Carol, Rita, Micheli, Ruceline, Tatiana, Joana, Eduardo, Felipe, Isabella, Patrícia, Stella, Margarida, Neide, Dalvanira, Ricardo, Lúcia e em especial a Dorinha, Leninha, Thiago e Sr. Ramos, por todos os momentos vividos com vocês, pela paciência em ter que me escutar todos os dias, pelo apoio, incentivo, torcida, conselhos, alegrias compartilhadas, conquistas alcançadas e acima de tudo por toda ajuda concedida. Vocês foram peças importantes para esta vitória. Meus sinceros agradecimentos.

Ao prof. Dr. Roberto Sassi por conceder a utilização dos laboratórios do LEA, a qualquer dia e horário, por ceder a cepa da *Spirulina platensis* além de reagentes e parte de sua sala para

realização de experimentos, enfim, pela grande colaboração, incentivo, paciência e motivação para a realização desta pesquisa.

Ao ministério de Teatro Imagem e Semelhança e família EJC da Paróquia Nossa Senhora Aparecida pelas orações, interseções, compreensão e amizade. Vocês são preciosos aos olhos de Deus!

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, que torceram e oraram por mim. Sou muito grata a todos vocês. Xerim no coração e Deus abençoe.

Muito Obrigada!



*"Sempre se fala em deixar um planeta melhor para nossos filhos. Quando iremos pensar em deixar filhos melhores para o nosso planeta?"*

## RESUMO

BARROS, K. K. S. **Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para alimentação humana**. 2010. 111 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

A microalga *Spirulina platensis* tem sido objeto de estudo por apresentar elevado valor protéico (50–70 % de seu peso), aminoácidos essenciais, vitaminas (especialmente B12), sais minerais, além de pigmentos (carotenóides, ficocianinas e clorofilas), ácidos graxos poliinsaturados, incluindo os ácidos graxos ômega-3 e outros compostos biologicamente ativos. A presente pesquisa teve como objetivo elaborar um produto alimentício do tipo macarrão enriquecido com biomassa de *S. platensis*, destinado ao consumo humano, com estabilidade microbiológica e características nutricionais e organolépticas satisfatórias. Para a elaboração do macarrão foram realizados testes para obtenção de biomassa cultivada em duas situações: fotobiorreator e tanque; sendo estas colhidas em fase de crescimento exponencial ou estacionária e secas em liofilizador ou secador adiabático. Após análise das biomassas produzidas, utilizou-se a biomassa cultivada em tanque, colhida na fase de crescimento exponencial e seca em secador adiabático para a elaboração do macarrão em três concentrações: 5, 10 e 15 %. Foram realizadas análises quanto aos parâmetros microbiológicos e físico-químicos da biomassa de *S. platensis* e do macarrão. O macarrão elaborado foi avaliado sensorialmente por um painel de 58 provadores não treinados que realizaram testes sensoriais de aceitação e intenção de compra para seleção da melhor formulação. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas da biomassa cultivada nas três situações demonstraram que não há diferença significativa entre a composição centesimal da *S. platensis* para os teores de proteínas, lipídios, carboidratos e calorias, cultivada em fotobiorreator e em tanque ou quando a biomassa produzida era seca em liofilizador ou estufa. Para a biomassa colhida na fase exponencial de crescimento ou na estacionária, quanto à composição centesimal, demonstrou-se que ocorre um aumento do percentual de carboidratos, lipídeos e resíduo mineral fixo e diminuição de proteína e calorias quando a cianobactéria se encontra na fase estacionária. Com base nos resultados da análise da composição centesimal do macarrão foi possível observar que o aumento da concentração de *S. platensis* nas formulações resultou em aumento no teor de proteínas e minerais, e consequente aumento do valor nutricional. De acordo com os resultados da avaliação sensorial, os produtos tiveram uma boa aceitação, apresentando a formulação com 5,0 % de *S. platensis* o escore de “gostei ligeiramente”, o mesmo também foi obtido pela que continha 15,0% e a formulação com 10,0% apresentou o escore de “gostei moderadamente”. O maior percentual de avaliação global foi apresentado pelo macarrão enriquecido com 10,0% de *S. platensis* obtendo 93,10% de avaliações positivas. Logo, é possível o desenvolvimento de produtos alimentícios, como o macarrão adicionado de biomassa de *S. platensis*, tornando-se, mais uma alternativa alimentar com melhores características nutricionais e podendo promover benefícios à saúde do consumidor.

Palavras-chave: *Spirulina platensis*, macarrão, avaliação sensorial.

## ABSTRACT

BARROS, K. K. S. **Production of *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) biomass for human consumption.** 2010. 111p. Dissertation (Master of Science in Food Technology), Federal University of Paraíba.

The *Spirulina platensis* has been studied by presenting high protein content (50 – 70% of its weight), essential amino acids, vitamins (especially B12), minerals, and pigments (carotenoids, phycocyanin and chlorophyll), polyunsaturated fatty acids, including omega-3 fatty acids and other biologically active compounds. The objective of the present study was to develop a food product like macaroni fortified with *S. platensis* biomass for human consumption, with microbiological stability and satisfactory organoleptic and nutritional characteristics. To prepare the macaroni, tests were made to obtain biomass in two situations: photobioreactor and tank cultivation; being these harvested in exponential growth and stationary phase and dry in freeze dryer and adiabatic dryer. After considering the produced biomasses, the biomass cultivated in tank and harvested in the exponential growth phase and dried in the adiabatic dryer was used to elaborate the macaroni in three concentrations: 5, 10 and 15%. Analyses were realized for microbiological and physical-chemical parameters of *S. platensis* biomasses and macaroni. The elaborated macaroni was evaluated sensorially by a panel of 58 untrained panelists who performed sensory tests for acceptance and purchase intent for selection of the best formulation. The results obtained in the physical-chemical analyses of the biomass grown in the three situations showed that there is no significant difference between the centesimal composition of *S. platensis* for the content of protein, lipids, carbohydrates and calories, cultivated in photobioreactor and in tank or when the produced biomass was dried in freeze dryer or hothouse. For the biomass harvested in the exponential growth or stationary phase, as to composition, it was shown that there is an increase in the percentage of carbohydrates, lipids and ash and decrease in protein and calories content when the cyanobacteria is in the stationary phase. Based on the analysis of the macaroni's composition, it was observed that increasing the concentration of *S. platensis* in the formulations resulted in an increase in protein and minerals, and consequent increase in nutritional value. According to the sensorial evaluation results, the products had good acceptance, providing the formulation with 5.0% *S. platensis* score of “like slightly”, the same was also obtained by the one containing 15.0% and the formulation with 10.0% had a score of “like moderately”. The highest percentage of overall assessment was presented by the macaroni enriched with 10.0% of *S. platensis*, obtaining 93.10% of positive assessments. Therefore is possible to develop food products, like the macaroni added biomass of *S. platensis*, becoming another alimentary alternative with better nutritional characteristics and able to promote health benefits to the consumer.

Keywords: *Spirulina platensis*, macaroni, sensory evaluation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Representação esquemática de taxa de crescimento de algas em cultura e a concentração de nutrientes por um período de tempo.....	25
<b>Figura 2</b>	Tanques de cultivo de microalgas .....	35
<b>Figura 3</b>	Fotobiorreatores utilizados para o cultivo de microalgas.....	36
<b>Figura 4</b>	<i>Spirulina platensis</i> , aumento de 200X e 400X.....	43
<b>Figura 5</b>	Ponto triplo das substâncias.....	48
<b>Figura 6</b>	Fluxograma representativo do preparo do cultivo para produção de biomassa de <i>S. platensis</i> em fotobiorreator e tanque de cultivo contínuo.....	55
<b>Figura 7</b>	Fluxograma representativo dos ensaios realizados com cultivo <i>S. platensis</i> ..	56
<b>Figura 8</b>	Fluxograma representativo da produção do macarrão.....	61
<b>Figura 9</b>	Preparo das amostras utilizadas na análise sensorial .....	62
<b>Figura 10</b>	Curvas de crescimento da <i>S. platensis</i> em tanque de cultivo e fotobiorreator obtidas por fluorescência “in vivo”. Média ± Desvio Padrão.....	65
<b>Figura 11</b>	Curvas de crescimento da <i>S. platensis</i> em tanque de cultivo e fotobiorreator obtidas por medidas da densidade ótica. Média ± Desvio Padrão.....	66
<b>Figura 12</b>	Curvas de crescimento da <i>S. platensis</i> em tanque de cultivo e fotobiorreator obtidas com base na contagem celular. Média ± Desvio Padrão.....	66
<b>Figura 13</b>	Densidade celular máxima da <i>S. platensis</i> cultivada em fotobiorreator e tanque de cultivo, com a biomassa colhida durante a fase exponencial de crescimento. Média ± Desvio Padrão.....	68
<b>Figura 14</b>	Densidade celular máxima da <i>S. platensis</i> cultivada em fotobiorreator, com a biomassa colhida durante as fases crescimento exponencial e estacionária. Média ± Desvio Padrão.....	68
<b>Figura 15</b>	Variação do pH durante o cultivo da <i>S. platensis</i> em fotobiorreator e em tanque de cultivo.....	70
<b>Figura 16</b>	Cinética de secagem da biomassa de <i>S. platensis</i> para quatro temperaturas de secagem.....	71
<b>Figura 17</b>	Frequência de consumo de macarrão.....	78
<b>Figura 18</b>	Percentual de aceitação, indiferença e rejeição das três formulações de macarrão enriquecida com <i>S. platensis</i> .....	80

<b>Figura 19</b>	Intenção de compra para as três formulações de macarrão enriquecidas com <i>S. platensis</i> .....	82
<b>Quadro 1</b>	Comparação da proteína de carne bovina e proteína de microalga.....	38
<b>Quadro 2</b>	Composição aminocídica da <i>S. platensis</i> em base seca.....	43
<b>Quadro 3</b>	Percentual de ácidos graxos presentes em <i>S. platensis</i> em base seca.....	44
<b>Quadro 4</b>	Vitaminas identificadas na biomassa seca de <i>S. platensis</i> , no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha.....	45
<b>Quadro 5</b>	Minerais identificadas na biomassa seca de <i>S. platensis</i> , no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha.....	45
<b>Quadro 6</b>	Composição do meio de cultura para <i>Spirulina</i> utilizado nesta pesquisa.....	52

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Formulação do macarrão com diferentes concentrações de biomassa de <i>S. platensis</i> , em quantidades percentuais com base no total de farinha de trigo mais biomassa.....	61
<b>Tabela 2</b>	Taxa de crescimento de <i>S. platensis</i> em fotobiorreator e tanque de cultivo, baseadas na contagem celular.....	67
<b>Tabela 3</b>	Índice de Correlação de Spearman entre as medidas diárias de crescimento da <i>S. platensis</i> obtidos dos cultivos em fotobiorreator e tanque de cultivo....	69
<b>Tabela 4</b>	Avaliações microbiológicas da biomassa de <i>S. platensis</i> e seu padrão microbiológico.....	72
<b>Tabela 5</b>	Avaliações microbiológicas do macarrão enriquecido com <i>S. platensis</i> em diferentes concentrações e seu padrão microbiológico.....	72
<b>Tabela 6</b>	Valores médios das variáveis de composição centesimal da <i>S. platensis</i> em diferentes tipos de cultivo e método de secagem.....	74
<b>Tabela 7</b>	Valores médios das variáveis de composição centesimal do macarrão e suas diferentes formulações.....	75
<b>Tabela 8</b>	Percentual de proteína nas diferentes formulações do macarrão com base na IDR para cada faixa etária.....	77
<b>Tabela 9</b>	Valores médios dos escores para os atributos avaliados no Teste de Aceitação das três formulações do macarrão enriquecido com <i>S. platensis</i> ...	79
<b>Tabela 10</b>	Percentual de aceitação, indiferença e rejeição das três formulações de macarrão enriquecida com <i>S. platensis</i> .....	80

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Objetivo Geral .....	16
2.2 Objetivos Específicos .....	16
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1 A insustentabilidade dos sistemas atuais de produção de alimentos .....	17
3.2 Alimentação contemporânea .....	19
3.3 Histórico e aplicações das microalgas na alimentação .....	20
3.3.1 Histórico do cultivo de microalgas .....	21
3.3.2 Histórico do cultivo de microalgas no Brasil .....	22
3.3.3 Aplicações das microalgas .....	23
3.4 Cultivo de microalgas .....	24
3.4.1 Crescimento das microalgas .....	24
3.4.2 Fatores limitantes para o crescimento microalgal .....	26
3.4.3 Medidas de crescimento .....	28
3.4.4 Meio de cultivo .....	29
3.4.5 Sistemas de Cultivo .....	34
3.4.6 Vantagens do cultivo de microalgas .....	37
3.5 <i>Spirulina</i> .....	39
3.5.1 A <i>Spirulina</i> como composto nutracêutico .....	40
3.5.2 Propriedades antinutricionais da <i>Spirulina</i> .....	41
3.5.3 <i>Spirulina platensis</i> , Gomont, 1892 .....	42
3.6 Legislação.....	46
3.7 Desidratação da biomassa.....	46
3.8 Custo de produção .....	48
3.9 Macarrão.....	48
3.9.1 Macarrão como alimento funcional.....	49
3.10 Avaliação sensorial.....	49
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	51
4.1 Material biológico .....	51
4.2 Desenvolvimento dos cultivos.....	51
4.2.1 Limpeza e esterilização de materiais .....	51

4.2.2 Meio para o cultivo.....	52
4.2.3 Condições de cultivo .....	52
4.2.4 Curva de crescimento .....	53
4.2.5 Tempo de cultivo .....	53
4.2.6 Taxa de crescimento .....	53
4.2.7 Densidade celular máxima (DCM).....	54
4.2.8 Produtividade.....	54
4.2.9 Obtenção de biomassa seca .....	54
4.2.10 Colheita e filtração.....	56
4.3 Métodos de secagem.....	57
4.4 Análise microbiologia.....	58
4.5 Análises físico-químicas.....	58
4.5.1 Extrato seco total .....	58
4.5.2 Resíduo mineral fixo .....	59
4.5.3 Lipídeos totais .....	59
4.5.4 Proteínas totais.....	59
4.5.5 Carboidratos totais.....	59
4.5.6 Quantificação da energia fornecida .....	60
4.5.7 Determinação do pH.....	60
4.6 Produção do macarrão .....	60
4.7 Avaliação sensorial.....	62
4.8 Análise estatística .....	63
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>65</b>
5.1 Avaliação do crescimento.....	65
5.2 Curva de secagem.....	71
5.3 Análise microbiológica.....	72
5.4 Composição centesimal .....	73
5.5 Avaliação sensorial.....	78
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>83</b>
<b>7 SUGESTÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>85</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>103</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>107</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Influenciadas pelos avanços tecnológicos na indústria de alimentos e na agricultura e pela globalização da economia, as práticas alimentares contemporâneas têm sido objeto de preocupação das ciências da saúde, por ser notória a ocorrência de uma inversão nos padrões de distribuição dos problemas nutricionais, onde a população está passando da desnutrição para a obesidade. A opção por facilidades que poupam tempo de preparo e diminuem a frequência das compras é característica da alimentação contemporânea. Este comportamento, nos alerta para a urgência em reavaliar os hábitos alimentares e estilo de vida da população. Assim, surge um novo desafio de identificar ingredientes alternativos que aliem uma alimentação equilibrada com qualidade nutricional a baixo custo e mínima interferência nas características sensoriais das formulações alimentícias atualmente disponíveis no mercado (GARCIA, 2003; KAC; VELASQUEZ-MELÉNDEZ, 2003), sendo as microalgas uma dessas alternativas, podendo ser adicionadas a alimentos utilizados nas dietas usuais, melhorando-os nutricionalmente.

As microalgas são importantes fontes de alimento para animais, bem como são utilizadas na produção de corantes naturais e na alimentação humana, como é observado em algumas regiões da África, Ásia, América do Sul, América do Norte e Europa (KEBEDE; AHLGREN, 1996; SASSON, 1997). A imensa biodiversidade, e conseqüente variabilidade na composição bioquímica destes microrganismos, aliada ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala vêm permitindo que as microalgas sejam utilizadas em diversas aplicações, como nos processos de tratamento de água, na aquicultura, nas industriais farmacêuticas e também na tecnologia de alimentos. Neste último, as microalgas destacam-se principalmente por apresentarem elevado valor protéico (50–70%), aminoácidos essenciais, vitaminas (especialmente B12), sais minerais, além de pigmentos (carotenóides, ficocianinas e clorofilas), ácidos graxos poliinsaturados, incluindo os ácidos graxos ômega-3 e outros compostos biologicamente ativos (AARONSON; BERNER; DUBINSKY, 1980; BOROWITZKA, 1999a, 1999b; COLLA et al., 2007).

Em virtude dessas características, o estudo bioquímico das microalgas tem despertado grande interesse, particularmente na produção de proteína, uma vez que algumas espécies podem conter mais de 50% de material protéico como tem sido evidenciado em várias espécies de *Scenedesmus*, *Spirulina* e *Dunaliella* (BECKER, 1994). Em 1998, experimentos

realizados pela Organização Não Governamental (ONG) Antenna Technologie demonstraram que a ingestão diária de 2 a 4 g da microalga *Spirulina* supre as necessidades de ferro, vitamina A e zinco de uma criança em idade escolar (FALQUET, 2000). Em virtude dessas propriedades nutricionais e farmacêuticas, esses microrganismos podem ser empregados especialmente no desenvolvimento de alimentos funcionais (AMBROSI et al., 2008). Mas ainda existe uma clara discrepância entre o reconhecido potencial de muitas espécies de microalgas e o atual desenvolvimento industrial, visto que muitas espécies ainda não têm o reconhecimento de seu potencial na produção de substâncias com importância econômica (BECKER, 1994).

Diante da grande quantidade de espécies de microalgas já pesquisadas, a cianobactéria *Spirulina platensis* apresenta um papel de destaque por ser de alto valor biológico devido ao seu alto teor protéico, presença de ácidos graxos poliinsaturados, pigmentos, minerais e vitaminas (LOURENÇO, 2006). Com base nestas evidências, e na necessidade da produção de alimentos que possuam qualidades nutricionais satisfatórias, procurou-se desenvolver com esta pesquisa, um produto alimentício, do tipo macarrão, que é um alimento amplamente consumido pela população brasileira, adicionado de biomassa de *S. platensis*, tornando-se, mais uma alternativa alimentar com melhores características nutricionais, interferindo minimamente nas suas características tecnológicas e organolépticas, podendo promover benefícios à saúde do consumidor.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Obter biomassa de *Spirulina platensis* para elaboração de produto alimentício enriquecido, do tipo macarrão, destinado ao consumo humano, com estabilidade microbiológica e características nutricionais e organolépticas satisfatórias.

### 2.2 Objetivos Específicos

Produzir biomassa a partir do cultivo de *Spirulina platensis*;

Determinar a concentração centesimal da biomassa obtida durante as fases de crescimento exponencial e estacionário, secos por liofilização ou gravimetria, a partir de cultivos em tanque e em fotobiorreator;

Realizar análises microbiológicas e físico-químicas da biomassa algal produzida;

Produzir massa alimentícia enriquecida com biomassa de *S. platensis*;

Realizar análises microbiológicas e físico-químicas do produto alimentício;

Realizar testes sensoriais de preferência e aceitação do produto alimentício para consumo humano enriquecido com a biomassa algal produzida.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 A insustentabilidade dos sistemas atuais de produção de alimentos**

Os recentes estudos realizados por Khan e Hanjra (2009) sobre os impactos ambientais da água e da energia na produção de alimentos fornecem dados significativos em níveis local, nacional e global, que podem ter conseqüências para a segurança alimentar mundial e para a saúde e produtividade dos ecossistemas. Segundo esses autores, a água e o solo são recursos que estão sendo utilizados de forma insustentável, sendo inevitável a redução no rendimento de culturas e o aumento no consumo de agroquímicos e de combustíveis fósseis com impactos negativos sobre os ecossistemas e os seres humanos.

Os requerimentos para a produção de alimento deverão aumentar em função do tamanho da população que deverá pular de 6 bilhões em 2000 para 9 bilhões em 2050 (UNDP, 2006), aumentando cada vez mais os impactos da agricultura sobre o ambiente. Estima-se que, em virtude desse fato, 10 bilhões de hectares de ecossistemas naturais serão convertidos para a agricultura, introduzindo incertezas maiores nas demandas de água (BONFILS; LOBELL, 2007; TILMAN, 1999; TILMAN et al., 2001), mas assegurando que ela será um sério fator limitante, visto que 70% da água doce usada pelos humanos já está comprometida com a agricultura (ROSEGRANT; CAI; CLINE, 2002). Alimentar bilhões de pessoas e manter o clima dentro de limites habitáveis são os principais problemas a serem enfrentados visando garantir ofertas para as gerações futuras (MILINSKI et al., 2006).

Tilman et al. (2001) prevêm que para alimentar uma população de 9 bilhões de pessoas a partir dos métodos atuais de produção agrícola, será necessário converter mais de 1 bilhão de hectares de habitats naturais, principalmente nos países em desenvolvimento, duplicando ou triplicando os usos de nitrogênio e fósforo, aumentando cerca de duas vezes mais o consumo de água, e triplicando o uso de pesticidas.

No Brasil, a questão das conversões do capital natural em capital humano exhibe um quadro de preocupação alarmante, particularmente devido à expansão das fronteiras agrícolas. O bioma cerrado foi sendo progressivamente ocupado pela soja, aumentando o desmatamento da Amazônia. Embora, a soja, seja plantada em áreas da Amazônia já convertidas para a pecuária, não se atribuindo a ela, necessariamente, as implicações das conversões

(BRANDÃO; REZENDE; MARQUES, 2005), há de se considerar que a chegada da soja desloca a pecuária para áreas virgens da floresta, devendo este efeito reduzir entre 400 e 830 mil hectares por ano (RODRIGUES, 2004).

Rodrigues (2004) mostra que no período de 1991 a 2001 o rebanho bovino na Amazônia cresceu 77%, passando de 19% para 29% da produção nacional. A projeção estimada para o ano de 2020 é um crescimento nacional entre 30% e 55%, devendo a produção na Amazônia crescer de forma mais acentuada. Para atender a esse crescimento, estima-se uma conversão entre 960 mil e 3,2 milhões de hectares por ano de floresta amazônica para a pecuária, um número que não condiz em hipótese alguma, com os pressupostos do desenvolvimento sustentável.

O retorno para uma vida totalmente natural é impossível, assim, não há outra opção a não ser controlar os espaços humanos (noosfera) de maneira a permitir um uso mais parcimonioso dos recursos naturais para que tanto as nossas necessidades atuais como as das gerações futuras sejam atendidas (ZECHENDORF, 1999). Este é o conceito de desenvolvimento sustentável estabelecido pela Comissão Mundial de Desenvolvimento e Meio Ambiente. O desenvolvimento sustentável exige a conciliação de demandas para a conservação da biodiversidade e o aumento da produção agrícola. Avaliar o impacto das novas práticas agrícolas sobre a biodiversidade e os serviços dos ecossistemas é fundamental neste processo (BUTLER; VICKERY; NORRIS, 2007).

Pensando do ponto de vista da tecnologia, é possível que novas técnicas produtivas sejam cada vez mais investigadas no sentido de produzir alimentos saudáveis e abundantes a baixo custo, propiciando complementar as necessidades nutricionais diárias de populações carentes e, ao mesmo tempo, re-orientando e re-pensando as práticas agrícolas que hoje são adotadas. Nesse campo, várias contribuições da biotecnologia têm sido investigadas visando remediar danos ambientais e melhorar a qualidade de vida das pessoas. Processos que buscam produzir mais alimento numa mesma área reduzindo pressões de expansão sobre a vida silvestre tem sido uma opção interessante. Segundo Capra (2002) práticas planejadas reduzem as perdas, a utilização de fertilizantes e pesticidas, além de reduzir os impactos sobre o meio ambiente e permitem que os recursos usados hoje possam ser também conservados no futuro, ao mesmo tempo em que provém qualidade de alimentos frescos e processados.

A busca por soluções limpas deverá garantir sustentabilidade humana e ambiental. A agricultura orgânica e hidropônica são alguns exemplos de produção de alimentos de formas mais saudáveis que estão em expansão no mundo todo, inclusive no Brasil. Certamente a biotecnologia poderá criar novos recursos contribuindo com a melhoria da qualidade

ambiental e, por conseguinte, da qualidade de vida (ZECHENDORF, 1999). Outra tendência que deverá se consolidar seriamente é a aquicultura e, em especial, o cultivo em massa de organismos que apresentam elevado valor nutricional, altas taxas de produção de biomassa, baixas taxas de subsídios energéticos e químicos, necessidades de pequenos espaços. Neste contexto as culturas em massa de microalgas e outros microrganismos deverão ocupar papel de destaque (HABIB et al., 2008).

### **3.2 Alimentação contemporânea**

As modificações na estrutura sócio-econômicas que, convenientemente, eclodiram nos últimos anos, não apenas no Brasil, mas também em outros países, tem instigado, significativamente, mudanças nos hábitos e estilo de vida da população, implicando em um aumento no consumo de alimentos industrializados. Estas transformações estão arraigadas à transição nutricional, com a inversão nos padrões de distribuição dos problemas nutricionais de uma dada população no tempo, ou seja, uma passagem da desnutrição para a obesidade. Este comportamento, nos alerta para a urgência em reavaliar os hábitos alimentares e estilo de vida da população, remetendo-nos a busca de meios capazes de promover hábitos alimentares saudáveis, já que as dietas estão se tornando menos nutritivas e mais calóricas, dada, especialmente, pelo aumento de gorduras e açúcares nesses alimentos (KAC; VELASQUEZ-MELÉNDEZ, 2003).

Dentro deste contexto, observa-se a importância do consumo de proteínas de alto valor biológico na alimentação humana, já que elas exercem funções de construção e manutenção do organismo vivo. A insuficiência na ingestão de proteínas é prejudicial em qualquer fase do ciclo de vida, mas se agrava em gestantes, lactantes, lactentes, pré-escolares e escolares. Esta situação requer uma intervenção coerente a partir da melhoria no cardápio alimentar da população, sem imiscuir-se repentinamente sobre a diversidade de alimentos que o compõe, mas sim, sobre a sua qualidade nutricional, garantindo uma alimentação balanceada, e com isso promovendo o máximo crescimento, desenvolvimento e manutenção do indivíduo, refletindo diretamente sobre a capacidade cognitiva e de trabalho, influenciando direta e positivamente no crescimento econômico do País (GARIB, 2002; NICOLETTI, 2007).

Em consequência a estas circunstâncias sócio-econômicas aliadas à globalização, houve um estímulo à procura por fontes alternativas para a alimentação e por novos processos

tecnológicos, almejando-se reduzir os custos dos produtos e atender as demandas nutricionais, inclusive às das classes menos favorecidas (BATISTUTI; FREITAS, 1995). Com isso, a alimentação equilibrada, composta por um bom aporte de macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) e micronutrientes (vitaminas e sais minerais) é essencial na solução destes problemas que emergiram com a transição nutricional (NICOLETTI, 2007). As microalgas são uma fonte alternativa com proteínas de alto valor biológico, vitaminas (especialmente B12), sais minerais, pigmentos (carotenóides, ficocianinas e clorofilas), ácidos graxos poliinsaturados e outros compostos biologicamente ativos que pode ser adicionada a alimentos já consolidados nas dietas usuais, como o macarrão, melhorado-o nutricionalmente.

### 3.3 Histórico e aplicações das microalgas na alimentação

O termo microalga é desprovido de valor taxonômico, visto que engloba organismos muito distintos entre si quanto à origem, composição química e morfologia. Ele designa uma grande quantidade de espécies constituintes do fitoplâncton<sup>1</sup>, que, por sua vez, abrange uma numerosa variedade de organismos unicelulares, multicelulares e autotróficos, medindo entre 2 e 100 µm e representam o primeiro elo da cadeia alimentar, razão pela qual servem como alimento direto para organismos filtradores. Ainda não é conhecido o número exato de espécies microalgais, e dentre as 200 mil catalogadas a maioria permanece bioquímica e metabolicamente inexplorada (DERNER, 2006; LOURENÇO, 2006; SHEEHAN et al., 1998).

Microalgas são microrganismos que contêm pigmentos fotossintéticos que podem ser classificados em três grupos: as clorofilas (em especial clorofila *a*, pigmento mais importante para a fotossíntese, uma vez que apresenta papel central no fotossistema para captação da energia luminosa), os carotenóides e as ficobilinas, tais pigmentos se diferem em sua composição química e na capacidade de absorver luz em determinado comprimento de onda. Esses microrganismos são capazes de realizar fotossíntese oxigênica, necessitam de requerimentos nutricionais relativamente simples e são encontrados em todos os ecossistemas da terra, não somente nos aquáticos, mas também terrestres, e englobam uma grande variedade de espécies que vivem em condições ambientais amplamente variáveis

---

<sup>1</sup> Composto por organismos aquáticos microscópicos unicelulares, que tem capacidade fotossintética.

(ANDRADE; COSTA, 2008; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001; ROUND, 1983).

As microalgas são responsáveis por pelo menos 60% da produção primária da Terra. Elas armazenam energia solar, convertendo-a em energia biológica, tornando-as base de diversas cadeias tróficas nos ambientes aquáticos, como por exemplo, sendo o alimento principal de animais fitófagos como algumas espécies de peixes, moluscos bivalves (fitófagos durante todo o ciclo de vida), nos primeiros estágios larvares de crustáceos e para o zooplâncton em geral (ARREDONDO-VEGA, 1995; CHISTI, 2004; SHELEF; SOEDER, 1980).

A utilização de microalgas na alimentação humana ocorre desde tempos remotos, destacando-se algumas espécies do gênero *Nostoc*, consumida na Ásia, e *Spirulina* no México pelos Astecas que a ingeriam habitualmente com cereais sob a forma de molho conhecido como “chimolli” ou molho asteca, e na África pelos Kanembous, onde as mulheres colhiam a *Spirulina* no lago Chad, quando os ventos empurravam e aglomeravam essas microalgas nas margens, depois secavam a biomassa ao sol e, posteriormente, a amassavam com as mãos moldando-as em blocos e cortando-as em pequenos tabletes. Com essa biomassa, também era possível preparar o “dihé”, mistura de *Spirulina* com molho de tomate e temperos variados (AARONSON; BERNER; DUBINSKY, 1980; CIFERRI; TIBONI, 1985; NAVALHO, 1998; NORTON; MELKONIAN; ANDERSEN, 1996).

### 3.3.1 Histórico do cultivo de microalgas

O cultivo de microalgas representa uma das modernas formas de biotecnologias. O primeiro registro histórico que pode ser considerado como forma de cultivo de microalgas é atribuído a Cohn em 1850 por manter viva, em laboratório, a alga verde flagelada *Haematococcus*, mas foi Famintzin em 1871 que desenvolveu as primeiras pesquisas experimentais de cultivo de microalgas. Algumas das suas primeiras pesquisas sobre a fisiologia de algas foram realizadas com o cultivo das algas verdes *Chlorococcum infusionum* e *Protococcus viridis* em solução de sais inorgânicos, quando foi relatada a necessidade destes sais inorgânicos para o desenvolvimento de microalgas. Estas informações influenciaram decisivamente a atuação dos primeiros pesquisadores no cultivo de microalgas. Entre 1890 e 1893, Beijerinck realizou o isolamento de clorofíceas de água doce dos gêneros *Chlorella* e



*Scenedesmus* e o uso de tais culturas para estudos da fisiologia vegetal foram desenvolvidos por Warburg no começo do século XX. Desde então o interesse nos cultivos de microalgas tem crescido continuamente (BENEMANN; TILLET; WEISSMAN, 1987; CHAUMONT, 1993; LOURENÇO, 2006).

Após esta fase inicial de desenvolvimento dos cultivos, a velocidade de geração de conhecimento e a sua diversificação, intensificaram-se surgindo mais estudos ecológicos, fisiológicos, ontogenético, bioquímicos e genéticos. Com isso foi despertado o interesse pela produção de biomassa algácea para uso como alimentos animal e humano, já que, até então, elas eram estudadas com enfoque meramente biológico. As culturas em massa de microalgas, realmente começaram a receberem mais atenção após 1940 em Stanford (USA), Essen (Alemanha) e Tokyo (Japão) e um livro clássico foi editado por Burlew em 1953 resumando muitos desses estudos. Possivelmente, a exploração desse novo recurso foi influenciada pela Segunda Guerra Mundial (LOURENÇO, 2006; RICHMOND; SOEDER, 1986).

O cultivo de microalgas em escala comercial foi iniciado em 1960 no Japão com o cultivo de *Chlorella* seguida no início de 1970 com o estabelecimento da *Spirulina* cultivada em larga escala no Lake Texcoco, México e em 1977 na Tailândia. Por volta de 1980 haviam 46 fábricas de larga escala na Ásia, produzindo mais de 1000 kg de microalgas por mês (principalmente *Chlorella*). A produção comercial de *Dunaliella salina*, como fonte de  $\beta$ -caroteno, pela Western Biotechnology Ltd e Betatene Ltd (hoje Cognis Nutrition & Health) tornou-a a terceira maior indústria de microalga desenvolvida na Austrália em 1986, seguidos de Israel e Estados Unidos da América (USA). Mais recentemente, várias fábricas produzindo *Haematococcus pluvialis* como fonte de astaxantina foram estabelecidas no USA e Índia. Assim, em cerca de 30 anos, a indústria da biotecnologia de microalgas cresceu e se diversificou significativamente (LOURENÇO, 2006; SHELEF; SOEDER, 1980).

### 3.3.2 Histórico do cultivo de microalgas no Brasil

O Brasil só iniciou as primeiras pesquisas sobre o cultivo de microalgas no período em que a diversificação de estudos e aplicações biotecnológica já estavam bastante avançados internacionalmente. Foi em 1970 que Clovis Teixeira e Armando A. H. Vieira, do Instituto de

---

<sup>2</sup> Transformações por que passa o organismo, desde a reprodução até o seu perfeito desenvolvimento.

Oceanográfico da Universidade de São Paulo (USP), iniciaram as primeiras coleções microalgas marinhas em cultivo laboratorial e em 1976 publicaram os primeiros resultados com o cultivo de diatomácea *Phaeodactylum tricornutum*. Em 1977, Armando Vieira fundou, na Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), a primeira coleção de microalgas de água doce do País. Embora o cultivo de microalgas já fosse realizado em instituições ligadas a aquicultura, somente a partir de 1980, começou a se difundir pelo Brasil, com o envolvimento de pesquisadores e universidades em vários estados, quais sejam, Universidade Federal de Pernambuco, Fundação Universidade de Rio Grande, Universidade Federal da Paraíba e na Universidade Federal do Rio de Janeiro. A partir de 1990, outros laboratórios de cultivos de microalgas foram fundados totalizando, atualmente, 45 unidades em todo o País. (LOURENÇO, 2006).

### 3.3.3 Aplicações das microalgas

A busca de alternativas alimentares que possam diminuir o déficit nutricional buscando novos processos e matérias-primas vêm aumentando. Pesquisas inovadoras envolvendo a biotecnologia, por meio da utilização de microrganismos ou enzimas para a produção de novos produtos, inclusive alimentos, estão instigando a sociedade moderna (MULITERNO et al., 2005). A aceitabilidade de um microrganismo, em especial para o uso na alimentação humana e animal, depende de seu valor nutricional e segurança o que inclui o baixo teor de ácidos nucléicos, ausência de toxinas e de compostos residuais indesejáveis (BEKATOROU; PSARIANOS; KOUTINAS, 2006).

O interesse pela produção de microalgas em escala comercial vem aumentando desde as primeiras pesquisas realizadas por Burlew em 1953. Desde então, muitos aspectos da biotecnologia foram desenvolvidos visando aumentar a eficiência de culturas em massa (BENEMANN; TILLET; WEISSMAN, 1987; CHAUMONT, 1993; RICHMOND; SOEDER, 1986). A biomassa das microalgas pode ser empregada para obtenção de biocompostos, como suplemento alimentar humano, alimento animal ou fonte de biocombustíveis, fonte de pigmentos naturais, vitaminas e ácidos graxos, e para a produção de aditivos utilizados em formulações farmacêuticas e alimentares. Também são usadas na aquicultura, como alimento para moluscos, microcrustáceos e peixes, uma vez que contribuem para a manutenção da saúde da pele desses animais, intensificando sua cor e

umentando as taxas de crescimento, sobrevivência e fecundidade. Em alguns países essas algas também são usadas como alimento para aves ornamentais, cães, gatos e como tônico para cavalos, vacas e touros. Tais aplicações são cada vez mais comuns atualmente, deixando de ser um produto meramente promissor e assumindo papel real na sociedade moderna (ANDRADE; COSTA, 2008; HENRIKSON, 1994; LOURENÇO, 2006).

### **3.4 Cultivo de microalgas**

Existem vários métodos de cultivo de microalgas, o mais comumente utilizado é baseado na indução artificial de condições eutróficas que levam a um rápido desenvolvimento de explosões populacionais denominado “blooms”. Este método consiste na adição de um inóculo puro de microalga a um meio de cultivo (LOURENÇO, 2006).

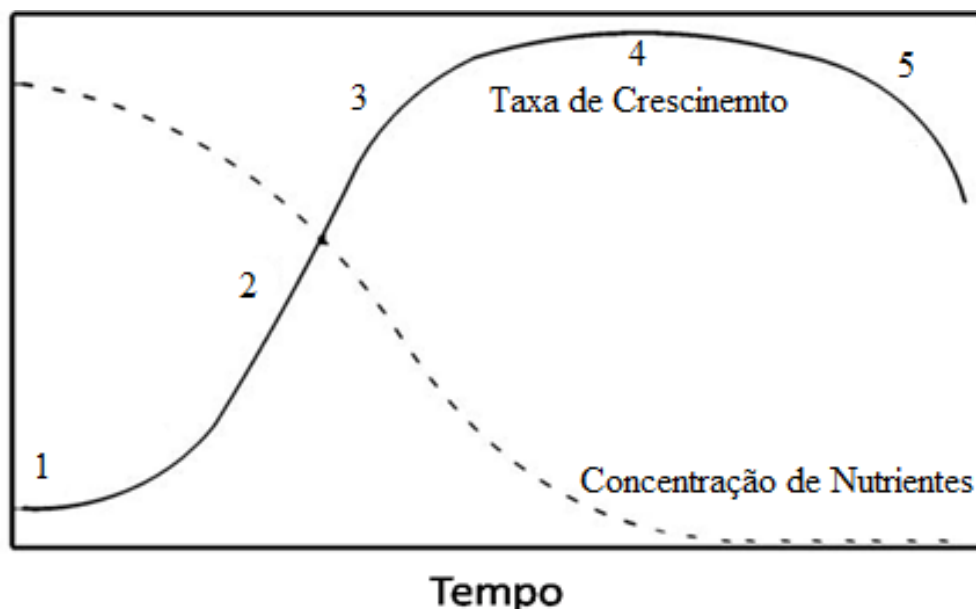
Como os demais microrganismos, as microalgas reagem a variações do meio exterior com alterações do seu meio intracelular. A manipulação das condições de cultivo, a presença, ausência ou concentração de determinados nutrientes, tendem a estimular a biossíntese de compostos que vão desde enzimas a fármacos e antioxidantes naturais, alguns de elevado valor comercial (HENRIQUES et al., 1998), além de influenciar decisivamente os resultados de crescimento celular como também os componentes da biomassa e produtos de interesse como pigmentos, proteínas, lipídios, ácidos graxos, entre outros (DERNER, 2006).

#### **3.4.1 Crescimento das microalgas**

Em condições climáticas adequadas e nutrientes suficientes, as microalgas podem crescer profusamente. Comumente elas dobram a sua biomassa dentro de 24h ou menos e durante a fase de crescimento exponencial elas podem completar um ciclo de vida dentro de 2 a 4h (CHISTI, 2007).

A análise da curva de crescimento é o método mais empregado para a avaliação do crescimento populacional de microalgas em cultivo. Pode ser expressa como sendo a relação entre o número de organismos num determinado volume (densidade celular) pelo tempo. Teoricamente a curva de crescimento apresenta cinco fases distintas (Figura 1), quais sejam: (1) Fase de Indução, ocorre logo após a inoculação da célula, sendo um período de adaptação

onde não existe incremento populacional, podendo ocorrer redução na densidade celular, podendo, ainda, não acontecer ou ocorrer muito rapidamente; (2) Fase Exponencial, expressada pelo crescimento logarítmico, nesta fase a biomassa se duplica sucessivamente em intervalos de tempo regulares e a velocidade de crescimento alcança seu ritmo máximo; (3) Fase de Diminuição do Crescimento Relativo acontece uma redução na taxa de crescimento celular, aumentando o tempo de duplicação, neste período a quantidade de nutrientes e a energia luminosa por célula (autossombreamento) já estão reduzidos devido ao incremento da densidade celular, diminuindo assim a atividade fotossintética; (4) Fase Estacionária, observada pela constância da densidade celular, a taxa de crescimento está compensada pela taxa de mortalidade, ela pode ser caracterizada por pequenos acréscimos e decréscimos na população microalgal, mas ao ajustar a curva (regressão logística) esta fase é representada graficamente por uma reta; (5) Fase de Morte da Cultura, que acontece devido ao esgotamento dos nutrientes (Figura 1) e ao autossombreamento, impossibilitando o crescimento (DERNER, 1995, 2004; DERNER et al., 2006).



**Figura 1** - Representação esquemática de taxa de crescimento de algas em cultura e a concentração de nutrientes por um período de tempo.

Fonte: adaptada de Mata, Martins e Caetano (2010).

### 3.4.2 Fatores limitantes para o crescimento microalgal

Tanto no ambiente natural quanto nos cultivos, o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos (MOHEIMANI, 2005). As respostas das células a essas condições ambientais definem esses fatores como limitantes ou otimizantes. Os fatores biológicos estão relacionados às taxas metabólicas da espécie cultivada, a possível influência de outros organismos sobre o seu desenvolvimento e a idade do inóculo (PELIZER et al., 2003). Quanto aos fatores físico-químicos os mais observados são a luz (DARLEY, 1982), a temperatura (COLLA et al., 2007), a quantidade e o tipo de aeração (CONVERTI et al., 2006; ONCEL; SUKAN, 2007), a disponibilidade de nutrientes (GUILLARD, 1975), a salinidade (LOURENÇO; MARQUES JUNIOR, 2002) e o pH (LOURENÇO, 2006). Todos esses fatores podem influenciar no valor nutricional das microalgas, incluindo a sua forma e tamanho, digestibilidade (relacionada à estrutura e composição da parede celular), composição bioquímica (nutrientes, enzimas, toxinas se presentes) e os requerimentos dos organismos alvo da alimentação.

A influência da luz no desenvolvimento das microalgas está relacionada ao fotoperíodo (tempo de exposição à luz), intensidade, qualidade (comprimento de onda) e tipo de luz (cor). O fato de a luz variar tanto no espaço (profundidade e latitude) quanto no tempo (diariamente e sazonalmente), também é um fator condicionador ao seu crescimento (ABE; GALVÃO, 1991; DARLEY, 1982; DUBINSKY, 1990). A qualidade do espectro luminoso e a irradiação também podem causar efeitos diferenciados no crescimento celular, em especial, na composição bioquímica, principalmente quanto ao teor de proteínas, polissacarídeos e clorofila (RIVKIN, 1989). É devido à luminosidade que a fotossíntese ocorre, mas ela se processa até um limite denominado ponto de saturação luminosa, sendo da ordem de 5 a 10 Klux para cianobactérias (MORIST et al., 2001). O cultivo sob altas intensidades luminosas é responsável por dois fenômenos prejudiciais: a foto-oxidação, que tem efeitos letais para as células, podendo levar à perda total da cultura e a fotoinibição, provocando um decréscimo no rendimento máximo do crescimento, esta também pode ocorrer sob intensidades luminosas moderadas se a taxa fotossintética estiver limitada por fatores estressantes, como baixas temperaturas. (JENSEN; KNUTSEN, 1993; SAMUELSSON et al., 1985).

A temperatura é o fator restritivo mais importante, depois da luz, para o cultivo de microalgas, exercendo forte influência sobre as reações metabólicas e conseqüentemente sobre a taxa de crescimento. Os efeitos da temperatura em muitas espécies de microalgas em

laboratório são bem documentados, mas a magnitude de efeitos de temperatura na produção de biomassa anual ao ar livre ainda não é suficientemente conhecida. Muitas microalgas podem tolerar facilmente temperaturas de 8 a 15 °C mais baixo do que a sua temperatura ótima de crescimento, mas temperaturas elevada, aproximadamente 4° C acima do ponto ótimo de crescimento pode resultar na perda total da cultura (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Quanto à nutrição, as microalgas têm necessidades de uma série de nutrientes para um crescimento otimizado. As quantidades dos nutrientes no meio variam entre as espécies e dependem de distintas condições ambientais (GUILLARD, 1975). Em geral, a composição do meio de cultura é uma simulação do meio natural em que a espécie se encontra (ou o mais próximo deste), contendo numerosos sais minerais, alguns elementos traço e algumas vezes vitaminas (cianocobalamina, tiamina e biotina), mas em baixas concentrações. Os nutrientes requeridos podem ser classificados em duas categorias: os macronutrientes, compostos por C, H, O, N, P, S, K, Mg, Si e Fe e os micronutrientes Mn, Cu, Zn, Mo, V, B, Co, Ca, Na, Se e Ni (GUILLARD, 1975; LOURENÇO, 2006).

O controle do pH é essencial para que os componentes do meio de cultura possam ser efetivamente absorvidos, afetando diretamente a disponibilidade de vários elementos químicos. O pH é fundamentalmente influenciado pelas proporções entre formas de carbono dissolvidas na água de cultivo, onde o consumo desse CO<sub>2</sub> afeta o crescimento de microalgas, aumentando o pH do sistema, que pode atingir níveis muito elevados (LOURENÇO, 2006).

A salinidade, tanto em sistemas abertos como fechados, pode afetar o crescimento e a composição da célula de microalgas. Cada alga tem uma concentração de salinidade ótima. Em cultivos abertos esta concentração pode variar de acordo com as condições do tempo, estando mais concentrado em dias quentes devido à evaporação (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). Essa variação na salinidade, normalmente prejudica o crescimento da biomassa em virtude do estresse osmótico e iônico e das modificações nas proporções iônicas celulares devido à permeabilidade seletiva da membrana aos íons (BRAND 1984; GLASS, 1983).

A movimentação e aeração é outro parâmetro de crescimento importante, já que estes proporcionam a homogeneização da distribuição de células, do calor, e dos metabólitos, facilitam a transferência de gases, previnem a sedimentação e ajudam para um melhor contato entre as células e os nutrientes. O grau de agitação deve ser investigado para evitar o declínio na produtividade e o rompimento de tricomas. A agitação também garante a eliminação de oxigênio supersaturado (LITCHFIELD, 1977; RICHMOND, 1983).

### 3.4.3 Medidas de crescimento

Em cultivos de microalgas, e de outros microrganismos, podem ser aplicados determinados parâmetros de crescimento (empregando fórmulas) e representações gráficas para ilustrar o desenvolvimento das culturas (VONSHAK, 1990). O crescimento de uma população microalgal pode ser estimado pelo emprego de determinados parâmetros, dentre os quais podemos destacar a densidade celular máxima, a velocidade (taxa) de crescimento e o tempo de cultivo. Esses parâmetros podem ser determinados a partir do cultivo pela contagem direta em microscopia (quantificar o número de células algáceas por mililitro de cultivo), fluorescência “in vivo” e densidade óptica, por exemplo.

De acordo com Olivera (1993), a densidade celular máxima é o maior valor obtido em número de células por mililitro, já a velocidade de crescimento representa o número de divisões celulares da população por unidade de tempo (divisões por dia). O tempo de cultivo é o período transcorrido entre o início do cultivo e o momento no qual a cultura alcançou a densidade celular máxima ou que a biomassa apresentou o maior conteúdo de um determinado composto de interesse ou, ainda, alcançou o maior valor nutricional para a espécie de organismo que se quer alimentar no menor espaço de tempo possível. Esse último parâmetro de avaliação do crescimento é considerado muito importante em se tratando de cultivos em grande escala, uma vez que o tempo é decisivo para a escolha de uma determinada espécie, do seu processo de produção e da infra-estrutura necessária para o seu cultivo (BROWN et al., 1997; TREDICI, 2004).

De acordo com Brown et al. (1997), a composição nutricional das microalgas pode variar também em função de diferentes condições de cultivo e da fase de crescimento da cultura. Para avaliar o desenvolvimento de microalgas, é essencial que o crescimento da população em cultivo seja acompanhado para determinar o momento adequado para a sua colheita e utilização.

#### 3.4.3.1 Fluorescência “in vivo”

A fluorescência “in vivo” vem sendo usada há muitos anos como indicador de crescimento de microalgas em cultura. Essa medida é realizada por fluorômetro, onde uma

fonte de luz é incidida sobre a amostra que ao absorver temporariamente essa energia luminosa por um período de  $10^{-15}$  segundos, as moléculas de clorofila têm seus elétrons excitados (admiti-se que a maior parte da energia não é perdida em virtude das colisões entre as moléculas vizinhas), ao retornarem ao estado básico (após  $10^{-8}$  segundos), o excesso de energia é liberado na forma de fluorescência sendo esta resposta registrada pelo aparelho em valores numéricos que corresponde à intensidade de fluorescência que não apresenta unidade própria, sendo então expressa em “unidade arbitraria de fluorescência” ou “fluorescência *in vivo*” (LOURENÇO, 2006).

#### **3.4.3.2 Densidade óptica**

O uso da densidade óptica para avaliar o crescimento de microalgas fundamenta-se na obstrução física da luz pelas células. Quanto mais células estiverem presentes na amostra, maior será a absorvância (absorção de luz) e menor será a transmitância (passagem de luz pela amostra). Nessas medições utiliza-se o espectrofotômetro. Para microalgas que possuem pigmentos fotossintetizantes, as análises devem ser realizadas no comprimento de onda de 570 nm, visto que, esse comprimento situa-se numa faixa distante da absorção máxima de luz pelas clorofilas e carotenóides. A absorvância registrada será pouco influenciada pelos pigmentos fotossintéticos, atribuindo-se, fundamentalmente, à obstrução física da passagem de luz pelas células em suspensão (LOURENÇO, 2006).

#### **3.4.4 Meio de cultivo**

Para o desenvolvimento e produtividade das microalgas é primordial o conhecimento dos nutrientes necessários para o seu cultivo que devem complementar suas necessidades nutricionais. Entre as espécies, ocorrem variações desses nutrientes tanto em relação à quantidade, quanto aos que devem ser utilizados, podendo os diferentes tipos de meios de cultura serem adequados a vários grupos de microalgas, para somente alguns deles ou apenas para determinadas espécies. Ainda assim, estas necessidades nutricionais são dependentes de distintas condições ambientais. (GUILLARD, 1975).



De acordo com Lourenço (2006) diversos experimentos laboratoriais foram iniciados desde o primeiro quarto do século XX para definir a importância relativa de cada elemento químico essencial para a nutrição das microalgas, mas ainda não foi consolidado um número universal e exato desses elementos, devido ao fato de que certos elementos são essenciais para determinadas espécies ou grupos taxonômicos e para outros não. Reconhece-se um conjunto de 15 a 21 elementos considerados essenciais para o desenvolvimento e composição química das microalgas, divididos em macronutrientes e micronutrientes.

#### 3.4.4.1 Macronutrientes

Nas microalgas, os macronutrientes são responsáveis por várias funções como fontes de constituintes estruturais das biomoléculas, da membrana e do meio intracelular, participação nos processos de troca de energia e regulação das atividades metabólicas. A sua ausência ou insuficiência pode comprometer algumas das funções vitais nesse microrganismo (LOURENÇO, 2006).

- a) Carbono (C): componente mais importante de todas as substâncias orgânicas sintetizadas pelas células (proteína, carboidrato, lipídeo, vitaminas, etc). São fontes de carbono a difusão natural de  $\text{CO}_2$  do ar atmosférico para o meio de cultivo, adição de sais de carbonatos ou bicarbonatos;
- b) Hidrogênio (H): apesar de sua grande abundância nas microalgas, não é um fator limitante. Pode ser adquirido pela quebra das moléculas de água por meio da fotólise da água (reação primária da fotossíntese), fator que garante sempre uma elevada concentração deste elemento no meio;
- c) Oxigênio (O): necessário para a respiração e os processos que necessitem de energia, mas não exerce efeito limitante;
- d) Nitrogênio (N): componente básico na formação de proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes, constituinte de diversas substâncias do metabolismo primário e pode ser encontrado em concentrações variáveis no interior das células algáceas na forma inorgânica (nitrito, nitrato e amônio). É assimilado, preferencialmente, sob forma amoniacal ( $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ ), mas também podem ser assimiladas na forma de nitrogênio gasoso ou molecular (algumas cianobactérias),

de nitrato ( $\text{NO}^{3-}$ ), de nitrito ( $\text{NO}^{2-}$ ). As principais fontes são os sais de nitrato, sais de amônio e uréia. As concentrações de proteínas e clorofilas nas células são diretamente proporcionais ao suprimento de nitrogênio, com isso, a diminuição da concentração de proteína, ocasiona aumento significativo no percentual de polissacarídeos e a diminuição da clorofila aumenta a concentração de carotenóides gerando mudança de coloração no cultivo que tendem ao aspecto amarelado;

- e) Fósforo (F): assim como o nitrogênio o fósforo é considerado um dos principais elementos limitantes para as microalgas. Ele é importante na regulação do metabolismo celular (síntese de lipídeos e carboidratos) e no fornecimento de fosfatos para a geração de energia e na constituição de moléculas estruturais (ATP, açúcares fosfatados, ácidos nucleicos e fosfoenzimas). O fósforo é assimilado na forma de ortofosfato ( $\text{HPO}_4^{3-}$ ). As microalgas são capazes de absorver quantidades elevadas do fósforo (8 a 16 vezes a mais que a sua cota mínima), isso permite que a célula continue a se desenvolver mesmo que não haja disponibilidade de novas fontes deste elemento. A absorção do fósforo é inibida total ou parcialmente pelo arsênio. Geralmente as fontes do fosfato são os sais de sódio e potássio;
- f) Enxofre (S): o enxofre representa 1 a 2% do peso seco celular e a maior parte dele se encontra presente na constituição dos aminoácidos metionina e cisteína, mas também está presente como co-fator de enzimas e em certas vitaminas tais como biotina e tiamina;
- g) Potássio (K): é regulador da pressão osmótica, estimula a respiração em pH reduzido, é co-fator de várias enzimas e na conformação e estabilidade de proteínas;
- h) Magnésio (Mg): elemento essencial para as microalgas por ser constituinte da molécula de clorofila. O magnésio é co-fator de várias enzimas, participa na ativação das enzimas glicolíticas, estimula a síntese de ácidos graxos essenciais, regula os níveis iônicos celulares, a ativação de ATPase na membrana. Quando há deficiência, ocorre a perda do conteúdo pigmentar da célula, denominado clorose;
- i) Silício (Si): apenas a diatomáceas e silicoflagelados necessitam do silício, pois é componente estrutural das frústulas e esqueleto externo respectivamente. São fontes de silício os sais de silicato de sódio hidratados (LOURENÇO, 2006).

### 3.4.4.2 Micronutrientes

O principal papel dos micronutrientes, em especial os metálicos, é participar da estrutura e da atividade de diversas enzimas que são envolvidas nas diversas vias metabólicas, conferindo diferentes papéis para cada um deles. Alguns micronutrientes metálicos podem ser tóxicos para as microalgas se estiverem em altas concentrações e podem também atuar como antagonistas, provocando deficiência em determinados nutrientes mesmo que ele esteja disponível no meio (LOURENÇO, 2006).

- a) Ferro (Fe): extremamente importante para as algas. Participa de funções como respiração, fotossíntese, da via biossintética da clorofila e do citocromo, reduz o sulfato, o nitrato e o nitrito, fixa o nitrogênio molecular e é co-fator de diversas enzimas;
- b) Manganês (Mn): componente estrutural dos tilacóides, dos cloroplastos e da superóxido-dismutase (enzima que remove radicais superóxidos tóxicos das células) e funciona como um co-fator de enzimas que participam da síntese de ácidos graxos e do ciclo de Krebs. É exigido pelas algas em concentrações mais baixas que o ferro. Nos meios de cultura está disponível como Cloreto de Manganês quelado;
- c) Molibidênio (Mo): sua principal função é associada ao metabolismo do nitrogênio por ser um constituinte da nitrato redutase, enzima responsável pela redução do nitrato em nitrito. Este elemento é co-fator de enzimas que participam da respiração, fotossíntese e da nitrogenase (fixação de  $N_2$  nas cianobactérias). As microalgas necessitam de uma baixa demanda, sua razão com carbono (Mo:C) é de 0,27  $\mu\text{mol}$ : 1 mol. Normalmente é ofertado na forma de Molibidato de Sódio;
- d) Cobalto (Co): componente fundamental da cianocobalamina, vitamina essa essencial para o desenvolvimento das algas em geral. Está envolvido no metabolismo do nitrogênio e é exigido em pequenas concentrações. Em meios de cultivo, geralmente é oferecido na forma de Cloreto de Cobalto;
- e) Boro (B): elemento limitante essencial para as diatomáceas, clorofíceas, cocolitoforídeos e constitui antibióticos produzidos pelas microalgas. Algumas funções do boro para as algas ainda não foram bem elucidadas, mas há indícios de que o elemento participa na regulação da utilização do carbono e apresenta algum

papel relevante na estrutura dos ribossomos. Ele é fornecido no meio de cultura como Ácido Bórico ( $H_3BO_3$ )

- f) Vanádio (V): elemento-traço componente das enzimas haloperoxidases, participando assim da formação de vasta gama de produtos naturais que contém halogênios em algas. Somente alguns meios de cultura adicionam o vanádio, mas em concentrações extremamente baixas. É oferecido na forma de Ortovanadato de Sódio ( $Na_3VO_4$ );
- g) Zinco (Zn): assemelha-se aos papéis metabólicos do manganês. É componente estrutural da anidrase carbônica (transporte e fixação de  $CO_2$ ), de enzimas envolvidas na transcrição do DNA e da fosfatase alcalina. Em meios de cultura, geralmente, deve ser adicionado na forma de Sulfato de Zinco ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ );
- h) Cobre (Cu): constituinte fundamental de coenzimas que participam do transporte de elétrons na fotossíntese, como a citocromo oxidase, sendo necessário para a aquisição de energia pela alga. Deve ser adicionado em meios de cultura como Cloreto de Cobre ( $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ) ou Sulfato de Cobre ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ );
- i) Selênio (Se): elemento essencial para o crescimento de microalgas. Ocorre na glutathione peroxidase, enzima responsável por degradar o peróxido de hidrogênio e outros peróxidos (LOURENÇO, 2006).

#### 3.4.4.3 Vitaminas

Apenas três vitaminas são efetivamente importantes para as microalgas: tiamina, biotina e cianocobalamina. Algumas espécies podem sintetizá-las, as que não sintetizam necessitam recebê-las de fontes exógenas. As demais vitaminas não atuam como fatores limitantes, pois: são sintetizadas pelas algas, são sintetizadas por microrganismos associados a algas e disponibilizados, não apresentam funções biológicas para algas, ou são necessárias em concentrações tão baixas ao ponto de serem irrelevantes (LOURENÇO, 2006).

#### 3.4.4.4 Quelantes

Alguns dos elementos metálicos importantes para a nutrição das microalgas não são solúveis, eles necessitam interagir com outras substâncias para serem solubilizados. Atualmente, o Ácido Etilenodiaminotetraacético (EDTA) é a principal substância empregada em meios de cultura como quelante, sendo utilizada na forma mais solúvel apresentada pelo sal dissódico ( $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Uma das vantagens da utilização do EDTA é a sua lenta metabolização por bactérias (LOURENÇO, 2006; SUNDA; PRICE; MOREL, 2005).

#### 3.4.4.5 pH

Apesar do pH ser uma variável físico-química, seu controle é essencial para que os componentes do meio de cultura possam ser efetivamente absorvidos, afetando diretamente a disponibilidade de vários elementos químicos. O crescimento de microalgas em cultivo envolve o consumo de  $\text{CO}_2$  dissolvido no meio, aumentando o pH do sistema, que pode atingir níveis muito elevados e tóxicos para muitas espécies. Para regular as variações de pH utiliza-se tampões (para volumes pequenos de cultivo) como o Tris (2-amino-2-[hidroximetil]-1-3propanediol) e a glicilglicina; ou a aeração do cultivo (grandes escalas) pelo bombeamento de ar natural (concentração de 0,03% de  $\text{CO}_2$ ) ou enriquecido com  $\text{CO}_2$  de 1 a 5%. A adição de  $\text{CO}_2$ , além de regular o pH, estimula o crescimento algal por ser mais uma fonte de carbono (LOURENÇO, 2006).

#### 3.4.5 Sistemas de Cultivo

O cultivo de microalgas compreende formas simples e convencionais de produção de biomassa algácea em certas aplicações, mas podem envolver também processos e equipamentos mais complexos, caracterizando a atividade como um dos mais modernos processos da biotecnologia. A escolha do tipo do cultivo depende dos produtos de interesse (biomassa, ácidos graxos, pigmentos, etc.) que as microalgas podem sintetizar naquelas condições determinadas. A partir desses cultivos é possível obter-se alimentos e vários

produtos de interesse nutricional, farmacológico e industrial, a custos, às vezes, muito inferiores aos da agricultura tradicional e numa velocidade de produção muito mais rápida.

As microalgas podem ser produzidas em diversos sistemas de cultivo, com volume variando desde poucos litros até bilhões de litros (BOROWITZKA, 1999b). Em geral, os sistemas de produção não são sofisticados, uma vez que, muitas empresas desenvolvem cultivos a céu aberto em tanques com fundo de terra e com baixo ou nenhum controle dos parâmetros ambientais (LOURENÇO, 2006). Recentemente, alguns cultivos têm sido desenvolvidos em equipamentos específicos, denominados fotobioreatores, nos quais é possível controlar os parâmetros ambientais, o que eleva a produtividade, a qual viabiliza a produção comercial de compostos de elevado valor comercial (TREDICI, 2004).

Os sistemas de cultivos abertos (Figura 2) normalmente são mais fáceis de construir e de funcionamento mais simples, são duráveis e tem uma grande capacidade de produção quando comparados com os sistemas de reatores fechados. Contudo, os tanques usam mais energia elétrica para homogeneizar os nutrientes e movimentar as células, permitindo que as microalgas recebam bastante energia solar necessária para seu crescimento. Os materiais utilizados para construir as paredes e o fundo de um tanque podem variar de areia simples ou barro, a tijolos ou cimento, ou cloreto de polivinilo, fibra de vidro ou poliuretano. Os tanques abertos são relativamente econômicos e fáceis de limpar depois do cultivo. (RICHMOND, 2004; DERNER et al., 2006).



**Figura 2** - Tanques de cultivo de microalgas.

Fonte: Jornal Tamanduá (2005), Parry Nutraceuticals (2006).

Os tanques abertos estão sujeitos as condições ambientais, não permitindo controle de temperatura, evaporação e iluminação. Podem produzir grandes quantidades de microalgas, mas ocupam uma área mais extensa que os fotobiorreatores e o índice de contaminação biológica (protozoários, bactérias, outras microalgas) é elevado (MOHEIMANI, 2005; RICHMOND, 2004; UGWU; AOYAGI; UCHIYAMA, 2008).

Fotobiorreator (Figura 3) é um reator no qual organismos que necessita de luz para se desenvolver são cultivados ou usados para executar uma reação fotobiológica. São sistemas flexíveis que podem ser otimizados segundo as características biológicas e fisiológicas da espécie algácea cultivada (MOHEIMANI, 2005). Dependendo da sua forma ou desenho, considera-se que os fotobiorreatores apresentam várias vantagens sobre tanques abertos, visto que, oferecem melhor controle das condições de cultivo e parâmetros de crescimento (pH, temperatura, agitação), previne a evaporação, reduz perdas de CO<sub>2</sub>, oferece um ambiente mais seguro e protegido, minimiza ou previne a contaminação por microrganismos competidores (RICHMOND, 2004).



**Figura 3** - Fotobiorreatores utilizados para o cultivo de microalgas.  
Fonte: World (2008).

As limitações principais do fotobiorreator incluem: o superaquecimento, entupimento, a acumulação de oxigênio, o alto preço de instalação, funcionamento e manutenção do cultivo da biomassa algácea. O custo da produção de biomassa em fotobiorreator pode ser maior do que em tanques. Apesar dos sistemas fechados não oferecerem vantagens quanto a produtividade por área, eles basicamente sobrepujam tanques quanto a produtividade

volumétrica (8 vezes mais alto) e a concentração celular (aproximadamente 16 vezes mais alto) (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; MOHEIMANI, 2005).

### 3.4.6 Vantagens do cultivo de microalgas

O cultivo de microalgas é uma atividade que vem sendo bastante desenvolvida. As pesquisas que envolvem esse assunto constituem bons subsídios para as atividades de cultivo em larga escala, uma vez que contêm valiosas informações sobre a eficiência dos principais meios de cultivo, principalmente os meios alternativos, e sobre o efeito das variáveis que interferem no crescimento das espécies cultivadas (LOURENÇO et al., 1998).

No Brasil, o cultivo em larga escala de microalgas é um campo de pesquisa bastante promissor, particularmente quando se considera o objeto da pesquisa como sendo a alimentação humana. Essas pesquisas necessitam de atenção urgente, particularmente porque problemas de insegurança alimentar assolam muitos brasileiros. Assim, como algumas microalgas têm elevado valor nutricional, elevada produção de biomassa, baixas taxas de subsídios energéticos e químicos e necessidades de pequenos espaços para serem produzidas em larga escala, o seu cultivo, visando à obtenção de concentrados algáceos para ser usado como complemento alimentar humano e em ração animal. Essa atividade é de grande interesse social, ambiental e econômico (LOURENÇO, 1996).

O Brasil, em especial o Nordeste, apresenta viabilidade técnica propícia para o desenvolvimento de cultivos de microalgas, em virtude do clima que oferece sol em abundância e temperatura ideal, além de apresentar regiões onde a água é mais salobra, às vezes inviável para consumo humano, mas adequada para o cultivo de microalgas, em especial da *Spirulina*, em virtude de seu pH elevado.

As diversas vantagens para o uso de microrganismos na produção de proteína unicelular, quando comparadas com fontes habituais de proteína (como a carne ou a soja) são conhecidas. Os microrganismos possuem alto teor de proteínas e elevada velocidade de crescimento, o que leva a uma rápida produção de biomassa, sendo que esta pode ser contínua e independe das condições do ambiente e por ser de natureza unicelular fica assegurada uma biomassa com a mesma composição bioquímica, diferentes de plantas terrestres que apresentam compostos localizados em partes específicas (fruta, folha, semente ou raiz) (BEKATOROU; PSARIANOS; KOUTINAS, 2006; DERNER et al., 2006; LOURENÇO,



1996). No quadro 1 estão demonstradas as vantagens de se obter proteínas a partir de microalgas em relação à proteína de carne bovina.

Parâmetros	Proteína de carne bovina	Proteína de microalga
Espaços	Grandes	Pequenos
Tempo para produção de proteína	28 meses	15 dias (tempo de geração 2-6h)
Proteína/dia/1.000lb (1lb = 434 gr)	1 lb	10 <sup>13</sup>
Medicamentos de controle	Grande	Nenhum
Manejo de sistema produtivo	Grande	Pequeno

**Quadro 1** - Comparação da proteína de carne bovina e proteína de microalga.  
Fonte: Lourenço (1996); Paris (2006).

Maior atenção vem sendo dada à *Spirulina* pelo potencial de coloração de seus pigmentos de interesse para as indústrias farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos. A substituição dos pigmentos sintéticos, usados em alimentos, por pigmentos naturais é necessária para que se produzam alimentos mais saudáveis, visto que, além de promover a coloração, muitos colaboram com o enriquecimento do valor nutricional do alimento, além de possuírem propriedades funcionais e/ou terapêuticas, o que sugere a possibilidade de maior exploração de *Spirulina*, já que ela é uma das principais fontes de clorofila na natureza (DANESI et al., 2002; DERNER, 2006). Atualmente, a maior parte da clorofila produzida e comercializada usada em corantes verdes naturais é obtida por fontes vegetais, como o espinafre, que contém aproximadamente 0,6 mg/g (GROSS, 1991), ao passo que a biomassa de *Spirulina* contém 11,5 mg/g (HENRIKSON, 1989).

No entanto, considerando-se o interesse pela implantação de fazendas de cultivos controlados visando obtenção de novos produtos, a inovação técnica continuada para atender as demandas de mercado pode resultar em vantagens futuras. A busca por novos produtos e outras espécies comercialmente importantes deverá aumentar de forma significativa, inclusive com o melhoramento genético de linhagens.

### 3.5 *Spirulina*

Pertencente a ordem *Oscillatoriales*, o gênero *Spirulina* é uma cianobactéria verde-azulada microscópica, fotossintética, unicelular, filamentosa, composta por tricomas de 5-6 µm de largura e 20-200 µm de comprimento em forma de um espiral (que originou o nome), que tem seu habitat em águas alcalinas (HOFF; SNELL, 1999; SHIMAMATSU, 2004). Ao contrário de outros microalgas, esta cianobactéria, apresenta baixa susceptibilidade a contaminação em seu cultivo por outros microrganismos devido ao alto pH necessário ao seu desenvolvimento, estando inicialmente em torno de 8,0 e podendo atingir pH 11,0 (BARROS; SASSI, 2007; VONSHAK, 1997).

Dentro desse gênero as espécies mais importantes são: *S. platensis*, seguida da *S. maxima* e da *S. fusiformes*. Esta cianobactéria pode ser cultivada, de maneira otimizada, em temperaturas entre 35 e 40 °C, sendo que a temperatura mínima na qual o seu crescimento se realiza, está entre 15 e 18 °C durante o dia, mas a noite a *Spirulina* pode tolerar temperaturas relativamente baixas (COZZA; COSTA, 2000; RICHMOND; SOEDER, 1986).

A reprodução da *Spirulina* se dá por fissão transversal binária, onde ocorre a formação do hormogônio (tricoma) que se destaca e dá origem a um novo filamento. Sua célula possui uma membrana plasmática cercada por multi-camadas da parede celular, Gram-negativas, caracterizadas com uma fileira de poros ao redor do tricoma separados por septos que são visíveis por microscopia óptica (VONSHAK; TOMASELLI, 2000). A parede celular é cercada por uma cápsula ou bainha composta de polissacarídeos e que não apresenta celulose. Por este motivo, a *Spirulina* é 85 a 95% assimilada pelos organismos (BABADZHANOV et al., 2004).

A importância nutricional da *Spirulina* é determinada pela variedade dos nutrientes que contém, alguns dos quais não são sintetizados pelo organismo humano. Devido a essa variedade, torna-se um alimento completo, podendo-se dizer que a *Spirulina* é o alimento com maior número de diferentes nutrientes por unidade de peso (PHANG et al., 2000). Em sua composição podemos encontrar proteínas (60-70%), carboidratos (20%), lipídios (8%), além de minerais e vitaminas, pigmentos, compostos fenólicos, ácido  $\gamma$ -linolênico e outros ácidos graxos essenciais (BELAY et al., 1993; VON DER WEID; DILLON; FALQUET, 2000). Os principais minerais presentes na *Spirulina* são: o cálcio (0,13 a 0,14 %), o fósforo (0,67 a 0,9 %) e o potássio (0,64 a 1,54 %), também estão presentes: o magnésio, o ferro, o zinco, o cobre, o cromo, o manganês e o sódio. As vitaminas presentes na *Spirulina* são: a vitamina A

na forma de betacaroteno, vitamina C e vitaminas do grupo B (B1, B2, B3, B6 e B12), a biotina, o ácido fólico, o inositol, vitamina E, além do ácido pantotênico. Entre os pigmentos que constitui a *Spirulina*, estão a ficocianina (20%) e carotenóides (0,37%) (HENRIKSON, 1994; RICHMOND, 1990).

A *Spirulina* é o principal microrganismo usado na produção comercial de ficobiliproteínas (ficoeritrina – coloração vermelha, ficocianina – coloração azul) e clorofila. O potencial primário desses pigmentos é o de corantes naturais, que podem ser utilizado na indústria alimentícia como pigmento de alimentos (gomas, sorvetes, doces, bebidas, produtos de panificação) substituindo pigmentos sintéticos, e na indústria de cosméticos (batons, sombras de olho, lápis delineador). As ficobiliproteínas estão sendo usadas nas indústrias e laboratórios imunológicos, devido as suas propriedades de alta produção de fluorescência, altos coeficientes de absorvância e fotoestabilidade, mas o crescente número de investigações tem mostrado suas propriedades na saúde, isto é, aplicações farmacêuticas (BECKER, 2004; SPOLAORE et al., 2006).

### **3.5.1 A *Spirulina* como composto nutracêutico**

Os benefícios a saúde proporcionados pelo consumo de microalgas estão sendo investigados, mais reconhecidos e apreciados nas duas últimas décadas, especialmente desde a introdução dos compostos probióticos (BARROW; SHAHIDI, 2008). A *Spirulina* e os seus constituintes possuem várias propriedades nutricionais e terapêuticas que fazem dela, um excelente suplemento alimentar, uma fonte potencial para ser utilizada na prevenção e no tratamento de diversas enfermidades, constituindo assim, uma alternativa eficiente para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos e caracterizando o microrganismo no âmbito dos alimentos funcionais (AMBROSI et al., 2008).

A ação da *Spirulina* foi comprovada em pesquisas experimentais “in vivo” e “in vitro”, verificando-se: seu efeito protetor na indução do estresse oxidativo e hepatotoxicidade por Cádmio em ratos (AMIN et al., 2006); auxílio na remoção de chumbo existente em águas residuais (HONG; SHAN-SHAN, 2005); inibição do crescimento de Células do Carcinoma de Ascite de Ehrlich (EACC), pela ficocianina, atuando como agente quimiosupressor (EL-BAKY, 2003); ação hipocolesterolêmica (NAGAOKA et al., 2005), propriedade antidiabética, aumentando a atividade da hexoquinase e diminuindo a atividade da glicose-6-

fosfatase (LAYAM; REDDY, 2006); manutenção do equilíbrio do sistema imunológico, além de aumentar os lactobacilos intestinais, reduzir as nefrotoxicidades provocadas por metais pesados e drogas (YANG; LEE; KIM, 1997); proteção contra a radiação ultravioleta; atividade antioxidante (BIERHALS et al., 2009; GUARIENTI; BERTOLIN; COSTA, 2010); e redução da obesidade pela aumento da atividade da lipase lipoprotéica (LPL) e pelo efeito da proteína na saciedade que devido a elevação do nível de aminoácidos plasmáticos, observada após a ingestão de proteínas, estimula a liberação de hormônios anorexígenos e insulina, os quais irão atuar sobre o centro da saciedade, resultando na redução do apetite (BECKER et al., 1986; LANG et al., 1998; PAIVA; ALFENAS; BRESSAN, 2007).

A *Spirulina* destaca-se também pelo seu alto teor de cianocobalamina (vitamina B12), difícil de ser encontrada em dietas vegetarianas; pelo ácido fólico (vitamina B9), necessário para a formação das células e para o bom funcionamento dos sistemas cardiovascular e nervoso; além de seu aporte de minerais (Zn, Mg, Cr, Se, Fe) que são necessários para a manutenção do metabolismo, para a conservação da pele e das mucosas e para o desenvolvimento normal dos ossos e dos dentes (BECKER, 1994; BROWN et al., 1999).

### **3.5.2 Propriedades antinutricionais da *Spirulina***

Podem ser encontrados nos alimentos, alguns compostos com propriedades antinutricionais ou tóxicas, provenientes de microrganismos ou de algumas proteínas. As propriedades antinutricionais diminuem a eficiência do metabolismo, interferindo na utilização dos nutrientes, no entanto, não causam alterações teciduais e fisiológicas evidentes (SGARBIERI, 1996).

Como acontece com alguns cogumelos e plantas, algumas espécies de cianobactérias são tóxicas. No entanto, diversos artigos científicos publicados durante os últimos anos, não documentaram nenhuma toxicidade da microalga *Spirulina* (CHAMORRO et al., 1996). Salazar et al. (1998) em pesquisas realizadas com ratos alimentados por uma dieta enriquecida a níveis de 10 a 30% de *Spirulina*, afirmam que não houve toxicidade crônica ou subcrônica, mutagênicidade ou teratogênicidade e nenhum efeito adverso na reprodução ou lactação, nem alergias dermatológicas nos animais pesquisados. Portanto o seu uso é seguro e nutritivo, sendo certificado pela FDA (Food and Drug Administration) como GRAS (Generally Recognized as Safe) o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde. Entretanto pode

ocorrer toxicidade por possíveis contaminações do cultivo da *Spirulina* com outras microalgas tóxicas (ANDRADE; COSTA, 2008; HENRIKSON, 1994; MULITERNO et al., 2005).

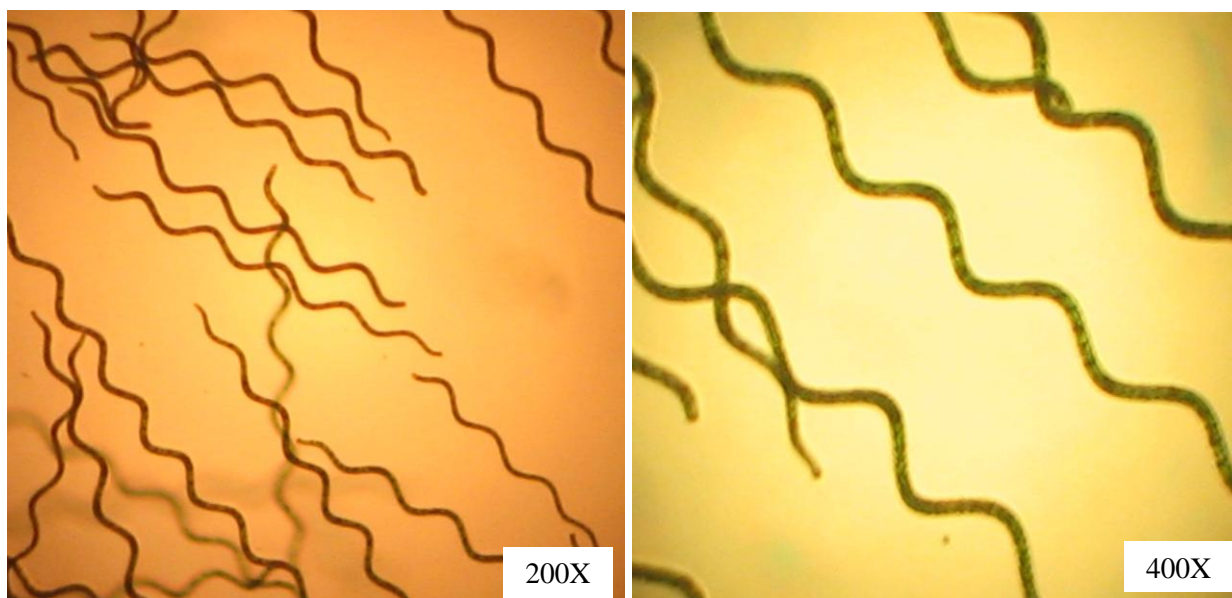
Carvajal (2009) analisando alguns fatores antinutricionais da farinha desengordurada da microalga *Spirulina maxima*, encontrou baixos índices de taninos e ausência das atividades hemaglutinante (lectina, proteína ou glicoproteína não imune, que se liga de forma reversível e especificamente a carboidratos provocando aglutinação), e de inibidores de tripsina (inibidores de proteases, proteínas reguladoras que controlam eventos proteolíticos em todos os organismos vivos), indicando essa microalga como uma alternativa na alimentação humana. Nessa pesquisa, os teores de taninos encontrados na farinha desengordurada foi de 17,5 mg/g, o pesquisador afirma que esse conteúdo está relacionado diretamente com a presença do pigmento antocianina. De acordo com Sgarbieri (1996), taninos são compostos fenólicos pertencentes a uma classe de metabólitos secundários, que se encontram distribuídos geralmente em plantas e são considerados potentes inibidores de enzimas, devido a sua complexação com proteínas enzimáticas. Essa tendência de formar complexos pode explicar a baixa digestibilidade da proteína das leguminosas.

### **3.5.3 *Spirulina platensis*, Gomont, 1892**

A *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) (Figura 4) possui uma composição centesimal variável, influenciada pela forma e otimização de seu cultivo. Henrikson (1994), ao avaliar amostras de *S. platensis* observou que ela apresentava, em extrato seco, 65% de proteína, 20% de carboidratos, 7% de minerais, 5% de lipídeos e 3% de umidade. Babadzhanov et al. (2004) analisando a composição química da *S. platensis* cultivada no Usbequistão obtiveram 68% de proteínas e 14,3% de lipídeos. Convém notar que a *Spirulina* contém muito mais proteínas do que muitos produtos alimentares, como podemos observar o valor médio de proteína na *Spirulina* é de 65%, enquanto que em carne e peixe, 15-20%; soja, 35%; leite em pó, 35%; amendoins, 25%; ovos, 12%; e grãos, 8-14% (BABADZHANOV et al., 2004).

Apenas as plantas e determinadas bactérias são capazes de sintetizar todos os aminoácidos existentes. Os animais produzem apenas alguns tipos, os chamados aminoácidos não essenciais, obtendo os demais por meio da alimentação. A composição aminoacídica de *S. platensis* (Quadro 2) pode ser comparada favoravelmente com outros alimentos ricos em

proteínas como a carne bovina, o leite de vaca, o ovo de galinha e a soja, ressalvando uma pequena deficiência nos aminoácidos que contêm enxofre (metionina e cisteína) (RICHMOND, 2004).



**Figura 4** - *Spirulina platensis*, aumento de 200X e 400X.

Fonte: Própria

Aminoácido	Abreviação	%	Aminoácido	Abreviação	%
Isoleucina*	Ile	6,7	Arginina	Arg	7,3
Leucina*	Leu	9,8	Cisteína	Cys	0,9
Lisina*	Lys	4,8	Tirosina	Tyr	5,3
Metionina*	Met	2,5	Alanina	Ala	9,5
Fenilalanina*	Phe	5,3	Ácido Aspártico	Asp	11,8
Treonina*	Thr	6,2	Ácido Glutâmico	Glu	10,3
Triptofano*	Trp	0,3	Glicina	Gly	5,7
Valina*	Val	7,1	Prolina	Pro	4,2
Histidina*	His	2,2	Serina	Ser	5,1
Asparagina	Asn	ND	Glutamina	Gln	ND

**Quadro 2** - Composição aminocídica da *S. platensis* em base seca.

Fonte: Richmond (2004).

\* Aminoácido essenciais

ND – Não determinado

De acordo com Cozza e Costa (2000), cerca 1% do peso da *Spirulina* é representado pelo ácido  $\gamma$ -linolênico, que por ser de fácil extração, faz com que esta microalga seja considerada uma fonte de ácidos graxos poliinsaturados e ácido ômega-3 viáveis. Este ácido é considerado como sendo eficaz na diminuição dos níveis de triglicerídeos do sangue e tem sido utilizado em suplementos alimentares para o tratamento de diversas doenças. No quadro 3 é possível observar o perfil lipídico de alguns ácidos graxos presentes na *S. platensis*.

Ácidos graxos	Abreviação	%	Ácidos graxos	Abreviação	%
Ácido láurico	12:0	0,4	Ácido esteárico	18:0	1,3
Ácido mirístico	14:0	0,7	Ácido oléico	18:1	3,8
Ácido miristoléico	14:1	0,2	Ácido linoléico	18:2	14,5
Ácido palmítico	16:0	45,5	Ácido $\alpha$ -linolênico	18:3	0,3
Ácido palmitoléico	16:1	9,5	Ácido $\gamma$ -linolênico	18:3	21,3
Ácido hexadecadienóico	16:2	1,2	Ácido eicosadienóico	20:2	ND
Ácido heptadecanóico	17:0	0,3	Ácido eicosatrienóico	20:3	0,4

**Quadro 3** - Percentual de ácidos graxos presentes em *S. platensis* em base seca.  
Fonte: Richmond (2004).

Entre os ácidos graxos comercialmente importantes, estão os poliinsaturados essenciais como os ácidos linoléico,  $\gamma$ -linolênico, eicosatrienóico, araquidônico, eicosapentaenóico (EPA). Além da importância nutricional, estes ácidos graxos também apresentam importância farmacêutica, sendo eles precursores de prostaglandinas, prostaciclina e leucotrienos (RICHMOND, 2004).

De acordo com Velasquez-Melendez et al. (1997) o consumo adequado de vitaminas e minerais é importante para a manutenção das diversas funções metabólicas do organismo, visto que eles participam de processos celulares relacionados ao metabolismo energético, contração, reparação e crescimento muscular, defesa antioxidante e resposta imune. A não ingestão/absorção desses micronutrientes pode proporcionar um estado de carência nutricional, e conseqüentemente algumas patologias. A composição média das principais vitaminas e minerais encontradas na microalga *S. platensis* e em outros alimentos estão descritos nos quadros 4 e 5 respectivamente.

Vitaminas	Abreviação	<i>S. platensis</i> (mg/100g)	Leite de vaca em pó (mg/100g)	Soja (mg/100g)	Ovos de galinha (mg/100g)
Ácido ascórbico	C	42,0 - 195,3	6	Tr	0
Calciferol	D	12000 U	ND	ND	ND
Tocoferol	E	10 - 19	ND	ND	ND
Tiamina	B1	0,8 – 15,4	0,29	0,66	0,1
Riboflavina	B2	0,2 - 0,9	1,03	0,04	0,58
Nicotinamida	B3	0,6 - 5,3	0,7	2,2	0,1
Piroxidina	B6	0,3 - 4,0	Tr	0,03	Tr
Cianocobalamina	B12	0,3 - 0,8	ND	ND	ND

**Quadro 4** - Vitaminas identificadas na biomassa seca de *S. platensis*, no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha.

Fonte: Becker (1994); Brown et al. (1999); Babadzhanov et al. (2004); Franco (2004).

Tr – Traços

ND – Não determinado

Minerais	Abreviação	<i>S. platensis</i> (mg/100g)	Leite de vaca em pó (mg/100g)	Soja (mg/100g)	Ovos de galinha (mg/100g)
Cálcio	Ca	4.000	890	206	42
Ferro	Fe	1.060	0,5	13,1	1,6
Potássio	K	15.200	1.132	1.922	150
Magnésio	Mg	4.800	77	242	13
Manganês	Mn	26	Tr	2,87	Tr
Molibdênio	Mb	1,50	ND	ND	ND

**Quadro 5** - Minerais identificadas na biomassa seca de de *S. platensis*, no leite de vaca em pó, soja e no ovo de galinha.

Fonte: Becker (1994); Brown et al. (1999); Babadzhanov et al. (2004); Franco (2004).

Tr – Traços

ND – Não determinado

Em relação as suas características organolépticas, a *Spirulina* quando seca apresenta odor de peixe seco, quando fresca, praticamente não tem odor nem sabor. Adicionada a qualquer alimento, em pequenas proporções ela pode potencializar ou não alterar o sabor do alimento e a sua cor verde pode realçar o visual de alguns alimentos (BORJA, 2007).



### 3.6 Legislação

A *Spirulina* está legalmente autorizada como alimento ou complemento alimentar na Europa, Japão e costa asiática do Pacífico. Já nos Estados Unidos, em 1981, a FDA (Food and Drug Administration) determinou que por ser uma boa fonte de nutrientes, pode ser comercializada legalmente como complemento alimentício (HENRIKSON, 1994).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite a sua comercialização desde que o produto final (cápsula, pó ou produtos no qual o microrganismo tenha sido adicionado) esteja devidamente registrado. A *Spirulina* tem sido empregada, basicamente, na produção de cápsulas destinadas a dieta de emagrecimento (HENRIKSON, 1994), mas seu campo de utilização está ampliando-se, sendo indicada como auxiliar de tratamento por médicos homeopáticos, oncologistas, entre outros.

### 3.7 Desidratação da biomassa

A desidratação (secagem) é uma operação bastante difundida para a preservação de produtos alimentícios, sendo definida como a remoção de líquido de um sólido por evaporação. Este processo confere estabilidade físico-química e microbiológica ao produto, prolongando sua vida útil e viabilizando sua utilização na formulação de vários produtos.

Diversos métodos de secagem têm sido extensivamente utilizados para a secagem de biomassas das microalgas, incluindo atomização (spray dryer), secador de cabine, liofilizadores e secagem ao sol. Durante a secagem algumas mudanças importantes acontecem como modificações estruturais e físico-químicas que afetam a qualidade do produto final dependendo do processo utilizado, mas este deve preservar critérios de qualidade como cor, qualidade nutricional, forma ou textura. Segundo Morist et al. (2001) a liofilização pode ser considerada como um método de secagem de referência para cianobactérias, uma vez que não altera as suas propriedades nutricionais, sensoriais e físico-químicas além de ser, o produto liofilizado, o que mais se assemelha a biomassa fresca.

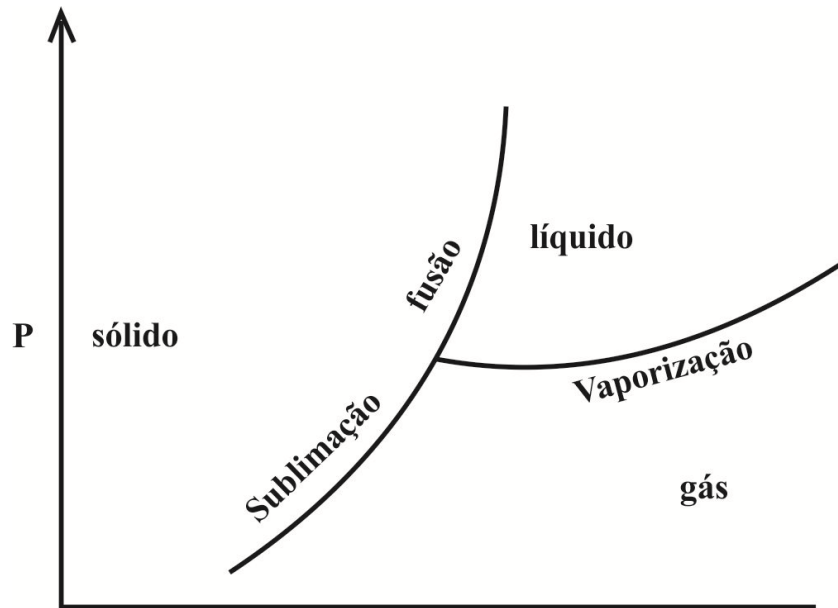
A secagem ao sol é recomendável em regiões de clima seco, com boa irradiação solar e escassa precipitação pluviométrica. Este tipo de secagem não é oneroso e não necessita de mão-de-obra qualificada, mas apresenta desvantagens em relação à variações climáticas e o

tempo de secagem; além disso, é mais susceptível a contaminação e necessita de grandes espaços e controle rigoroso de insetos e roedores. O local de secagem deve ser preferencialmente cercado para evitar a presença de animais e estar localizado longe das vias de acesso para evitar a contaminação ambiental (SILVA, 2000). Neste método o concentrado algáceo deve ser disposto em tabuleiros ou lonas, previamente higienizados, sobre cavaletes ou armações, sobre pisos de cimento ou pedregulho, que irradiam melhor o calor e devem ser organizados de maneira tal que permita a fácil circulação de ar quente sobre eles (GAVA, 1998).

Os secadores de bandeja são utilizados em pequenas escalas de produção (1 a 20 t/dia) ou para trabalhos em escala-piloto. Possuem custos de capital inicial e de manutenção baixos e são flexíveis para operar com diferentes alimentos. No entanto, possuem um controle baixo, resultando em produtos com uma qualidade variável se não houver uma distribuição de ar adequada (FELLOWS, 2006). São construídos em forma de câmara com isolamento externo, que contem telas ou bandejas perfuradas, onde será disposto o material a ser submetido à desidratação. O seu mecanismo constitui o impulsionamento do ar por um ventilador, passando por um sistema de aquecimento, entrando o ar aquecido, colocando-se em contato sobre e/ou através de cada bandeja, permanecendo pelo tempo necessário. O tempo, a temperatura e a velocidade do ar são variáveis, sendo regulados de acordo com o produto a ser desidratado (FELLOWS, 2006; SILVA, 2000).

A liofilização é o processo de desidratação do produto em condições de pressão e temperatura, onde a água previamente congelada passa do estado sólido diretamente para o estado gasoso (sublimação). Dependendo das condições de temperatura e pressão, qualquer substância pode se apresentar sob um dos três estados de agregação: sólido, líquido e gasoso. Em um sistema de coordenadas cartersianas, a certa temperatura e pressão, poderemos ter o chamado “ponto triplo” (figura 5). Nas temperaturas de pressão mais baixas que esse ponto a fase líquida deixa de existir e a substância passa imediatamente do estado sólido para o gasoso, e vice-versa, dependendo das condições.

O processo de liofilização deve ser realizado em temperaturas abaixo do ponto triplo da água que é a 0 °C e 4,7 mm de Hg (FELLOWS, 2006; GAVA, 1998). A liofilização da biomassa de microalgas rompe as células e converte o material algáceo em um pó solto e perfeito, fazendo outro tratamento desnecessário (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). A desvantagem deste processo é devido ao seu custo elevado e necessidade de mão-de-obra especializada.



**Figura 5** - Ponto triplo das substâncias  
 Fonte: Gava (1998).

### 3.8 Custo de produção

Em indústrias especializadas em produção de biomassa algal, o custo de produção está em torno de US\$ 8-15/Kg de biomassa seca de *S. platensis* (SILVA, 2008). Quando se trata dos seus subprodutos como as ficobiliproteínas (pigmento), os preços variam de US\$ 3-25/mg e o pigmento purificado fica em torno de US\$ 1.500/mg (SPOLAORE et al., 2006). O custo da produção pode diminuir com a otimização e/ou utilização de meios de cultivos alternativos, da utilização de iluminação natural e de sistemas de movimentação que proporcione uma adequada aeração e absorção de luz pela célula. Outros fatores que influenciam o custo final da biomassa seca são o tipo de cultivo e o método de secagem.

### 3.9 Macarrão

O Brasil está situado entre os cinco maiores produtores de macarrão do mundo, além de ser o 2º maior consumidor desta massa, que já faz parte até da cesta básica dos brasileiros. Segundo dados da ABIMA (2007), o consumo médio de macarrão no país é 5,7Kg. No

entanto, o valor nutricional deste alimento é deficitário, sendo um alimento rico em carboidratos e deficiente em quantidade e qualidade protéica (NICOLETTI, 2007).

A massa alimentícia ou macarrão é definida como o produto não fermentado, obtido pelo amassamento da farinha de trigo, da semolina ou da sêmola de trigo com água, adicionado ou não de outras substâncias permitidas, e o macarrão úmido ou fresco como sendo o produto que pode ou não ser submetido a um processo de secagem parcial de forma que o produto final apresente umidade máxima de 35,0% (g/100g) (BRASIL, 2000), e vida de prateleira em torno de 30 dias. É um alimento produzido com tecnologia simples e de baixo custo, atrativo e de rápido preparo e apresenta-se disponível em vários formatos, tamanhos e cores.

### **3.9.1 Macarrão como alimento funcional**

A desnutrição e a má nutrição são problemas preocupantes que atingem desde países pobres até países em desenvolvimento. A má nutrição deve-se ao consumo de alimentos que não atendem as necessidades básicas do ser humano. Além disso, existe uma demanda crescente por alimentos funcionais que consumidos juntamente com uma dieta equilibrada doenças são prevenidas e tratadas (OLIVEIRA, 2008). Esses alimentos funcionais devem estar na forma de alimentos comuns, sendo consumidos como parte da dieta, produzindo benefícios específicos à saúde (AMBROSI et al., 2008). A indústria de alimentos funcionais vem utilizando microalgas na elaboração de massas, pães, iogurtes e bebidas, este mercado apresenta rápido desenvolvimento em países como França, Estados Unidos, China e Tailândia (PULZ e GROSS, 2004), sendo a *Spirulina* e *Chlorella* as principais microalgas cultivadas comercialmente para a adição em alimentos naturais mundialmente conhecidos como “health food” (BECKER, 2004).

### **3.10 Avaliação sensorial**

As técnicas de avaliação sensorial foram desenvolvidas a partir da necessidade de se obter os preços para produtos como vinho, chá, café, manteiga, peixe, entre outros, onde eram classificados com base na sua qualidade por um “expert” no produto. A preocupação dos

homens em relação à percepção de odores e sabores é documentada desde 300 a.C. (PANGBORN, 1964).

Os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade por serem uma medida multidimensional integrada possuindo importantes vantagens, como a capacidade de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis e definir características sensoriais importantes de um produto de forma rápida (MUÑOZ; CIVILLE; CARR, 1992). São utilizados para provocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos produtos alimentícios ou não alimentícios, como elas são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

As propriedades sensoriais estão relacionadas com a composição química e propriedades físicas de um produto. Essas propriedades são percebidas pelo indivíduo como atributos de aparência, odor, sabor e textura (MOLNAR; TOTH; BOROSS, 1993). Em pesquisas que envolvem a avaliação sensorial dos alimentos são as análises mais importantes no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Os testes afetivos têm como objetivo avaliar a resposta dos indivíduos com relação à preferência e ou aceitação de um produto ou características específicas do produto por consumidores habituais ou potenciais, assegurando assim que sejam atendidas as expectativas do consumidor final (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998; STONE; SIDEL, 1993).

De acordo com a ABNT (1993), a aceitabilidade de um produto é definida como o grau de aceitação de um produto por um indivíduo ou população em termos de propriedades sensoriais. Com a aplicação da análise de aceitação é possível transformar dados subjetivos em objetivos, e obter informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou desgostam do produto analisado (SCHLICH, 1995).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este trabalho foi desenvolvido no Campus I da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sendo o cultivo da *Spirulina platensis* executado na Unidade de Microplâncton e Cultivo de Microalgas do Laboratório de Estudos Ambientais (LEA/CCEN/UFPB). As análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais foram realizadas nos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos, de Bioquímica de Alimentos e de Análise Sensorial, respectivamente, do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA/CT/UFPB).

### **4.1 Material biológico**

A cepa da microalga *Spirulina platensis* foi obtida no banco de cultura de microalgas do LEA. Esta espécie, quando cultivada em meio líquido e com agitação constante, apresenta células individualizadas de coloração verde-azulada.

### **4.2 Desenvolvimento dos cultivos**

#### **4.2.1 Limpeza e esterilização de materiais**

A limpeza do material utilizado foi realizada de forma bastante criteriosa, para evitar possíveis contaminações, de acordo com a metodologia proposta por Miller e Colman (1980), a lavagem da vidraria foi realizada com detergente neutro, Carbonato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) e Ácido Clorídrico (HCL) diluído, com enxágues sucessivos em água corrente, após adição de cada um desses compostos. O material foi seco em estufa à 40°C, em seguida esterilizado em autoclave a 121 °C, por 15 minutos, conforme rotina do laboratório de Cultivo de Microalgas do LEA. Materiais em látex, silicone e polietileno foram esterilizados em câmara UV.

#### 4.2.2 Meio para o cultivo

O meio padrão para cultivo de *Spirulina* foi o de Zarrouk (1966) (Quadro 6), cuja principal característica é fornecer entre outros nutrientes, carbono inorgânico introduzidos nas formas de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  que se convertem em  $\text{CO}_2$  utilizado na fotossíntese (VONSHAK, 1997).

Solução de trabalho	Quantidades
1 $\text{KNO}_3$	15,0 g em 200 ml
2 $\text{NaCl}$	33,0 g em 200 ml
3 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,50 g em 200 ml
4 $\text{K}_2\text{HPO}_4$	1,50 g em 200 ml
5 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,58 g em 200 ml
6 $\text{Na}_2\text{EDTA}$	6,40 g em 100 ml
7 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,50 g em 100 ml
8 $\text{H}_3\text{BO}_3$	1,142 g em 100 ml
9 Solução mista	*

*Solução mista	Quantidades
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,049 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,144 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,882 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,0157 g
$\text{MoO}_3$	0,071 g
Água destilada	100ml

Preparação de 1,0 litro de meio de cultura (água destilada)  
 A - Dissolver em 600 ml de água destilada 15,0 g de  $\text{NaHCO}_3$  e 2,0 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .  
 B - Acrescentar 10,0 ml das soluções 1, 2, 3, 4 e 5.  
 C - Acrescentar 1,0 ml das soluções 6, 7, 8 e 9.  
 D - Completar o volume a 1.000 ml.

**Quadro 6** - Composição do meio de cultura para *Spirulina* utilizado nesta pesquisa.  
 Fonte: Zarrouk (1966).

#### 4.2.3 Condições de cultivo

Os cultivos da microalga *Spirulina platensis* em fotobiorreator e tanque de cultivo contínuo foram desenvolvidos na Unidade de Microplâncton e Cultivo de Microalgas do LEA. Os cultivos foram realizados em ambiente climatizado com temperatura de  $28 \pm 3$  °C, sistema de iluminação fornecido por lâmpadas fluorescentes 40W ( $4,5 \pm 0,3$  Klux) tipo luz-

do-dia e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, controlado por fotocélula externa. A agitação foi realizada pela injeção contínua de ar num fluxo de  $2,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  por bombas de diafragma para o fotobiorreator e compressor para o tanque de cultivo.

#### 4.2.4 Curva de crescimento

A curva de crescimento da espécie foi acompanhada por fluorescência “in vivo” em fluorômetro Turner Design, modelo 10005R, medidas de densidade óptica à absorbância de 570 nm em espectrofotômetro Micronal B382, e por contagem celular em câmaras Sedgewick-Rafter em microscópio binocular Leica. Esses procedimentos foram realizados diariamente, a cada 24h, a partir da fase de inoculação da cepa no meio de cultura. Cada variável foi analisada em triplicatas com três réplicas cada para cada uma das condições experimentais de cultivo. Os cultivos foram inoculados com densidade celular inicial de aproximadamente  $3,0 \times 10^2 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

#### 4.2.5 Tempo de cultivo

Foi determinado com base no número de dias decorridos desde a inoculação até o período o qual foi alcançada a densidade celular máxima

#### 4.2.6 Taxa de crescimento

A taxa de crescimento ( $\mu$ ), expressa em número de divisões celulares.dia<sup>-1</sup>, foi calculada segundo a equação:

$$\mu = (\log_2 N_t - \log_2 N_{t-1}) / \Delta t$$

Onde:

$N_t$  = número de células no tempo em dias;

$N_{t-1}$  = número de células no tempo  $t - 1$ ;

$\Delta t$  = tempo decorrido entre as observações em dias.



#### **4.2.7 Densidade celular máxima (DCM)**

Foi definida como o valor máximo obtido em número de células por mililitro, no final de cada cultivo.

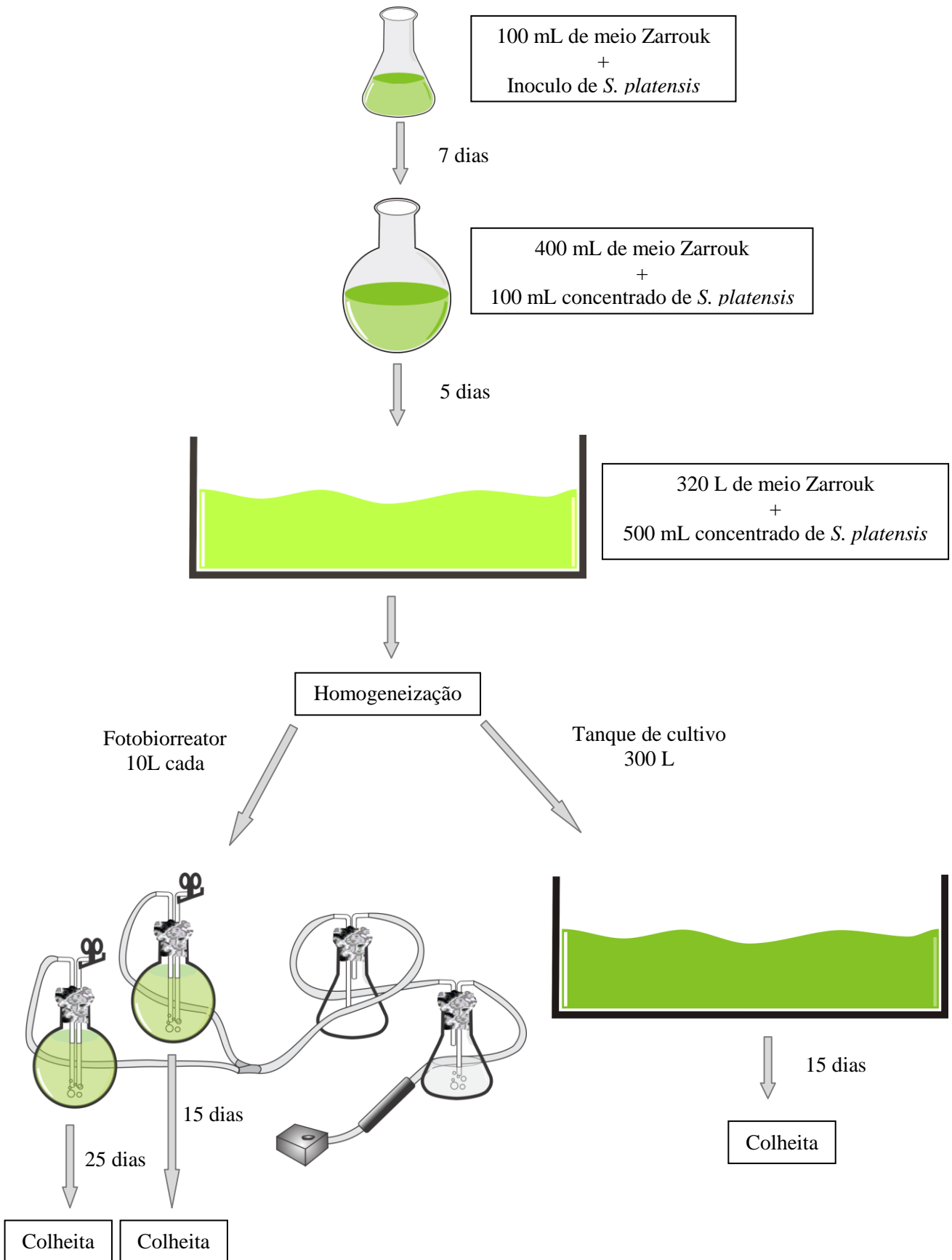
#### **4.2.8 Produtividade**

Foi definido como o valor da biomassa seca em gramas por litro de cultivo.

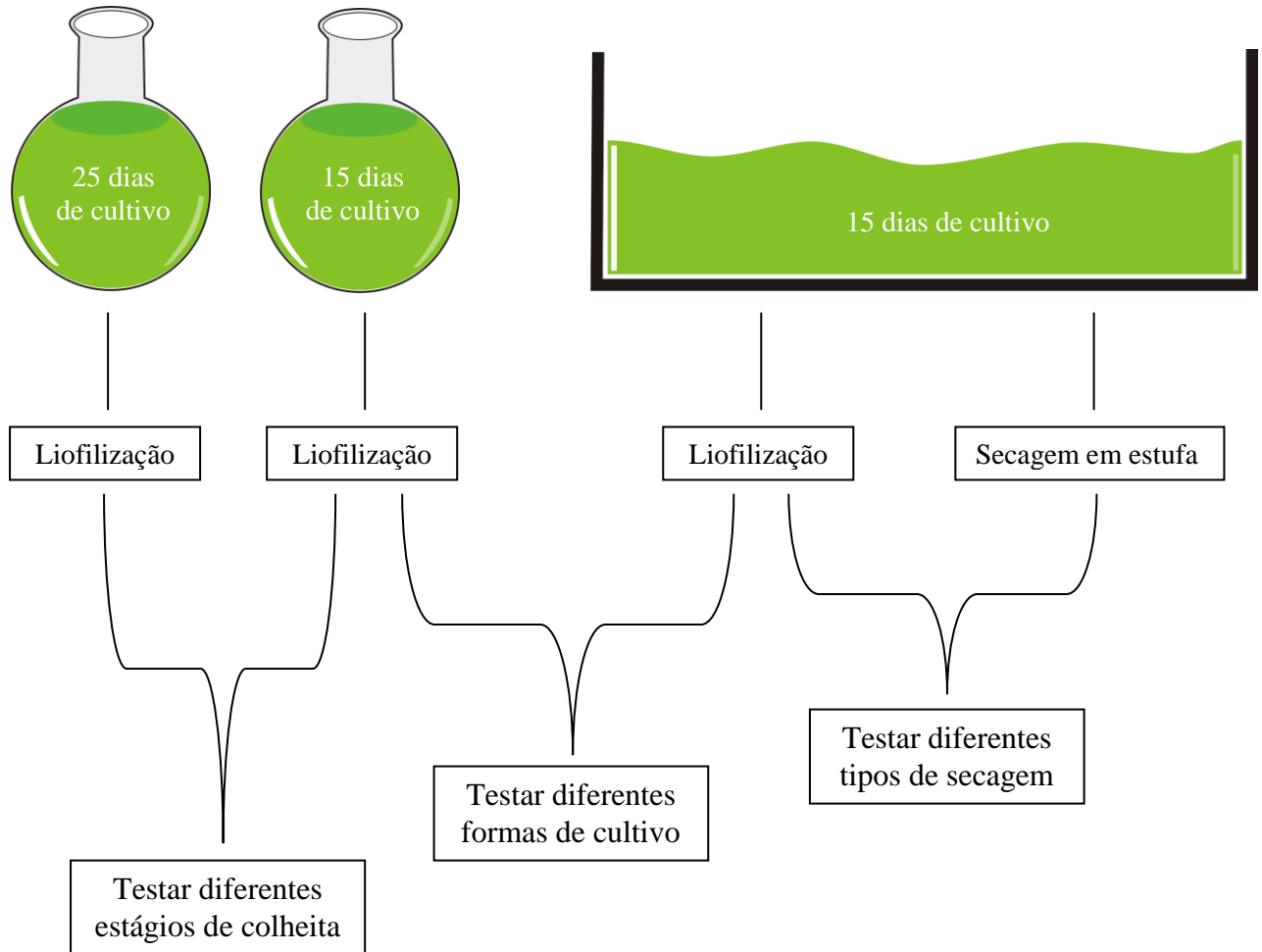
#### **4.2.9 Obtenção de biomassa seca**

O design experimental adotado nessa parte da pesquisa está representado na figura 6. Inicialmente, a cepa da microalga foi acondicionada na câmara de cultura de microalgas do LEA/UFPB em condições pré-estabelecidas, mas sem aeração. O cultivo foi iniciado adicionando-se 1 mL da cepa da microalga em erlenmeyers de 250mL, contendo 100mL de meio Zarrouk. Após 7 dias adicionou-se os 100mL do concentrado algáceo à 400mL de meio Zarrouk. Passados 5 dias, quando a biomassa já estava densa, o volume total do concentrado algáceo obtido foi transferido para 320L de meio Zarrouk constituído com água mineral em caixa brasilit com capacidade para 500L revestida internamente com lona de polietileno atóxico. Após homogeneização desse material por injeção de ar comprimido duas alíquota de 10 L foram retiradas e transferidas para 2 fotobiorreatores com capacidade para 12 L cada.

Foram realizados três ensaios simultâneos para produção de biomassa visando analisar a diferença na composição bioquímica e no rendimento final da biomassa entre eles. O primeiro ensaio foi realizado com os cultivos em fotobiorreator fazendo a colheita em diferentes fases da curva de crescimento (fase exponencial e estacionária); o segundo ensaio, realizado para comparar o cultivo utilizando fotobiorreator e tanque de cultivo contínuo e o terceiro ensaio para avaliar dois métodos de secagem da biomassa (liofilização e secagem em estufa). O procedimento adotado nessa fase da pesquisa se acha sumarizado na figura 7.



**Figura 6** - Fluxograma representativo do preparo do cultivo para produção de biomassa de *S. platensis* em fotobiorreator e tanque de cultivo contínuo.



**Figura 7-** Fluxograma representativo dos ensaios realizados com cultivo *S. platensis*.

Como o material liofilizado sofre poucas alterações em suas propriedades físico-químicas, além de ser, o que mais se assemelha a biomassa fresca (MORIST et al., 2001) optou-se por utilizá-lo nos testes entre a diferença no período de colheita e tipo de cultivo, garantindo assim que não houvesse interferência do método de secagem nos resultados obtidos.

#### 4.2.10 Colheita e filtração

Quando os cultivos atingiram o ponto de corte (fase exponencial e estacionária), o material foi filtrado por gravidade (filtração direta) em tela de nylon com abertura de malhas

de 20  $\mu\text{m}$ , seguida de prensagem conforme metodologia desenvolvida por Barros e Sassi (2007).

#### 4.3 Métodos de secagem

A biomassa algal filtrada foi submetida a dois métodos de secagem: liofilização e dessecação em estufa para remoção/redução da umidade do produto a um nível desejado. Para a biomassa liofilizada, o material inicialmente filtrado foi congelado a uma temperatura de aproximadamente  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 8 horas. Em seguida, o material foi levado ao Liofilizador por um período de 2 hora para cada milímetro de espessura do material. A liofilização foi realizada a uma temperatura de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pressão de 0,0966 mmHg e percentual de vácuo de 99,99 em Liofilizador Terroni modelo LS3000. Após a liofilização, a biomassa é convertida em um pó solto e uniforme, tornando desnecessário outro tratamento (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

A secagem por dessecação foi realizado em estufa com circulação forçada de ar, onde uma fina camada (1,0 cm de espessura) da biomassa filtrada foi colocada em uma tela de nylon para que o ar quente, que é insuflado com velocidade de 30m/min por meio de um sistema de ductos, promovesse uma distribuição uniforme de ar sobre, sob e através do produto. O tempo e temperatura ideais foram determinados pela análise da curva de secagem. Depois de seca, a biomassa foi triturada em multiprocessador (Multiprocessador BLD300 da Cadence) para formação da farinha.

A curva de secagem foi construída com as temperaturas de 55, 60, 65 e 70  $^{\circ}\text{C}$ , em estufa de circulação forçada, até as amostras apresentarem peso constante. Foram utilizados 5,0 g da amostra filtrada, moldada em camada de 1,0 cm de diâmetro em tela de nylon, todas em triplicata. As leituras de perda de peso de cada amostra foram realizadas em intervalos regulares de 30 min até atingirem peso constante. Os resultados das análises foram extraídos das curvas de secagem de umidade adimensional das amostras ( $X/X_0$ ) em função do tempo. O período de taxa constante foi determinado pela secção das curvas de secagem da umidade, onde a declividade se mantinha constante, de acordo com a metodologia utilizada por Oliveira (2006).

#### **4.4 Análise microbiologia**

Foram realizadas análises do Número Mais Provável de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes, Pesquisa de *Salmonella*, Contagem de *Bacillus cereus* e Contagem de *Stafilococcus* coagulase positiva de acordo com as normas preconizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com base na Resolução RDC N° 12, de 2 de Fevereiro de 2001 (BRASIL, 2001), utilizando a metodologia recomendada pelo (BRASIL, 2003a). As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Microbiologia do Departamento de Tecnologia e Química de Alimentos (DTQA/CT/UFPB).

#### **4.5 Análises físico-químicas**

As análises bioquímicas foram realizadas com a biomassa seca da *S. platensis* por liofilização ou gravimetria nas fases exponencial e estacionária. A análise física foi realizada com determinação do pH para acompanhamento do crescimento da cianobacteria durante o tempo de cultivo. As análises físico-químicas seguiram procedimentos específicos ou adaptados descritos na literatura utilizados nas análises de biomassa microalgal, sendo realizadas três repetições em triplicata.

##### **4.5.1 Extrato seco total**

Realizado pelo método gravimétrico de secagem direta em estufa a 105 °C, até peso constante (BRASIL, 2005). Antes de se iniciar o processo de extração as amostras foram submetidas à ultrassom por três ciclos com duração de 8 minutos cada, em banho de água com gelo, para romper as células seguindo procedimento descrito por Derner (2006).

#### **4.5.2 Resíduo mineral fixo**

Utilizou-se o método de resíduos por incineração direta em forno mufla a 550 °C após a carbonização da matéria (BRASIL, 2005).

#### **4.5.3 Lipídeos totais**

Para a determinação do extrato etéreo foi empregando a técnica de extração direta em Soxhlet (BRASIL, 2005). Anteriormente ao processo de extração, as amostras foram submetidas à ultrassom por três ciclos de 8 minutos de duração, em banho de água com gelo, para rompimento das células de acordo com procedimento descrito por Dener (2006).

#### **4.5.4 Proteínas totais**

Determinado com base no teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator de correção 6,25 (BRASIL, 2005a).

#### **4.5.5 Carboidratos totais**

A determinação de carboidratos totais para a biomassa de *S. platensis* seguiu a técnica adaptada de Kochert (1978). Foram pesados 5,0 mg de amostra das biomassas secas submetendo-as à hidrólise alcalina com 4,0 mL de Hidróxido de Sódio 1,0 N a 100 °C em banho-maria durante uma hora. Após resfriamento a temperatura ambiente as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 min. Realizada a extração, 500 µL do extrato alcalino obtidos foram transferidos para os tubos de ensaio, adicionando em seguida 1,0 mL de Hidróxido de Sódio 1N e 500 µL de fenol a 4 %. Passados 30 minutos de repouso, acrescentou-se 2,5 mL de Ácido Sulfúrico concentrado. Após resfriamento a temperatura ambiente, foi realizada leitura da absorbância em espectrofotômetro a um comprimento de

onda de 485 nm. A curva padrão (Apêndice) foi preparada a partir de uma solução de Glucose anidra de concentração igual a 400 µg/mL, realizando um gradiente de concentração de 0 até 320 µg/mL.

A determinação de carboidratos para o macarrão enriquecido com biomassa de *Spirulina* foi determinado pelo método de glicídios totais em glicose (BRASIL, 2005).

#### **4.5.6 Quantificação da energia fornecida**

O valor energético total foi calculado pela somas das multiplicações dos macronutrientes pela quantidade de energia fornecida por cada um (% carboidratos x 4 Kcal + % proteínas x 4 Kcal + % lipídeos x 9 Kcal), expressando o valor em Kcal/100g (BRASIL, 2003b).

#### **4.5.7 Determinação do pH**

O pH dos cultivos foi determinado diariamente por processo eletrométrico em potenciômetro portátil HI 9025 (Hanna Instrumentes).

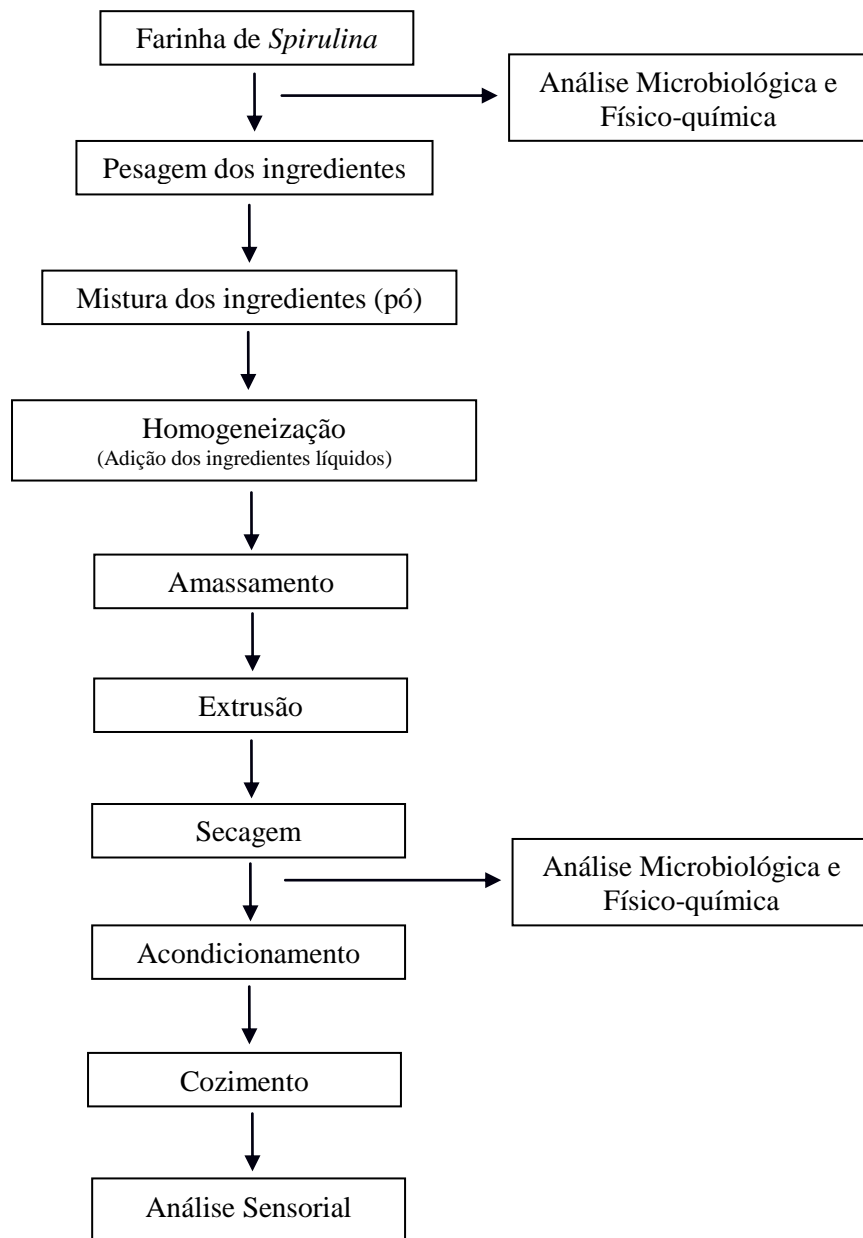
### **4.6 Produção do macarrão**

O macarrão massa fresca tipo espaguete foi produzido no laboratório de Panificação do DEA/CT/UFPB, em diferentes concentrações de biomassa seca de *S. platensis* obtida do tanque de cultivo e seco em estufa, sendo estas, 5, 10 e 15 %. Para a formulação do macarrão foi utilizada a biomassa de *S. platensis*, ovo de galinha, farinha de trigo especial sem fermento, óleo e água. As quantidades utilizadas estão dispostas na tabela 1.

Todos os ingredientes foram colocados na extrusora de massa modelo Buona Pasta (Mallory) onde foram misturados mecanicamente e em seguida extrusado. Por se tratar de massa fresca, foi preparada momento antes da análise sensorial. As etapas do processo de produção do macarrão enriquecido com biomassa de *S. platensis* estão dispostas na figura 8.

**Tabela 1** - Formulação do macarrão com diferentes concentrações de biomassa de *S. platensis*, em quantidades percentuais com base no total de farinha de trigo mais biomassa.

INGREDIENTES	5%	10%	15%
Farinha de <i>Spirulina</i> (g)	16,5	33	49,5
Farinha de trigo (g)	313,5	297	280,5
Ovo de galinha (und)	1	1	1
Óleo (ml)	5	5	5
Água (ml)	100	100	100
Sal (g)	2	2	2



**Figura 8** - Fluxograma representativo da produção do macarrão.



#### 4.7 Avaliação sensorial

Foram realizados os testes sensoriais de Aceitação e Intenção de Compra. Para a seleção dos provadores foi utilizado como critério o consumo do produto analisado (macarrão) e a disponibilidade para a realização do teste. A cada provador foi apresentado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo) autorizando sua participação voluntária na pesquisa. Este formulário dispõe da abordagem da natureza da pesquisa, objetivos, finalidade, potenciais riscos e/ou incômodos. A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley – CEP/HULW da Universidade Federal da Paraíba em reunião realizada no dia 26/01/2010 sobre protocolo CEP/HULW n°024/10 (Anexo).

Foram selecionados 58 provadores, de ambos os sexos. Para a realização dos testes de avaliação sensorial, as amostras de macarrão foram cozidas “al dente” em água com sal na proporção de 1 L de água potável para 100 g de massa fresca e 2 g de sal de cozinha (Figura 9). Foram servidas, aproximadamente, 25 g de cada amostra com molho de tomate industrializado, na temperatura usual de consumo (aproximadamente 50 °C) em pratos plásticos acompanhados de um copo com água mineral, biscoito, guardanapo de papel e ficha de avaliação sensorial (Apêndice A e B). As amostras foram avaliadas em uma única sessão, segundo um delineamento de blocos completos casualizados, sendo apresentados de forma monádica e com códigos de três números aleatórios.



**Figura 9** - Preparo das amostras utilizadas na análise sensorial.

Fonte: Própria.

Os produtos foram avaliados no teste de Aceitação com relação aos atributos: aparência, odor, textura, sabor, e avaliação global, utilizando escala hedônica de 9 pontos (de 1 = desgostei muitíssimo a 9 = gostei muitíssimo) (STONE; SIDEL, 1993). No teste de Intenção de compra utilizou-se uma escala hedônica de cinco pontos, variando de “compraria” (5) a ‘não compraria” (1).

Além das questões relacionadas à avaliação dos produtos, os provadores também foram indagados sobre a frequência de consumo mensal de macarrão, considerando o consumo de 1 a 2 vezes por mês “pouco”, de 3 a 4 vezes “moderado”, 5 a 8 vezes “muito” e mais de 8 vezes por mês “sempre” (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998).

O índice de aceitabilidade (IA) foi calculado considerando como 100% a maior nota alcançada na avaliação global dos produtos analisados e adotando como critério para a classificação satisfatória o índice de aceitação igual ou superior a 70% (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987). Para este cálculo adotou-se a seguinte expressão matemática:

$$IA = \frac{A \times 100}{B}$$

Onde:

A = Nota média obtida

B = Nota máxima dada ao produto

O percentual de aceitação, indiferença e rejeição para cada atributo, foram calculados a partir dos resultados obtidos na avaliação do teste de Aceitação utilizando os 9 pontos da escala hedônica. A aceitação foi calculada pelo somatório dos percentuais dos escores de “gostei ligeiramente” (6) à “gostei muitíssimo” (9), a indiferença é igual ao percentual obtido no escore “nem gostei/nem desgostei” (5) e a rejeição foi calculada pelo somatório dos percentuais dos escores de “desgostei ligeiramente” (4) à “desgostei muitíssimo” (1).

#### **4.8 Análise estatística**

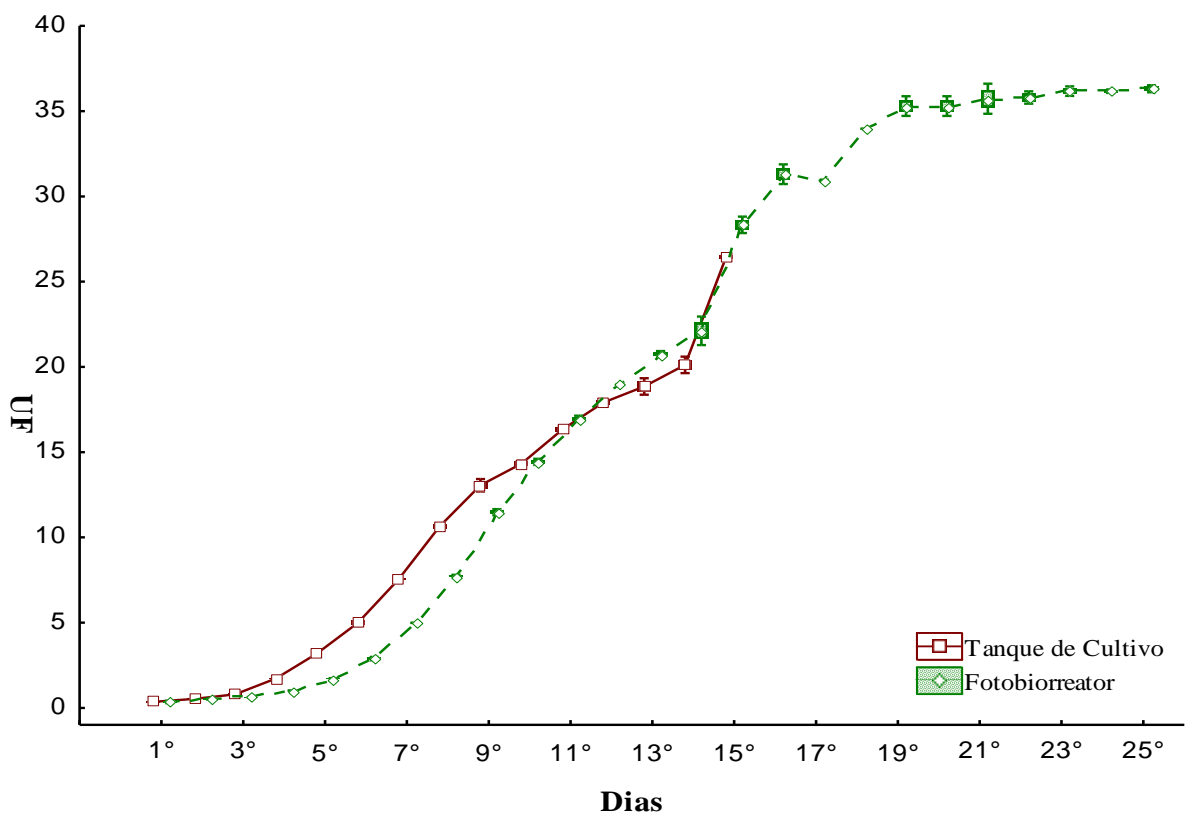
Os dados da curva de crescimento e rendimento final dos cultivos da *S. platensis*, a composição centesimal da *S. platensis* e do macarrão enriquecido com a biomassa e a avaliação sensorial do macarrão foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa Statistica 7.0, com 5% de nível de significância. Quando não foi possível aplicar

testes paramétricos, foram utilizados testes não paramétricos seguindo as recomendações de Sokal e Rohlf (1983). A homocedasticidade das variâncias de todos os parâmetros da *S. platensis* e do macarrão analisados foi confirmada utilizando o teste de Levene. Foi aplicado teste de Mann-Whitney para comparar as diferenças nas médias das curvas de crescimento da *S. platensis* entre os dois tipos de cultivo e nos rendimentos finais entre os tipos de cultivo e entre a fase de crescimento (exponencial e estacionária). Os métodos de avaliação do crescimento da *S. platensis* no tanque de cultivo e fotobiorreator foram comparados por teste de Correlação de Spearman. As médias das variáveis da composição centesimal da *S. platensis* medidas nos diferentes tipos de cultivo e método de secagem foram comparadas por análise de variância (ANOVA) e teste HSD de Tukey e a composição centesimal e avaliação sensorial do macarrão nas diferentes formulações foram analisadas por análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan.

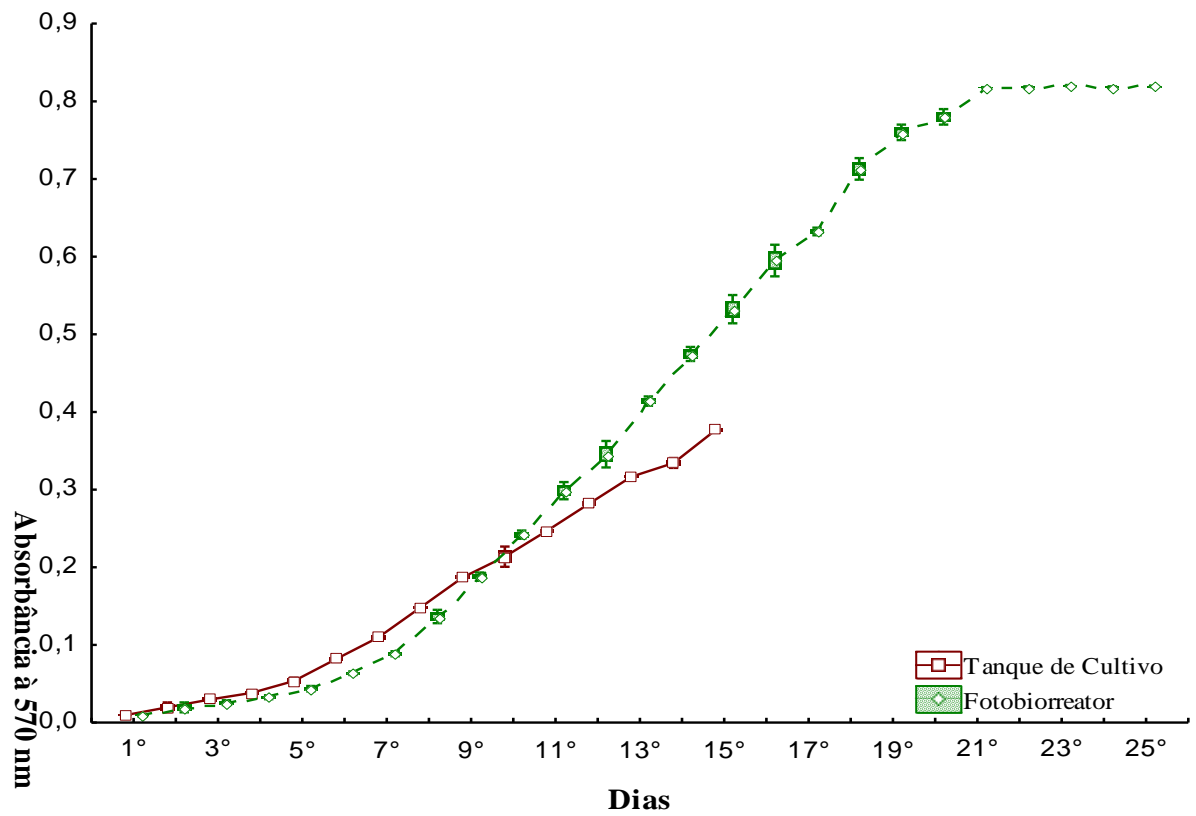
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação do crescimento

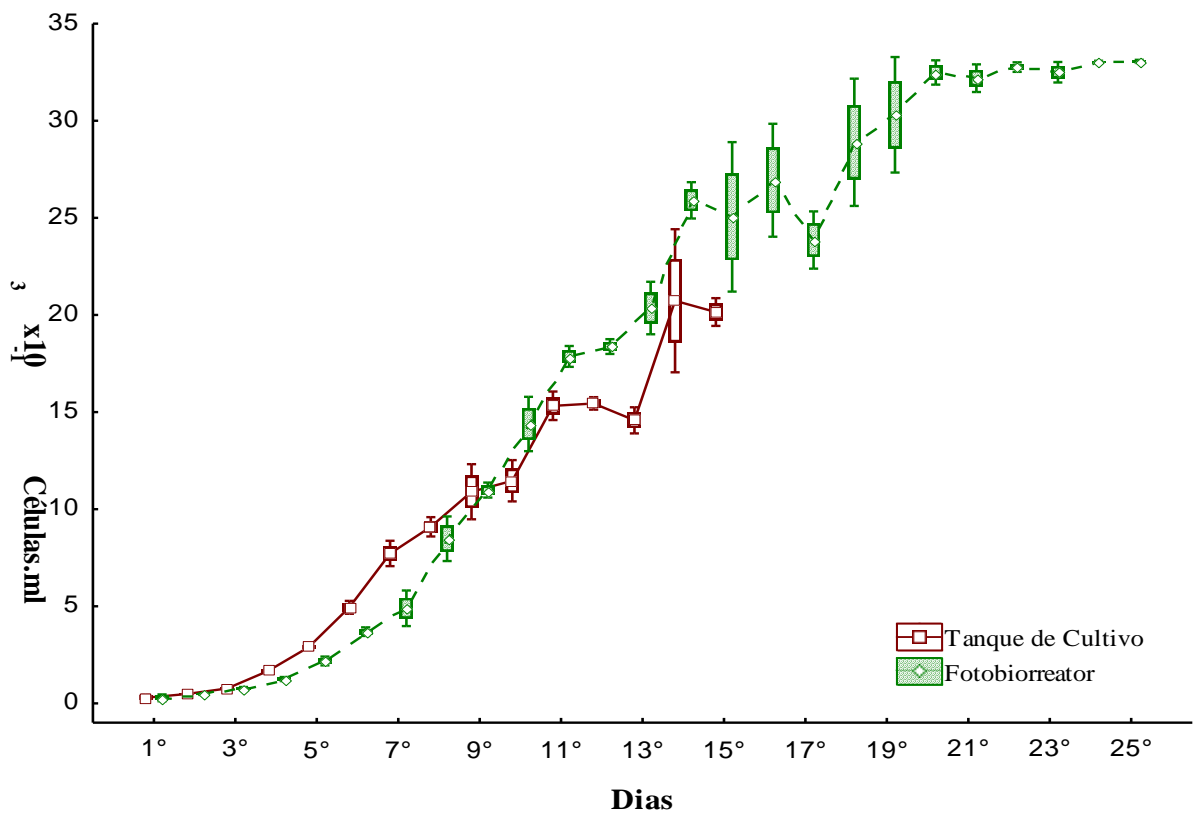
As curvas de crescimento obtidas nos cultivos de *S. platensis* efetuadas em fotobiorreator e tanque de cultivo estão apresentadas abaixo (Figuras 10, 11, 12). As análises estatísticas demonstraram que os três métodos de avaliação do crescimento de *Spirulina* nas duas condições experimentais de cultivo diferiram significativamente entre si (Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ). Apesar da concentração celular do inoculo inicial ter sido igual para os dois tipos de cultivos, pode-se observar que a partir do 3º dia os dados de fluorescência “in vivo”, densidade ótica e número de células começaram a diferenciar-se, apresentando, no tanque de cultivo uma velocidade de crescimento mais acentuado inicialmente, mas sendo ultrapassado pelo fotobiorreator por volta do 9º-10º dia. A taxa de crescimento máximo (Tabela 2) obtida pelo cultivo em tanque foi no 4º dia e para o fotobiorreator, no 5º.



**Figura 10** - Curvas de crescimento da *S. platensis* em tanque de cultivo e fotobiorreator obtidas por fluorescência “in vivo”. Média  $\pm$  Desvio Padrão.



**Figura 11** - Curvas de crescimento da *S. platensis* em tanque de cultivo e fotobiorreator obtidas por medidas da densidade ótica. Média  $\pm$  Desvio Padrão.



**Figura 12** - Curvas de crescimento da *S. platensis* em tanque de cultivo e fotobiorreator obtidas com base na contagem celular. Média  $\pm$  Desvio Padrão.

**Tabela 2** - Taxa de crescimento de *S. platensis* em fotobiorreator e tanque de cultivo, baseadas na contagem celular.

	Tempo (dias)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Fotobiorreator														
<b>Cél/mL x 10<sup>3</sup></b>	0,28	0,48	0,78	1,25	2,18	3,69	4,90	8,48	10,98	14,39	17,86	18,37	20,36	25,91
<b>μ*</b>		0,74	0,71	0,69	0,80	0,76	0,41	0,79	0,37	0,39	0,31	0,04	0,15	0,35
Tanque de cultivo														
<b>Cél/mL x 10<sup>3</sup></b>	0,28	0,48	0,76	1,66	2,89	4,94	7,72	9,09	10,90	11,46	15,32	15,45	14,57	20,73
<b>μ*</b>		0,74	0,69	1,12	0,80	0,77	0,64	0,24	0,26	0,07	0,42	0,01	-0,08	0,51

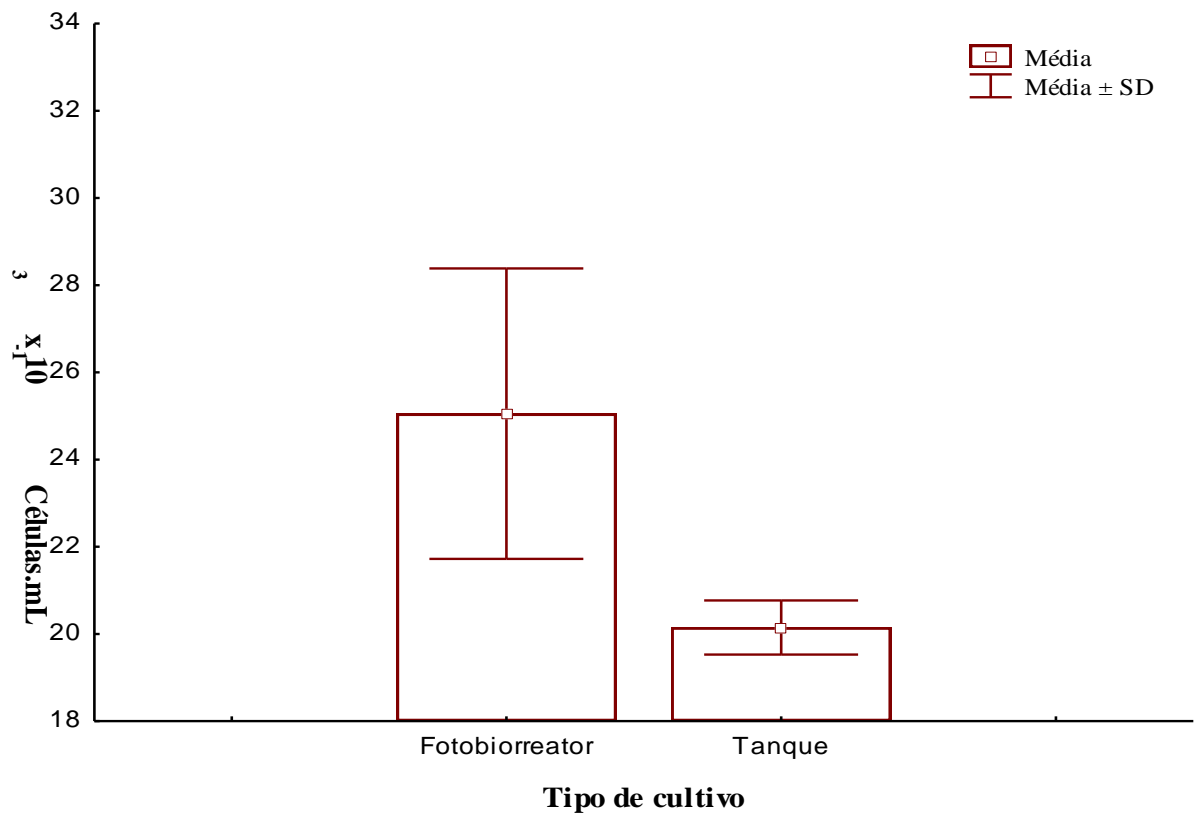
Cél.mL<sup>-1</sup>.10<sup>3</sup> = células por mililitro

\*μ: expressa em número de divisões celulares por dia

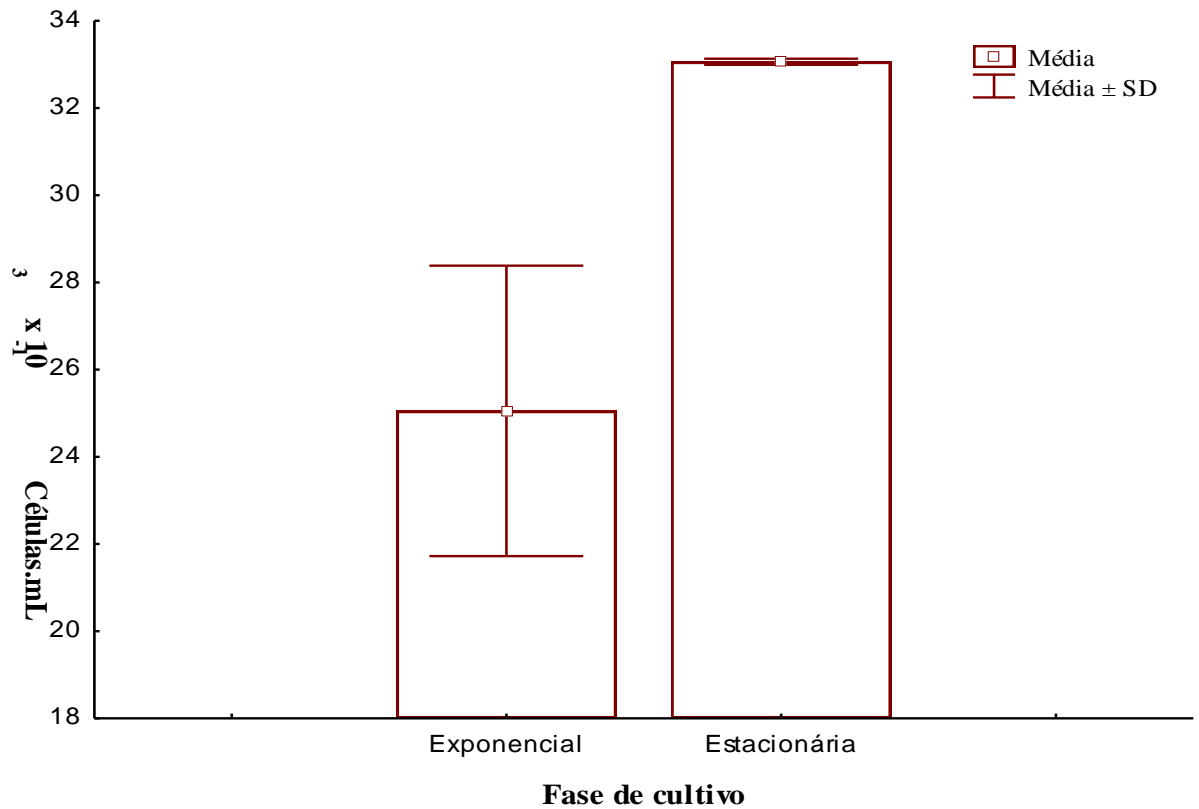
No momento da primeira colheita (15° dia) foi determinada a densidade celular máxima dos cultivos em fotobiorreator e no tanque, verificou-se diferença significativa entre os resultados, sendo maior no fotobiorreator (Mann-Whintney,  $p < 0,05$ ; Figura 13). Na segunda colheita realizada, no 25° dia (fase estacionária) no cultivo em fotobiorreator, obteve-se um rendimento celular significativamente maior que no 15° dia (Mann-Whintney,  $p \leq 0,05$ ; Figura 14).

Os valores de biomassa seca (produtividade) obtidos em cada colheita foi de 0,52 g/L para o tanque de cultivo, 0,74 g/L no fotobiorreator para a fase exponencial e 1,41 g/L na fase estacionária. Valores superiores aos encontrados nesta pesquisa foi obtido por Oliveira et al. (1999) cultivando *S. platensis* em meio Paoletti, que atingiu produtividade de 2,4 g/L. Olguín et al. (2001), em cultivo de *Spirulina* sp. enriquecido com dejetos suíno encontraram valores de 0,67 e 0,77 g/L sendo estes resultados semelhantes aos encontrados nesta pesquisa quando colhidos em fase exponencial. Pelizer et al. (2003) alcançaram produtividade de 1,3 g/L em cultivo com *S. platensis*, valor semelhante ao encontrado na colheita em fase estacionária.

Lourenço (2006); Chisti (2007); Ugwu, Aoyagi e Uchiyama (2008) atribuem a elevada produtividade em cultivos com fotobiorreator ao controle das trocas gasosas entre o cultivo e o ar atmosférico e a redução da contaminação e das perdas por evaporação. Nesse sistema de cultivo é possível alcançar uma produção de biomassa seca da ordem de 5 a 10 g/L para várias espécies cultivadas em regime de batelada e comparando-o a um cultivo em lagoa aberta, a produtividade pode ser até treze vezes maior.



**Figura 13** - Densidade celular máxima da *S. platensis* cultivada em fotobiorreator e tanque de cultivo, com a biomassa colhida durante a fase exponencial de crescimento. Média ± Desvio Padrão.



**Figura 14** - Densidade celular máxima da *S. platensis* cultivada em fotobiorreator, com a biomassa colhida durante as fases crescimento exponencial e estacionária. Média ± Desvio Padrão.

Apesar da eficiência e da produtividade ser maior em fotobiorreator do que em tanques, os custos são mais elevados sendo tais aparelhos mais empregados para produção de compostos com elevado valor comercial (TREDICI, 2004); já os tanques abertos são diretamente afetados por fatores como variação de temperatura, iluminação e evaporação do meio (LOURENÇO, 2006). De acordo com Derner (2006), a produtividade entre as fases de crescimento deve ser maior na fase estacionária da curva visto que o crescimento apresenta maior densidade celular e conseqüentemente maior biomassa por volume de cultura. As curvas de crescimento analisadas com base na fluorescência “in vivo”, densidade ótica e contagem de células exibiram a mesma tendência, apresentando índices de correlação superiores a 0,98 tanto para o tanque de cultivo quanto para fotobiorreator evidenciando alta semelhança entre estes três métodos de avaliações de crescimento (Correlação de Spearman,  $p < 0,05$ ; Tabela 3).

**Tabela 3** - Índice de Correlação de Spearman entre as medidas diárias de crescimento da *S. platensis* obtidos dos cultivos em fotobiorreator e tanque de cultivo.

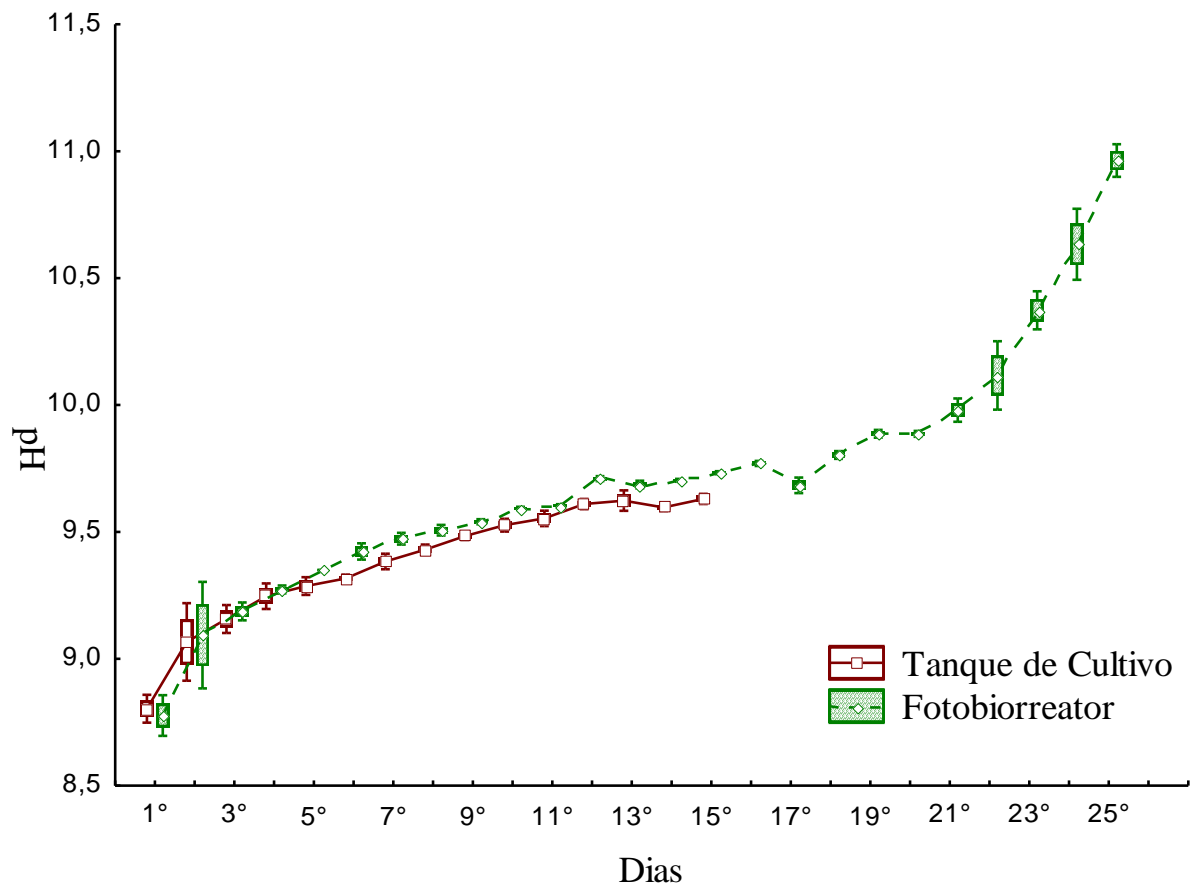
Tipos de Cultivo	Cont. X Fluor	Cont. X DO	Fluor X DO
Fotobiorreator	0,98	0,98	0,99
Tanque de Cultivo	0,98	0,98	0,99

Cont. = contagem celular (cél/ml); Fluor = fluorescência (UF); DO = densidade ótica (absorbância a 570 nm).

O pH médio inicial das culturas foi de  $8,78 \pm 0,08$  no tanque de cultivo e  $8,80 \pm 0,05$  no fotobiorreator, aumentando gradativamente ao longo do desenvolvimento de forma similar para ambos os tipos de cultivo. No momento da colheita da biomassa, na fase exponencial, o pH médio no tanque de cultivo foi  $9,63 \pm 0,02$  e  $9,73 \pm 0,01$  no fotobiorreator. Durante a fase estacionária, no cultivo em fotobiorreator, houve uma elevação acentuada do pH que atingiu  $10,96 \pm 0,06$  no 25º dia como apresentado na figura 15.

O aumento do pH com o crescimento celular pode ser explicado pelo consumo da fonte de carbono durante os cultivos. Em meio aquoso o carbono inorgânico pode estar na forma de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$  (ácido carbônico),  $\text{HCO}_3^-$  (bicarbonato) ou  $\text{CO}_3^{2-}$  (carbonato) e suas proporções dependem do pH (ESTEVES, 1988). De acordo com Goldman, Dennett e Riley (1982), além do carbono inorgânico, outro nutriente que pode elevar o pH é o nitrato, visto que, quando consumido, libera hidroxila no meio de cultivo.





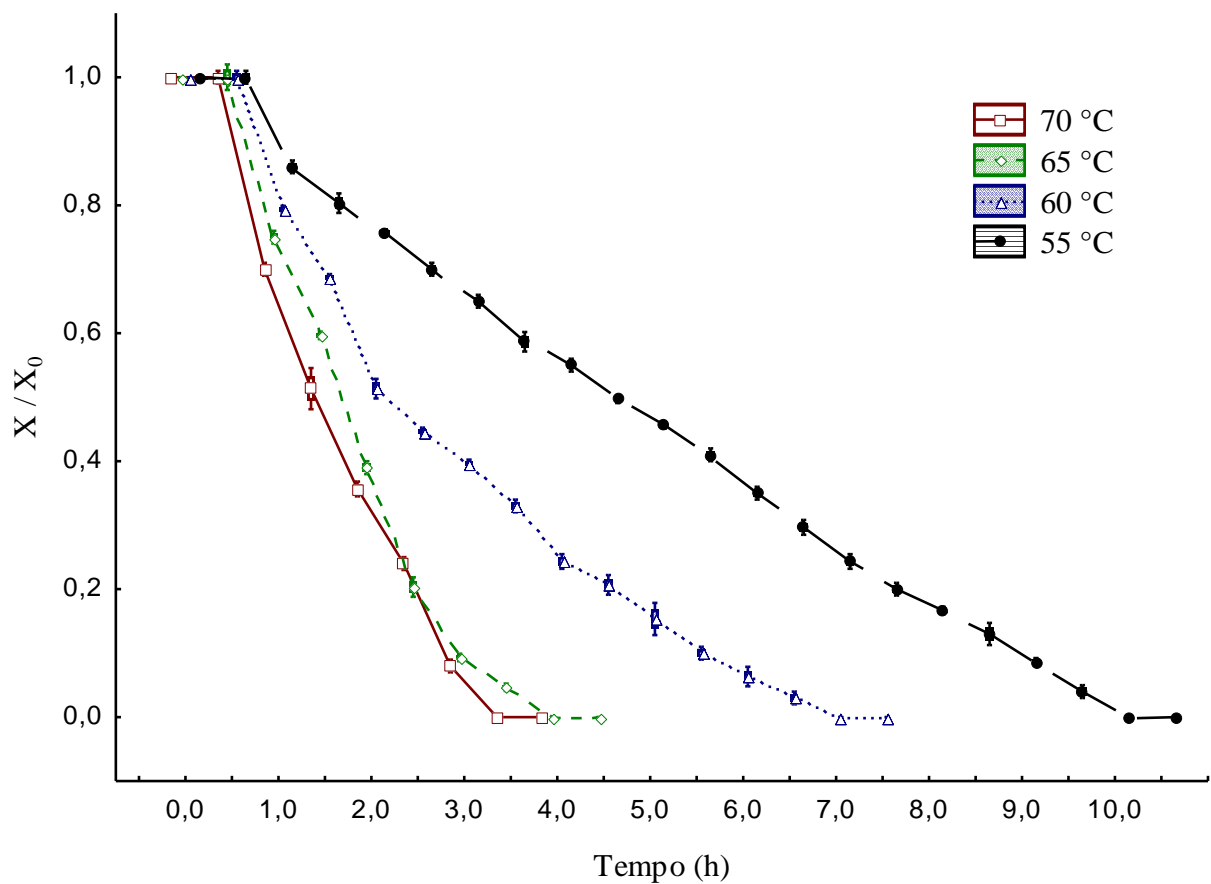
**Figura 15** - Variação do pH durante o cultivo da *S. platensis* em fotobiorreator e em tanque de cultivo.

A forma de carbono mais assimilada pelas cianobactérias é o bicarbonato (MILLER e COLMAN, 1980). Os íons bicarbonato do meio de cultura são transportados ativamente para o interior das células, onde são convertidos a íons carbonato e gás carbônico, sendo este último utilizado na fotossíntese e o carbonato liberado para o meio (FERRAZ, 1986).

Com o aumento do pH ao longo do crescimento, a quantidade de íons bicarbonato consumida também tende a aumentar, com conseqüente redução da concentração de carbonato total. Na medida em que o valor do pH se aproxima de 11 (final do cultivo), a absorção da fonte de carbono inorgânico é dificultada. Segundo Russel (1982) e Binaghi et al. (2003) em valores de pH acima de 10,2 o carbonato é a forma predominante e o bicarbonato existente reduz gradativamente. Quando o pH atinge 10,5, a concentração celular tende a estabilizar ou mesmo decrescer (DANESI, 2001).

## 5.2 Curva de secagem

Na figura 16 está a representação gráfica das curvas de secagem da biomassa de *S. platensis* desidratada em estufa de circulação forçada. O processo de secagem ocorreu com período de taxa decrescente para as quatro condições de temperaturas ensaiadas (55, 60, 65, 70 °C) e apresentaram-se de forma bem definida indicando uma condição de homogeneidade no secador. O período de taxa constante indica o final do período de secagem.



**Figura 16** - Cinética de secagem da biomassa de *S. platensis* para quatro temperaturas de secagem.

Analisando as curvas de secagem da figura 17, observou-se que a cinética de secagem é fortemente influenciada pela temperatura, visto que a aplicação da temperatura mais elevada (70 °C) reduziu significativamente o tempo necessário para a secagem da biomassa, diminuindo de 10,5 na temperatura mais baixa (55 °C) para 3,5 horas. Para essa pesquisa foi escolhida a temperatura de 65 °C como ideal para a secagem da biomassa em virtude da

variável tempo X temperatura, já que a esta temperatura foram necessárias apenas 4 horas para a secagem do material, 30 minutos a mais que a temperatura de 70 °C.

### 5.3 Análise microbiológica

Em virtude da necessidade do controle sanitário, com vistas à qualidade microbiológica dos produtos alimentícios e a proteção da saúde da população, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos que estão descritos nas tabelas 4 e 5 juntamente com os resultados obtidos nas análises microbiológicas da biomassa de *S. platensis* e dos macarrões respectivamente.

**Tabela 4** - Avaliações microbiológicas da biomassa de *S. platensis* e seu padrão microbiológico.

	<b>Coliformes a 45°C/g (NMP/g)</b>	<i>Salmonella sp/25g (UFC/g)</i>	<i>Staphylococcus Coag. positiva/g (UFC/g)</i>	<i>Bacillus cereus/g (UFC/g)</i>
<i>S. platensis</i>	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
<b>PM</b>	10	Ausência	5x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>

NMP/g = Número mais provável por grama; UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama e PM = Padrões Microbiológicos referentes à RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

**Tabela 5** - Avaliações microbiológicas do macarrão enriquecido com *S. platensis* em diferentes concentrações e seu padrão microbiológico.

<b>Macarrão</b>	<b>Coliformes a 45°C/g (NMP/g)</b>	<i>Salmonella sp/25g (UFC/g)</i>	<i>Staphylococcus coagulase positiva/g (UFC/g)</i>	<i>Bacillus cereus/g (UFC/g)</i>
<b>5,0% Sp</b>	< 2,0 x 10	Ausência	< 1,0 x 10	< 3,0 x 10
<b>10,0% Sp</b>	< 2,5 x 10	Ausência	< 1,0 x 10	< 2,0 x 10
<b>15,0% Sp</b>	< 1,0 x 10	Ausência	< 2,0 x 10	< 3,0 x 10
<b>PM</b>	10 <sup>2</sup>	Ausência	5x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>3</sup>

NMP/g = Número mais provável por grama; UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama; Sp= *Spirulina platensis* e PM = Padrões Microbiológicos referentes a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

As análises microbiológicas da biomassa não apresentaram desenvolvimento dos microrganismos pesquisados, estando dentro dos padrões aceitáveis para consumo humano, com isso está apta para ser utilizada na elaboração do macarrão. A ausência de contaminação na biomassa pode ser atribuída ao controle de qualidade durante o cultivo, colheita e secagem do material biológico, além das condições de cultivo como temperatura e pH.

De acordo com os resultados das análises microbiológicas do macarrão descritos na tabela 5, todas as formulações estão dentro dos padrões aceitáveis para consumo humano, de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001), indicando que a matéria prima e o macarrão foram processados em condições adequadas, podendo ser empregados na análise sensorial.

#### **5.4 Composição centesimal**

A composição centesimal da cianobactéria *S. platensis* cultivada em fotobiorreator e tanque de cultivo e seca em liofilizador e estufa de circulação forçada, apresentou diferença significativa para todas as variáveis (ANOVA, Teste HSD de Tukey,  $p < 0,05$ ; Tabela 6), tais diferenças não se tratam simplesmente de valores absolutos referentes à espécie determinada, mas uma resposta relativa às variáveis empregadas, tais como, o sistema de cultivo, a disponibilidade de nutrientes, o estado fisiológico da cultura e a fase de crescimento analisada.

O total de proteína encontrado na biomassa da *S. platensis* variou de 49,28 a 60,58% em cultivos em fase exponencial e na fase estacionária o percentual foi 10,43 em média. O inverso foi observado para as variáveis de resíduo mineral fixo (RMF), lipídios e carboidratos estando às maiores concentrações na biomassa que se encontrava na fase estacionária. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por De Pauw; Morales e Persoone (1984) ao relatarem que, geralmente, as culturas algáceas na fase de crescimento exponencial contêm mais proteína, enquanto as culturas na fase estacionária têm mais carboidratos. Embora o teor de lipídeo na fase estacionária tenha tido um acréscimo de aproximadamente 30% em relação à fase exponencial, é importante atentarmos para a qualidade do lipídeo para definir o seu valor nutritivo. De acordo com Cozza e Costa (2000) e Richmond (2004) a *S. platensis* é fonte de ácidos graxos poliinsaturados essenciais como ácido  $\gamma$ -linolênico e ácido linoléico.

**Tabela 6** - Valores médios das variáveis de composição centesimal da *S. platensis* em diferentes tipos de cultivo e método de secagem.

Variáveis	<i>Spirulina platensis</i>			
	FbLEx	FbLEs	TCLEx	TCEEx
Umidade (%)	12,26 <sup>a</sup> ±0,72	12,43±0,54	11,64 <sup>b</sup> ±0,12	13,59 <sup>ab</sup> ±0,23
RMF (%)	14,35 <sup>a</sup> ±0,6	35,25 <sup>abc</sup> ±0,68	16,88 <sup>ab</sup> ±1,58	15,36 <sup>c</sup> ±0,55
PTN (%)	54,19 <sup>a</sup> ±3,64	10,43 <sup>abc</sup> ±2,38	53,94 <sup>b</sup> ±3,74	52,71 <sup>c</sup> ±2,47
Lipídios (%)	1,72 <sup>a</sup> ±0,24	5,08 <sup>abc</sup> ±0,08	1,49 <sup>b</sup> ±0,13	1,56 <sup>c</sup> ±0,33
Carboidratos (%)	17,83 <sup>a</sup> ±1,45	36,83 <sup>abc</sup> ±3,40	16,96 <sup>b</sup> ±2,69	16,34 <sup>c</sup> ±1,76
Calorias (Kcal/100g)	303,54 <sup>a</sup> ±11,45	234,74 <sup>abc</sup> ±20,69	297,03 <sup>b</sup> ±20,91	290,24 <sup>c</sup> ±17,70

RMF = resíduo mineral fixo; PTN = proteínas totais; Kcal/100g = Kilocalorias por 100g do produto. Média ± desvio padrão. Nas linhas, as médias seguidas de letras iguais, diferem significativamente.

O percentual calórico da *S. platensis* não difere significativamente quando se compara o tipo de cultivo e o método de secagem, mas apresenta menos calorias quando a biomassa é colhida na fase estacionária de crescimento. Esta diferença calórica se deve a diminuição abrupta da proteína (80%) e aumento do percentual de carboidrato (48%) e lipídeo (34%).

Os valores da composição centesimal da biomassa na fase exponencial do crescimento encontrados nesta pesquisa quando comparados com outras pesquisas, mostram que existe, em sua grande maioria, uma concordância na caracterização dos diferentes componentes químicos da cianobactéria. Donato et al. (2010) (não informada as condições de cultivo) encontraram 59,65% de proteína, 3,29% de lipídeo, 11,72% de carboidrato, 7,81% de umidade e 17,53% de RMF na *S. platensis*. Huang (2006) encontrou valores de proteína 62,43%, carboidrato 3,47% e lipídeos 17,3% para cultivo em meio Zarrouk enriquecido com enxofre. Volkmann (2006), avaliando a *S. platensis* cultivada em diferentes meios (utilizando como base o meio Paoletti) encontrou um conteúdo de proteína de 56,17% no cultivo em água de descarte de desalinizador e 48,59% na cianobactéria cultivada em água salinizada com NaCl.

Ao se analisar a composição dos cultivos colhidos na fase exponencial e estacionária é notória que embora a fase estacionária apresente um maior rendimento final, este período para a colheita só seria viável se o interesse em seu cultivo fosse o fornecimento de lipídios, carboidrato ou minerais, podendo esses valores, serem incrementados com a aplicação de

estresse fótico (período claro continuado) e/ou térmico, já que o fator nutricional neste estágio é limitante.

Em comparação com o tipo de cultivo, foi observado que apesar da análise da composição da *S. platensis* desenvolvida no fotobiorreator tenha apresentado valores maiores que o cultivo em tanque, estes não diferiram estatisticamente, mesmo sendo o rendimento do primeiro tipo de cultivo mais elevado, o custo de produção neste sistema é muito oneroso, sendo o seu emprego viável apenas para biocompostos que necessitem de um maior controle dos fatores ambientais, e que apresentem um elevado valor comercial, como enzimas e pigmentos. O mesmo se aplica ao tipo de secagem do material, visto que o método de secagem no processamento é um fator determinante para o custo final da produção. De acordo com os resultados, o material liofilizado não diferiu do seco em estufa para as variáveis analisadas, assim como o tipo de cultivo, o método a ser adotado dependerá da finalidade da produção.

A tabela 7 representa a composição centesimal da massa fresca em diferentes concentrações de *S. platensis* e da massa fresca controle (sem adição de biomassa). A composição centesimal do macarrão apresentou diferença significativa entre as diferentes formulações para as variáveis carboidrato, proteína e resíduo mineral fixo (ANOVA, Teste de Duncan,  $p < 0,05$ ).

**Tabela 7** - Valores médios das variáveis de composição centesimal do macarrão e suas diferentes formulações.

Variáveis	Formulações			
	Controle	5,0% Sp	10,0% Sp	15,0% Sp
Umidade (%)	33,29±1,85	32,67±1,17	34,17±0,87	33,60±0,82
RMF (%)	0,67 <sup>a</sup> ±0,04	0,96 <sup>a</sup> ±0,08	1,35 <sup>a</sup> ±0,07	2,20 <sup>a</sup> ±0,27
PTN (%)	10,48 <sup>a</sup> ±0,48	11,67 <sup>b</sup> ±0,76	12,86 <sup>a</sup> ±1,00	14,68 <sup>ab</sup> ±0,55
Lipídios (%)	2,64±0,06	2,59±0,07	2,60±0,08	2,63±0,05
Carboidratos (%)	53,11 <sup>a</sup> ±1,98	51,99 <sup>b</sup> ±1,98	49,58 <sup>a</sup> ±0,96	47,75 <sup>ab</sup> ±1,02
Calorias (Kcal/100g)	277,36±7,32	278,45±5,27	270,90±3,61	269,96±4,10

Sp = *Spirulina platensis*; RMF = resíduo mineral fixo; PTN = proteínas; Kcal/100g = Kilocalorias por 100g do produto. Média ± desvio padrão. Nas linhas, as médias seguidas de letras iguais, diferem significativamente.

Os valores médios encontrados na determinação de umidade de todas as amostras de massa fresca analisadas não diferiram significativamente, variando entre 32,67 e 33,60% para macarrão acrescido de 5 e 15% respectivamente. A ANVISA por meio da RDC nº 93, de 31 de outubro de 2000, que rege os padrões de identidade e qualidade de massa alimentícia, determina que a umidade máxima permitida em massa fresca é de 35% (BRASIL, 2000), estando assim, todas as formulações dentro dos parâmetros pré-determinados.

Maluf et al. (2010) ao determinarem o percentual de umidade da massa de macarrão fresca enriquecida com pacu (*Piaractus mesopotamicus*) defumado, encontraram o valor de 32,37%, já Aquino et al. (2008) avaliando a composição centesimal de três concentrações de ovo integral desidratado de avestruz em massa fresca tipo espaguete, encontraram valores entre 28,39 a 32,57%, estes valores são inferiores aos relatados neste trabalho.

As análises de resíduo mineral fixo apresentaram diferença significativa entre todas as amostras analisadas, quanto maior a concentração de *S. platensis*, maior o seu percentual, chegando a atingir, em média, 2,20% na concentração de 15% contra 0,96% na menor concentração (5%). A quantidade máxima permitida de RMF varia de 1,35 a 2,5% dependendo da classificação da massa ou de sua designação (com ou sem ovos e tipo de farinha de trigo), mas quando forem adicionados outros ingredientes além dos derivados do trigo, o percentual deverá ser de acordo com a composição do produto (BRASIL, 2000). O incremento do percentual do RMF ao aumento da concentração de *S. platensis* nas formulações da massa pode ser explicado pelo alto teor de RMF (15,36%) na composição da biomassa utilizada, sendo assim, os valores encontrados neste estudo mostraram-se adequados aos pré-determinados pela ANVISA (BRASIL, 2000). Concentração similar de RMF para a formulação com 15% foi encontrado por Maluf et al. (2010), qual seja, 2,18%. O mesmo padrão de incremento foi observado por Santucci et al. (2003) com o enriquecimento do macarrão com espinafre e diferentes concentrações de derivados de levedura (*Saccharomyces* sp.), onde o percentual de RMF, com o aumento da concentração da levedura de 5 para 7,5%, passou de 1,0 para 1,1 no macarrão com o autolisado de levedura e de 1,3 para 1,4% quando utilizado o extrato da levedura.

A Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA (BRASIL, 2005), determinou as necessidades diárias de nutrientes (Ingestão Diária Recomendada - IDRs) para a população brasileira. De acordo com os percentuais de IDR preconizados, uma porção (100 g) do macarrão enriquecido com 10,0% de *S. platensis* desenvolvido nesta pesquisa, fornece 37,82% das recomendações diárias de proteínas para uma criança entre 7 e 10 anos, e 25,72% da necessidades diárias de

um adulto, enquanto o macarrão controle fornece 30,82 e 20,96% respectivamente. A comparação entre a quantidade de proteína nas diferentes formulações de macarrão e as IDRs para diferentes faixas etárias da população brasileira estão representadas na tabela 8.

**Tabela 8** - Percentual de proteína nas diferentes formulações do macarrão com base na IDR para cada faixa etária.

<b>Faixa etária</b>	<b>IDR (g)*</b>	<b>Controle (%)</b>	<b>5,0% Sp (%)</b>	<b>10,0% Sp (%)</b>	<b>15,0% Sp (%)</b>
<b>1 – 3 anos</b>	13	80,62	89,77	98,92	112,92
<b>4 – 6 anos</b>	19	55,16	61,42	67,68	77,26
<b>7 – 10 anos</b>	34	30,82	34,32	37,82	43,18
<b>Adulto</b>	50	20,96	23,34	25,72	29,36
<b>Gestante e Lactante</b>	71	14,76	16,44	18,11	20,68

IDR = Ingestão Diária Recomendada; Sp = *Spirulina platensis*.

\*Fonte: Brasil (2005).

O resultado das análises das amostras para o teor de lipídeos apresentaram um valor médio de 2,6%, esse valor é inferior aos mostrados por Aquino et al. (2008) que encontraram 5,07% para a massa alimentícia adicionada de 9,52% de ovo desidratado de avestruz, e Maluf et al. (2010) que encontraram 9,73% de lipídeo na massa de macarrão enriquecida com pacu. O conteúdo de lipídeos encontrado por Moraes, Miranda e Costa (2006) nos biscoitos enriquecidos com *S. platensis* foi em média 18,8%, esta concentração elevada se deve aos componentes do biscoito que envolvem gordura vegetal hidrogenada e chocolate. Os teores baixos de lipídeos nos macarrões enriquecidos com *S. platensis* resultam em um produto mais saudável e com valor calórico mais baixo. O conteúdo de carboidratos foi maior na formulação do macarrão controle (53,11%) e menor na com 15% de biomassa (47,75%). Estes valores apresentaram-se inferiores ao encontrado na literatura onde, Santucci et al. (2003) que também observaram uma diminuição no teor de carboidratos do macarrão controle para o enriquecido com 7,5% de levedura, encontraram valores de 71,6% e 63,5%. O conteúdo de carboidratos dos biscoitos enriquecidos com *S. platensis* elaborados por Moraes, Miranda e Costa (2006) apresentaram valores de 68,4 e 68,6% nas amostras com 3,0 e 5,0% respectivamente.

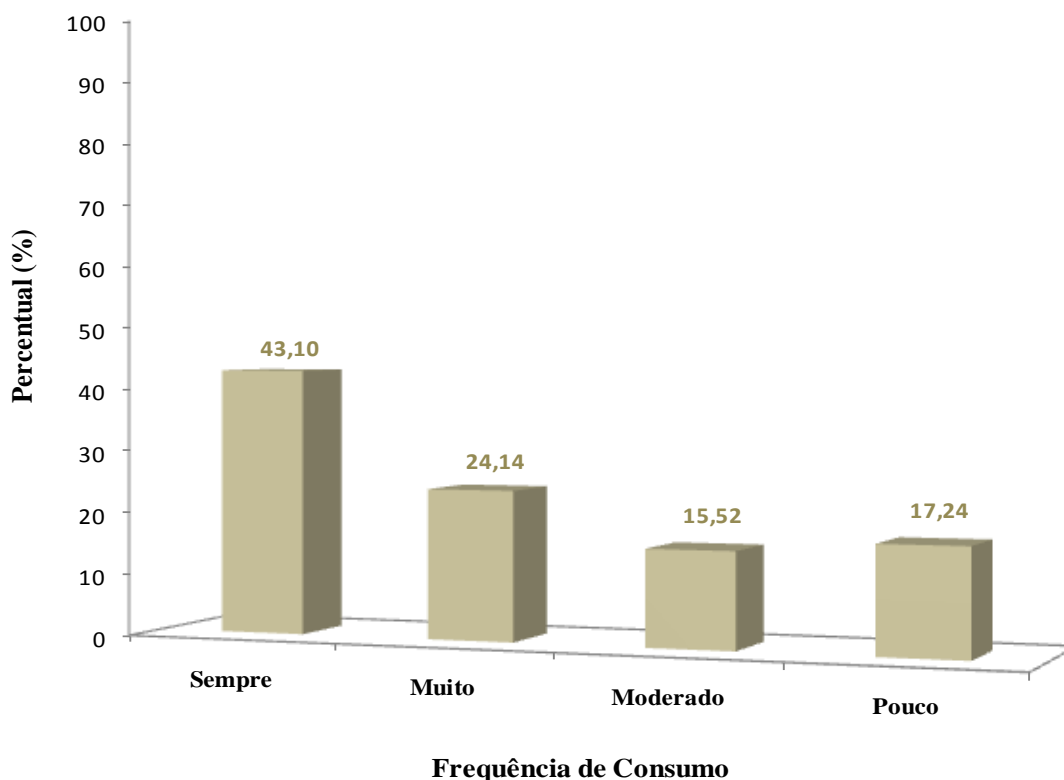
Os valores calóricos das formulações do macarrão não diferiram significativamente, tendo o macarrão controle (277,36 Kcal/100g) e a 5% (278,45 Kcal/100g) apresentado os



maiores valores e o macarrão com 15% de *Spirulina* o valor mais baixo (269,96 Kcal/100g). Valores superiores aos apresentados neste trabalho foram encontrados no macarrão enriquecido com pacu, 310,85 Kcal/100g (MALUF et al., 2010) e no macarrão produzido com ovo desidratado de avestruz a 4,76 e 9,52% apresentando 279,24 a 309,60 Kcal/100g respectivamente. O aumento da concentração da biomassa da *S. platensis* nas formulações resultou em aumento no teor de proteínas e minerais, aumentando também o valor nutricional do macarrão reforçando a importância da inclusão deste componente na dieta da população.

### 5.5 Avaliação sensorial

O macarrão enriquecido com *Spirulina* foi submetido à avaliação sensorial por 58 provadores. A equipe de provadores foi composta por 32 mulheres (55,17%) e 26 homens (44,83%) com idade entre 19 e 50 anos. Como pode ser verificada na figura 17, a frequência no consumo de macarrão pelos provadores é elevada, visto que 43,10% afirmam consumir sempre (mais de 8 vezes por mês) e 24,14% consomem muito (de 5 a 8 vezes por mês) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998).



**Figura 17** - Frequência de consumo de macarrão.

A tabela 9 representa os valores médios dos escores atribuídos pelos provadores durante a avaliação da aceitabilidade das formulações do macarrão enriquecido com 5, 10 e 15% de *S. platensis* (ANOVA, Teste de Duncan,  $p < 0,05$ ). Os resultados obtidos na avaliação sensorial para os atributos odor e sabor não diferiram significativamente para as três formulações. Quanto à textura, as formulações com 5,0 e 10,0% de *S. platensis* diferiram significativamente, obtendo a formulação com 10,0% a melhor classificação. A aparência e avaliação global apresentaram diferença significativa da formulação com 10,0% de *S. platensis* para as formulações com 5,0 e 15,0% em ambos os atributos.

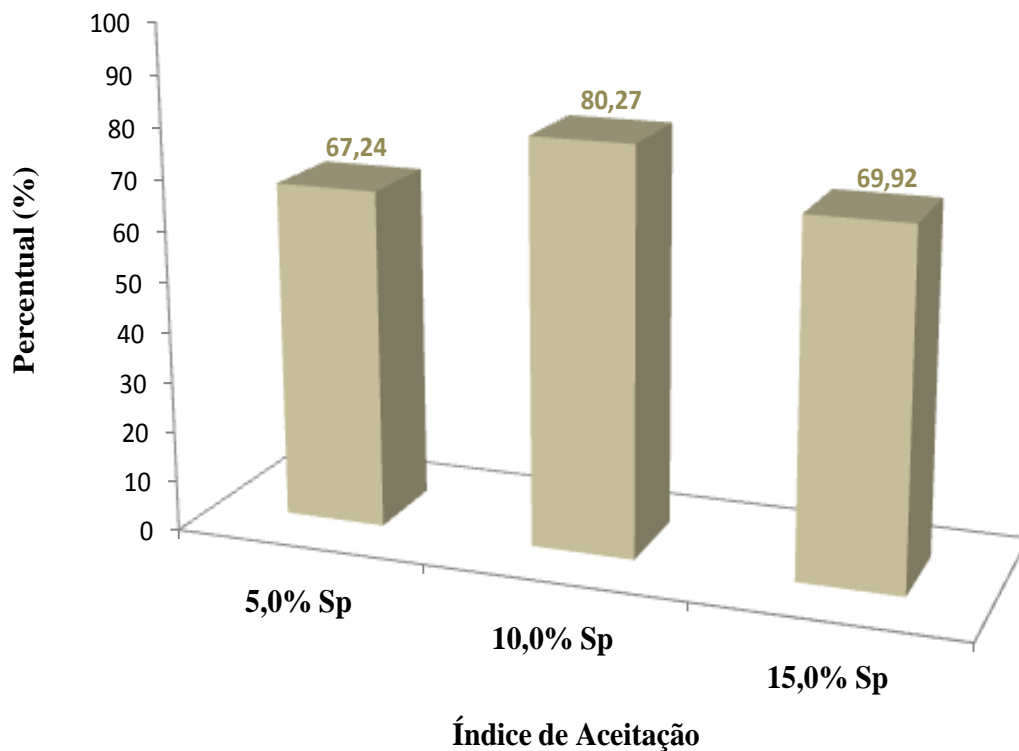
**Tabela 9** - Valores médios dos escores para os atributos avaliados no Teste de Aceitação das três formulações do macarrão enriquecido com *S. platensis*.

Atributos	Macarrão		
	5,0% Sp	10,0% Sp	15,0% Sp
<b>Aparência</b>	5,53 <sup>a</sup> ±2,04	6,55 <sup>ab</sup> ±1,74	5,65 <sup>b</sup> ±2,12
<b>Odor</b>	6,45±1,69	6,50±1,40	6,10±1,65
<b>Textura</b>	6,26 <sup>a</sup> ±1,92	7,19 <sup>a</sup> ±1,32	6,65±1,80
<b>Sabor</b>	6,41±1,64	6,96±1,60	6,28±1,61
<b>Avaliação Global</b>	6,05 <sup>a</sup> ±1,65	7,22 <sup>ab</sup> ±1,08	6,52 <sup>b</sup> ±1,48

Sp = *Spirulina platensis*. Média ± desvio padrão. Nas linhas, as médias seguidas de letras iguais, diferem significativamente.

Na avaliação global é possível considerar que, de acordo com as médias obtidas, as três formulações apresentaram um bom resultado, apresentando a formulação com 5,0 % de *S. platensis* o escore de “gostei ligeiramente”, o mesmo também foi obtido pela que continha 15,0% e a formulação com 10,0% de *S. platensis* apresentou o escore de “gostei moderadamente”. Ormenese et al. (2004) ao realizarem teste de Aceitação com macarrão contendo 4,76% de ovo integral desidratado de galinha e outro com 20 % de ovo líquido integral de galinha, obtiveram o escore correspondente ao conceito “gostei moderadamente” para ambos os produtos. Em pesquisa com biscoitos de chocolate enriquecidos com *S. platensis*, Moraes, Miranda e Costa (2006) observaram que houve diferença significativa na aparência entre as três amostras analisadas, atribuindo este fato ao percentual de *Spirulina* utilizada, não houve diferença para os atributos cor, aroma e sabor.

A figura 18 representa o índice de aceitação do macarrão enriquecido com *S. platensis* nas três formulações. O percentual de aceitação, indiferença e rejeição encontra-se na tabela 10. A formulação que apresentou o maior índice de aceitação foi a que continha 10,0% de *S. platensis*, as demais formulações não atingiram o percentual mínimo satisfatório de aceitação (70%) proposto por Teixeira; Meinert e Barbeta (1987), obtendo 67,24 e 69,92% de aceitação para o macarrão adicionado de 5,0 e 15,0% de *S. platensis*, respectivamente.



**Figura 18** - Percentual de aceitação, indiferença e rejeição das três formulações de macarrão enriquecida com *S. platensis*.  
Sp = *Spirulina platensis*

**Tabela 10** - Percentual de aceitação, indiferença e rejeição das três formulações de macarrão enriquecida com *S. platensis*.

Atributo	5,0% Sp			10,0% Sp			15,0% Sp		
	A(%)	I(%)	R(%)	A(%)	I(%)	R(%)	A(%)	I(%)	R(%)
Aparência	53,00	16,00	31,00	78,00	8,60	14,00	60,00	6,90	33,00
Odor	71,00	19,00	10,00	71,00	22,00	6,90	63,80	20,70	15,50
Textura	75,90	5,17	19,00	88,00	6,90	5,20	79,30	6,90	13,80
Sabor	78,00	8,60	14,00	89,70	0,00	10,30	74,10	8,62	17,20
Avaliação Global	67,24	17,24	15,52	93,10	5,17	1,72	68,97	18,97	12,07

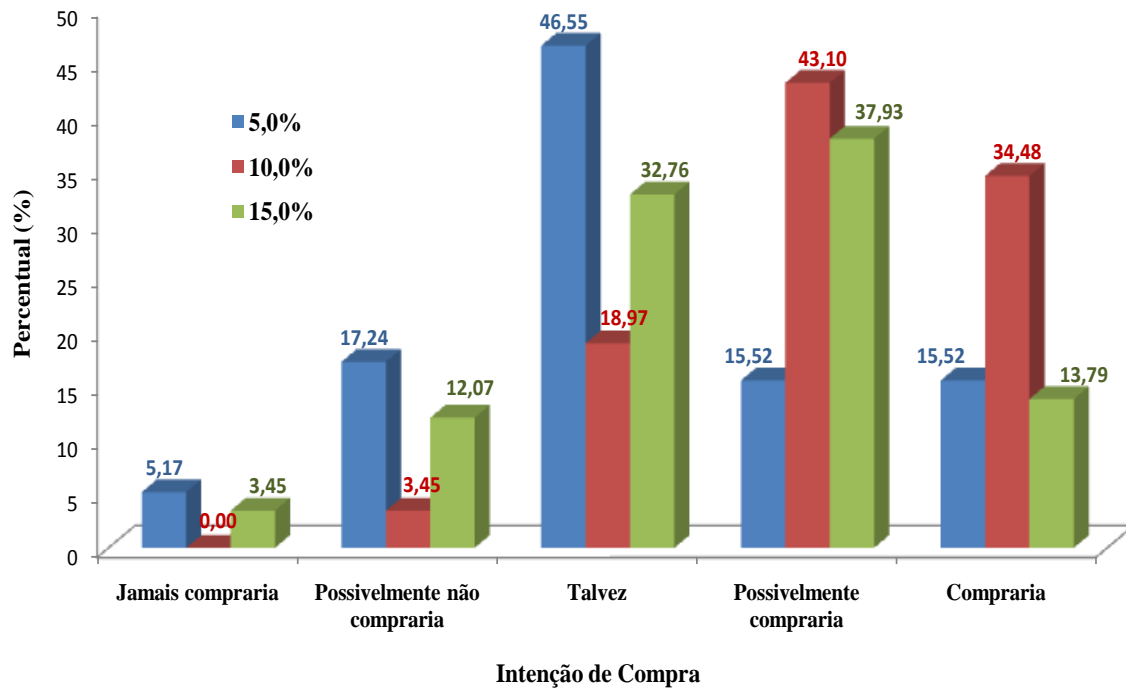
Sp = *Spirulina platensis*; A = aceitação; I = indiferença; R = rejeição.

Dentre todos os parâmetros a serem avaliados em pesquisas com a adição de microalga a alimentos, a cor é um dos principais, visto que, de acordo com a quantidade a ser adicionada, pode haver alterações na aparência do produto em virtude do seu pigmento. Nessa pesquisa, a coloração pode ter influenciado a avaliação, já que os maiores índices de rejeição das três amostras foram atribuídos a aparência, obtendo rejeição de 31,0 e 33,0% as amostras com 5,0 e 15,0% de *S. platensis* respectivamente e 14,0% a amostra com 10,0% de *S. platensis*. Outro fator que também pode ter influenciado tal rejeição foi o formato do macarrão tipo espaguete, como observado em alguns comentários descritos pelos provadores: “parece algas do mar”, “lembra minhoca”.

O maior percentual de avaliação global foi apresentado pelo macarrão enriquecido com 10,0% de *S. platensis* obtendo 93,10% de avaliações positivas. Ormenese et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes ao avaliarem o macarrão com 20% de ovo líquido integral de galinha que apresentou uma aceitação de 94% e o macarrão com 4,76% de ovo integral desidratado de galinha obteve um percentual de aceitação de 98.

Na figura 19 observamos a intenção de compra para os três macarrões enriquecidos com *S. platensis* avaliados. A formulação do macarrão que obteve o maior percentual de intenção de compra foi o que continha 10,0% de *S. platensis* e o de maior percentual de rejeição quanto à intenção de compra foi o macarrão adicionado de 5,0% de *S. platensis*. Nenhum provador atribuiu à intenção de “jamais compraria” para o macarrão com 10,0% de *S. platensis* e apenas 2 disseram que “possivelmente não comprariam” este produto.

Na pesquisa realizada por Moraes, Miranda e Costa (2006) para verificar a intenção de compra do biscoitos enriquecidos com *S. platensis*, foi observado que 58% dos julgadores comprariam os biscoitos adicionados de 1,0% de *S. platensis*, seguido do biscoito com adição de 5,0% de *S. platensis* com 50% e o biscoito com 3,0% de *S. platensis* obteve 40% de julgadores que o compraria. Aquino et al. (2008) ao avaliarem a intenção de compra de massa fresca com 9,52% de ovo desidratado de avestruz, obtiveram que 76,92% dos provadores comprariam, seguido pela massa fresca com 4,76% de ovo, com 73,63% desta mesma intenção de compra. Dentre as três formulações, o macarrão enriquecido com 10,0% *S. platensis* foi o que apresentou os melhores resultados com relação à avaliação global, índice e percentual de aceitação e intenção de compra, indicando que este produto poderá ser absorvido pelo mercado consumidor.



**Figura 19** - Intenção de compra para as três formulações de macarrão enriquecidas com *S. platensis*.

## 6 CONCLUSÕES

O cultivo de *Spirulina platensis* em fotobiorreator apresentou crescimento mais acentuado, densidade celular máxima e produtividade maior do que no tanque de cultivo.

A densidade celular máxima e a produtividade da *S. platensis* foi maior na fase estacionária do crescimento do que na fase exponencial.

Não há diferença significativa entre a composição centesimal da *S. platensis* para os teores de proteínas, lipídios, carboidratos e calorias, cultivada em fotobiorreator e em tanque.

A composição centesimal da *S. platensis* apresenta diferença significativa entre a fase exponencial de crescimento e a estacionária, ocorrendo um aumento do percentual de carboidratos, lipídeos e resíduo mineral fixo e diminuição de proteína e calorias quando a cianobactéria se encontra na fase estacionária.

Não há diferença significativa entre a composição centesimal da *S. platensis* nos teores de proteínas, lipídios, carboidratos, resíduo mineral fixo e calorias, quando a biomassa produzida é seca em liofilizador ou estufa.

Não há relatos de toxicidade crônica ou subcrônica, mutagenicidade ou teratogenicidade e nenhum efeito adverso na reprodução ou lactação, nem alergias dermatológicas em animais submetidos a dietas enriquecidas com até 30 % de *Spirulina*.

A biomassa de *S. platensis* e os macarrões massa fresca enriquecidos com *S. platensis* estavam aptos para consumo sob o aspecto microbiológico.

As três formulações do macarrão enriquecidos com *S. platensis* obtiveram boa aceitação global.

O macarrão enriquecidos com 10,0% de *S. platensis* apresentou o maior percentual de índice de aceitação e intenção de compra. Uma porção deste produto fornece 37,82% das recomendações diárias de proteínas para uma criança entre 7 e 10 anos.

## 7 SUGESTÕES

Realizar simulações de cultivos com diferentes intensidades e períodos de luminosidade, temperatura e nutrientes a fim de se obter otimização do cultivo.

Comparar o perfil lipídico da biomassa da *S. platensis* quando colhida em fase de crescimento exponencial e estacionário.

Determinar e quantificar os contaminantes inorgânicos presentes na biomassa de *S. platensis*.

Quantificar e avaliar a estabilidade dos pigmentos presentes na *S. platensis*.

Quantificar o percentual de micronutrientes vitaminas e minerais.

Realizar avaliação sensorial do macarrão com a formulação enriquecida com 10% da biomassa de *S. platensis* utilizando outros formatos (tipos) de macarrão.

Realizar avaliação sensorial do macarrão com provadores em fase escolar.

## REFERÊNCIAS

AARONSON, S.; BERNER, T.; DUBINSKY, Z. Microalgae as a source of chemicals and natural products. In: **Algae biomass**. Elsevier. North Holand: Biomedical Press, p. 576-601. 1980.

ABE, D. S.; GALVÃO, S. M. F. G. Pigment chromatic adaptation in *Cyclotella caspia* Grunow (Bacillariophyta). **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 39, n. 2, p. 123-130, 1991.

ABIMA. Associação Brasileira da Indústria de Massa Alimentícia. **RDC nº 60, de 5 setembro de 2007**. Disponível em <<http://www.abima.com.br>>. Acessado em: 14 Nov. 2008.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12806: análise sensorial dos alimentos e bebidas - terminologia. Rio de Janeiro, 1993.

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, n.2, p. 109 - 117, 2008.

AMIN, A.; HAMZA, A. A.; DAOUD, S.; HAMZA, W. *Spirulina* protects against cadmium-induced hepatotoxicity in rats. **American Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2, n. 1, p. 21- 25, 2006.

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.

AQUINO, J. S.; SILVA, J. A.; CALDAS, M. C. S.; MASCARENHAS, R. J. Avaliação centesimal e sensorial do macarrão massa fresca tipo espaguete elaborado com ovo desidratado de avestruz. **Revista Ceres**, v. 55, n. 3, p. 173-178, 2008.

ARREDONDO-VEGA, B. O. **Crecimiento autotrófico y mixotrófico de la microalga marina *Porphyridium cruentum***. 1995. 138 p. Tesis (Doctorado Microbiología) - Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 1995.



BABADZHANOV, A. S.; ABDUSAMATOVA, N.; YUSUPOVA, F. M.; FAIZULLAEVA, N.; MEZHLUMYAN, L. G.; MALIKOVA, M. K. H. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n. 3, p. 276 – 279, 2004.

BARROS, K. K. da S.; SASSI, R. Uso de microalgas na alimentação humana e animal: tecnologia de produção e valor nutricional de concentrados algáceos obtidos em cultivo em massa. In: Encontro de Iniciação Científica, 15º, 2007, João Pessoa. **Anais eletrônicos...** João Pessoa: UFPB, 2007. Disponível em : <[http://www.prpg.ufpb.br/prpg/cgpg/enic/arquivos/anais/EnicXV\\_2007/livro\\_enic\\_2007\\_vida.pdf](http://www.prpg.ufpb.br/prpg/cgpg/enic/arquivos/anais/EnicXV_2007/livro_enic_2007_vida.pdf)>. Acesso em: 01 Fev. 2008.

BARROW, C.; SHAHIDI, F. **Marine nutraceuticals and functional foods**. CRC Press: Taylor Francis, Group. 2008. 494 p.

BATISTUTI, J. P.; FREITAS, S. D. Propriedade de emulsão da farinha e do concentrado protéico de feijão-guandu (*Cajanus flavus* DC.) cultivar fava-larga. **Alimentos e Nutrição**, v. 6, n. 1, p. 55-67, 1995.

BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge University Press, Cambridge, 1994. 301 p.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, p. 312-351. 2004.

BECKER, E. W.; JAKOBER, B.; LUFT, D.; SCHMILLING, R. W. Clinical and biochemical evaluations of *Spirulina* with regard to its application in the treatment of obesity. **Nutrition Reports International**, v. 33, n. 4, p. 565-574. 1986.

BEKATOROU, A.; PSARIANOS, C.; KOUTINAS, A. A. Production of food grade yeasts. **Food Technology Biotechnology**, v. 44, n. 3, p. 407-415, 2006.

BELAY, A. Mass culture of *Spirulina* outdoors: The Earthrise Farms experience. In: VONSHAK, A. (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira)*: Physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor and Francis, London, p. 131–158. 1997.

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. 235-41, 1993.

BENEMANN, J. R.; TILLET, D. M.; WEISSMAN, J. C. Microalgae biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 47-53, 1987.

BIERHALS, V.S.; MACHADO, V.G.; ECHEVENGUÁ, W. O.; COSTA, J. A. V.; FURLONG, E. B. Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antifúngica de multimisturas enriquecidas com a microalga *Spirulina platensis*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 42-8, 2009.

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

BONFILS, C. L., LOBELL, D. Empirical evidence for a recent slowdown in irrigation-induced cooling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 34, p. 13582–13587, 2007.

BORJA, F. *Spirulina*. **Jornal Tamanduá**. Patos, jan. 2007. Disponível em: <<http://www.fazendatamandua.com.br/jt-jan07.htm>>. Acesso em: 29 Jan. 2007.

BOROWITZKA, M. A. Economic evaluation of microalgal process and products. In: COHEN, Z., ed. **Chemicals from microalgae**. London: Taylor Francis, London, p. 387-409, 1999a.

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

BRANDÃO, A. S. P.; REZENDE, G. C.; MARQUES, R. W. C. **Crescimento agrícola no período 1999-2004, explosão da área plantada com soja e meio ambiente no Brasil**. IPEA. Texto para discussão N° 1062. 2005. Disponível em: <[http://ces.fgvsp.br/arquivos/ipea%20td\\_1062.pdf](http://ces.fgvsp.br/arquivos/ipea%20td_1062.pdf)>. Acesso em: 03 Dez. 2009.

BRAND, L. E. The salinity tolerance of forty-six marine phytoplankton isolates. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v. 18, n. 5, p. 543-556, 1984.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 93 de 31 de Outubro de 2000**. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Massa alimentícia. **Diário Oficial [da] União**. Brasília, Novembro de 2000. Seção I.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] União**. Brasília, Janeiro de 2001. Seção I, nº 7-E, p.45-53.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial [da] União**. Brasília, Setembro de 2003a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003**. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. 2003b. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br/](http://www.anvisa.gov.br/)>. Acesso em: 10 Set. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. **Instituto Adolfo Lutz**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; VOLKMAN, J. K.; DUNSTAN, G. A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v. 151, n. 4, p. 315-331, 1997.

BROWN, M. R.; MULAR, M.; MILLER, I.; FARMER, C.; TRENERRY, C. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 11, n. 3, p. 247–255, 1999.

BUTLER, S. J.; VICKERY, J. A.; NORRIS, K. Farmland biodiversity and the footprint of agriculture. **Science**, v. 315, n. 5810, p. 381–384, 2007.

CAPRA, F. **As Conexões Ocultas**: ciência para uma vida sustentável. 3ª. ed. São Paulo: Ed. Pensamento-Cultrix, 2002. 296 p.

CARVAJAL, J. C. L. **Caracterização e modificações químicas da proteína da microalga *Spirulina* (*Spirulina maxima*)**. 2009. 142 p. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

CHAMORRO, G.; SALAZAR, M.; FAVILA, L.; BOURGES, H. Farmacología y toxicología del alga *Spirulina*. Resumen. **Revista de Investigación Clínica**, v. 48, n. 5, p. 389–399, 1996.

CHAUMONT, D. Biotechnology of algalbiomass production: a review of systems for outdoor mass culture. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 6, p. 593-604, 1993.

CHISTI, Y. Microalgae: our marine forests. In: RICHMOND, A. (ed.). **Handbook of Microalgal Culture**: biotechnology and applied phycology. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566 p.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 3, p. 294–306, 2007.

CIFERRI, O.; TIBONI, O. The biochemistry and industrial potencial of *Spirulina*. **Annual Review of Microbiology**, v.39, n. 1, p. 503-526, 1985.

COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 7, p. 1489-1493, 2007.

CONVERTI, C.; LODI, A.; BORGHI, A. D.; SOLISIO, C. Cultivation of *Spirulina platensis* in a combined airlift-tubular reactor system. **Biochemical Engineering Journal**, v. 32, n.1, p. 13-18, 2006.

COZZA, K.L.; COSTA, J.A.V. Lipídios em *Spirulina*. **Vetor, Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 10, n. 1, p. 69-80, 2000.

DANESI, E. D. G. **Cultivo de *Spirulina platensis* por processo descontínuo alimentado para obtenção de clorofila**. 2001. 214 p. Tese (Doutorado Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

DANESI, E.D.G.; RANGEL-YAGUI, C.O.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S. Na investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, n. 4, p. 261-269, 2002.

DARLEY, W. M. Algal Biology: a physical approach. In: WILKINSON, J. F. (ed.) **Basic Microbiology**. v. 9, Blackwell Scientific Publications, p. 30-52, 1982.

DE PAUW, N.; MORALES, J.; PERSOONE, G. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: progress and constraints. **Hydrobiologia**, v. 116-117, n. 1, p. 121-134, 1984.

DEL CAMPO, J. A.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M.; GUERRERO, M. G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, n. 6, p. 1163–1174, 2007.

DERNER, R. B. **Crescimento da microalga *Thalassiosira fluviatilis* (classe *Bacillariophyceae*) sob diferentes regimes de iluminação, na Região Sul do Brasil**. 1995. 108 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1995.

DERNER, R. Cultivo de plantas aquáticas. In: VINATEA ARANA, L. (ed.) **Fundamentos de Aqüicultura**. Florianópolis: UFSC, p. 85-10, 2004.

DERNER, R. B. **Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos poliinsaturados**. 2006. 140 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

DERNER, R. B. ; OHSE, S. ; VILLELA, M. ; CARVALHO, S. M. de ; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959 – 1967, 2006.

DONATO, N. R.; SILVA, J. A.; COSTA, M. J. C.; BARBOSA, M. Q.; BION, F. B.; CARVALHO FILHO, E. V.; VERAS, R. C.; MEDEIROS, I. A. Uso da *Spirulina platensis* na recuperação de ratos submetidos à dieta de restrição protéica. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, 2010.

DUBINSKY, Z. Productivity of algae under natural conditions: algal mass culture and water blooms in nature. In: RICHMOND, A. (ed.) **Handbook of Microalgal Mass Culture**. Boca Raton: CRC, p. 101-116. 1990.

EL-BAKY, H. H. A. Over Production of Phycocyanin Pigment in Blue Green Alga *Spirulina* sp. and It's Inhibitory Effect on Growth of Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. **Journal of Medical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 314-324, 2003.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, FINEP, 1988. 575 p.

FALQUET, J. Malnutrition: pourquoi la spiruline?. In : **La malnutrition**. Antenna technologies, 2000. Disponível em: <<http://www.antenna.ch/malnutrition/spiruline-pourquoi.html>>. Acesso em: 25 Set. 2009.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento dos Alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERRAZ, C. A. M. **Produção de *Spirulina maxima***: influência de ecofatores e uso de um subproduto da indústria alcooeira. 1986. 223 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1986.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004. 307p.

GARCIA, R. W. D. Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana. **Revista de Nutrição**, v.16, n.4, p. 483-492, 2003.

GARIB, C. C. **Alimentação Balanceada**: Uma proposta alternativa para merenda escolar. 2002. 93 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

GAVA, A. J. **Princípios e tecnologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: ed. Nobel, 1998. 284 p.

GLASS, A. D. M. Regulation of ion transport. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 34, n. 1, p. 311-326, 1983.

GOLDMAN, J. C.; DENNETT, M. R.; RILEY, C. B. Effect of nitrogen-mediated changes in alkalinity on pH control and CO<sub>2</sub> supply in intensive microalgal cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 24, n. 3, p. 619-631, 1982.

GROSS, J. Chlorophylls. In: REINHOLD, V. N. **Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids**. New York: Van Nostrand Reinhold, p.3- 74. 1991.

GUARIENTI, C.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Capacidade antioxidante da microalga *Spirulina platensis* em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* submetidas ao estressor paraquat. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, 2010.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, W. L.; CHARLEY, M. H. (eds.). **Culture of Marine Invertebrate Animals**. New York: Plenum, p. 29-60. 1975.

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. **FAO Fisheries and Aquaculture Circular**. N° 1034. Rome, FAO. 2008. 33p.

HENRIKSON, R. **Earth food Spirulina**. California: Ronore Enterprises, 1989. 180 p.

HENRIKSON, R. **Microalga Spirulina superalimento del futuro**. 1 ed. Barcelona: Ediciones Urano, 1994. 222 p.

HENRIQUES, N. M.; NAVALHO, J. C.; VARELA, J. C.; CANCELA, M. L. *Dunaliella*: uma fonte natural de beta-caroteno com potencialidades de aproveitamento biotecnológico. **Boletim de Biotecnologia**, n. 61, p. 12-18, 1998.

HOFF, F. H.; SNELL, T. W. **Plankton Culture Manual**. 5 ed. Dade City: Florida, Aqua Farms, 1999. 226 p.

HONG, C.; SHAN-SHAN, P. Bioremediation potential of *Spirulina*: toxicity and biosorption studies of lead. **Journal of Zhejiang University Science**, v. 3, n. 6B, p. 171-174, 2005.

HUANG, Z.; ZHENG, W. J.; YANG, F.; GUO, B. J. Chemical composition and selenium distribution in selenium enriched *Spirulina platensis* biomass. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 42, n. 6, p. 636-640. 2006.

JENSEN, S.; KNUTSEN, G. Influence of light and temperatura on photoinhibition of photosynthesis in *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 5, p. 495-504, 1993.

**JORNAL TAMANDUÁ**, fev. 2005. Disponível em: <[www.fazendatamandua.com.br/jt-fev05.htm](http://www.fazendatamandua.com.br/jt-fev05.htm)>. Acesso em: 29 Mar 2009.

KAC, G.; VELASQUEZ-MELÉNDEZ, G. A Transição Nutricional e a epidemiologia da Obesidade na América Latina. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, suppl. 1, p. s4-s5. 2003.

KAERPINTONG, K. **Cultivation of Haematococcus pluvialis in Airlift Bioreactor**. 2004. 156 p. Thesis (Chemical Engineering) - Faculty of Engineering, Chulalongkorn University; 2004.

KEBEDE, E.; AHLGREN, G. Optimum growth condition and light utilization efficiency of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) (*Cyanophyta*) from Lake Chitu, Ethiopia. **Hydrobiologia**, v. 332, n. 2, p. 99-109, 1996.

KHAN, S.; HANJRA, M. A. Footprints of water and energy inputs in food production – Global perspectives. **Food Policy**, v. 34, n. 2, p. 130–140, 2009.



KOCHERT, G. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric method. In: HELLEMBUST, J. A., CRAIGIE, J. S. (eds.). **Handbook of Phycological Methods**. Physiological and Biochemical Methods. Cambridge: Cambridge University, p. 95-97. 1978.

LANG, V.; BELLISLE, F.; OPPERT, J. M.; CRAPLET, C.; BORNET, F. R. J.; SLAMA, G. Satiating effect of proteins in healthy subjects: a comparison of egg albumin, casein, gelatin, soy protein, pea protein, and wheat gluten. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 6, p. 1197-1204. 1998.

LAYAM, A.; REDDY, C. L. K. Antidiabetic property of *Spirulina*. **Diabetologia Croatica**. v. 2, n. 35, p. 29-33, 2006.

LITCHFIELD, J. H. Single cell protein. **Food Technology**, v. 31, p. 175-179. 1977.

LOURENÇO, S. de O. **Variação da composição bioquímica de microalgas em cultivos, com ênfase nos efeitos da disponibilidade do elemento nitrogênio**. 1996. 284 p. Tese (Doutorado em Oceanografia) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

LOURENÇO, S. O.; MARQUEZ, U. M. L.; MANCINI-FILHO, J.; AIDAR, E.; BARBARINO, E. Distribution of intracellular nitrogen in marine microalgae: basis for the calculation of specific nitrogen-to-protein conversion factors. **Journal of Phycology**, v. 34, n. 5, p. 798 – 811, 1998.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1 ed. São Paulo: Rima, 2006. 606 p.

LOURENÇO, S. O.; MARQUES JUNIOR, A. N. Produção primária marinha. In: PEREIRA, R. G.; SOARES-GOMES, A. (orgs.) **Biologia Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, p. 195-227. 2002.

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

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 do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press, 1998.

MILLER, A. G.; COLMAN, B. Evidence for HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport by the blue-green alga (Cyanobacterium) *Coccochloris peniocyctis*. **Plant Physiology**, v. 65, n. 2 p. 397- 402, 1980.

MILINSKI, M.; SEMMANN, D.; KRAMBECK, H. J.; MAROTZKE, J. Stabilizing the Earth's climate is not a losing game: supporting evidence from public goods experiments. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 11, p. 3994–3998, 2006.

MOHEIMANI, N. R. **The culture of Coccolithophorid Algae for carbon dioxide bioremediation**. 2005. 247 p. Theises (Ph. D.), Murdoch University, Australia, 2005.

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

MORIST, A.; MONTESINOS, J. L.; CUSIDÓ, J. A.; GÒDIA, F. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 5, p. 535-547, 2001.

MOLNAR, P.; TOTH, M.; BOROSS, M. F. Sensory evaluation of select fruit juices and nectars by a panel group and by consumers. **Food Control**, v. 3, n. 4, p. 213- 217, 1993.

MULITERNO, A.; MOSELE, P. C.; COSTA, J. A. V.; HEMKEMEIER, M.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M. Cultivo mixotrófico da microalga *Spirulina platensis* em batelada alimentada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 6, p. 1132 - 1138, 2005.

MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. p. 240.

NAGAOKA, S.; SHIMIZU, K.; KANEKO, H.; SHIBAYAMA, F.; MORIKAWA, K.; KANAMARU, Y.; OTSUKA, A.; HIRAHASHI, T.; KATO, T. A novel protein C-phycocyanin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *Spirulina platensis* concentrate in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 135, n. 1, p. 2425–2430, 2005.

NAVALHO, J. **Biotechnologia de Dunaliella salina para a produção de beta-caroteno**. 1998. 112 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade do Algarve, Algarve, 1998.

NICOLETTI, A. M. **Enriquecimento nutricional de macarrão com uso de subprodutos agroindustriais de baixo custo**. 2007. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2007.

NORTON, T. A.; MELKONIAN, M.; ANDERSEN, R. A. Algal biodiversity. **Phycologia**, v. 35, n. 4, p. 308–326, 1996.

OLGUÍN, E. J.; GALICIA, S.; ANGULO-GUERRERO, O.; HERNÁNDEZ, E. The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) grown on digested pig waste. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 1, p. 19-24, 2001.

OLIVERA, A. **Crescimento das diatomáceas bacillariophyceae *Chaetoceros* sp., *Skeletonema costatum* e *Thalassiosira fluviatilis* em diferentes meios de cultivo e em condições controladas de temperatura e salinidade**. 1993. 204 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1993.

OLIVEIRA, M. A. C. L.; MONTEIRO, M. P. C.; ROBBS, P. G.; LEITE, S. G. F. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. **Aquaculture International**, v. 7, n. 4, p. 261-275, 1999.

OLIVEIRA, E. G. de O. **Secagem de *Spirulina platensis*: análise das técnicas de leite de jorro e camada delgada**. 2006. 99 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2006.

OLIVEIRA, H. P. da S. **O consumo de alimentos funcionais: atitudes e comportamentos**. 2008. 123 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Comunicação), Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2008.

ONCEL, S.; SUKAN, F. V. Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*). **Biorsource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4755-4760, 2007.

ORMENESE, R. C. S. C.; MISUMI, L.; ZAMBRANO, F.; FARIA, E. V. Ovo líquido pasteurizado e ovo desidratado nas características da massa alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 255-260, 2004.

PAIVA, A. C.; ALFENAS, R. C. G.; BRESSAN, J. Efeitos da alta ingestão diária de proteínas no metabolismo. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 22, n. 1, p. 83-88. 2007.

PANGBORN, R. M. Sensory Evaluation of Foods: A Look Backward and Forward. **Food Technology**, v. 18, n. 9, p. 1309-1313. 1964.

PARIS, W. **Produção animal em pastagens de coastcross-1 consorciada com *Arachis pinto* com e sem adubação nitrogenada**. 2006. 230 p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2006.

**PARRY NUTRACEUTICALS**, 2006. Disponível em: <<http://www.parrynutraceuticals.com/products/organic-spirulina.aspx>>. Acesso em: 27 Mar 2009.

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

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; CHUU, W. L.; HASHIM, M. *Spirulina* culture in digested starch factory waste water. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 5, p. 395-400, 2000.

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

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p.

RICHMOND, A. Phototropic microalgae. In: REHM, H. J.; REED, G. (eds.) **Biotechnology**. v.3, Weinheim: Verlag Chemie, 1983. 239 p.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal mass culture**. Florida: CRC Press; 1990. 528 p.

RICHMOND, A. E; SOEDER, C. J. Microalgae. **Critical Reviews in Biotechnology**. v. 4, n. 4, p. 349–438. 1986.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566 p.

RIVKIN, R. B. Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton. 1. Photosynthesis, chemical composition and growth. **Marine Ecology Progress Series**, v. 55, n. 2-3, p. 291-304, 1989

ROBLEDO, D. **Las algas y la biodiversidad**. Biodiversitas 13: 2-4. 1997.

RODRIGUES, R. L. V. **Análise dos fatores determinantes do desflorestamento na Amazônia Legal**. 2004. 249 p. Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

ROSEGRANT, M. W.; CAI, X.; CLINE, S. A. Global water outlook to 2025: averting an impending crisis. In: **International Food Policy Research Institute**. Washington, D.C., 2002. 26 p.

ROUND, F. E. **Biologia das Algas**. 2 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1983. 263 p.

RUSSEL, J. B. **Química Geral**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1982. 897p.

SALAZAR, M.; MARTÍNEZ, E.; MADRIGAL, E.; RUIZ, L. E.; CHAMORRO, G. A. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina máxima*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, n. 3, p. 235-241, 1998.

SAMUELSSON, G.; LÖNNEBORG, A.; ROSENQVIST, E.; GUSTAFSSON, P.; ÖQUIST, G. Photoinhibition and reactivation of photosynthesis in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. **Plant Physiology**, v. 79, n. 1, p. 992-995, 1985.

SANTUCCI, M. C. C.; ALVIM, I. D.; SCHMINT, F.; FARIA, E. V.; SGARBIERI, V. C. Enriquecimento de macarrão tipo tubo (massa curta) com derivados de levedura (*Saccharomyces* sp.): impacto nutricional e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 290-295, 2003.

SASSON, A. **MicroBiotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries**. BIOTEC Publication 1/2542. Place de Fontenoy, Paris, France. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), p. 11-31, 1997.

SASSANO, C. E. N. **Influência da uréia no crescimento e no teor do ácido graxo  $\gamma$ -linolênico da biomassa de *Spirulina platensis***. 1999. 144 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SCHLICH, P. **Preference Mapping**: relating consumers preferences to sensory or instrumental measurements. Dijon-France: INRA, p. 14-17, 1995.

SHEEHAN, J.; DUNAHAY, T.; BENEMANN, J.; ROESSLER, P. **A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program: biodiesel from algae**. Department of Energy's, Office of Fuels development. Colorado, 1998. 328 p.

SHELEF, G.; SOEDER, C. J. **Algae Biomass: production and use**. Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical, 1980. 852 p.

SHIMAMATSU, H. Mass production of *Spirulina*, an edible microalga. **Hydrobiologia**, v. 512, n. 1, p. 39-44, 2004.

SGARBIERI, V. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela. 1996. 517 p.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 232 p.

SILVA, L. A. **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis***. 2008. 102 p. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry. The principles and practice of statistical in biological research**. Freeman: WH 2ed, New York, 1983. 859 p.

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.

STONE, H.; SIDEL, J. The role of sensory evaluation in the industry. **Food Quality and Preference**, v.4, n. 2, p. 65-73,1993.

SUNDA, W. G.; PRICE, N. M.; MOREL, F. M. M. Trace metal ion buffers and their use in culture studies. In: (ed.) ANDERSON, R., **Algal Culturing Techniques**, Elsevier Academic Press, p. 35-63. 2005.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: Editora da UFRS, 1987. 180p.

TILMAN, D. Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n.11, p. 5995–6000, 1999.

TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B.; D'ANTONIO, C.; DOBSON, A.; HOWARTH, R.; SCHINDLER, D.; SCHLESINGER, W. H.; SIMBERLOFF, D.; SWACKHAMER, D. Forecasting agriculturally driven global environmental change. **Science**, v. 292, n. 5516, p. 281–284, 2001.

TREDICI, M.R. Mass production of microalgae: photobioreactors. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, p.178-214. 2004.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4021–4028, 2008.

UNDP. Beyond Scarcity: Power, poverty and the global water crisis. In: **Human Development Report 2006**. United Nations Development Programme, New York. 2006. Disponível em: <<http://www.undp.org/publications/annualreport2006/>>. Acesso em: 15 Jan. 2010.

VELASQUEZ-MELENDZ, G.; MARTINS, I. S.; CERVATO, A. M.; FORNES, N. S.; MARUCCI, M. F. N. Consumo alimentar de vitaminas e minerais em adultos residentes em área metropolitana de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, 1997.

VOLKMANN, H. **Utilização de rejeito de dessalinizador como meio de cultura alternativo para cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis***. 2006. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

VON DER WEID, D.; DILLON, J. C.; FALQUET, J. Malnutrition: a silent massacre. In: **Geneve**. Antenna Technology; 2000. 13p.

VONSHAK, A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: RICHMOND, A. (ed.). **Handbook of Microalgal Mass Culture**. Boca Raton: CRC, p. 117-145. 1990.

VONSHAK, A. ***Spirulina platensis* (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor Francis, 1997. 233 p.

VONSHAK, A.; TOMASELLI, L. *Arthrospira (Spirulina)*: Systematics and Ecophysiology. In: **The Ecology of Cyanobacteria**. **Kluwer Academic Publishers**. Dordrecht, Holanda. p. 505-522, 2000.

**WORLD**, 2008. Disponível em: <<http://www.corfo.cl/biotechnology/index.html>>. Acesso em: 21 Dez 2009.

YANG, H. N.; LEE, E. H.; KIM, H. M. *Spirulina platensis* inhibits anaphylactic reaction. **Life Sciences**, v. 61, n. 13, p. 1237-1244, 1997.

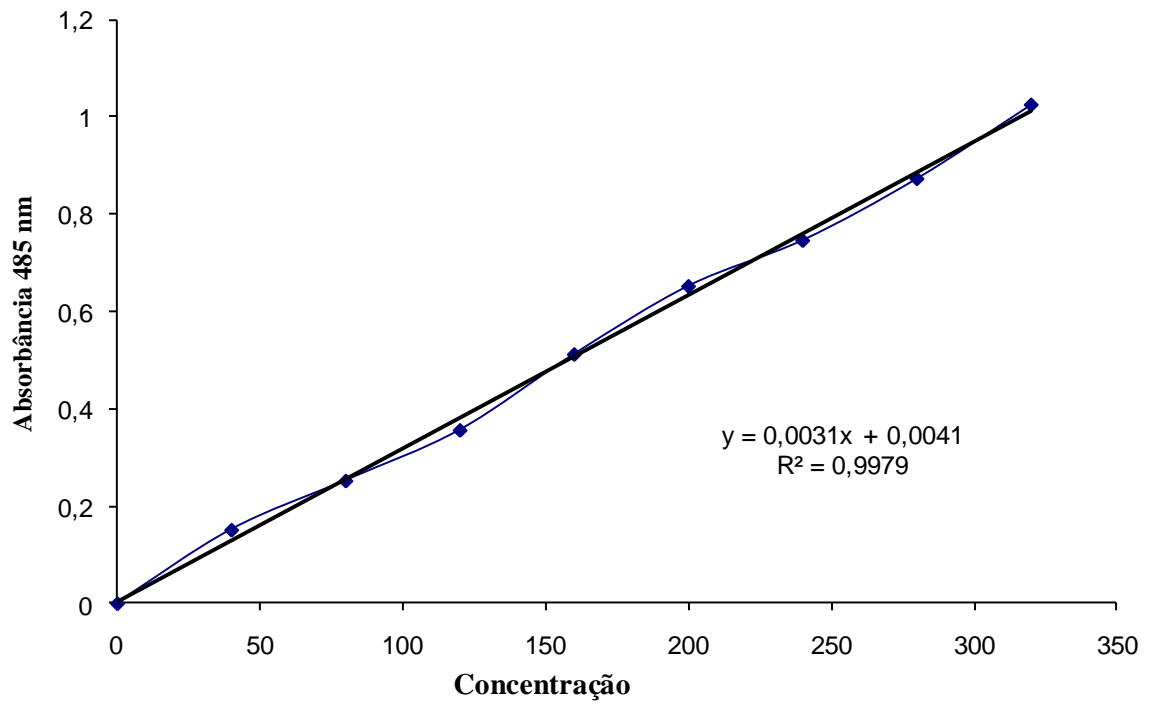
ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*** (Setch et



Gardner) Geitler. 1966. Theises (Ph. D.) - Faculty of Science, Université des Paris, Paris,1966.

ZECHENDORF, B. Sustainable development: how can biotechnology contribute?. **Trends in Biotechnology**, v. 17, n. 6, p. 2219-225, 1999.

**APÊNDICE**

**Apêndice A** - Curva padrão para carboidratos totais.

**Apêndice B** - Ficha de avaliação do teste de Aceitação e Intenção de Compra.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – UFPB**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA - CT**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PPGCTA**

**Teste de Aceitação e Intenção de Compra**

Nome \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_ Ocupação \_\_\_\_\_

Qual sua frequência de consumo de macarrão no mês: ( ) 1 – 2 x ( ) 3 – 4 x ( ) 5 –8 x ( ) Mais de 8

Você esta recebendo 3 amostras codificadas de macarrão enriquecido com *Spirulina*. Prove-a e indique o quanto você gostou ou desgostou de cada um dos atributos sensoriais do produto, dando nota de acordo com a escala abaixo. Atente para a sequência dos atributos. Analise primeiro a aparência e odor seguidos da textura e sabor.

- 9) Gostei muitíssimo
- 8) Gostei muito
- 7) Gostei moderadamente
- 6) Gostei ligeiramente
- 5) Nem gostei/ Nem desgostei
- 4) Desgostei ligeiramente
- 3) Desgostei moderadamente
- 2) Desgostei muito
- 1) Desgostei muitíssimo

Atributos			
<b>Aparência</b>			
<b>Odor</b>			
<b>Textura</b>			
<b>Sabor</b>			
<b>Avaliação Global</b>			

Indique sua atitude ao encontrar este macarrão no mercado

- 5) Compraria
- 4) Possivelmente compraria
- 3) Talvez comprasse / talvez não comprasse
- 2) Possivelmente não compraria
- 1) Não compraria

Amostra	Atitude

**Comente o que mais gostou e o que menos gostou do produto, mencionando a amostra.**

*Obrigada!*

**Apêndice C** - Distribuição de frequência (%) dos escores atribuídos pelos provadores para as formulações dos macarrões massa fresca enriquecido com 5,0, 10,0 e 15,0% de *S. platensis*.

<b>Escala Hedônica</b>	<b>Aparência</b>	<b>Odor</b>	<b>Textura</b>	<b>Sabor</b>	<b>Avaliação global</b>
<b>Massa fresca com 5,0% de <i>S. platensis</i></b>					
Gostei muitíssimo	3,40	7,00	5,17	3,40	1,72
Gostei muito	16,00	24,00	24,10	28,00	22,41
Gostei moderadamente	21,00	24,00	25,90	22,00	17,24
Gostei ligeiramente	14,00	16,00	20,70	24,00	29,31
Indiferente	16,00	19,00	5,17	8,60	13,79
Desgostei ligeiramente	12,00	7,00	6,90	5,20	6,90
Desgostei moderadamente	6,90	0,00	3,45	6,90	5,17
Desgostei muito	12,00	2,00	8,62	1,70	3,45
Desgostei muitíssimo	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00
<b>Massa fresca com 10,0% de <i>S. platensis</i></b>					
Gostei muitíssimo	8,60	5,20	8,60	13,80	6,90
Gostei muito	21,00	21,00	43,00	29,30	39,65
Gostei moderadamente	36,00	31,00	26,00	24,10	31,03
Gostei ligeiramente	12,00	14,00	10,00	22,40	15,52
Indiferente	8,60	22,00	6,90	0,00	5,17
Desgostei ligeiramente	5,20	5,20	3,40	5,17	1,72
Desgostei moderadamente	5,20	1,70	1,70	3,45	0,00
Desgostei muito	3,40	0,00	0,00	1,72	0,00
Desgostei muitíssimo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Massa fresca com 15,0% de <i>S. platensis</i></b>					
Gostei muitíssimo	6,90	8,62	8,62	5,17	0,00
Gostei muito	6,90	6,90	32,80	13,80	17,24
Gostei moderadamente	36,00	31,00	20,70	36,20	41,38
Gostei ligeiramente	10,00	17,20	17,20	19,00	5,17
Indiferente	6,90	20,70	6,90	8,62	22,41
Desgostei ligeiramente	12,00	10,30	6,90	10,30	10,34
Desgostei moderadamente	10,00	1,72	1,72	5,17	3,45
Desgostei muito	8,60	3,45	5,17	1,72	0,00
Desgostei muitíssimo	1,70	0,00	0,00	0,00	0,00

**ANEXO**

**Anexo 1****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre a produção de biomassa de *Spirulina platensis* para alimentação humana e está sendo desenvolvida por Katharina Kardinele da Silva Barros, aluna do Curso de Pós-Graduação e Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Professor Dr. João Andrade Silva.

O objetivo do estudo é verificar a viabilidade de utilização da biomassa da microalga *Spirulina platensis* e a sua aceitação em um produto alimentício destinado ao consumo humano, com estabilidade microbiológica e características nutricionais e organolépticas satisfatórias.

A finalidade deste trabalho é contribuir com a elaboração de um produto alimentício, do tipo macarrão, enriquecido com espirulina, já que esta microalga apresenta um alto valor biológico devido ao seu percentual de proteínas, presença de ácidos graxos poliinsaturados, pigmentos, minerais e vitaminas, tornando-se mais uma alternativa alimentar, promovendo benefícios à saúde do consumidor.

Solicitamos a sua colaboração para participar da análise sensorial do macarrão enriquecido com espirulina, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde.

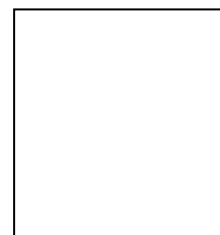
Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante da Pesquisa ou Responsável Legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura da Testemunha



Espaço para impressão dactiloscópica

Contato com a Pesquisadora Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para:

Pesquisadora: Katharina Kardinele da S. Barros

Endereço (Setor de Trabalho): Coordenação de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos

Telefone: 32167269

Atenciosamente,

---

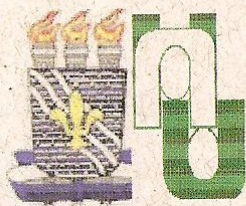
Assinatura do Pesquisador Responsável

---

Assinatura do Pesquisador Participante



## Anexo 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY - HULW  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS - CEP

## CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada dia 26/01/10, após análise do parecer do relator, resolveu considerar **APROVADO** o projeto de pesquisa intitulado **PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE Spirulina platensis para alimentação humana.** Protocolo CEP/HULW nº. 024/10 dos pesquisadores KATHARINA KARDINELE DA SILVA BARROS e Prof. Dr. JOÃO ANDRADE SILVA (orientador).

Ao final da pesquisa solicitamos enviar ao CEP/HULW uma cópia em CD.

João Pessoa, 01 de Fevereiro de 2010.

Iaponira Cortez Costa de Oliveira  
Coordenadora do Comitê de Ética  
em Pesquisa - CEP/HULW

**Iaponira Cortez Costa de Oliveira**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária. Bairro:  
Castelo Branco - João Pessoa - PB. CEP: 58051-900 CNPJ: 24098477/007-05  
Fone: (83) 32167302 — Fone/fax: (083)32167522 E-mail - cepulw@hotmail.com

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)