

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Andressa Bacalau Diprat

**Aplicação da microalga *Chlorella sorokiniana* para
enriquecimento nutricional de pão sem glúten**

Porto Alegre - RS

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Andressa Bacalau Diprat

**Aplicação da microalga *Chlorella sorokiniana* para
enriquecimento nutricional de pão sem glúten**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como um dos requisitos para obtenção do grau em Mestre em Ciência e tecnologia de Alimentos.

Orientador^a: Prof^a. Dr^a. Rosane Rech

Co-orientador: Prof. Dr. Eliseu Rodrigues

Porto Alegre - RS

2019

Andressa Bacalau Diprat

Engenheira Química

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de
MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em:

Pela Banca Examinadora:

Homologada em:

Por:

ROSANE RECH

Orientador – PPGCTA/UFRGS

ELISEU RODRIGUES

Co-orientador – PPGCTA/UFRGS

ELISEU RODRIGUES

Coordenador – Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos – PPGCTA/UFRGS

ALESSANDRO DE OLIVEIRA RIOS

KÁTIA REZZADORI

DANIELE MISTURINI ROSSI

SIMONE HICKMANN FLÔRES

Diretora – Instituto de Ciência e
Tecnologia de Alimentos – ICTA/UFRGS

CIP - Catalogação na Publicação

Bacalau Diprat, Andressa
Aplicação da microalga *Chlorella sorokiniana* para
enriquecimento nutricional de pão sem glúten /
Andressa Bacalau Diprat. -- 2019.
68 f.
Orientadora: Rosane Rech.

Coorientadora: Eliseu Rodrigues.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia
de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. carotenoides. 2. ácidos graxos. 3. luteína. 4.
betacaroteno. 5. análise sensorial. I. Rech, Rosane,
orient. II. Rodrigues, Eliseu, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois todas as vezes que achei que não daria mais certo, Ele me mostrou um novo caminho, e com Ele eu sempre vou mais longe.

A minha mãe Sandra pelo amor incondicional, apoio e incentivo, mesmo quando tudo o que eu falava parecia grego. Mãe, tu és a minha base, e nunca me esqueci dos teus conselhos.

A minha filha Ariel, por ser o melhor bebê do mundo, minha razão de viver e amor maior, desde o primeiro momento só me traz felicidade.

Meu mais profundo agradecimento ao meu marido Plinho, por estar sempre ao meu lado, me dando força para chegar ao final desta gratificante etapa. Obrigada meu amor, por toda compreensão, paciência, abdicção de minha presença e força nessa caminhada, sem você eu não teria conseguido.

Aos meus familiares, Paulo, Ana Paula, David, Cassiano, Davi, Miriam, Eliane, Arthur, Cátia, Julia, Moises, Beatriz, Osmar, Hella, Grace, João Pedro, Helena, Matheus e todos aqueles que eu não pude acompanhar nos últimos anos.

À Profa. Dra. Rosane Rech, por me ensinar a amar microalgas e me estimular a fazer mestrado, e por confiar que este mestrado um dia terminaria.

Ao Prof. Dr. Eliseu Rodrigues, por todo o conhecimento sobre carotenoides e cromatografia, pelas correções e dicas, acompanhamentos dos resultados, sempre permitindo a todos aprendizado e crescimento profissional.

À Profa. Dra. Roberta Thys, que me ajudou a dar um novo rumo a este trabalho com o desenvolvimento do pão sem glúten, estando sempre disposta a me ajudar com carinho.

Ao antigo diretor do ICTA Prof. Dr. Vitor Manfroi e à nova diretora do ICTA Profa. Dra. Simone Hickmann Flôres, pelo incentivo e ajuda prestada na realização do Mestrado e pelas festas animadas.

À toda equipe do Núcleo Técnico Científico e “anexos”, pelos cafés/mates e conversas, pelas festas, e principalmente pela amizade: Ana Raisal, Cherlen, Diogo, Edgar, Luana, Michele, Raul, Silvana, Tiago e Vera. Vocês são minha família no trabalho.

Aos bolsistas que se tornaram amigos Carolina, Greco e Marianne pelo auxílio ao longo da pesquisa.

Aos meus queridos e grandes amigos Carlos, Kamila, Vanessa Amorim e Vanessa Rubio que me deram força em muitos momentos.

Ao grupo de Bioengenharia, Carla, Carol, Lenon e Tania pela amizade e colaboração durante o trabalho.

Ao Adriano da empresa Paversul, que gentil e prontamente forneceu a biomassa de microalga *Chlorella sorokiniana* para o desenvolvimento deste trabalho.

À UFRGS, onde eu estudo e trabalho com muito orgulho, em especial ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade da minha formação profissional.

À banca examinadora pela disponibilidade, correções e contribuições, meus sinceros agradecimentos.

MUITO OBRIGADA!

Sumário

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	15
2.1 Objetivos específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Microalgas.....	16
3.1.1 Consumo de microalgas	17
3.1.2 Carotenoides de microalgas	19
3.1.3 Ácidos graxos poli-insaturados de microalgas	22
3.1.4 Proteínas de microalgas	24
3.2 Doença Celíaca	26
3.2.1 Glúten e sua importância nas propriedades tecnológicas em panificação	27
3.2.2 Alimentos sem glúten.....	28
3.3 Pão sem glúten	29
3.3.1 Farinha de arroz	30
3.3.2 Água	30
3.3.3 Açúcar.....	31
3.3.4 Sal.....	31
3.3.5 Fermento biológico	31
3.3.6 Gordura	31
3.3.7 Emulsificante	32
3.3.8 Melhoradores de textura	32
3.3.9 Outros ingredientes.....	33
3.3.10 Etapas do processo de panificação	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 Ingredientes e elaboração do pão sem glúten.....	36
4.2 Produtos químicos e padrões para análises	38

4.3	Amostragem	38
4.4	Composição centesimal	39
4.5	Análise de carotenoides	39
4.6	Análise dos ácidos graxos	40
4.7	Análises físicas.....	41
4.8	Avaliação sensorial	42
4.9	Análises estatísticas	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	Composição centesimal	44
5.2	Identificação dos carotenoides	45
5.3	Determinação do perfil de ácidos graxos.....	49
5.4	Propriedades tecnológicas dos pães sem glúten.....	53
5.5	Cor do miolo dos pães.....	54
5.6	Avaliação sensorial	56
6	CONCLUSÃO.....	58
7	PERSPECTIVAS.....	59
8	REFERÊNCIAS	60

RESUMO

A doença celíaca é uma enfermidade causada pela intolerância ao glúten, substância proteica presente em diversos cereais, como trigo, centeio, cevada e outros. O tratamento desta doença é feito através da total restrição ao glúten na dieta. Alimentos produzidos sem a presença de glúten, na maioria das vezes são com baixos teores de proteína e nutrientes. Este estudo pesquisou a aplicação da microalga *Chlorella sorokiniana* para aumentar a qualidade nutritiva de pão sem glúten, visto que essa microalga possui alto teor proteico, vitaminas e compostos lipossolúveis. Os pães desenvolvidos para celíacos não possuem farinha de trigo comum e são na maioria das vezes, elaborados à base de amidos e farinhas refinadas, o que resulta em um produto com menores propriedades nutricionais e tecnológicas. Para melhorar tais características dos pães sem glúten, vários aditivos têm sido usados, dentre eles enzimas, gomas, hidrocoloides, amidos modificados e novas fontes proteicas. Neste sentido a *C. sorokiniana* pode representar uma fonte proteica alternativa. Essa microalga possui um perfil bioquímico rico em proteínas de alta qualidade, ácidos graxos ômega 3 e carotenoides. Neste trabalho foram testadas a adição de 2,5 g (2,5%) e 5,0 g (5,0%) de biomassa de *C. sorokiniana* em pó para cada 100 g de farinha de arroz e amido de milho. Os resultados mostram que a adição de 2,5% de *C. sorokiniana* aumentou o teor proteico de 6,7% para 7,6%, o teor de ômega 3 de 5% para 5,7% (% em ácidos graxos totais) e o conteúdo de luteína de 1,6 µg/g para 25 µg/g, em relação ao pão controle. Por sua vez, a formulação contendo 5% de microalga houve um aumento para 8,5% de proteínas, 6,1% de ômega 3 (% em ácidos graxos totais), e 57,5 µg/g de luteína. Através da análise das microalgas e dos pães desenvolvidos foi possível identificar e quantificar os principais carotenoides, com destaque para a luteína e o β-caroteno, além dos principais ácidos graxos, em especial o ácido α-linolênico. A análise sensorial revelou que o pão formulado com 2,5% de *C. sorokiniana* obteve índice de aceitação maior que 70%, enquanto o pão com adição de biomassa de 5% obteve aceitação de 67%. A adição da microalga não influenciou nos parâmetros de textura e volume específico dos pães. As análises de cor mostraram uma diferença significativa entre as formulações. Os resultados deste estudo indicam que a *C. Sorokiniana* apresenta potencial para melhorar os níveis de proteínas, ácidos graxos e carotenoides em pão sem glúten.

Palavras-chave: Carotenoides; ácidos graxos; luteína; β-caroteno; análise sensorial; ácido α-linolênico

ABSTRACT

Celiac disease is a disease caused by intolerance to gluten, a protein substance present in various cereals such as wheat, rye, barley and others. The treatment of this disease is done through total restriction to gluten in the diet. Foods produced without the presence of gluten, most often are with low levels of protein and nutrients. This study investigated the application of the *Chlorella sorokiniana* microalgae to increase the nutritional quality of gluten-free bread, since this microalgae has high protein content, vitamins and liposoluble compounds. Breads developed for coeliacs do not have common wheat flour and are most often made from refined starches and flours, which results in a product with lower nutritional and technological properties. To improve such characteristics of gluten-free breads, various additives have been used, among them enzymes, gums, hydrocolloids, modified starches and new protein sources. In this sense *C. sorokiniana* may represent an alternative protein source. This microalgae has a biochemical profile rich in high quality proteins, omega 3 fatty acids and carotenoids. In this work the addition of 2.5 g (2.5%) and 5.0 g (5.0%) of biomass of *C. sorokiniana* powder for each 100 g of rice flour and corn starch were tested. The results showed that the addition of 2.5% *C. sorokiniana* increased the protein content from 6.7% to 7.6%, omega 3 content from 5% to 5.7% (% in total fatty acids) and lutein content from 1.6 µg / g to 25 µg / g, relative to control bread. In turn, the formulation containing 5% microalga increased to 8.5% of proteins, 6.1% of omega 3 (% in total fatty acids), and 57.5 µg / g of lutein. Through the analysis of microalgae and developed loaves it was possible to identify and quantify the main carotenoids, with emphasis on lutein and β-carotene, in addition to the main fatty acids, especially α-linolenic acid. Sensory analysis showed that bread formulated with 2.5% *C. sorokiniana* had an acceptance rate of more than 70%, while bread with 5% biomass added had 67% acceptance. The addition of the microalga did not influence the parameters of texture and specific volume of the loaves. Color analyzes showed a significant difference between the formulations. The results of this study indicate that *C. sorokiniana* has the potential to improve levels of protein, fatty acids and carotenoids in gluten-free bread.

Keywords: Carotenoids; fatty acids; lutein; β-carotene; sensory analysis; α-linolenic acid

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Chlorella sorokiniana</i> em pó e comprimido.....	18
Figura 2 - Estrutura química de carotenos e xantofilas	19
Figura 3 - Estrutura química do ácido linoleico e alfa-linolênico.....	22
Figura 4 - Estruturas químicas dos aminoácidos essenciais	25
Figura 5 - Intestino saudável e doença celíaca	27
Figura 6 - Fluxograma da produção do pão sem glúten	35
Figura 7 - Modelo de ficha sensorial	43
Figura 8 - Efeito da temperatura e do tempo de forneamento sobre os carotenoides dos pães sem glúten enriquecidos (180°C/15min e 220°C/12 min).....	46
Figura 9 - Imagens de fatias de pão sem glúten cozidas com diferentes formulações. A: Controle (20% ervilha); B: 2.5% <i>C. sorokiniana</i> (17,5% ervilha); C: 5% <i>C. sorokiniana</i> (15% ervilha);.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alguns compostos bioativos extraídos de microalgas.....	18
Tabela 2 - Carotenoides de 13 espécies de microalga.....	21
Tabela 3 - Teor proteico de algumas microalgas.....	26
Tabela 4 - Formulação dos pães sem glúten controle e enriquecidos com <i>C. sorokiniana</i> para 100 g de farinha de arroz e amido de milho	37
Tabela 5 - Composição centesimal dos pães sem glúten e da biomassa de <i>C. sorokiniana</i>	44
Tabela 6 - Carotenoides da biomassa de <i>C. sorokiniana</i> e dos pães sem glúten controle e enriquecido	48
Tabela 7 - Ácidos Graxos da biomassa de <i>C. sorokiniana</i> e dos pães sem glúten controle e enriquecido	51
Tabela 8 - Propriedades físicas dos pães sem glúten controle e enriquecido	54
Tabela 9 - Parâmetros de cor para os pães sem glúten controle e enriquecido	55
Tabela 10 - Parâmetros de avaliação sensorial para os pães sem glúten controle e enriquecido	56

1 INTRODUÇÃO

O pão é um dos gêneros alimentícios mais importantes do mundo moderno e está entre os alimentos indispensáveis nas refeições humanas há mais de quatorze mil anos (ARRANZ-OTAEGUI et al., 2018). Ele fornece nutrientes essenciais para uma boa saúde, digestão e metabolismo (CSAPÓNÉ RISKÓ; PÉNTEK; WIWCZAROSKI, 2018). Devido ao seu amplo consumo, o pão mostra-se como alternativa interessante para a utilização de novos ingredientes visando aumentar sua composição nutricional, principalmente com o enriquecimento de proteínas e carotenoides. Isso é particularmente relevante para alimentos direcionados para o público celíaco, os quais são isentos de glúten, e resultam, normalmente, em um perfil nutricional reduzido (ALLEN; ORFILA, 2018). Contudo, a quantidade e a qualidade desses ingredientes incorporados aos alimentos devem ser avaliadas.

As microalgas são fontes naturais de nutrientes e compostos bioativos, tais como vitaminas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados, minerais, carotenoides, enzimas e fibras. Devido ao seu potencial, as microalgas tornaram-se uma das fontes mais promissoras e inovadoras para novos alimentos e produtos funcionais (MATOS et al., 2017). Além disso, microalgas podem ser usados como ingredientes funcionais para aumentar o valor nutricional dos alimentos e afetar favoravelmente a saúde humana, melhorando o bem-estar e a qualidade de vida, mas também reduzindo os riscos de doenças e enfermidades (BUONO et al., 2014). Entre os nutrientes encontrados nas microalgas, a quantidade de proteína e carotenoides podem ser destaque dependendo do tipo de microalga (SAFAFAR et al., 2016).

A inserção de microalgas na formulação de pães pode afetar as características sensoriais, adicionando coloração, aroma e sabor. A microalga *Chlorella sorokiniana* possui em sua biomassa uma grande quantidade de luteína e proteína (CORDERO et al., 2011), sendo que a luteína está associada com uma incidência reduzida de degeneração macular relacionada à idade e cataratas, conforme determinado por estudos epidemiológicos. O mecanismo pelo qual este carotenoide reduz a degeneração macular e formação de catarata está relacionado com o aumento da pigmentação macular dos tecidos oculares, o que ajuda a filtrar a luz azul prejudicial, evitando assim o dano ao tecido (CHEN et al., 2018)(BOON et al., 2010).

Os tipos e concentrações de nutrientes presentes no pão ao final do processo podem variar de acordo com a quantidade adicionada de ingrediente e com as temperaturas de processo, sendo que a temperatura pode influenciar diretamente na degradação de compostos

bioativos. Tais compostos apresentam diferentes características e estabilidade variável de acordo com a estrutura molecular (ABDEL-AAL et al., 2010).

A qualidade estrutural do pão depende de fatores importantes, o tipo de proteína, os tempos e temperaturas de fermentação e forneamento. Para um pão tradicional com glúten, leva-se em consideração a qualidade da farinha de trigo e os fatores ligados ao processo de produção (ORTOLAN; STEEL, 2017). Por outro lado, para um pão sem glúten, há a preocupação de qual proteína será escolhida como substituta, e em consequência, com a adequação do processo, visto que as formulações, em geral, contem maior umidade (GALLAGHER, 2015).

Os pães sem glúten geralmente utilizam na formulação básica farinhas de arroz e milho, frequentemente combinadas com amidos de diferentes origens (milho, batata ou mandioca) (KIM; YUN; JEONG, 2015). Estes ingredientes são amplamente disponíveis, com preço baixo e com sabores suaves, porém, na maioria das vezes, não são enriquecidos ou fortificados, podendo levar a deficiências nutricionais os produtos à base destas farinhas e amidos (SANDRI et al., 2017). Além da deficiência nutricional, estes produtos possuem características físicas e sensoriais inferiores, sendo que a melhora destas características dependerá principalmente do tipo de proteína a ser suplementada e dos tempos de fermentação e forneamento (MOLLAKHALILI et al., 2015).

Estudos que têm como objetivo melhorar a qualidade de pães livres de glúten utilizam diferentes tipos de ingredientes, geralmente ricos em proteínas (STORCK et al., 2013)(MARCO; ROSELL, 2008)(WANG et al., 2017b). Neste estudo propomos, pela primeira vez, avaliar a adição da microalga comercial *Chlorella sorokiniana* em pão sem glúten e verificar a influência dessa suplementação nos perfis de carotenoides e ácidos graxos resultantes. Também foi avaliada a variação da temperatura e o tempo de forneamento e sua influência na composição desses compostos bioativos. Por fim, complementando os principais objetivos do trabalho, foi avaliada a influência da adição de microalga nas características tecnológicas e sensoriais do pão elaborado com a microalga.

2 OBJETIVO

Desenvolver pão sem glúten com adição da biomassa algal proveniente de microalga *Chlorella sorokiniana* para aumentar a qualidade nutricional.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1^a Produção da massa e forneamento de três formulações diferentes de pão sem glúten, sendo uma formulação controle e duas com adições de 2,5% e 5% de microalga em relação a porcentagem de farinha de arroz e amido de milho;
- 2^a Determinação da perda de massa, volume específico, textura e cor dos pães produzidos a partir de três diferentes formulações;
- 3^a Determinação da análise centesimal dos pães elaborados por métodos oficiais da AOAC;
- 4^a Determinação do perfil dos carotenoides e perfil de ácidos graxos da biomassa da microalga e dos pães após o forneamento;
- 5^a Determinação da aceitabilidade dos pães por análise sensorial;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MICROALGAS

O termo microalgas, geralmente inclui as algas microscópicas e as bactérias fotossintéticas (isto é, cianobactérias), anteriormente conhecidas como *Cyanophyceae*. A estrutura celular é eucariótica em microalgas e procarióticas em cianobactérias, mas em termos de biomassa, ambos são considerados uma potencial fonte de energia, combustível, alimentos e outros produtos de interesse comercial. As classes de microalgas mais exploradas são: *Cyanophyceae* (algas azul-verde), *Chlorophyceae* (algas verdes), *Bacillariophyceae* (incluindo as diatomeas) e *Chrysophyceae* (incluindo algas douradas). Atualmente, muitas microalgas estão adquirindo interesse biotecnológico, porque elas podem produzir uma alta quantidade de compostos nutracêuticos. Estas moléculas podem ser definidas como nutrientes de produtos alimentares que não só complementam a dieta, mas também facilitam a prevenção ou tratamento de uma doença ou distúrbio do metabolismo humano (GARCÍA; DE VICENTE; GALÁN, 2017).

A biomassa microalgal contém uma ampla gama de nutrientes como: proteínas, lipídios, carboidratos, carotenoides e vitaminas, tornando-se um suplemento interessante para a saúde humana e animal. Atualmente estão sendo inseridas nas indústrias de alimentos, como aditivos alimentares, nas indústrias farmacêuticas como pigmentos ricos em vitaminas e antioxidantes, e em algumas indústrias com o objetivo de utilizá-las como energia renovável (KHAN; SHIN; KIM, 2018).

O primeiro uso de microalgas por humanos, há aproximadamente dois milênios atrás, foi realizado pelos chineses, os quais se alimentavam de *Nostoc* para sobreviver durante os períodos de escassez de alimento. No entanto, a biotecnologia na área de microalgas só iniciou em meados de 1950. Atualmente, existem inúmeras aplicações para as microalgas, sendo principalmente utilizada para aumentar o valor nutricional dos alimentos ou da ração animal, devido à composição química da biomassa. São muito úteis na produção de peixes, podendo melhorar a qualidade proteica da carne e aumentar os teores de ω 3, uma vez que são ricas em ácidos graxos poli-insaturados. Além disso, podem ser adicionadas às fórmulas infantis, pois os extratos de pigmentos são importantes como corantes naturais (PRIYADARSHANI; RATH, 2012).

3.1.1 Consumo de microalgas

As pesquisas sobre microalgas estão crescendo rapidamente, pois se tornaram uma alternativa interessante para a alimentação humana e para a saúde humana. Já foram descobertas mais de 50.000 espécies e apenas 30.000 foram estudadas, com objetivo de identificar e quantificar compostos nutracêuticos (HAMED, 2016). O destaque de produção e produtos baseados em microalgas no mercado, é para a *Spirulina*, são mais de 12.000 toneladas de biomassa de *Spirulina* a cada ano, quase 70 % é produzido na China, Índia e Taiwan. No mundo todo, são cultivados um total de 5.000 t/ano de *Chlorella*. O volume de mercado de outras microalgas é seguido por *D. salina* cerca de 3.000 t/ano, *A. flosaquae* cerca de 1.500 t/ano, *H. pluvialis* cerca de 700 t/ano, *C. cohnii* cerca de 500 t/ano e *Shizochytrium* cerca de 20 t/ano (GARCÍA; DE VICENTE; GALÁN, 2017). Na Tabela 1 pode se observar alguns compostos bioativos utilizados nos alimentos e extraídos das microalgas.

Embora as microalgas já tenham sido usadas durante séculos como alimento para humanos e animais, apenas recentemente elas se tornaram mais reconhecidas, cultivadas e colhidas em grande escala industrial. Suas contribuições no fornecimento de compostos benéficos à saúde e nutrição, bem como as suas aplicações nas indústrias de energia e cosmética, estão contribuindo para expandir seu mercado (GARCÍA; DE VICENTE; GALÁN, 2017).

Grande parte das produções dessas microalgas, são para extrações de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), carotenoides, ficobiliproteínas, polissacarídeos e fitotoxinas. No entanto, os produtos de microalgas têm sido amplamente utilizados como suplemento proteico na nutrição humana, aquicultura e obtenção de compostos bioativos. Para estes fins os produtos de microalgas contém aproximadamente 40% de lipídios, 50% de proteínas e 10% de carboidratos (SATHASIVAM et al., 2017).

Dentro do gênero *Chlorella*, uma espécie que se destaca é a *Chlorella sorokiniana*, pela sua capacidade de produzir luteína, um carotenoide usado como um aditivo corante que propicia cores aos alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos. Na Figura 1, pode-se observar a embalagem de *C. sorokiniana* em pó e em comprimidos e também sua cor característica verde escuro. Além disso, a biomassa de *C. sorokiniana* possui alto teor proteico e com alta taxa de crescimento tornando-a uma microalga interessante para uso comercial (CHEN et al., 2018; CORDERO et al., 2011)

Tabela 1 - Alguns compostos bioativos extraídos de microalgas

Produto	Aplicação	Espécies Produtoras
carotenoides	pigmentos, cosméticos, provitaminas, pigmentação	ficocianina (<i>S. platensis</i>) β caroteno (<i>D. salina</i>) astaxantina e leutina (<i>H. pluvialis</i>)
ácido graxo poli-insaturado	aditivo alimentar, nutracêutico	ácido eicosapentaenoico (<i>C. minutissima</i>) ácido docosaheptaenóico (<i>Schizochytrium sp.</i>) ácido araquidônico (<i>Parietochlorisincise</i>)
vitaminas	Nutrição	biotina (<i>E. gracilis</i>) α-tocoferol (<i>E. gracilisa</i>) ácido ascórbico (<i>P. moriformis, Chlorella sp</i>)

Fonte: Adaptado de Priyardarshani (2012)



Figura 1 - Chlorella sorokiniana em pó e comprimido

Fonte: Própria autora.

3.1.2 Carotenoides de microalgas

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis de coloração que podem variar do amarelo ao vermelho, distribuídos no reino vegetal, animal e em microrganismos. As plantas superiores e os microrganismos fotossintetizantes são capazes de sintetizar estes compostos, enquanto que nos animais, os carotenoides são obtidos através da ingestão na dieta. De uma forma geral, os carotenoides são moléculas de tetraterpeno com 40 átomos de carbono, formado por oito unidades de isoprenoides, ligados de forma linear tendo a simetria da molécula invertida no centro da estrutura (BRITTON, 1995).

A alteração na estrutura pode incluir ciclização de uma ou das duas extremidades na estrutura básica dos carotenoides, como também mudanças no nível de hidrogenação e adição de grupos funcionais contendo oxigênio (BRITTON, 1995). Assim, os carotenoides podem ser divididos em dois grupos, os carotenos que são hidrocarbonetos e as xantofilas que são derivados oxigenados (Figura 2).

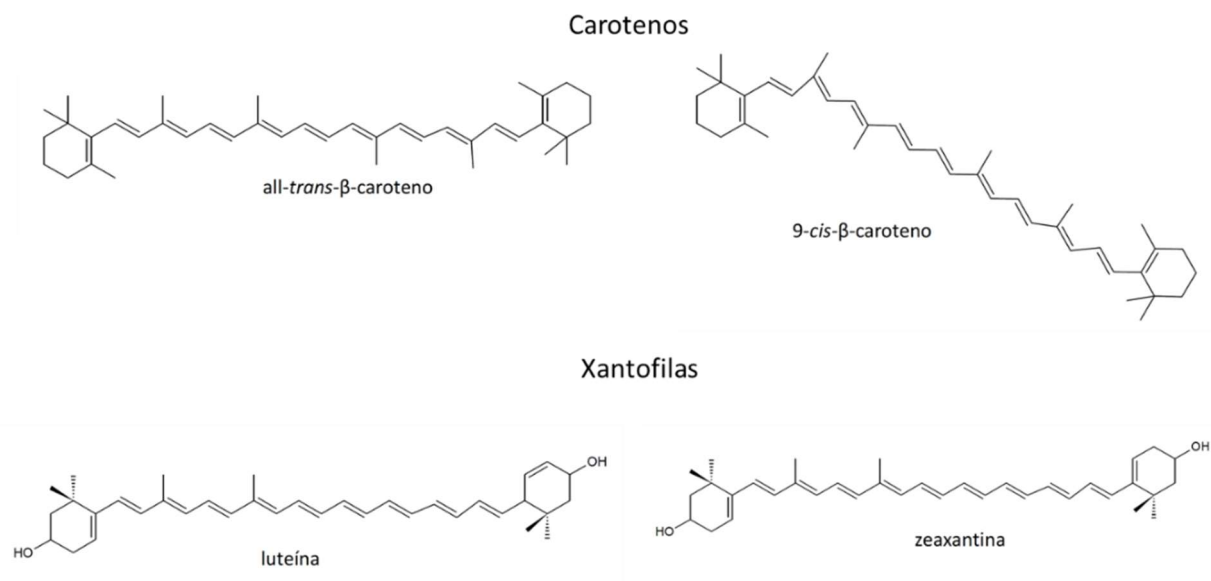


Figura 2 - Estrutura química de carotenos e xantofilas

Fonte: Própria autora;

Em microalgas, uma distinção pode ser feita entre carotenoides primários e secundários. Carotenoides primários, como a luteína, funcionam como componentes estruturais de complexos de captação de luz em cloroplastos, bem como agentes fotoprotetores e, portanto, são essenciais para a sobrevivência celular. Carotenoides secundários, como astaxantina,

acumulam-se em grandes quantidades em corpos lipídicos fora dos cloroplastos, isto ocorre quando as células ficam expostas sobre condições de estresse, podendo assim funcionar como filtros fotoprotetores e como antioxidantes impedindo o acúmulo de radicais de oxigênio (CORDERO et al., 2011).

Cordero e colaboradores (2011) compararam a quantidade de carotenoides produzida por 13 culturas de microalgas clorofíceas, conforme a Tabela 2. Em todas as espécies, a luteína foi o carotenoide mais abundante. Algumas das espécies, como *C. sorokiniana*, *M. braunii*, *S. armatus* e *S. vacuolatus* apresentaram os maiores níveis de luteína (24 mg L^{-1}). Entre estas microalgas, a *C. sorokiniana* foi selecionada para produção de luteína, uma vez que também mostrou a maior taxa de crescimento específico ($0,11 \text{ h}^{-1}$) e um alto valor de biomassa ($8,0 \text{ g L}^{-1}$). Outros carotenoides também foram quantificados como o α -caroteno, β -caroteno, violaxantina e foram também produzidos em todas as espécies testadas, embora em menores concentrações do que a luteína.

A luteína é um carotenoide oxigenado, membro do grupo das xantofilas, as principais fontes desses carotenóides são folhas verdes como espinafre, couve, milho, caqui e brócolis. A luteína produzida comercialmente é derivada da planta *Tagetes erecta*, e é usado na indústria avícola para dar cor amarela às gemas dos ovos e à pele dos frangos de corte. Algumas evidências sugerem que a luteína e a zeaxantina estão associadas com uma incidência reduzida de degeneração macular relacionada à idade e cataratas, conforme determinado por epidemiologia e intervenção estudos. O mecanismo pelo qual estes carotenóides são pensados para diminuir a degeneração macular e formação de catarata, é aumentando a pigmentação macular dos tecidos oculares, o que ajuda a filtrar a luz azul prejudicial, evitando assim o dano da oxidação que eventualmente leva ao tecido danificar (CHEN et al., 2018; BOON et al., 2010).

A produção de carotenoides pelas microalgas, como β -caroteno e astaxantina, é uma área de pesquisa atraente devido à presença de valiosos ingredientes bioativos presentes em concentrações relativamente altas. Os principais carotenoides produzidos industrialmente por microalgas são β -caroteno pela *Dunaliella salina* e astaxantina pela *Haematococcus pluvialis* (SATHASIVAM; KI, 2018).

Tabela 2 - Carotenoides de 13 espécies de microalga.

Espécies	α-caroteno (mg L⁻¹)	β-caroteno (mg L⁻¹)	Luteína (mg L⁻¹)	violaxantina (mg L⁻¹)	zeaxantina (mg L⁻¹)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	0,1	3,0	12,4	1,0	0,2
<i>Chlorella fusca</i>	0,3	4,6	22,0	1,5	6,0
<i>Chlorella luteoviridis</i>	nd	0,5	5,8	0,2	0,6
<i>Chlorella sorokiniana</i>	0,2	1,6	24,0	0,9	0,4
<i>Chlorella stigmatofora</i>	0,1	nd	3,2	0,2	0,4
<i>Chlorella vulgaris</i>	1,8	2,3	22,2	2,2	3,3
<i>Chlorella zofingiensis</i>	0,4	3,0	20,0	1,3	3,0
<i>Chlorococcum</i> sp.	0,2	2,2	15,0	2,5	0,5
<i>Monoraphidium braunii</i>	0,9	3,8	24,0	2,1	8,4
<i>Scenedesmus armatus</i>	0,3	4,4	24,0	2,4	nd
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0,3	3,0	22,0	5,0	nd
<i>Scenedesmus obliquus</i>	0,2	2,5	15,0	1,5	1,2
<i>Scenedesmus vacuolatus</i>	0,5	4,2	24,0	2,4	3,8

nd – não detectado

Fonte: Adaptado de Cordero e colaboradores (2011)

O β -caroteno é um dos principais corantes utilizados no mercado alimentar (refrigerantes, queijos, manteiga ou margarina), como aditivo aos cosméticos e também como alimento saudável. Este nutriente essencial, com intensas propriedades, é reconhecido como seguro e por ter efeitos positivos na saúde, devido à sua ação pró-vitamina A, ajudando a reduzir os efeitos nocivos dos radicais livres. Além disso, o β -caroteno reduz as ações dos raios UV no envelhecimento prematuro da pele e tem papel importante no metabolismo humano pela sua ação antioxidante (KONSTANTINOS N. PAPADOPOULOS, 2008).

Antioxidantes são requeridos pelo metabolismo humano para prevenir vários impactos negativos causada por radicais livres. Esta propriedade explica a importância dos carotenoides para produtos alimentares funcionais. Atualmente, estão sendo utilizados como suplementos alimentares, adicionados em diversos produtos alimentícios com o objetivo de aumentar o teor de carotenoides e melhorar a qualidade da dieta (MATOS et al., 2017).

3.1.3 Ácidos graxos poli-insaturados de microalgas

Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos, estão presentes nas mais diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos (MARTIN et al., 2006). Existem duas classes de ácidos graxos essenciais, ω -6 e ω -3, e a distinção entre eles é feita com base na localização da primeira dupla ligação, contada a partir da extremidade metil da molécula do ácido graxo (SIMOPOULOS, 2016). As famílias dos ômega 6 e 3 (ω -6 e ω -3) abrangem ácidos graxos que apresentam insaturações separadas apenas por um carbono metilênico (Figura 3), com a primeira insaturação no sexto e terceiro carbono, respectivamente, enumerado a partir do grupo metil terminal como os ácidos linoleico (18:2 ω -6, AL) e alfa linolênico (18:3 ω -3, AAL) (MARTIN et al., 2006).

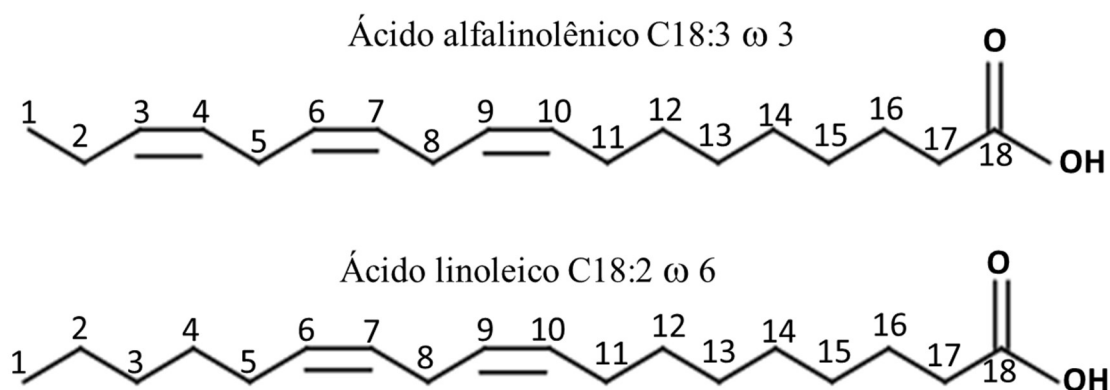


Figura 3 - Estrutura química do ácido linoleico e alfa linolênico.

Fonte: Própria autora.

Esses ácidos graxos são obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos linoleico e alfa-linolênico, pela ação de enzimas alongase e dessaturase. As alongases atuam pela adição de dois átomos de carbono à parte inicial da cadeia, e as dessaturases agem na oxidação de dois carbonos da cadeia, originando uma dupla ligação com a configuração *cis* (MARTIN et al., 2006).

Fatores como leucotrienos, tromboxanos e proteína C reativa aumentam com a ingestão de ácidos graxos ômega-6 e diminuem com o aumento da ingestão de ômega-3, sendo que estes compostos estão associados a diversas doenças crônicas como doença cardiovascular,

diabetes, câncer, obesidade, doenças autoimunes, artrite reumatoide, asma e depressão, (SIMOPOULOS, 2004;LIRA et al., 2019).

De maneira geral, os ácidos linoleicos (18:2 ω -6) e alfa-linolênicos (18:3 ω -3) são considerados necessários para manter sob condições normais as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular, sendo denominados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo a partir dos ácidos graxos provenientes da síntese de novo (MARTIN et al., 2006). Em um trabalho com pacientes com câncer de mama, Lira e colaboradores (2019) analisaram as correlações entre as concentrações ω -6 e ω -3 de eritrócitos e plasma, com vários biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatório e concluíram que o consumo de alimentos ricos em ω -3 deve ser estimulado para aproveitar todo o potencial benéfico que pode ser obtido na redução de estresse oxidativo e alcançar uma dieta com uma relação ω -6: ω -3 mais balanceada.

As doenças crônicas como: doença cardiovascular, diabetes, câncer, obesidade, doenças autoimunes, artrite reumatoide, asma e depressão, são associadas a fatores como leucotrienos, tromboxanos e proteína C reativa. Esses fatores por sua vez, quando há consumo de uma dieta desbalanceada, aumentam com a ingestão de ácidos graxos ω -6 e diminuem com o aumento da ingestão de ω -3 (SIMOPOULOS, 2004;LIRA et al., 2019).

Embora a razão ω -6: ω -3 recomendada varie segundo os organismos ou países considerados entre 10:1 até 1:1 (MARTIN et al., 2006), é bastante aceito que a relação que mais benefícios pode trazer a saúde fique entre 4:1 e 1:1, dependendo da doença considerada (SIMOPOULOS, 2004). No entanto, segundo Martin e colaboradores (2006), nas últimas décadas tem-se determinado, em diversos países, que a ingestão média de ácidos graxos resulta em relações ω -6: ω -3 que estão entre 10:1 a 20:1, ocorrendo registros de até 50:1.

As microalgas são reconhecidas como uma fonte importante de ácidos graxos poli-insaturados (PRIYADARSHANI; RATH, 2012). Semih e colaboradores (2001) pesquisaram nove amostras em pó de *Chlorella* (*C. pyrenoidosa* e *C. vulgaris*) e *Spirulina* (*S. platensis*, *S. maxima* e *S. pacifica*) que foram obtidos de fontes comerciais. Entre as espécies de *Spirulinas* os principais ácidos poli-insaturados foram o ácido linoleico com variações de 16 até 17% e ácido gama linolênico com variações de 8 até 21%. Nas espécies de *Chlorellas* os principais ácidos poli-insaturados foram: o ácido linoleico (C18:2 ω -6) com concentrações que variaram

de 11 até 21% e o ácido alfa linolênico (C18:3 ω -3) de 13 até 15%. Estes ácidos graxos poliinsaturados são reconhecidos como componentes essenciais na nutrição humana, e algumas microalgas comestíveis, como por exemplo, a *Spirulina* e a *Chlorella*, podem desempenhar um papel importante no atendimento às necessidades deste tipo de nutriente.

Xia e colaboradores (2013), pesquisando os efeitos de cultivo com diferentes vazões de alimentação de CO₂, observaram que diferentes vazões geram diferentes composições de ácidos graxos em *Chlorella sorokiniana*. Em todos os perfis estudados o ácido graxo poli-insaturado majoritário é o alfa linolênico (C18:3 ω -3), o que demonstra que a microalga é uma fonte promissora para a produção deste ω -3.

Em estudo realizado por Mignolet e colaboradores (2011), foram estabelecidas as quantidades de ácidos graxos das famílias ω -3 e ω -6 presentes na microalga *C. sorokiniana*, sendo encontrado 30% do total de ácidos graxos de ácido alfa linolênico (C18:3 ω -3) e 18% de ácido linoleico (C18:2 ω -6), tais resultados apontam que a microalga *C. sorokiniana* é uma importante fonte de ácidos graxos poli-insaturados de relevância nutricional nas dietas.

3.1.4 Proteínas de microalgas

A qualidade das proteínas pode variar drasticamente, dependendo da digestibilidade e da disponibilidade de aminoácidos essenciais (AE), compostos que o corpo humano não consegue produzir sendo obtidos através da dieta. Fontes animais de proteína são geralmente consideradas proteínas completas, pois possuem os 9 aminoácidos essenciais necessários para o bom funcionamento do organismo. São eles (Figura 4): fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina. As proteínas vegetais são frequentemente consideradas uma fonte incompleta de proteínas, podendo faltar em seu perfil proteico um ou mais dos aminoácidos essenciais. Porém, tal deficiência pode ser suprida pelo consumo de diferentes tipos de proteína vegetal (LONGO et al., 2008).

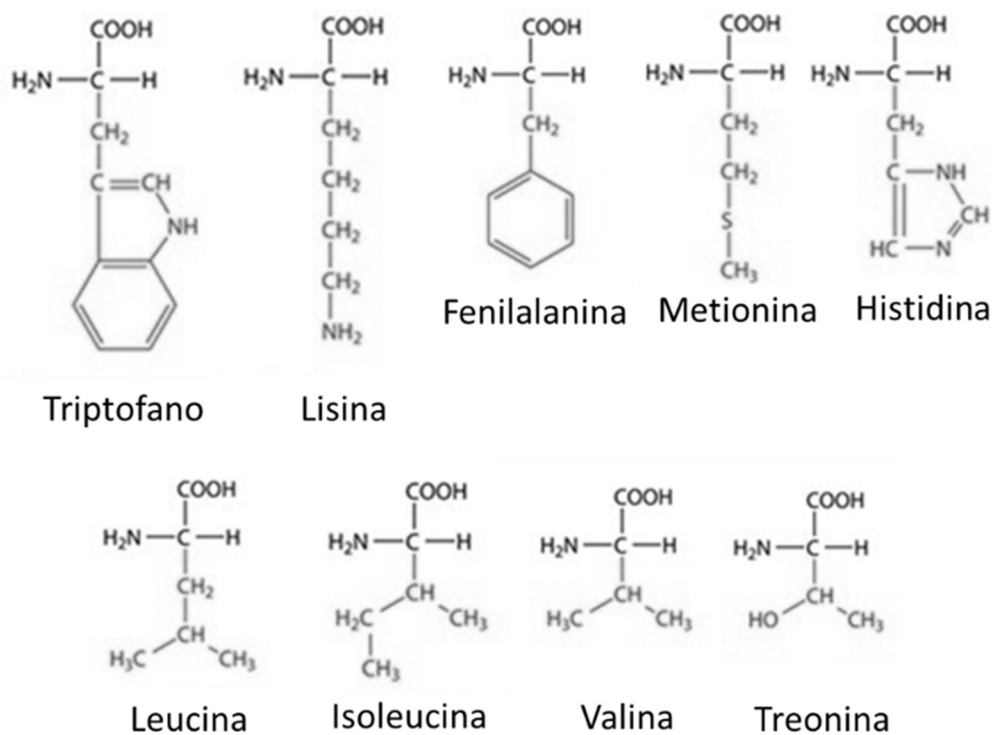


Figura 4 - Estruturas químicas dos aminoácidos essenciais

Fonte: Própria autora;

Contudo, há crescentes preocupações sobre os elevados níveis de gorduras saturadas e colesterol encontrados nos alimentos de origem animal, que estão associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes. Isso levou diversos órgãos, como a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), recomendarem uma dieta mais variada, rica em proteínas vegetais. As microalgas são geralmente consideradas uma fonte de proteína viável, com a composição de aminoácidos essenciais similares à outras fontes como soja e ovo (BLEAKLEY; HAYES, 2017).

Algumas microalgas sintetizam todos os aminoácidos essenciais e podem ser utilizadas como fontes não-convencionais de proteínas para a nutrição humana. A quantidade de proteínas de diferentes microalgas é apresentada na Tabela 3 (KOVÁČ et al., 2013). A quantidade de proteínas acumuladas em microalgas depende de vários fatores, incluindo espécie, fase de crescimento e qualidade de luz, e pode ser modificado através de ajustes de nutrientes e estresse ambiental (EJIKE et al., 2017).

Tabela 3 - Teor proteico de algumas microalgas

Microalga	Proteína (%)
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	62
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39
<i>Arthrospira maxima</i>	60-71

Fonte: Adaptado de Kovac e colaboradores (2013)

As microalgas são normalmente consumidas como suplemento dietético na forma de pó ou comprimidos, e também estão sendo incorporadas em uma série de alimentos funcionais, incluindo macarrão, pão, biscoitos, bebidas, doces e cerveja (BLEAKLEY; HAYES, 2017). Barone e colaboradores (2018), pesquisaram os aminoácidos da biomassa de *Chlorella sorokiniana*, e encontrou 69,1% de proteínas e com o seguinte perfil de aminoácidos essenciais: 1,03% de histidina, 2,91% de treonina, 3,6% de valina, 1,08 de metionina, 2,73% de isoleucina, 5,69% de leucina, 3,4% de fenilalanina e 5,17% de lisina. Desta forma, a *C. sorokiniana* pode ser uma fonte alternativa de proteína, visto que possui alto valor proteico e com aminoácidos essenciais importantes para a nutrição humana.

3.2 DOENÇA CELÍACA

A doença celíaca é uma intolerância alimentar, na qual ocorre uma reação à ingestão de glúten, gerando inflamação no intestino delgado que causa danos nas células epiteliais que delineiam a superfície do intestino. A Figura 5 apresenta uma ilustração do efeito desta inflamação sobre as microvilosidades do intestino. As células ficam danificadas, e consequentemente, isso gera uma baixa absorção de nutrientes importantes, como: ferro, ácido fólico, cálcio e vitaminas lipossolúveis (FIGUEIRA et al., 2011). A ocorrência da doença celíaca abrange o mundo inteiro, e atinge aproximadamente 1,4% do total da população humana, estudos indicam uma estimativa de aumento de doentes celíacos de 0,8% a cada 15 anos (SINGH et al., 2018).

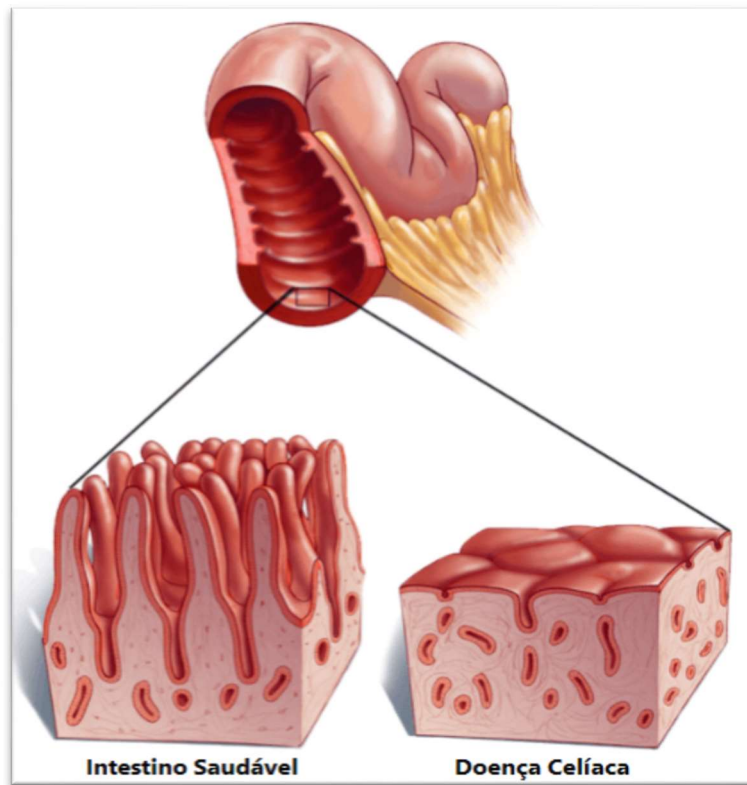


Figura 5 - Intestino saudável e doença celíaca

Fonte: <https://www.opas.org.br/o-que-e-doenca-celiaca-sintomas-tratamento-e-diagnostico/> (acessado em 26/12/2018)

O único tratamento cientificamente comprovado para a doença celíaca é o dietético, que baseia-se na exclusão do glúten da dieta, o que implica, portanto, na suspensão de todos alimentos que contenham glúten em sua composição (PARZANESE et al., 2017).

3.2.1 Glúten e sua importância nas propriedades tecnológicas em panificação

As proteínas do glúten são fundamentais nas propriedades de muitos alimentos que usam o trigo. Elas correspondem ao maior grupo de proteínas de armazenamento e são encontradas nas células do endosperma amiláceo do grão, para dar suporte ao processo germinativo. Correspondem a aproximadamente 80% das proteínas do grão, as quais correspondem a 10% a 15% do peso seco do grão de trigo comercial (ROSELL et al., 2014). Essas proteínas formam uma matriz contínua no entorno dos grânulos de amido, nas células do endosperma amiláceo maduro e, juntas, quando a farinha é misturada com água, formam uma rede contínua originando a massa. Essa rede confere uma combinação única de elasticidade e

viscosidade que permite o processamento da massa e a geração de uma ampla gama de produtos de panificação (SHEWRY; TATHAM, 2016).

Além disso, proteínas de trigo contendo glúten são frequentemente adicionadas a muitos produtos comerciais tais como refeições prontas e produtos alimentícios de conveniência (ALVAREZ-JUBETE; ARENDT; GALLAGHER, 2010).

As proteínas do trigo são caracterizadas de acordo com sua solubilidade em quatro categorias: albuminas e globulinas, ambas solúveis em água e não formadoras de glúten, e as gluteninas e gliadinas, insolúveis em água e formadoras de glúten. Assim, segundo Shewry e colaboradores (2016), as gliadinas são facilmente extraídas da farinha com misturas de álcool e água enquanto as gluteninas são frequentemente extraídas com ácidos ou bases diluídas. Ainda segundo esses autores, a fração gliadina corresponde principalmente a proteínas monoméricas enquanto as gluteninas formam polímeros de alta massa molar contendo subunidades estabilizadas principalmente por pontes dissulfeto que ligam as diferentes cadeias monoméricas.

3.2.2 Alimentos sem glúten

O desenvolvimento de alimentos sem glúten atraiu na última década grande atenção devido a melhores diagnósticos da doença celíaca e o conhecimento sobre a relação de produtos sem glúten com o aumento da qualidade de vida das pessoas. Alguns anos atrás, produtos sem glúten eram praticamente desconhecidos, exceto em lojas especializadas em alimentos saudáveis ou especiais. Existem diversos fatores que levam as pessoas a consumir alimentos sem glúten, hoje em dia há uma crescente demanda por produtos sem glúten, que é observada no mercado de tendências. O mercado de alimentos e bebidas sem glúten continuou a crescer ainda mais rápido do que o previsto. O rótulo contendo a informação de alimento "Sem glúten" tornou-se uma identidade para as dezenas de milhões de americanos que reduziram ou eliminaram o consumo de trigo, cevada, centeio e aveia (M. ROSELL; MATOS, 2015).

A dieta dos celíacos é restrita quando comparada com a dos não celíacos, embora haja disponibilidade de produtos industrializados que possam ser consumidos, a oferta de produtos sem glúten carece de expansão. Para ampliar sua variedade de pratos e opções de refeições os celíacos recorrem às receitas caseiras. Quando o tema engloba a substituição de alimentos cujo elemento principal de sua composição seja a farinha de trigo, a dificuldade

tecnológica é maior (COMINO et al., 2013). Já existem opções para massas, como o macarrão de arroz, que do ponto de vista sensorial é saboroso. Os bolos são outra opção de grande aceitabilidade. No entanto os pães e as *pizzas* ainda deixam a desejar, quando comparados com suas versões com glúten. Desta forma, as pesquisas sobre desenvolvimento de pão sem glúten estão aumentando, com o objetivo de melhorar os parâmetros nutricionais, sensoriais e tecnológicos (WANG et al., 2017a).

3.3 PÃO SEM GLÚTEN

A ausência de glúten nos pães resulta em uma massa líquida (mais de 70% de água na formulação), com vários defeitos de qualidade pós-cozimento, como: baixo volume, sabor característico devido a incorporação de amidos e o rápido endurecimento, uma vez que a estrutura da massa é dada principalmente pela gelatinização do amido. Farinhas e amidos usados nestas formulações têm baixas quantidades de proteínas para serem hidratadas, fazendo com que a viscosidade e fluidez seja semelhante às massas de bolo (MOORE et al., 2006).

As propriedades reológicas da massa sem glúten resultam principalmente das matérias-primas utilizadas como base da formulação (farinhas e amidos) e dos hidrocoloides adicionados. Estes ingredientes têm grande impacto no comportamento mecânico da massa e na fermentação. A adição de outros ingredientes, tais como proteínas, enzimas, agentes emulsionantes e suplementos nutricionais também pode influenciar esse comportamento (MEZAIZE et al., 2009).

A grande diferença no processamento de pão sem glúten levou ao desenvolvimento de uma gama de ingredientes e aditivos, conhecidos como potenciadores tecnológicos. Na literatura, esses ingredientes foram relatados como auxiliares na construção das estruturas de rede que permitem uma fermentação e cozimento similar aos pães tradicionais, fornecendo ao pão sem glúten qualidade tecnologicamente aceitável, com maiores volumes, cor uniforme, menor endurecimento, melhor qualidade nutricional e redução de gordura (MIÑARRO et al., 2010).

3.3.1 Farinha de arroz

A farinha e a água são os ingredientes mais importantes de uma formulação de pão, pois afetam a textura do miolo. A farinha é sempre considerada como 100% e o restante dos ingredientes uma porcentagem do valor da farinha em peso (MONDAL; DATTA, 2008). A farinha de arroz contém de 6 a 7% de proteína, sendo conhecida por sua fácil digestão no organismo. Esta farinha constitui o substituto da farinha de trigo mais utilizado em razão de apresentar sabor suave, cor branca, ampla faixa de teor de amilose, propriedades nutricionais e hipoalergênicas (DIAS CAPRILES; ALFREDO GOMES ARÊAS, 2011). A industrialização de produtos livres de glúten à base de farinha de arroz é tecnologicamente difícil, porque esta farinha não tem as propriedades viscoelásticas características das proteínas do glúten (SIVARAMAKRISHNAN; SENGE; CHATTOPADHYAY, 2004) o que prejudica a qualidade, dando origem a produtos de pequenos volumes específicos, mais firmes e menos duráveis que os elaborados com farinha de trigo. Por esse motivo, o desenvolvimento de produtos de panificação livres de glúten é um desafio para a ciência e a tecnologia dos alimentos, entretanto, essencial para os pacientes celíacos (PREICHARDT et al., 2009).

3.3.2 Água

A água, depois da farinha, é o ingrediente mais utilizado nas formulações de pão, em termos de quantidade. Nos pães normais com glúten pode ser usada em concentrações que variam de 50 a 75% (MONDAL; DATTA, 2008). A água hidrata as proteínas, sua utilização determina a consistência da massa e executa um papel muito importante na gelatinização do amido, o que contribui para a elasticidade e textura do pão. Sua temperatura é geralmente alterada para controlar a temperatura final da massa, conforme as necessidades de cada processo (SLUIMER, 2005). Em formulações sem glúten, os valores de água variam de acordo com o tipo da farinha de base: para farinha de arroz usa-se de 120 a 130%, para de farinha de trigo sarraceno usa-se de 85 a 95%, para farinha de milho usa-se de 90 a 100%, a massa é geralmente mais cremosa que a produzida com farinha de trigo, semelhante a uma massa de bolo onde não há o desenvolvimento do glúten (CAUVAIN; YOUNG, 2007) (HAGER; ARENDT, 2013).

3.3.3 Açúcar

O açúcar é um elemento muito importante nas formulações por duas razões principais: serve como fonte de carboidratos fermentescíveis para as leveduras e contribui para melhorar o sabor, o aroma e a cor do pão (PAVANELLI; CICHELO; PALMA, 2000). O açúcar reage com os aminoácidos presentes, através da reação de Maillard, o que influencia na coloração e aroma do pão assado. Além disso, os açúcares adicionados melhoram a conservação do pão, pois permitem melhor retenção da umidade, mantendo por mais tempo seu frescor e retardando o processo de endurecimento (QUAGLIA, 1991)

3.3.4 Sal

O sal (cloreto de sódio) tem a função de controlar a fermentação e a atividade de água, atuando diretamente na vida útil do produto. Também contribui para o aroma e o sabor do pão e a quantidade de sal geralmente adicionada aos pães salgados é de 1 a 2% em base de farinha (ESTELLER et al., 2004).

3.3.5 Fermento biológico

O fermento biológico é composto por uma levedura denominada *Saccharomyces cerevisiae*, cujo papel principal é fazer a conversão dos açúcares fermentescíveis presentes na massa a gás carbônico (CO₂) e etanol. Além de produzir CO₂, que é responsável pelo crescimento do pão, o fermento também exerce influência sobre as propriedades reológicas da massa, tornando-a mais elástica (PAVANELLI; CICHELO; PALMA, 2000). O fermento biológico pode se apresentar na forma seca ou fresca. O fermento biológico seco possui umidade inferior a 8%, pode ser utilizado nos pães em concentrações que variam de 1 a 5% (PHILIPPI, 2003).

3.3.6 Gordura

A gordura é um ingrediente opcional na produção dos pães. Quando utilizada, a gordura atua como lubrificante da massa, como melhorador da cor e do sabor, além de

enriquecer nutricionalmente o produto (ESTELLER et al., 2004). Pode ser de origem vegetal (soja, palma, milho etc.) ou animal (banha ou manteiga). Dependendo da concentração utilizada, as gorduras conferem aumento em torno de 10% do volume do pão. As gorduras também tornam a massa mais macia, melhorando a textura do miolo e contribuindo para retardar o envelhecimento do pão (PAVANELLI; CICHELO; PALMA, 2000). Os lipídios incorporados na matriz proteica interagem com as proteínas durante a mistura da massa e contribuem para as propriedades viscoelásticas, necessárias para a expansão e retenção de gás (DEMIRALP; ÇELIK; KÖKSEL, 2000).

3.3.7 Emulsificante

A adição de emulsificantes é importante para a panificação industrial, pois confere uma maior resistência à massa para suportar manuseio na máquina, melhora a taxa de hidratação, a estrutura do miolo, a característica de corte, a capacidade de retenção de gás e aumenta a vida útil (MONDAL; DATTA, 2008). Os emulsificantes comerciais apresentam uma mistura de mono e diglicerídeos, sendo obtidos a partir de uma reação de interesterificação de triglicerídeos com glicerina, ou a partir da esterificação direta com ácidos graxos. Os emulsificantes formam complexos com o amido, o que favorece a maciez do miolo e previne o envelhecimento (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2008).

3.3.8 Melhoradores de textura

Os hidrocoloides são amplamente utilizados como aditivos na tecnologia de alimentos e tem como funções a melhoria da textura, retardo da retrogradação do amido, aumento da retenção de umidade, enfim, a melhoria da qualidade, em geral, dos produtos de panificação. O principal efeito produzido pelos hidrocoloides é o atraso da retrogradação da amilose pela formação de complexos entre os hidrocoloides e as cadeias da amilose (ROJAS; ROSELL; BENEDITO DE BARBER, 1999). O motivo pelo qual a formação de gel pode ser importante nos produtos livres de glúten é que a geleificação envolve a formação de uma rede tridimensional viscoelástica, tal como é o glúten na massa feita com farinha de trigo (ZANNINI; ARENDT, 2018).

A incorporação de hidrocoloides em soluções de amido modifica as propriedades reológicas e causa aumento da viscosidade. O retardo do envelhecimento dos pães pode ser devido à interação dos hidrocoloides com os componentes do amido através de pontes de hidrogênio, tornando-os menos disponíveis para a cristalização do amido (ROSELL; SPANISH, 2017). Pequenas quantidades de hidrocoloide (<1%) aumentam a absorção de água e o volume específico do pão, reduzem a firmeza do pão e a retrogradação do amido (COLLAR et al., 1999). Em geral, os hidrocoloides são adicionados em níveis que variam de 1 a 4% (base farinha) e os melhores resultados em termos de volume e textura são obtidos pela incorporação de 1 a 2%. Os resultados são variáveis em função da formulação e das condições de processamento (DIAS CAPRILES; ALFREDO GOMES ARÊAS, 2011).

3.3.9 Outros ingredientes

Nos produtos panificados isentos de glúten deve-se buscar formas alternativas para reter e estabilizar as bolhas de gás. Ingredientes como gomas, estabilizantes e amido pré-gelatinizado podem ser usados para proporcionar a oclusão do gás e estabilização da massa. Vários produtos podem ser usados para substituir o glúten, incluindo amidos de mandioca, batata, arroz ou milho. Amidos, desempenham um papel importante nos processos de panificação. Durante o cozimento do pão, os grânulos de amido gelatinizam e têm a capacidade de capturar bolhas de ar, facilitando a retenção de gás na fermentação (WANG et al., 2017a).

A adição de diferentes fontes proteicas como alguns cereais, ovos, laticínios e farinhas de leguminosas como a ervilha são úteis no ajuste da massa do pão sem glúten, impedindo o colapso da estrutura. A incorporação proteica pode não só melhorar as propriedades funcionais e nutricionais dos produtos livres de glúten, como também melhorar a qualidade sensorial, proporcionando por exemplo, aumento da reação de Maillard (possível escurecimento) e também modificações no sabor (DEORA; DESWAL; MISHRA, 2015) (GÉLINAS, 2010).

Existem alguns estudos realizados para a obtenção de pães feitos com farinha de arroz suplementados com diversas fontes proteicas. Em particular, cabe destacar o trabalho de (SELMO; SALAS-MELLADO, 2014), que adicionando a microalga *Spirulina* visavam melhorar a qualidade tecnológica e o valor nutricional. No entanto, não existem trabalhos

avaliando a qualidade nutricional de pães de farinha de arroz utilizando como fonte proteica a microalga *Chlorella*.

3.3.10 Etapas do processo de panificação

As etapas do processo de panificação podem variar dependendo do tipo de pão que se deseja produzir, maquinário e método de panificação utilizado, o processo que foi realizado neste trabalho consta no fluxograma da Figura 6.

Quando se produz pães isentos de glúten, a etapa de mistura tem a função de homogeneizar todos os ingredientes, dispersar, solubilizar e hidratar uniformemente os componentes da massa, além de permitir a incorporação de ar. A fermentação tem início durante a mistura da massa. É uma fermentação alcoólica e anaeróbica produzida pela ação do fermento biológico (leveduras) sobre os açúcares presentes na massa. Seu papel é produzir gás carbônico e modificações físico-químicas, as quais interferem nas propriedades plásticas da massa participando da formação do sabor e aroma do pão, além de contribuir para sua boa conservação (PAVANELLI; CICHELO; PALMA, 2000).

Nos pães isentos de glúten a massa apresenta consistência cremosa e por isso não possui características viscoelásticas (GALLAGHER; GORMLEY; ARENDT, 2004). Assim, ela não pode ser manuseada ou modelada, simplesmente é vertida nas formas e levada à fermentação final em fermentadora com controlador de umidade e temperatura. O objetivo da fermentação final é o mesmo do pão com farinha de trigo, ou seja, permitir uma boa expansão e aeração da massa para produzir um pão com volume adequado. Normalmente, as condições mais comuns para o forneamento de pães são as temperaturas de 200°C à 230°C por tempos variáveis, de acordo com o tipo e tamanho do pão confeccionado (AQUARONE et al., 2001).

O forneamento resulta em uma série de alterações físicas, químicas e bioquímicas em um produto de panificação, que incluem a expansão do volume, a evaporação da água, a formação de uma estrutura porosa, a desnaturação das proteínas, a gelatinização do amido, a formação de crosta e reações de escurecimento (SABLANI; BAIK; MARCOTTE, 2002). Ao saírem do forno, os pães apresentam temperatura muito alta e devem ser resfriados à temperatura ambiente antes de serem cortados e embalados, a fim de evitar a deformação e a deterioração (AQUARONE et al., 2001).

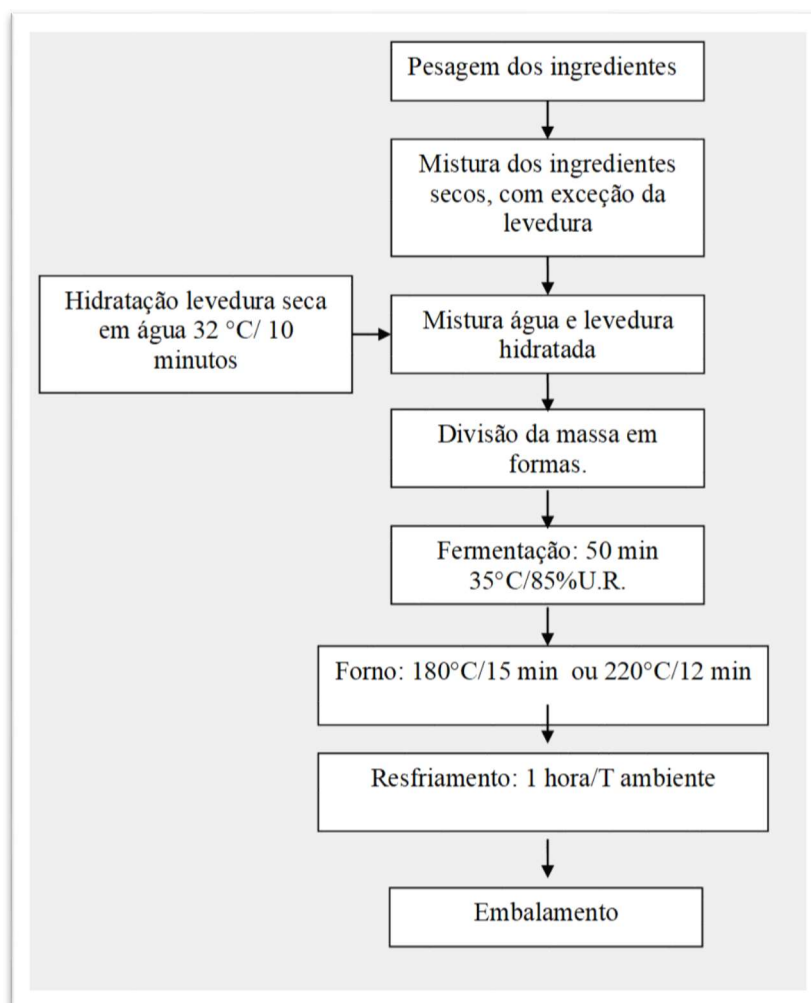


Figura 6 - Fluxograma da produção do pão sem glúten

Fonte: própria autora;

O início do resfriamento indica o começo do processo de envelhecimento do pão que é percebido pelo aumento da firmeza do miolo e perda do frescor. Isso se deve em parte à transição gradual de um amido amorfo, a um amido parcialmente cristalino e retrogradado. Nos produtos de panificação, em que existe quantidade suficiente de umidade para a gelatinização do amido, a retrogradação da amilose pode ser completada durante o período de resfriamento, em temperatura ambiente. A taxa de envelhecimento do produto depende da formulação, do método de panificação e das condições de armazenamento (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 INGREDIENTES E ELABORAÇÃO DO PÃO SEM GLÚTEN

Os ingredientes utilizados na elaboração dos pães estão apresentados na Tabela 4, sendo que a farinha de arroz utilizada foi da marca Maninho (Sertão Santana, RS), o hidrocoloide carboximetilcelulose (CMC) da marca Mix (São Bernardo do Campo, SP), a goma xantana foi da marca Aminna (Blumenau, SC) e monoglicerídeo de ácidos graxos vegetais (Mono AGs) MyCelle MHS 90 M da marca Granolab (Curitiba, PR). A levedura *Sacharomyces cerevisiae* seca foi da marca Fleischmann. O amido de milho, sal, o açúcar refinado e o óleo de canola foram adquiridos no comércio local de Porto Alegre, RS. A ervilha inteira seca foi adquirida no Mercado Público de Porto Alegre, e passou por um processo de moagem (80 mesh), até obtenção de uma farinha homogênea.

A microalga *C. sorokiniana* foi doada pela Paversul Importação e Exportação Ltda (Flores da Cunha – RS), número do lote 5212, data de fabricação 08/2017 e validade até 08/2020. As embalagens recebidas estavam no formato de comprimidos de 250 mg em um pacote com volume de 250 g. Esses comprimidos foram moídos (80 mesh) até virar uma biomassa em pó homogênea de microalga, então foram embaladas a vácuo e armazenadas a -18 °C até o início das produções de pães e análises.

Foram produzidos e analisados três tipos de pães sem glúten (Tabela 4). Todos os pães possuem farinha de arroz e amido de milho e estes foram mantidos constantes (100%), a farinha de ervilha também fez parte de todas as formulações, mas esta foi sendo substituída com o aumento da quantidade de biomassa de *C. sorokiniana*.

A adição da farinha de ervilha foi devido à resultados de experimentos prévios, resultando em pães com boa textura e sabor agradável. A ervilha é uma fonte proteica, capaz de auxiliar na qualidade do pão sem glúten, e também foi inserida pela sua tonalidade verde, colaborando na similaridade e aproximação de cor com os outros pães contendo microalga.

Todos os ingredientes foram calculados utilizando como base o peso da soma do amido de milho e da farinha de arroz, (100%), e os outros ingredientes proporcionais a esta base.

Tabela 4 - Formulação dos pães sem glúten controle e enriquecidos com *C. sorokiniana* para 100 g de farinha de arroz e amido de milho

	Amostras		
	Controle	Pão A (2.5% <i>C. sorokiniana</i>)	Pão B (5% <i>C. sorokiniana</i>)
Água	150	150	150
Amido de milho	70	70	70
Farinha de arroz	30	30	30
Farinha de ervilha	20	17,5	15
Óleo de canola	4	4	4
Fermento seco	2,5	2,5	2,5
Açúcar refinado	2	2	2
Sal	2	2	2
CMC	1	1	1
Goma xantana	1	1	1
Mono AGs	0,5	0,5	0,5
<i>Chlorella sorokiniana</i>	0	2,5	5

Formulações realizadas em triplicata.

Fonte: Própria autora

Os pães sem glúten enriquecidos com microalga foram elaborados com a adição da biomassa de *C. sorokiniana* em duas concentrações, sendo o pão A com 2,5 % de microalga e o pão B com 5,0 % de microalga, calculadas sobre o peso da combinação de amido de milho e farinha de arroz (100%). As adições de microalga foram escolhidas de forma que não ultrapassassem as concentrações de ingestão diária, recomendadas pelo fabricante da microalga (Taiwan Chlorella Manufacturing Co. Ltd (TCMC)). A empresa fabricante tem autorização da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para comercialização no Brasil, com registro n° 621840007 (ANVISA, 2018).

Todos os ingredientes foram pesados em balança de precisão (Bel Engineering, modelo Mark M2102). Após pesar a levedura, ela foi hidratada em 100 mL de água morna (32 °C) por 10 min. Os ingredientes secos (com exceção do sal) foram colocados em batedeira (Venâncio, modelo VBPS 06) e misturados por 1 min em velocidade baixa; em seguida foi adicionada a levedura hidratada, a água e o óleo, e misturou-se por mais 5 min na velocidade

baixa. Por fim, o sal foi adicionado. Frações de 180 g de massa foram colocadas em formas próprias para pão de forma com 12 × 5,5 cm de base (comprimento e largura do fundo), 14 × 6,5 cm de topo (comprimento e largura superior) e altura de 4,5 cm.

Os pães foram fermentados por 50 min em câmara de controle de fermentação (Venâncio, modelo Crescepão) à 32 °C, com 85% de umidade relativa. Após a fermentação, os pães foram assados sob diferentes condições de tempo e temperatura: (1) 12 min a 220 °C e (2) 15 min a 180 °C, em forno Turbo (Tedesco, modelo FTT 150E), cujo objetivo foi avaliar uma possível diferença de degradação dos compostos bioativos. Após a cocção, os pães foram retirados das formas e deixados resfriar a temperatura ambiente, por 1 h.

4.2 PRODUTOS QUÍMICOS E PADRÕES PARA ANÁLISES

Os padrões de all-*trans*-β-caroteno, a mistura de metil-ésteres de ácidos graxos FAME Mix (Supelco[®] 37) e a solução metanólica de trifluoreto de boro 13% (BF₃) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Os solventes metanol, clorofórmio, acetona, acetato de etila, isooctano, ácido clorídrico e os sais de cloreto de magnésio, hidróxido de sódio, cloreto de sódio e BHT foram adquiridos das marcas Neon ou Quemis (São Paulo, Brasil). Os solventes grau HPLC, éter metil terc-butílico (MTBE) e metanol foram adquiridos da Honeywell (Nova Jersey, EUA).

4.3 AMOSTRAGEM

Três pães sem glúten foram produzidos e analisados neste estudo, nomeadamente: pão Controle, pão A (adição de 2,5% de *C. sorokiniana*) e pão B (adição de 5,0% *C. sorokiniana*), sendo que todos eles foram produzidos em triplicata. A biomassa da microalga *C. sorokiniana* também foi analisada.

4.4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal da microalga e dos pães foram realizadas de acordo com os métodos de análise aprovados pela American Association of Cereal Chemists (AACC INTERNATIONAL, 2012). O teor de umidade foi determinado pelo método termogravimétrico em uma estufa a 105 °C (Método 44-15.0). O teor de proteína (% N x 6,25) foi quantificado pelo método de Kjeldahl (Método 46-13.01). O teor total de lípidos foi determinado utilizando um extractor de Soxhlet e éter de petróleo como solvente (Método 30-25.01). A análise do conteúdo de cinzas foi realizada em forno mufla a 550 °C (método 08-01.01).

4.5 ANÁLISE DE CAROTENOIDES

Os carotenoides foram exaustivamente extraídos da biomassa moída de microalgas (20 mg) e do pão liofilizado moído (2,0 g) com acetato de etila (5 vezes) e metanol (4 vezes). O extrato (25 mL) obtido foi concentrado em evaporador rotativo até volume de 2 mL, e particionado para uma mistura (25 mL) de éter de petróleo:éter etílico (1:1 em volume). O extrato particionado foi submetido a saponificação com solução metanólica de KOH 10% (10 g de KOH em 100 mL de metanol) (25 mL) por aproximadamente 16 h (22 ± 3 °C). Após este período, o álcali foi removido através de lavagem com água destilada e o solvente foi removido em evaporador rotativo ($T < 30$ °C) (Squina et al. 2003; Mandelli et al. 2012). O extrato de carotenoides seco foi armazenado a -18 °C até o momento das análises, os extratos foram produzidos em triplicata ($n = 3$).

A identificação e quantificação dos carotenoides foi realizada em cromatógrafo líquido (HPLC) da Shimadzu (Quioto, Japão) conectado em série a um detector de arranjo de diodos (DAD) e a um espectrômetro de massas (MS). Antes da análise, o extrato de carotenoides seco foi dissolvido em uma mistura de metanol:MTBE (1:1 em volume) e filtrado em membrana de PTFE (0,22 µm). Os carotenoides foram separados em uma coluna C₃₀ YMC (5 µm, 250 mm × 4,6 mm) utilizando como fase móvel um gradiente linear de MeOH:MTBE (DE ROSSO; MERCADANTE, 2007). O fluxo da fase móvel foi de 0,9 mL min⁻¹ e a temperatura da coluna foi ajustada para 29 °C. Os espectros foram obtidos entre 200 nm e 600 nm e os cromatogramas processados a 450 nm. Os resultados combinados dos seguintes parâmetros foram considerados na identificação dos compostos: ordem de eluição na coluna

C30, características dos espectros UV/vis (comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max}) comparadas aos padrões analisados nas mesmas condições e com dados disponíveis na literatura.

A quantificação dos carotenoides foi realizada por padronização externa utilizando curva analítica com 6 pontos, e concentrações variando de 1 a 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de *all-trans*- β -caroteno. Todos os carotenoides foram quantificados em equivalente ao *all-trans*- β -caroteno.

4.6 ANÁLISE DOS ÁCIDOS GRAXOS

Os lipídeos foram extraídos da biomassa de microalga moída (0,1 g) e do pão liofilizado moído (1,0 g) seguindo o método descrito por (BLIGH; DYER, 1959). À amostra foram adicionados 5 mL de clorofórmio, 10 mL de metanol e 4 mL de água, seguido de agitação em vortex por 30 min. Após foram adicionados 5 mL de clorofórmio e 5 mL de solução de cloreto de sódio saturado, seguido de agitação em vortex por 2 min. O extrato obtido deixado em repouso para separação em duas fases, a parte superior aquosa foi descartada e a parte inferior orgânica foi filtrada e recolhida para um novo tubo. O extrato foi seco por nitrogênio gasoso e armazenado a -18 °C até o momento das análises. Os extratos foram produzidos em triplicata ($n = 3$). Foram utilizados gral e pistilo na extração da biomassa de microalga.

Ao extrato orgânico seco foram adicionados 1,5 mL de solução metanólica de NaOH 0,5 M em tubo de vidro, agitou por 1 min e aqueceu em banho de água em ebulição por 5 min; após o resfriamento, adicionou-se 2 mL de trifluoreto de boro 13% (BF_3), homogeneizou-se por 30 s e foi aquecido em banho-maria em ebulição por 30 min. Após resfriamento, 2 mL isooctano foram adicionados, seguido de homogeneização por 30 s, e a adição de 5 mL de solução saturada de NaCl, com nova agitação por 30 s. A camada superior contém éter e os ésteres metílicos. Retirou-se 1 mL da camada superior contendo os metil ésteres, e este extrato foi seco por nitrogênio gasoso e armazenado a -18 °C até o momento da injeção em cromatógrafo gasoso (JOSEPH; ACKMAN, 1992).

A identificação e quantificação dos ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo a gás (Modelo GC 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com amostrador automático e injetor, detector de ionização de chama. Os ésteres metílicos foram separados em uma coluna capilar de sílica fundida (Rtx-Wax, Restek, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). O hexano foi utilizado como o solvente de lavagem e eluição do extrato. A temperatura do injetor foi ajustada para

250 °C. O gás de arraste foi o hidrogênio com uma vazão constante de 1 mL min⁻¹. A detecção foi realizada por ionização de chama (FID), operando na temperatura de 250 °C, com taxa de fluxo de injeção de gás hidrogênio de 40 mL min⁻¹ e de ar a 450 mL min⁻¹. A temperatura inicial do forno foi fixada em 50 °C por 1 min, logo após a temperatura aumenta até 200 °C em 6 min, na sequência vai até 230 °C em 10 min e se mantém em 230 °C por 18 min (35 min total) (DAVID; SANDRA; VICKERS, 2005).

Os dados adquiridos foram analisados utilizando o software GCsolution Postrun 2012 Shimadzu. A identificação de cada ácido graxo foi realizada comparando o tempo de retenção com uma mistura padrão de metil ésteres de ácidos graxos (FAME-MIX 37 standard Sigma®). A quantificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com o método AOAC (1997).

4.7 ANÁLISES FÍSICAS

A perda de massa dos pães durante o processo de forneamento foi determinada de acordo com o cálculo de perda de massa conforme descrito abaixo, onde W_{bb} é a massa do pão antes de assar e W_{ab} é a massa do pão depois de assar e esfriar (TURKUT et al., 2016).

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{W_{bb} - W_{ab}}{W_{bb}} \times 100$$

O volume específico (mL g⁻¹) dos pães foi obtido pela razão entre o volume aparente (mL) e a massa do pão (g), após assado e resfriado. O volume aparente foi determinado pelo método de deslocamento de sementes de painço, de acordo com o método 10-05 da AACC (1995) (PIZZINATTO; CAMPAGNOLLI, 1993).

A análise do perfil de textura do miolo do pão foi realizada 1 h após o desenvolvimento dos pães e no dia seguinte (24 h), utilizando o analisador de textura modelo TAXTplus (Stable Micro Systems, Inglaterra), conforme método padrão 74-09 da AACC (1995). Foi utilizado um probe cilíndrico de 36 mm de diâmetro, velocidade de teste de 2.00 m s⁻¹ e uma compressão dupla de 40% para a análise.

As análises de cor foram determinadas no miolo dos pães após o forneamento, em colorímetro modelo CR400 (Konica Minolta®, Japão). Os parâmetros colorimétricos obtidos foram L^* (luminosidade), a^* (coordenada do eixo vermelho-verde), b^* (coordenada do eixo

azul-amarelo). A medição de cor foi feita na região do espectro visível, no intervalo de 400 a 700 nm, sendo realizadas três medições para cada fatia de 2 cm, em três fatias de cada pão. Para o cálculo dos parâmetros C^* (saturação) e h (ângulo de tonalidade) foram utilizadas as equações abaixo, segundo o sistema CIELAB 1976. Os valores de ΔL , Δa e Δb , são calculados pela subtração do valor encontrado para cada pão com adição de microalga e descontado pelo valor do pão controle.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

4.8 AVALIAÇÃO SENSORIAL

A avaliação sensorial selecionada foi a análise de aceitação dos pães adicionados com dois níveis de adição de biomassa de *C. sorokiniana* A (2,5 %) e B (5,0 %) e um pão controle. O teste consistiu na apresentação, em cabines individuais, das três amostras cortadas com 2 cm de arestas e codificadas com três dígitos. Avaliou-se os parâmetros de aparência, cor, aroma, textura, sabor, sabor residual e aceitação global dos três pães, utilizando-se o método sensorial afetivo, por meio de escala hedônica de 9 pontos, em que o ponto 1 correspondia a “desgostei extremamente” e o ponto 9 a “gostei extremamente” conforme a Figura 7, para a amostra ser aceita ela deve conter o nível de aceitação de 70% equivalente a nota mínima de 6,3. A análise foi realizada com 54 julgadores não treinados de diferentes faixas etárias.

Análise Sensorial de pão sem glúten com microalgas, contendo vitaminas e ômega 3

Nome: _____ Data: _____

Idade: _____

Você está recebendo 3 amostras de pães. Prove as amostras da esquerda pra direita, ingerindo água entre elas, e avalie cada parâmetro de acordo com a escala abaixo.

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

Amostra	314	414	391
Aparência			
Cor			
Aroma			
Textura			
Sabor			
Sabor residual			
Aceitação global			

Você compraria alguma (s) da (s) amostra (s)? Qual (is)?

Comentários:

Figura 7 - Modelo de ficha sensorial

Fonte: Própria autora

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As diferenças entre os valores das características químicas, tecnológicas e nutricionais dos pães foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5 % ($p \leq 0,05$). A comparação entre as médias foi realizada pela aplicação do teste de Tukey. As análises foram realizadas através do software Statistica 10 (STATSOFT). A análise sensorial foi avaliada por comparação pareada – preferência bicaudal no nível de significância de 5 %, analisando-se os resultados com a utilização da Tabela Roessler (DUTCOSKY, 1996).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Na Tabela 5 são apresentados os resultados da composição centesimal da biomassa de *Chlorella sorokiniana*, dos pães controle e dos pães adicionados de biomassa.

A biomassa da microalga apresentou uma elevada concentração de proteínas na sua composição, o que está de acordo com estudos anteriores com a mesma microalga (MATSUKAWA et al., 2000). Cabe destacar que a elevada concentração de proteínas relatada previamente para essa microalga foi um dos fatores determinantes na sua escolha para esse trabalho. Além de proteínas, a biomassa de microalga apresenta concentrações razoáveis de lipídeos, as quais foram 5 vezes superiores ao relatado recentemente por Barone e colaboradores (2018). Essa variação pode estar relacionada as condições de cultivo, como temperatura, luminosidade, meio de cultivo, entre outros (CORDERO et al., 2011).

Tabela 5 - Composição centesimal dos pães sem glúten e da biomassa de *C. sorokiniana*

Amostras	Umidade (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Carboidratos (%)**
Pão Controle	51,4 ^a ± 1,8	6,7 ^c ± 0,2	1,7 ^c ± 0,0	2,6 ^a ± 0,1	88,4 ^a ± 3,9
Pão A (2,5 %*)	51,4 ^a ± 1,4	7,6 ^b ± 0,3	3,0 ^b ± 0,1	2,8 ^a ± 0,1	86,0 ^a ± 3,0
Pão B (5 %*)	51,8 ^a ± 1,2	8,5 ^a ± 0,4	3,6 ^a ± 0,1	2,7 ^a ± 0,1	84,7 ^a ± 3,7
<i>C. sorokiniana</i>	4,8 ± 0,0	61,0 ± 1,3	3,7 ± 0,1	6,8 ± 0,3	27,8 ± 1,1

Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferença significativa (p<0,05).

Valores em peso seco, expresso como média ± desvio-padrão (n=3).

* adição de microalga *C. sorokiniana*

**Valor calculado por diferença.

A adição de dois diferentes níveis de biomassa de microalga aos pães sem glúten influenciou significativamente o teor de proteínas e o teor de lipídeos dos pães. No pão controle foi encontrado o valor de 6,75 % de proteína, e nos pães A e B, ocorreu um aumento de 13 e 26 %, respectivamente (Tabela 5). A qualidade nutricional de uma proteína é determinada basicamente segundo o teor, a proporção e a disponibilidade dos seus aminoácidos (BECKER, 2007).

Em relação ao teor de lipídeos, também foi observado um aumento na concentração de lipídeos do pão obtido, porém, esse aumento (3,07 e 3,61%) foi menor e não linear. Esse aumento da fração lipídica possui um significado positivo do ponto de vista nutricional devido ao aumento na concentração de ácidos graxos poli-insaturados e de carotenoides nesses pães adicionados de microalga.

5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS CAROTENOIDES

A Tabela 6 apresenta a concentração de carotenoides na biomassa de microalga e nos pães produzidos. Em ambos, os carotenoides majoritários foram a *all-trans*-luteína (61% na *C. sorokiniana*) e *all-trans*-beta-caroteno (8% na *C. sorokiniana*). As concentrações dos carotenoides encontrados na amostra comercial de *C. sorokiniana* são similares às relatadas previamente por Cordero et al. (2011), no qual se destaca a concentração de luteína e betacaroteno. Alguns carotenoides possuem atividade pró-vitáminica A, e também outras propriedades biológicas, tais como atividades imunomoduladoras, anticarcinogênicas, prevenção de degeneração macular e de doenças cardiovasculares (GAMMONE; RICCONI; D'ORAZIO, 2015).

Conforme esperado, a adição de biomassa de microalga aumentou a concentração de carotenoides dos pães (Tabela 6). Esse aumento foi de cerca de 10 e 20 vezes, respectivamente, nos níveis de 2,5 e 5% de biomassa de microalga. Observa-se na Tabela 6 que os pães controles, contendo farinha de ervilha, apresentam luteína, zeaxantina, β -caroteno e 9-cis- β -caroteno que embora em concentrações baixas, parecem refletir a presença deste cereal. Efetivamente, estes carotenoides foram relatados por Ashokkumar e colaboradores (2015) que identificaram a presença de violaxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno em diversos cultivares de ervilha (ABDEL-AAL EL et al., 2013).

Com o objetivo de comparar o efeito da etapa de forneamento sobre a concentração de carotenoides, foram comparadas as concentrações dos principais carotenoides, *all-trans*-luteína e *all-trans*- β -caroteno, antes (massa crua) e após o forneamento (Figura 8). Para a luteína, o forneamento acarretou perdas significativas, porém, em diferentes graus, uma vez que a temperatura maior, em menor tempo de forneamento, levou a uma menor degradação do carotenoide. Em um trabalho com o objetivo de avaliar a estabilidade da luteína em produtos de panificação, a luteína também foi significativamente degradada quando submetida a

tratamentos térmicos, resultando em perda de 41% de luteína em pão, perda de 65% em cookie e perda de 64% em bolinhos (ABDEL-AAL et al., 2010). Segundo Maiani e colaboradores (2009) experimentos realizados com batata demonstraram que, quando submetidas a temperaturas acima de 70 °C quase toda a luteína foi degradada.

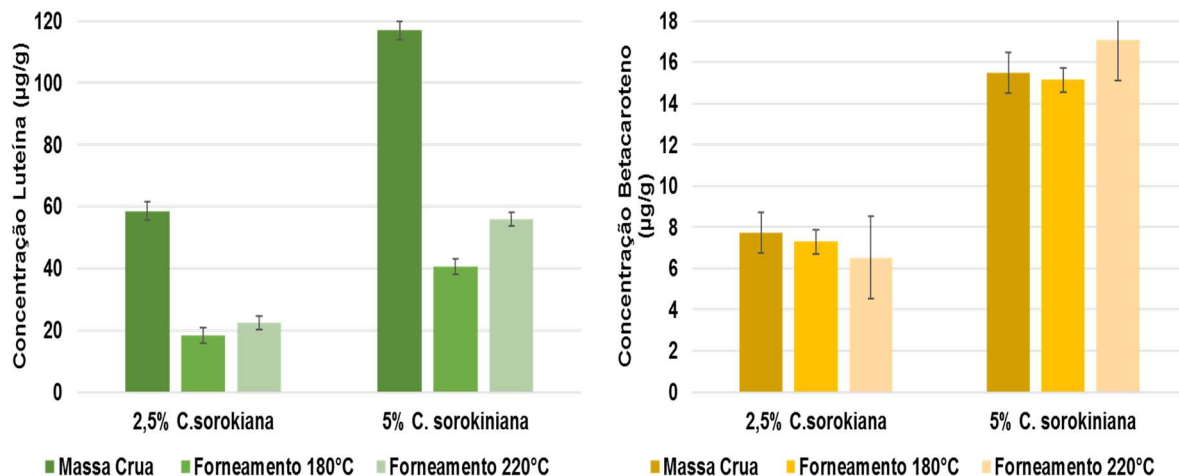


Figura 8 - Efeito da temperatura e do tempo de forneamento sobre os carotenoides dos pães sem glúten enriquecidos (180°C/15min e 220°C/12 min)

Fonte: Própria autora

Já para o β -caroteno, não foram observadas diferenças significativas. Em outros estudos podem ser encontrados resultados diferentes, como relatam Aparicio-Ruiz et al. (2011) que analisaram a estabilidade térmica de carotenoides em óleo de oliva e encontraram maior estabilidade térmica da luteína em relação ao β -caroteno. Essas variações não são surpreendentes uma vez que a literatura científica apresenta ampla variedade de efeitos do binômio tempo/temperatura sobre os carotenoides (MAIANI et al., 2009). Esses efeitos variam significativamente de acordo com o alimento considerado e com a presença fitoesteróis, compostos fenólicos e de compostos antioxidantes naturais ou sintéticos que possam reduzir as perdas de alguns tipos de carotenoides (MBA; DUMONT; NGADI, 2017),

Apesar das perdas durante o cozimento, os pães enriquecidos com *C. sorokiniana* podem ser considerados alimentos ricos em carotenoides, com destaque para a all-*trans*-luteína. O pão com enriquecimento de 5% de biomassa microalgal e massa próxima de 100 g apresenta 6 mg de carotenoides totais (considerando sua umidade). Em um estudo realizado com macarrão enriquecido com cenoura, cujo objetivo era melhorar sua qualidade nutricional, 100 g de macarrão seco apresentou 1,8 mg de carotenoides totais, resultado de 35% de perdas pelo

cozimento, visto que os carotenoides são sensíveis ao calor (ADEGUNWA; BAKARE; AKINOLA, 2015).

A falta de luteína tem sido frequentemente associada ao maior risco de catarata (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004), e em indivíduos com altas concentrações de luteína e zeaxantina, medidas na região central da retina, as chances de desenvolver degeneração macular são 82 % menores (BONE et al., 2001). Desse modo, segundo Coradin (2008), devido a inconsistências nos achados das pesquisas, possíveis sinergias ou, ao menos, efeitos aditivos, além de diferenças aparentes na eficácia dos diferentes carotenoides, a recomendação permanece sendo o aumento do consumo de uma variedade de alimentos ricos em carotenoides. Segundo Maiani e colaboradores (2009), a ingestão/dia *per capita* de luteína em vários países europeus varia de 0,45 até 4,01 mg, quantidade que pode ser encontrada em menos de 100 g do pão enriquecido (5 %) com *C. sorokiniana*. Considerando que as estimativas de consumo médio de pão *per capita* do brasileiro é de aproximadamente 62 g/dia (RICARDO; ALBAN, 2017), pode-se considerar o pão enriquecido com biomassa de microalga como um alimento com propriedades funcionais, visto que possui elevada concentração de luteína na sua composição. Segundo a Legislação Brasileira (ANVISA, 1999), a seguinte alegação pode ser feita para a luteína: “A luteína tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.

Tabela 6 - Carotenoides da biomassa de *C. sorokiniana* e dos pães sem glúten controle e enriquecido

Carotenoides**	<i>C. sorokiniana</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Controle ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pão 180 °C		Controle ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pão 220 °C	
			A (2,5 %*) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	B (5 %*) ($\mu\text{g g}^{-1}$)		A (2,5 %*) ($\mu\text{g g}^{-1}$)	B (5 %*) ($\mu\text{g g}^{-1}$)
all- <i>trans</i> -violaxantina	102,0 ± 14,6	--	0,6 ± 0,0 ^b	2,2 ± 0,0 ^a	--	0,6 ± 0,1 ^b	2,7 ± 0,2 ^a
<i>cis</i> -violaxantina	55,8 ± 5,6	--	0,5 ± 0,0 ^b	1,9 ± 0,0 ^a	--	0,4 ± 0,0 ^b	2,2 ± 0,5 ^a
9- <i>cis</i> -violaxantina	55,1 ± 6,8	--	0,5 ± 0,0 ^c	1,3 ± 0,0 ^b	--	0,5 ± 0,0 ^c	1,5 ± 0,0 ^a
13- <i>cis</i> -luteína	226,6 ± 14,9	--	1,3 ± 0,0 ^b	4,6 ± 0,1 ^a	--	1,4 ± 0,2 ^b	5,6 ± 0,6 ^a
13'- <i>cis</i> -luteína	143,7 ± 11,1	--	0,7 ± 0,0 ^b	2,5 ± 0,0 ^a	--	0,7 ± 0,0 ^b	2,9 ± 0,2 ^a
all- <i>trans</i> -luteína	2460,0 ± 111,1	2,2 ± 0,1 ^d	21,0 ± 1,6 ^c	42,3 ± 5,9 ^b	1,6 ± 0,2 ^c	25,0 ± 3,6 ^c	57,5 ± 2,9 ^a
all- <i>trans</i> -zeaxantina	108,0 ± 1,0	0,6 ± 0,0 ^e	1,3 ± 0,1 ^d	2,9 ± 0,2 ^b	0,5 ± 0,0 ^d	1,6 ± 0,2 ^c	4,0 ± 0,0 ^a
<i>cis</i> -zeaxantina	185,5 ± 9,7	--	2,6 ± 0,1 ^c	6,6 ± 0,1 ^b	--	2,6 ± 0,1 ^c	8,5 ± 0,0 ^a
15- <i>cis</i> - β -caroteno	60,6 ± 15,7	--	0,7 ± 0,0 ^b	2,1 ± 0,1 ^a	--	0,7 ± 0,0 ^b	2,3 ± 0,0 ^a
all- <i>trans</i> - α -caroteno	153,7 ± 19,9	--	3,2 ± 0,1 ^b	6,4 ± 0,2 ^a	--	3,1 ± 0,5 ^b	7,5 ± 1,0 ^a
13- <i>cis</i> - β -caroteno	50,8 ± 5,6	--	0,8 ± 0,0 ^c	1,9 ± 0,2 ^b	--	0,8 ± 0,1 ^c	2,4 ± 0,1 ^a
all- <i>trans</i> - β -caroteno	325,5 ± 31,1	1,0 ± 0,0 ^c	8,3 ± 0,4 ^b	15,8 ± 1,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^d	7,5 ± 1,6 ^b	17,7 ± 3,1 ^a
9- <i>cis</i> - β -caroteno	133,0 ± 13,4	0,3 ± 0,0 ^c	3,0 ± 0,1 ^b	6,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^c	2,3 ± 0,3 ^b	6,3 ± 1,0 ^a

Valores em peso seco, expresso como média ± desvio-padrão (n=3). * adição de microalga *C. sorokiniana* **Carotenoides expressos em equivalente a all-*trans*- β -caroteno.

Valores seguidos de letras diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

5.3 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

O perfil dos ácidos graxos da amostra comercial microalga *C. sorokiniana* foi determinado por análises cromatográficas e os resultados podem ser observados na Tabela 7. Os ácidos graxos que mais se destacam na composição da biomassa da microalga devido a maior concentração são: ácido palmítico (C16), ácido α -linolênico (C18:3 ω 3, AAL) e ácido linoleico (C18:2 ω 6, AL). Mignolet e colaboradores (2011) analisaram o perfil de ácidos graxos de diferentes tipos de cultivo de *C. sorokiniana* e encontraram o perfil semelhante de majoritários, mas com diferentes quantidades de ácido palmítico (C16). Patterson e colaboradores (1970) pesquisaram diferentes temperaturas nos cultivos desta microalga, e encontraram os mesmos majoritários, com menor quantidade de ácido α -linolenico (C18:3). Demonstrando que algumas variações qualitativas e quantitativas, podem estar relacionadas as diferentes condições de cultivo, tais como temperatura e meio de cultivo

Os três ácidos graxos majoritários representam aproximadamente 85% do total dos ácidos graxos presentes nos lipídeos da microalga. A relação de ω 6: ω 3 que a biomassa de *C. sorokiniana* contém é de aproximadamente 1:1, fato interessante, visto que a relação de consumo indicada fica entre 4:1 e 1:1. Dietas com estas relações ideais estão associadas a uma redução de 45% nas mortes por doenças cardíacas, enquanto que dietas com maiores concentrações de ω 6 em relação a ω 3 pode aumentar o risco de doenças inflamatórias (RUSSO, 2009; SIMOPOULOS, 2004).

Os ácidos graxos saturados dos pães (Tabela 7) são cerca de 20% do total de ácidos graxos, e o ácido hexadecanóico (C16:0) é o majoritário. Os ácidos graxos monoinsaturados são cerca de 50% dos ácidos graxos totais, e o principal é o ácido oleico (C18:1). O teor de ácidos graxos poli-insaturados são cerca de 30% do total ácidos graxos. Os ácidos graxos essenciais, ácido linoleico (LA, C18:2 ω 6) e ácido α -linolênico (ALA, C18:3 ω 3) são os únicos poli-insaturados nos pães. A ingestão de ácidos graxos ômega 3 (ω 3), como ALA, está associada com baixa incidência de infarto do miocárdio, inflamação crônica, distúrbios autoimunes e doenças cardiovasculares (SIMOPOULOS, 2002).

A concentração de ácidos graxos nos pães com adição de microalga não apresentou aumento significativo em relação aos pães controle, isto se deve provavelmente ao baixo teor lipídico da microalga (3,7%). Em todas as formulações foi adicionada a mesma quantidade de óleo de canola, o que, provavelmente, gerou valores semelhantes entre os pães. O óleo de canola

contém aproximadamente 61% de ácido oleico (C18:1), 21% de ácido linoleico (C18:2n-6) e 7% de ácido α -linolênico (C18:3 ω 3) (MATTHAUS; ÖZCAN; JUHAIMI, 2016). Os pães apresentaram um perfil similar a esta adição de óleo de canola, como pode ser observado com os seguintes resultados, 50 % de ácido oleico (C18:1n-9), 23% de ácido linoleico e 5% de ácido α -linolênico.

Conforme observado neste estudo, a biomassa de *C. sorokiniana* é rica em ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ácido linolênico (ω 3), e a sua adição nos pães proporcionou um aumento de 13 % e 20 % na proporção deste AG nas adições de 2,5 % e 5% de microalga respectivamente. Os ω 3 e ω 6 são essenciais e necessários à manutenção do metabolismo humano, atuando ativamente como anti-inflamatórios tanto nas membranas celulares como nas funções neurológicas, além de atuarem na transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, na síntese de hemoglobina e divisão celular (MARTIN et al., 2006).

De acordo com a FAO WHO (2008), a recomendação de ingestão diária de ω 3 é, 0,25 g até 2 g. Um pão enriquecido com 5% da biomassa de microalga e massa de 100 g, apresenta aproximadamente 80 mg de ω 3, mostrando ser uma alternativa de consumo deste nutriente essencial para o organismo.

Tabela 7 - Ácidos Graxos da biomassa de *C. sorokiniana* e dos pães sem glúten controle e enriquecido

% do total de ácidos graxos	<i>C. sorokiniana</i>	Pão 180 °C			Pão 220 °C		
		Controle	A (2,5 %*)	B (5 %*)	Controle	A (2,5 %*)	B (5 %*)
C14:0	3,1 ± 0,5	0,2 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,0 ^a
C16:0	37,2 ± 0,6	15,4 ± 0,5 ^b	16,3 ± 0,5 ^{ab}	16,9 ± 0,3 ^a	16,0 ± 0,0 ^b	17,4 ± 0,4 ^a	17,1 ± 0,1 ^a
C17:0	0	0,1 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,3 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,3 ^a
C18:0	5,1 ± 0,3	4,0 ± 0,0 ^b	4,1 ± 0,0 ^{ab}	4,3 ± 0,0 ^{ab}	4,6 ± 0,0 ^{ab}	5,5 ± 0,5 ^a	4,3 ± 0,3 ^{ab}
C20:0	0	0,3 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,0 ^a
Total saturados	45,4 ± 0,1	20,1 ± 0,0 ^d	21,2 ± 0,0 ^c	22,1 ± 0,0 ^b	21,2 ± 0,0 ^c	23,8 ± 0,0 ^a	22,3 ± 0,0 ^b
C14:1	1,1 ± 0,1	0	0	0	0	0	0
C16:1	3,0 ± 0,3	0,3 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,1 ^{bc}	0,4 ± 0,0 ^{bc}	0,3 ± 0,0 ^c	0,6 ± 0,1 ^{ab}	0,7 ± 0,1 ^a
C17:1	0	0,1 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,1 ^{ab}	0,6 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^b	0,5 ± 0,3 ^{ab}	0,7 ± 0,2 ^a
C18:1 (c + t)	3,1 ± 0,3	50,6 ± 0,5 ^a	48,0 ± 0,6 ^{ab}	47,7 ± 0,9 ^b	48,6 ± 0,1 ^b	46,4 ± 0,2 ^b	46,7 ± 0,1 ^b
C20:1	0	0,4 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,1 ^a	0,5 ± 0,1 ^a	0,4 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,0 ^a
Total mono-insaturados	7,2 ± 0,0	51,4 ± 0,1 ^a	49,2 ± 0,0 ^b	49,1 ± 0,0 ^b	49,4 ± 0,0 ^b	47,8 ± 0,0 ^d	48,5 ± 0,1 ^c
C18:2 ω6	21,5 ± 0,2	23,5 ± 0,1 ^a	23,8 ± 0,1 ^a	22,6 ± 0,1 ^a	24,2 ± 0,4 ^a	23,1 ± 0,6 ^a	23,0 ± 0,3 ^a
C18:3 ω3	25,9 ± 1,0	5,0 ± 0,1 ^{bc}	5,7 ± 0,2 ^a	6,1 ± 0,1 ^a	5,1 ± 0,1 ^c	5,3 ± 0,0 ^{bc}	6,2 ± 0,2 ^a
Total Poli-insaturados	47,4 ± 0,1	28,5 ± 0,0 ^b	29,6 ± 0,0 ^a	28,8 ± 0,0 ^b	29,4 ± 0,0 ^a	28,4 ± 0,0 ^b	29,2 ± 0,0 ^a

LA:ALA ω 6: ω 3	0,83	4,70	4,17	3,70	4,74	4,35	3,70
-------------------------------	------	------	------	------	------	------	------

Valores em peso seco, expresso como média \pm desvio-padrão (n=3). * adição de microalga *C. sorokiniana*

Valores seguidos de letras diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

5.4 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS PÃES SEM GLÚTEN

Os pães com adição de 2,5% ou 5,0% da biomassa de *C. sorokiniana* apresentaram propriedades tecnológicas muito semelhantes ao pão controle. Na Tabela 8, pode-se observar os valores encontrados nas análises de perda de água, volume específico e textura dos pães sem glúten. A perda de massa foi o único parâmetro em que ocorreu diferença significativa entre o pão controle e os pães com adição de biomassa de microalga.

Nos pães adicionados de microalga a perda de massa foi similar para todos os pães, ela é definida como a quantidade de água e matéria orgânica perdidas durante o forneamento (MOORE et al., 2006).

O volume específico talvez seja a característica de qualidade mais valorizada em pães. Através dele pode-se inferir a respeito da qualidade da farinha, dos ingredientes utilizados, do processamento desde a mistura até o forneamento. O volume específico do pão não foi afetado pela adição da microalga, os valores obtidos de 1,93 a 1,95 mL g⁻¹, estão em concordância com o reportado na literatura para um pão sem glúten. Moore e colaboradores (2006) desenvolveu pães sem glúten à base de farinha de soja, com adição de diferentes níveis de transglutaminase e encontrou valores muito semelhantes de volume específico, em outro trabalho desenvolvido pelo mesmo autor, no desenvolvimento de um pão sem glúten com farinha de arroz integral, farinha de trigo serraceno e farinha de soja e encontrou o valor de 1,87 mL g⁻¹.

O volume específico do pão sem glúten quando comparado com um pão com glúten é considerado mais baixo, estando em concordância com os dados de literatura que consta um valor médio de 3,18 mL g⁻¹, para um pão de forma feito à base de trigo comum (MOORE et al., 2004). Pães sem glúten, de maneira geral, não possuem as mesmas características físicas, que os pães feitos com farinhas que contém glúten. Pães a base de farinha de arroz tem menor volume específico, textura de miolo mais firme e maior tendência a retrogradação durante o armazenamento do que pães de farinha de trigo integral (KADAN; BRYANT; BOYKIN, 2001).

Tabela 8 - Propriedades físicas dos pães sem glúten controle e enriquecido

Propriedades	Amostras		
	Controle	Pão A (2.5%*)	Pão B (5%*)
Perda de massa (%)	14,5 ^a ± 0,5	13,4 ^a ± 0,4	13,4 ^a ± 0,2
Volume Específico (mL g ⁻¹)	1,9 ^a ± 0,0	1,9 ^a ± 0,0	1,9 ^a ± 0,0
Firmeza (kg) após 1 h	1,3 ^a ± 0,1	1,3 ^a ± 0,1	1,2 ^a ± 0,0
Firmeza (kg) após 24 h	2,1 ^a ± 0,1	1,9 ^a ± 0,1	2,0 ^a ± 0,0

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (p <0,05).

* adição de microalga *C. sorokiniana*

Neste estudo a firmeza de miolo medida no dia do processamento não apresentou influencia em relação a adição de microalga. A firmeza 24 h após o processamento aumentou 37%. A resistência do miolo à deformação é um importante atributo de firmeza para a panificação, uma vez que está ligada a percepção do consumidor de pão fresco, quanto mais baixa a firmeza, mais macio é o pão. Emulsificantes e gomas são utilizados em pães de farinha de trigo e sem glúten para diminuir a firmeza do miolo. Em pães sem glúten, o emulsificante pode aumentar a absorção de água e retenção de gás durante a fermentação e descanso das massas (DEMIRKESEN et al., 2010).

5.5 COR DO MIOLO DOS PÃES

A cor é um atributo importante na aceitabilidade dos alimentos, sendo um indicador de qualidade, estado de conservação, expectativa de sabor e valor comercial (FRADIQUE et al., 2010). Os pães com a adição da biomassa de microalga apresentaram coloração verde (Tabela 9). A adição de maior concentração da biomassa de *C. sorokiniana* causou a redução dos valores de a^* e b^* ; esses valores foram utilizados para calcular croma (C^*) e o ângulo h (ângulo de tonalidade).

Verifica-se que a adição da biomassa de *C. sorokiniana* diminuiu o valor de C^* , indicando menor intensidade da cor dos pães, dando aos pães uma aparência mais fosca. A adição também fez com que o valor de luminosidade (L^*) diminuísse, demonstrando que houve escurecimento do pão com as maiores concentrações de microalga. Além disso, quanto maior a concentração de microalga maior ângulo de tonalidade (h), que foi esperado devido à

coloração verde da microalga. O pão controle também possui coloração verde devido a sua formulação conter ervilhas, justificando o valor de ângulo de tonalidade (h).

Tabela 9 - Parâmetros de cor para os pães sem glúten controle e enriquecido

Parâmetros	Pão controle	Pão A (2.5%*)	Pão B (5%*)
L^*	62,1 ^a ± 1,1	42,1 ^b ± 1,0	35,0 ^c ± 0,9
a^*	-5,0 ^c ± 0,3	-4,1 ^b ± 0,1	-3,5 ^a ± 0,0
b^*	16,1 ^a ± 1,1	12,3 ^b ± 0,3	10,7 ^b ± 0,4
C^*	16,9 ^a ± 1,1	13,0 ^b ± 0,3	11,3 ^b ± 0,4
h	107,2 ^b ± 0,2	108,3 ^a ± 0,2	108,0 ^{a,b} ± 0,5
ΔE	-----	20,4 ^b ± 0,5	27,6 ^a ± 0,3

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

* adição de microalga *C. sorokiniana*

L^* = luminosidade;

a^* e b^* = coordenadas cromáticas (+ a^* = vermelho e - a^* = verde; + b^* = amarelo e - b^* = azul);

C^* = Croma; h = ângulo de matiz e ΔE = diferença de cor total;

Os resultados foram semelhantes aos obtidos em outros estudos que avaliaram a influência da adição de *Spirulina* sobre a cor dos alimentos (FRADIQUE ET AL. 2010; JOSHI, BERA, AND PANESAR 2014). O valor ΔE mostra o quanto foi a variação total de cor com relação à amostra controle, no qual o pão com maior concentração de microalga apresentou maior valor de ΔE (27,66). Esta coloração característica é devido aos principais pigmentos da biomassa de microalgas (clorofila, carotenoides, ficocianina) (FRADIQUE et al., 2010). A coloração verde em produtos de panificação pode ser utilizada para o desenvolvimento de produtos a serem apreciados por crianças ou por um público consumidor de microalgas.

5.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL

Os resultados apresentados na Tabela 10 indicam que houve diferença entre o pão controle e aqueles adicionados de dois níveis da biomassa de microalga. Apesar do pão controle apresentar a melhor aceitação entre os consumidores em relação aos pães com adição da biomassa de microalgas, pode-se perceber que o pão com adição de 2.5% da biomassa apresentou a nota mínima para ser considerado aceito (6,3), equivalente a 70% de aceitação. O pão com adição de 5% da biomassa não foi aceito, pois obteve nota 6,0, equivalente a 67% de aceitação.

Tabela 10 - Parâmetros de avaliação sensorial para os pães sem glúten controle e enriquecido

Parâmetros**	Pão controle	Pão A (2.5%*)	Pão B (5%*)
Aparência	7,9 ^a ± 1,0	6,3 ^b ± 2,0	6,1 ^b ± 2,0
Cor	7,8 ^a ± 1,2	6,3 ^b ± 2,1	5,9 ^b ± 2,2
Aroma	7,5 ^a ± 1,6	6,0 ^b ± 1,7	5,7 ^b ± 1,8
Textura	7,6 ^a ± 1,2	7,1 ^{ab} ± 1,4	6,9 ^b ± 1,7
Sabor	7,3 ^a ± 1,5	6,4 ^b ± 1,6	6,0 ^b ± 1,9
Sabor residual	7,3 ^a ± 1,3	6,3 ^b ± 1,9	5,8 ^b ± 2,1
Aceitação Global	7,5 ^a ± 1,4	6,4 ^b ± 1,5	6,0 ^b ± 1,6
Total (63)	53,1 ^a ± 0,2	44,7 ^b ± 0,3	42,5 ^b ± 0,4

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (p < 0,05).

* adição de microalga *C. sorokiniana*

** Nota máxima 9 e nota mínima 3

Na Figura 9 pode-se observar a alteração de cor nos pães sem glúten com adição de microalga, que foi um dos parâmetros mais perceptíveis na avaliação sensorial. Em contrapartida, o pão com adição de 5% *C. sorokiniana* não foi aceito pelos provadores. Parâmetros sensoriais como: aroma, sabor residual e cor, foram os mais alterados pela adição de microalga, alguns avaliadores tiveram a percepção de aroma de alga (utilizada em *sushi*) ou erva mate, sentiram sabor residual amargo, ou cor estranha para um pão.

O conteúdo de 100 g deste pão contém 8,5 g de proteína, aproximadamente 6.200 µg de carotenoides e 80 mg de ω3, para um público interessado em consumir alimentos

enriquecidos ou com adição de microalga, esse pão seria uma alternativa de alimento relevante, ainda mais para o público de pessoas celíacas.

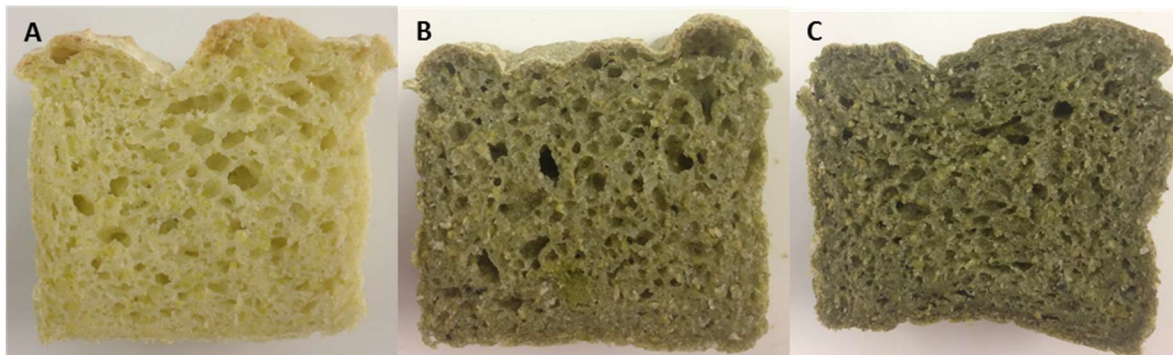


Figura 9 - Imagens de fatias de pão sem glúten cozidas com diferentes formulações. **A: Controle (20% ervilha); B: 2.5% *C. sorokiniana* (17,5% ervilha); C: 5% *C. sorokiniana* (15% ervilha);**

Fonte: Própria autora;

6 CONCLUSÃO

A principal influência da adição de biomassa de microalga *C. sorokiniana* nos pães sem glúten a base de farinha de arroz e ervilha foi o enriquecimento nutricional em proteínas, carotenoides e ácidos graxos poli-insaturados. Esse melhoramento nutricional foi muito relevante, visto que os valores de luteína, β -caroteno e ômega 3, encontrados nos dois pães com microalga, foram muito similares a algumas fontes destes compostos. As análises realizadas mostraram que essa adição não teve efeito sobre a textura e volume específico, mas em relação a cor dos pães ficaram muito diferentes do controle. Embora, os resultados de cor não sejam negativos, eles indicam uma tendência de necessidade de melhora desse indicador de qualidade.

As diferentes temperaturas utilizadas no forneamento apresentaram diferenças na degradação da luteína, mostrando que a maior temperatura por menos tempo, teve um efeito de menor deterioração do que o inverso. Já para outros carotenoides, análise centesimal, ácidos graxos poli-insaturados, parâmetros de textura, cor, volume específico, perda de massa, todos estes parâmetros não foram afetados pelo binômio temperatura \times tempo realizado neste trabalho.

A partir dos resultados encontrados, concluiu-se que a biomassa de microalga *C. sorokiniana* é promissora na produção de pães sem glúten, levando-se em consideração principalmente os benefícios nutricionais que essa microalga pode trazer, já que os produtos sem glúten, em sua grande maioria, são considerados pobres nutricionalmente.

7 PERSPECTIVAS

Este estudo foi o primeiro trabalho do grupo de pesquisa sobre aplicação de microalgas em pão sem glúten. Trata-se de um estudo inicial, sendo que durante o seu desenvolvimento surgiram ideias de novos trabalhos que podem ser desenvolvidos:

- a) Desenvolvimento de método de microencapsulamento de extratos de microalga, para reduzir sabor residual, aroma nos pães e cor.
- b) Avaliação do impacto de degradação de luteína sobre diferentes temperaturas e tempos de forneamento dos pães.
- c) Desenvolvimento de novas formulações com o objetivo de melhora de volume específico, textura e conservação dos pães.

8 REFERÊNCIAS

AACC. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, 6th Ed. Minneapolis, USA.**AACC USA, , 1995.

AACC INTERNATIONAL. **Approved Methods of Analysis.** 11th. ed. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists (AACC), 2012.

ABDEL-AAL, E.-S. M. et al. Stability of Lutein in Wholegrain Bakery Products Naturally High in Lutein or Fortified with Free Lutein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 18, p. 10109–10117, 22 set. 2010.

ABDEL-AAL EL, S. M. et al. Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1169–1185, 2013.

ADEGUNWA, M. O.; BAKARE, H. A.; AKINOLA, O. F. Enrichment of Noodles with Soy Flour and Carrot Powder. **Nigerian Food Journal**, v. 30, n. 1, p. 74–81, 2015.

ADITIVOS E INGREDIENTES. **Especial panificação.** Disponível em: <http://insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/195.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2018.

ALLEN, B.; ORFILA, C. The Availability and Nutritional Adequacy of Gluten-Free Bread and Pasta. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1370, 25 set. 2018.

ALVAREZ-JUBETE, L.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. **Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients****Trends in Food Science and Technology**, 2010.

ALVES-RODRIGUES, A.; SHAO, A. **The science behind lutein****Toxicology Letters**, 2004.

ANVISA. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. **Diário Oficial da União Poder Executivo**, p. 3–6, 1999.

ANVISA. **Registro ANVISA nº 621840007 - Chlorella em comprimidos.** Disponível em: <<https://www.smerp.com.br/anvisa/?ac=prodDetail&anvisaId=621840007>>. Acesso em: 17 dez. 2018.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International : current through March 1997 supplement**Gaithersburg, Md.AOAC International, , 1997.

APARICIO-RUIZ, R.; MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I.; GANDUL-ROJAS, B. Thermal degradation kinetics of lutein, β -carotene and β -cryptoxanthin in virgin olive oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 811–820, 2011.

AQUARONE, E. et al. **Biotechnologia industrial : biotecnologia na produção de**

alimentos. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

ARRANZ-OTAEGUI, A. et al. Archaeobotanical evidence reveals the origins of bread 14,400 years ago in northeastern Jordan. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 31, p. 7925–7930, 2018.

ASHOKKUMAR, K. et al. Genetic diversity of nutritionally important carotenoids in 94 pea and 121 chickpea accessions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 43, p. 49–60, 2015.

BARONE, R. S. C. et al. Digestibility and pricing of *Chlorella sorokiniana* meal for use in tilapia feeds. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 3, p. 184–190, 2018.

BECKER, E. W. **Micro-algae as a source of protein** *Biotechnology Advances* Elsevier, , 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073497500600139X>>

BLEAKLEY, S.; HAYES, M. Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. **Foods**, v. 6, n. 5, p. 33, 2017.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. 1959.

BONE, R. A. et al. Macular pigment in donor eyes with and without AMD: A case-control study. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 42, n. 1, p. 235–240, 2001.

BOON, C. S. et al. Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 6, p. 515–532, 2010.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **The FASEB Journal**, v. 9, n. 15, p. 1551–1558, 1995.

BUONO, S. et al. **Functional ingredients from microalgae** *Food and Function* Royal Society of Chemistry, , 2014.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Technology of Breadmaking (Google eBook)**. Cham [u.a.: Springer, 2007.

CHEN, C. Y. et al. A highly efficient two-stage cultivation strategy for lutein production using heterotrophic culture of *Chlorella sorokiniana* MB-1-M12. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 141–147, 2018.

COLLAR, C. et al. Optimization of hydrocolloid addition to improve wheat bread dough functionality: A response surface methodology study. **Food Hydrocolloids**, v. 13, n. 6,

p. 467–475, 1999.

COMINO, I. et al. **The gluten-free diet: Testing alternative cereals tolerated by celiac patients** *Nutrients* MDPI, , 23 out. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24152755>>

CORDERO, B. F. et al. Enhancement of lutein production in *Chlorella sorokiniana* (chlorophyta) by improvement of culture conditions and random mutagenesis. **Marine Drugs**, v. 9, n. 9, p. 1607–1624, 2011.

CSAPÓNÉ RISKÓ, T.; PÉNTEK, Á.; WIWCZAROSKI, T. BREAD CONSUMPTION HABITS IN THE GLUTEN FREE DIET. **Applied Studies in Agribusiness and Commerce**, v. 11, n. 3–4, p. 113–120, 20 jun. 2018.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 2010.

DAVID, F.; SANDRA, P.; VICKERS, A. K. Column selection for the analysis of fatty acid methyl esters. **Food analysis application. Palo Alto, CA: Agilent Technologies**, 2005.

DE ROSSO, V. V; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. **J. Agric. Food Chem. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5062–5072, 2007.

DEMIRALP, H.; ÇELIK, S.; KÖKSEL, H. Effects of oxidizing agents and defatting on the electrophoretic patterns of flour proteins during dough mixing. **European Food Research and Technology**, v. 211, n. 5, p. 322–325, 2000.

DEMIRKESEN, I. et al. Rheological properties of gluten-free bread formulations. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 2, p. 295–303, 2010.

DEORA, N. S.; DESWAL, A.; MISHRA, H. N. Functionality of alternative protein in gluten-free product development. **Food Science and Technology International**, v. 21, n. 5, p. 364–379, 2015.

DIAS CAPRILES, V.; ALFREDO GOMES ARÊAS, J. **Avanços na produção de pães sem glúten: aspectos tecnológicos e nutricionais**. [s.l: s.n.].

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. [s.l.] Curitiba, 1996.

EJIKE, C. E. C. C. et al. **Prospects of microalgae proteins in producing peptide-based functional foods for promoting cardiovascular health** *Trends in Food Science and Technology*, 2017.

ESTELLER, M. S. et al. Uso de açúcares em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 602–607, 2004.

FAO/WHO. Joint Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition, Geneva, November 2008. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 55, n. 1–3, 2009.

FIGUEIRA, F. DA S. et al. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 04, p. 308–316, 2011.

FRADIQUE, M. et al. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1656–1664, 2010.

GALLAGHER, E. Improving the Quality of Gluten-Free Products *The National*. n. March 2004, 2015.

GALLAGHER, E.; GORMLEY, T. R.; ARENDT, E. K. Recent advances in the formulation of products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 3, p. 143–152, 2004.

GAMMONE, M. A.; RICCIONI, G.; D’ORAZIO, N. Carotenoids: Potential allies of cardiovascular health? **Food and Nutrition Research**, v. 59, 2015.

GARCÍA, J. L.; DE VICENTE, M.; GALÁN, B. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. **Microbial Biotechnology**, 2017.

GÉLINAS, P. The ICC Handbook of Cereals, Flour, Dough & Product Testing. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 2, n. 2, p. 109–109, 2010.

HAGER, A. S.; ARENDT, E. K. Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 195–203, 2013.

HAMED, I. The Evolution and Versatility of Microalgal Biotechnology: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 6, p. 1104–1123, 2016.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, p. 488–506, 1992.

JOSHI, S. M. R.; BERA, M. B.; PANESAR, P. S. Extrusion cooking of maize/spirulina mixture: Factors affecting expanded product characteristics and sensory

quality. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 2, p. 655–664, 2014.

KADAN, R. S.; BRYANT, R. J.; BOYKIN, D. L. Effects of processing conditions on qualities of rice fries. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 4, p. 610–613, 1 maio 2001.

KHAN, M. I.; SHIN, J. H.; KIM, J. D. **The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products** *Microbial Cell Factories*, 2018.

KIM, M.; YUN, Y.; JEONG, Y. Effects of corn, potato, and tapioca starches on the quality of gluten-free rice bread. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 913–919, 26 jun. 2015.

KONSTANTINOS N. PAPADOPOULOS. **Food Chemistry Research Developments**. [s.l: s.n.].

KOVAČ, D. et al. Algae in food and feed. **Food Feed Res**, v. 40, n. 1, p. 21–31, 2013.

LIRA, L. G. et al. Plasma and erythrocyte ω -3 and ω -6 fatty acids are associated with multiple inflammatory and oxidative stress biomarkers in breast cancer. **Nutrition**, 2019.

LONGO, U. G. et al. **The best athletes in ancient Rome were vegetarian!** *Journal of Sports Science and Medicine* sciELO, , 2008.

M. ROSELL, C.; MATOS, M. E. Market and Nutrition Issues of Gluten-Free Foodstuff. In: **Advances in the Understanding of Gluten related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods**. [s.l.] OmniaScience, 2015. p. 675–713.

MAIANI, G. et al. **Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans** *Molecular Nutrition and Food Research*, 2009.

MANDELLI, F. et al. Identification of carotenoids with high antioxidant capacity produced by extremophile microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1781–1790, 2012.

MARCO, C.; ROSELL, C. M. Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 4, p. 1205–1213, ago. 2008.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ω -3 e ω -6: Importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutricao**, v. 19, n. 6, p. 761–770, 2006.

MATOS, J. et al. **Microalgae as healthy ingredients for functional food: A**

review **Food and Function**, 2017.

MATSUKAWA, R. et al. Antioxidants from carbon dioxide fixing. **Pharmacia**, v. 12, p. 263–267, 2000.

MATTHAUS, B.; ÖZCAN, M. M.; JUHAIMI, F. AL. Some rape/canola seed oils: Fatty acid composition and tocopherols. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 71, n. 3–4, p. 73–77, 2016.

MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Thermostability and degradation kinetics of tocopherols and carotenoids in palm oil, canola oil and their blends during deep-fat frying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 82, p. 131–138, 2017.

MEZAIZE, S. et al. Optimization of gluten-free formulations for French-style breads. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 3, 2009.

MIGNOLET, E. et al. **Biodiesel production using *Chlorella sorokiniana* a green microalga** *Revue des Energies Renouvelables*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/268327027>>.

MIÑARRO, B. et al. Influence of unicellular protein on gluten-free bread characteristics. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 2, p. 171–179, 2010.

MOLLAKHALILI, N. et al. **Gluten-Free Bread Quality: A Review of the Improving Factors Mycoprotein production** *View project* **Gluten free breads** *View project* **Gluten-Free Bread Quality: A Review of the Improving Factors** *Journal of Food Quality and Hazards Control*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.jfqhc.com>>.

MONDAL, A.; DATTA, A. K. **Bread baking - A review** *Journal of Food Engineering* Elsevier, , 1 jun. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877407005869>>. Acesso em: 26 dez. 2018

MOORE, M. M. et al. **Textural Comparisons of Gluten-Free and Wheat-Based Doughs** *16.pdf*, 2004.

MOORE, M. M. et al. Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. **Cereal Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 28–36, 2006.

ORTOLAN, F.; STEEL, C. J. **Protein Characteristics that Affect the Quality of Vital Wheat Gluten to be Used in Baking: A Review** *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* Blackwell Publishing Inc., , 1 maio 2017.

PARZANESE, I. et al. Celiac disease: From pathophysiology to treatment. **World**

journal of gastrointestinal pathophysiology, v. 8, n. 2, p. 27–38, 15 maio 2017.

PATTERSON, G. W. Effect of culture temperature on fatty acid composition of *Chlorella sorokiniana*. **Lipids**, v. 5, n. 7, p. 597–600, 1970.

PAVANELLI, A. P.; CICHELO, M. S.; PALMA, E. J. Emulsificantes como agentes de aeração em bolos. **São Paulo: Oxiteno**, 2000.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e técnica dietética**. Barueri: Manole, 2003.

PIZZINATTO, A.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação tecnológica de produtos derivados de farinha de trigo (pão, macarrão, biscoitos)**. [s.l: s.n.].

PREICHARDT, L. D. et al. Efeito da goma xantana nas características sensoriais de bolos sem glúten effect of the xanthan gum in the sensory characteristic of gluten free cakes. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 03, n. 01, p. 70–76, 2009.

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae -- A review. **J. algal biomass utln**, v. 3, n. 4, p. 89–100, 2012.

QUAGLIA, G. Ciencia y tecnologia de La panificación. In: Zaragoza: Acribia, 1991. p. 485.

RICARDO, A.; ALBAN, A. **Estudo de Mercado Indústria: Panificação SEBRAE**. Salvador - Bahia - Brasil: [s.n.].

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos. Brasília: **MMA/SBF**, v. 2, p. 08–45, 2008.

ROJAS, J. A.; ROSELL, C. M.; BENEDITO DE BARBER, C. Pasting properties of different wheat flour-hydrocolloid systems. **Food Hydrocolloids**, v. 13, n. 1, p. 27–33, 1999.

ROSELL, C. M. et al. **Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection** **Journal of Cereal Science**, 2014.

ROSELL, C.; SPANISH, R. Influence of hydrocolloids on dough and bread quality. **ResearchGate**, v. 15, n. January 2001, p. 545–555, 2017.

RUSSO, G. L. Dietary n - 6 and n - 3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. **Biochemical Pharmacology**, v. 77, n. 6, p. 937–946, 2009.

SABLANI, S. S.; BAIK, O. D.; MARCOTTE, M. Neural networks for predicting thermal conductivity of bakery products. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 3, p. 299–304, 2002.

SAFAFAR, H. et al. Enhancement of Protein and Pigment Content in Two Chlorella Species Cultivated on Industrial Process Water. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 4, n. 4, p. 84, 2 dez. 2016.

SANDRI, L. T. B. et al. Development of gluten-free bread formulations containing whole chia flour with acceptable sensory properties. **Food Science and Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 1021–1028, 2017.

SATHASIVAM, R. et al. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2017.

SATHASIVAM, R.; KI, J. S. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries **Marine Drugs**, 2018.

SELMO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. M. Technological quality of bread from rice flour with Spirulina. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 4, p. 1523–1528, 2014.

SEMIH, O.; RUHSEN, P. Fatty acid Composition of Chlorella and Spirulina Microalgae Species. **Journal of AOAC International**, v. 84, n. 6, p. 1708–1714, 2001.

SHEWRY, P. R.; TATHAM, A. S. Improving wheat to remove coeliac epitopes but retain functionality. **Journal of Cereal Science**, v. 67, p. 12–21, 2016.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 495–505, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio and Chronic Diseases. **Food Reviews International**, 2004.

SIMOPOULOS, A. P. An increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity **Nutrients**, 2016.

SINGH, P. et al. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 16, n. 6, p. 823- 836.e2, 2018.

SIVARAMAKRISHNAN, H. P.; SENGE, B.; CHATTOPADHYAY, P. K. Rheological properties of rice dough for making rice bread. **Journal of Food Engineering**, v. 62, n. 1, p. 37–45, 2004.

SLUIMER, P. Principles of breadmaking: functionality of raw materials and process steps. **American Association of Cereal Chemistry**, n. ix, p. 212, 2005.

SQUINA, F. M.; MERCADANTE, A. Z. Análise, por CLAE, de carotenóides de

cinco linhagens de *Rhodotorula*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 3, p. 309–318, 2003.

STORCK, C. R. et al. Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 346–354, set. 2013.

TURKUT, G. M. et al. Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 174–181, 2016.

WANG, K. et al. Recent developments in gluten-free bread baking approaches: a review. **Food Science and Technology**, v. 37, n. suppl 1, p. 1–9, 2017a.

WANG, K. et al. Recent developments in gluten-free bread baking approaches: a review. **Food Science and Technology**, v. 37, n. suppl 1, p. 1–9, 25 nov. 2017b.

XIA, J. L. et al. Effects of simulated flue gases on growth and lipid production of *Chlorella sorokiniana* CS-01. **Journal of Central South University**, v. 20, n. 3, p. 730–736, 2013.

ZANNINI, E.; ARENDT, E. K. **Introduction to the 4th International Symposium on Gluten-Free Cereal Products and Beverages**. Food Research International. **Anais...2018**