

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

Elaboration of gluten-free bread enriched with the microalgae *Spirulina platensis*

Autores | Authors

✉ Felipe da Silva FIGUEIRA

Universidade Federal do Rio Grande
(FURG)
Escola de Química e Alimentos (EQA)
Rua Engenheiro Alfredo Huch, 475, Centro
CEP: 96201-900
Rio Grande/RS - Brasil
e-mail: felipe_alimentos@yahoo.com.br

Tainara de Moraes CRIZEL Camila Rubira SILVA Myriam de las Mercedes SALAS-MELLADO

Universidade Federal do Rio Grande
(FURG)
Escola de Química e Alimentos (EQA)
Rio Grande/RS - Brasil
e-mail: tainara_mc@hotmail.com
camilarubira@hotmail.com
mysame@yahoo.com

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 07/07/2010
Aprovado | Approved: 04/08/2011
Publicado | Published: dez./2011

Resumo

Com a finalidade de oferecer pão sem glúten para consumidores com síndrome celíaca, em razão da intolerância ao glúten, elaboraram-se produtos com farinha de arroz em substituição à farinha de trigo. Para aumentar o conteúdo proteico dos pães, adicionou-se a microalga *Spirulina platensis* seca, na faixa de 2 a 5% (base farinha). Os pães foram avaliados segundo o volume específico, a dureza do miolo – uma e 24 h após o forneamento – e a cor do miolo. Verificou-se que o volume específico e a dureza dos pães não sofreram alteração com a adição de até 4% da alga; porém, mostraram redução de 22% nos valores de volume e aumento de 113% na dureza quando se adicionou 5% (em base de farinha). Quando comparados ao pão não enriquecido, a adição de *Spirulina platensis* provocou uma melhoria da qualidade nutricional dos pães, confirmada pelo aumento significativo de 39,04% do conteúdo proteico, além de vários aminoácidos essenciais (treonina, metionina, isoleucina e leucina). Com relação à cor, os pães com *Spirulina* apresentaram redução de luminosidade com o aumento de adição de microalga, tendo sido observada tendência de aumento de tonalidade verde. Na avaliação sensorial, não se verificou diferença significativa quanto à preferência entre os pães adicionados com 3 e 5% de *Spirulina* na formulação.

Palavras-chave: Síndrome celíaca; *Spirulina platensis*; Enriquecimento proteico.

Summary

With the objective of offering a product for people with celiac disease, due to their gluten intolerance, gluten-free bread made with rice flour was elaborated, in substitution of the wheat flour. To increase the protein content of the bread, dried *Spirulina platensis*, a microalga, was added to the products in the range from 2 to 5% (flour basis). The bread samples were evaluated according to their specific volume (V/W), crumb hardness, measured with a texturometer, and the crumb color. It was shown that the specific volume and crumb hardness were not affected by the addition of up to 4% of alga, but a decrease of 22% in the volume and an increase of 113% in crumb hardness of the bread were noted with the addition of 5%. The addition of *Spirulina* resulted in products with improved nutritional quality, with a significant increase of 39.04% in the protein content as well as of some essential amino acids (threonine, methionine, isoleucine and leucine), when compared to bread without the addition of the alga. With respect to color, the bread with *Spirulina* showed a decrease in luminosity with increase in the addition of the alga and a displacement of the hue angle towards a green color. With respect to the sensory evaluation, no significant difference was found between the bread with 3 and 5% of *Spirulina* in the formulation.

Key words: Celiac; *Spirulina platensis*; Protein enrichment.

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

1 Introdução

A doença celíaca (DC) é uma intolerância permanente, tendo como proteínas deletérias as gliadinas do trigo e as prolaminas do centeio (secalinas) e da cevada (hordeínas) (DICKE et al., 1953; BAKER e READ, 1976; RUBIN et al., 1960 apud MURRAY, 1999). A reação à ingestão de glúten pelos portadores da doença celíaca é a inflamação do intestino delgado, levando à má absorção de vários nutrientes importantes, incluindo ferro, ácido fólico, cálcio e vitaminas lipossolúveis (FEIGHERY, 1999; KELLY et al., 2004). O único tratamento eficaz para a doença celíaca é a estrita adesão à dieta isenta de glúten durante toda a vida do paciente, que resultará em recuperação clínica e das mucosas intestinais (KOTZE, 2006).

A dificuldade de se manter uma alimentação isenta de glúten pode ser atribuída principalmente à falta de alimentos alternativos sem glúten, já prontos, no mercado brasileiro (SDEPANIAN et al., 2001). Acelbra (2009) informa que o produto sem glúten que os celíacos desejariam encontrar mais facilmente é o pão (47%), seguido de bolachas e biscoitos (21%), macarrão (21%) e pizza (11%). Na produção de pão comum, glúten de trigo é o ingrediente-chave responsável pela retenção dos gases de fermentação de leveduras e faz o pão crescer. Ao fazer pão sem glúten, este é substituído por uma pasta de amido (FAO, 1989).

Além de a farinha ser um coproduto do arroz – o que resulta em menor custo por ser produzida a partir do arroz quebrado proveniente do processo de beneficiamento –, possui características especiais que permitem que sua aplicação se torne mais competitiva em relação ao trigo. Não é alergênico, existem variedades com ampla faixa de teor de amilose (1-33%) (TECHAWIPHARAT, 2008), não é tóxico para portadores de doença celíaca, o tamanho dos grânulos de amido produz textura extremamente suave com o cozimento e sabor brando, contém baixos níveis de sódio e alta proporção de amidos facilmente digeríveis pelas enzimas digestivas (DEOBALD, 1972; POLANCO et al., 1995; TORRES et al., 1999 apud NABESHIMA e EL-DASH, 2004).

A utilização de hidrocoloides – como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) – como substitutos do glúten permite obter pães com maior volume, além de ser uma das melhores alternativas em razão da sua capacidade de reter gás e das suas propriedades estruturantes (NISHITA et al., 1976; GUJRAL et al., 2003). Outra alternativa é o uso de enzimas para melhorar a qualidade desses produtos, como a transglutaminase (GUJRAL e ROSELL, 2004; ROSELL e COLLAR, 2007), que forma ligações intra e intermoleculares entre as proteínas, possibilitando assim a formação de uma rede proteica.

Pelo fato de que produtos sem glúten geralmente não são enriquecidos/fortificados e frequentemente são feitos de farinha refinada, amido ou fécula, estes podem não conter os mesmos níveis de nutrientes que os produtos originais com substituição do glúten (GALLAGHER et al., 2004). A dieta baseada em produtos sem glúten é muitas vezes caracterizada por um baixo teor de alguns componentes nutricionais, como proteínas e componentes minerais, bem como componentes não nutricionais, mas fisiologicamente importantes, como fibra dietética (WRONKOWSKA et al., 2008).

Muitos estudos têm sido desenvolvidos para obtenção de proteínas por meio de microrganismos com propósito alimentício. Várias espécies de microalgas são cultivadas comercialmente em alguns países e a biomassa produzida tem sido utilizada como fonte de produtos para aplicação na indústria de alimentos (DERNER et al., 2006). Segundo Pulz e Gross (2004), o mercado de alimentos funcionais, utilizando microalgas em massas, pães, iogurtes e bebidas, apresenta rápido desenvolvimento em vários países, como França, Estados Unidos, China e Tailândia.

A *Spirulina platensis* é uma microalga com composição apropriada para uso como complemento alimentar, podendo ser empregada no combate à desnutrição (FOX, 1996). Em sua composição em base seca, destacam-se os altos teores de proteínas (64-74%), ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas (COHEN, 1997), além de compostos antioxidantes (COLLA et al., 2007). Essa microalga é classificada como GRAS pelo FDA, o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde (MORAIS et al., 2006).

O objetivo da pesquisa foi avaliar as características físico-químicas, tecnológicas e sensoriais de pães sem glúten, produzidos com farinha de arroz e enriquecidos com a microalga *Spirulina platensis*.

2 Material e Métodos

2.1 Matéria-prima, aditivos e ingredientes

A farinha de arroz (FA) utilizada foi a farinha Cerealtec, tratada termicamente para inativação enzimática, cedida pela Cerealle Indústria e Comércio de Cereais Ltda., localizada na cidade de Pelotas-RS. O hidrocoloide hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) Methocel A4M® foi cedido pela Tovani Benzaquen. A enzima transglutaminase (TGase) Activa WM® foi cedida pela Ajinomoto Co. A microalga *Spirulina platensis* em pó foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica, da Universidade Federal do Rio Grande. A levedura *Sacharomyces cerevisiae* seca foi a da marca Fleischmann. O ácido (L+) ascórbico P.A. foi da marca Vetec. O sal, o açúcar e o óleo de soja foram adquiridos no comércio

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

local. A composição química da *Spirulina platensis* é apresentada na Tabela 1.

2.2 Elaboração dos pães

A formulação dos pães pode ser visualizada na Tabela 2. A formulação básica seguiu a sugerida pela FAO (1989), com modificações. O fermento biológico fresco foi substituído proporcionalmente pelo fermento seco. Foram adicionados ao pão quantidades de HPMC e Tgase, conforme resultados de Figueira (2010). Elaboraram-se cinco tipos de pães: controle (sem adição de *Spirulina*) e outros contendo 2, 3, 4 e 5% de biomassa seca de *Spirulina*. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

A farinha de arroz, o sal, o açúcar, o fermento seco e o óleo vegetal foram pesados em balança de precisão (Marte, modelo AS200). O ácido ascórbico, a HPMC, a enzima TGase e a microalga *Spirulina platensis* foram pesados em balança analítica (modelo FA2104N, Bioprecisa).

Os ingredientes secos foram colocados em batedeira ("Stand Mixer" 300 W) e misturados por 1 min em velocidade baixa; em seguida, adicionaram-se a água e o óleo, e misturou-se por mais 9 min na velocidade baixa. Frações de 175 g de massa foram colocadas em fôrmas próprias para pão de fôrma com 13,3 × 5,5 cm de base (comprimento e largura do fundo), 15,5 × 7,4 cm de topo (comprimento e largura superior) e altura de 4,5 cm,

foram levadas para fermentação por 115 min em estufa (Biopar, modelo S150BA) a 30 °C e, em seguida, assadas a 200 °C por 20 min em forno elétrico (Fischer, modelo Diplomata). Após a retirada das fôrmas, os pães foram esfriados à temperatura ambiente por uma hora, sendo então encaminhados para as análises específicas.

2.3 Composição química e perfil de aminoácidos

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas: umidade, pelo método nº 44-15A (AACC, 2000); cinza, de acordo com o método nº 08-01 (AACC, 2000), sendo empregado o tempo de quatro horas a 600 °C, em mufla; proteína, de acordo com o método de Kjeldahl, nº 46-13 (N × 5,95) (AACC, 2000); lipídios, pelo método de Soxhlet, nº 30-20 (AACC, 2000) e carboidratos totais, que foram estimados por diferença. Foi determinado o perfil de aminoácidos nos pães que apresentaram os melhores resultados de volume específico e de firmeza. Amostras de pão seco e desengordurado em extrator Soxhlet foram moídas e submetidas à análise de aminoácidos em duplicata, por hidrólise ácida. Foram quantificados os aminoácidos lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina (MOORE et al., 1958) pelo método de Spackman et al. (1963), utilizando-se analisador de aminoácidos (Nicolas V, Ribeirão Preto) (ALONZO e HIRS, 1968).

Tabela 1. Composição e digestibilidade da microalga *Spirulina platensis* LEB-18.

Componente	g.100 g ⁻¹
Proteínas	86,0
Umidade	6,7
Lípideos	3,3
Digestibilidade	84,0

Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica - FURG.

2.4 Avaliação tecnológica

a) Volume específico

O volume específico (VE) (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 (PIZZINATO e CAMPAGNOLLI, 1993).

Tabela 2. Formulação dos pães adaptada de FAO (1985) usada como controle e enriquecidos com diferentes concentrações de *Spirulina platensis* (média de três repetições).

Ingredientes	Pão				
	Controle	2,0%	3,0%	4,0%	5,0%
Farinha de arroz (g)	100	100	100	100	100
Sal (g)	2	2	2	2	2
Açúcar (g)	5	5	5	5	5
Fermento seco (g)	2	2	2	2	2
Óleo (g)	6	6	6	6	6
Ácido ascórbico (mg.kg ⁻¹)	90	90	90	90	90
Água (mL)	120	120	120	120	120
HPMC (g)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
TGase (g)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Spirulina (g)	-	2	3	4	5

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

- b) Dureza do miolo do pão fresco e 24 h após fornecimento

Para verificar o grau de maciez do miolo em cada pão, foi realizada análise de dureza do miolo em analisador de textura da marca Stable Micro System, modelo TA.XTplus, utilizando o software *Exponent*, segundo metodologia 74-09 da AACC (2000), que consiste em colocar duas fatias de 25 mm de espessura no centro da plataforma do analisador de textura e comprimir com *probe* cilíndrico de 36 mm de diâmetro nas seguintes condições de trabalho: velocidade de pré-teste: 1,0 mm.s⁻¹; velocidade de teste: 1,7 mm.s⁻¹; velocidade de pós-teste: 10,0 mm.s⁻¹; compressão: 40%; *trigger force*: 5 g.

- c) Cor do miolo

As análises de cor foram determinadas no miolo dos pães, em colorímetro marca Minolta®, modelo CR400, seguindo o sistema de cor no espaço L* a* b* ou CIELab, definido pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) em 1976, e avaliando os valores L* (luminosidade), a* e b* (coordenadas de cromaticidade). Foram calculados também o valor do croma ou C* e do h_{ab} ou ângulo de tonalidade, referidos como sistema de cor CIELCh, de acordo com Minolta (1993), por meio das Equações 1 e 2.

$$\text{Croma}(C^*) = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2} \quad (1)$$

$$h_{ab} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (2)$$

2.5 Avaliação sensorial

A avaliação sensorial selecionada foi a análise de preferência de pães adicionados com dois níveis de *S. platensis*, previamente selecionados pelas melhores características químicas e tecnológicas. O teste consistiu na apresentação de duas amostras cortadas com 2 cm de arestas e codificadas com três dígitos, em cabines individuais com luz vermelha. Os julgadores assinalaram qual a amostra preferida. A análise foi realizada com 36 julgadores não treinados de diferentes faixas etárias, que afirmaram consumir pão frequentemente.

2.6 Análise estatística

As diferenças entre os valores das características químicas, tecnológicas e nutricionais dos pães foram

avaliadas por análise de variância (ANOVA), sendo consideradas significativas aquelas com $p \leq 0,05$. A comparação entre as médias foi feita mediante teste de Tukey. As análises foram realizadas através do software Statistica 6.0 (STATSOFT). A análise sensorial foi avaliada por comparação pareada – preferência bicaudal no nível de 5% de significância, analisando-se os resultados com a utilização da tabela Roessler, de acordo com Dutcosky (1996).

3 Resultados e Discussão

3.1 Composição química dos pães

Na Tabela 3, estão apresentados os resultados da composição proximal dos pães de farinha de arroz adicionados de *Spirulina platensis*. Todos os resultados correspondem a triplicatas.

Os pães que apresentaram maior valor de umidade foram os pães controle e com 2 e 3% de microalga. A redução com o aumento na concentração de microalga ocorreu possivelmente em função da adição de *Spirulina* na forma de biomassa seca, o que aumentou o conteúdo de ingredientes secos na formulação em relação à água adicionada.

O aumento da concentração de *Spirulina* resultou em aumento significativo da quantidade de proteína presente nos pães. Conforme Cohen (1997), a biomassa de *Spirulina* contém entre 64 e 74% de proteína; porém, Moraes et al. (2009) já encontraram teores de até 86% em base seca.

Em pães sem glúten elaborados com farinha de amaranto em substituição ao amido de milho, encontrou-se aumento de 32% no teor de proteínas para uma substituição de 10%, sem alteração na qualidade sensorial (GAMBUS et al., 2002 apud GALLAGHER et al., 2004). Centenaro et al. (2007) adicionaram 3 e 5% de polpa seca de pescado a pães de farinha de trigo e encontraram aumento de 35 e 41%, respectivamente, na quantidade de proteína.

Krupa-Kozak et al. (2011) e Wronkowska et al. (2008) obtiveram pães com teor proteico de 7,51 e 9,3%, respectivamente, com a adição de farinha de trigo sarraceno em pães sem glúten elaborados com amido

Tabela 3. Composição proximal dos pães controle e enriquecidos com *Spirulina platensis*.

Pão	Umidade (%)	Proteínas ¹ (%)	Lipídios ¹ (%)	Cinza ¹ (%)	Carboidratos ^{1,2} (%)
Controle	52,38 ^a ± 0,51	7,12 ^e ± 0,13	2,81 ^a ± 0,50	1,92 ^c ± 0,12	88,16 ^a
2%	51,67 ^a ± 0,53	7,83 ^d ± 0,01	2,07 ^{ab} ± 0,38	2,16 ^{cb} ± 0,15	87,94 ^a
3%	51,26 ^a ± 0,71	8,23 ^c ± 0,07	1,72 ^b ± 0,26	2,21 ^b ± 0,07	87,85 ^a
4%	49,06 ^b ± 1,27	9,33 ^b ± 0,11	1,94 ^b ± 0,11	2,11 ^{cb} ± 0,09	86,62 ^b
5%	49,19 ^b ± 0,36	9,90 ^a ± 0,04	1,24 ^b ± 0,06	2,52 ^a ± 0,06	86,41 ^b

¹Valores em base seca (% = g.100 g⁻¹). ²Calculado por diferença. *Letras iguais nas colunas: resultados não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

de milho e de batata, encontrando valores até sete vezes maiores que os encontrados nos pães controle.

A quantidade de lipídios e de carboidratos foi reduzida com a adição de *Spirulina*, em razão da menor quantidade desses componentes na biomassa da microalga em relação às quantidades presentes no pão controle, o que reflete diretamente na concentração destes no produto final.

3.1.1 Perfil de aminoácidos

A qualidade nutricional de uma proteína é determinada basicamente segundo o teor, a proporção e a disponibilidade dos seus aminoácidos (BECKER, 2007). O elevado teor de proteínas da *Spirulina* sp. a torna um complemento altamente nutritivo, contendo aminoácidos essenciais e apresentando um aminograma muito semelhante ao da gema de ovo, que é considerado o padrão pela FAO (MONDRAGÓN, 1984). Além disso, pode-se afirmar que as proteínas presentes nessa microalga são de fácil digestão e metabolismo, ajudando no tratamento da desnutrição (RAMIREZ-MORENO e OLVERA-RAMÍREZ, 2006).

Na Figura 1, está apresentado o perfil de aminoácidos do pão controle e do pão adicionado de 3% de *Spirulina*.

É possível observar que houve aumento significativo na concentração de aminoácidos, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, alanina,

cistina, metionina, isoleucina, leucina e tirosina no pão enriquecido com *S. platensis* em relação ao pão controle. Para os aminoácidos lisina, histidina, glicina, valina e fenilalanina, não houve alteração significativa das concentrações com a adição da microalga ao pão. Já para a arginina, verificou-se redução na concentração. Dos 11 aminoácidos em que houve aumento, quatro são essenciais: a treonina, a metionina, a isoleucina e a leucina. Mesmo sendo conhecido que a *Spirulina* contém quantidade reduzida de metionina e cistina (FALQUET, 1997), foi verificado que houve aumento significativo de concentração desses aminoácidos com o acréscimo de microalga. Marco et al. (2008) obtiveram massa de pão de arroz enriquecida de proteínas e com melhor balanço de aminoácidos ao substituírem 5% da quantidade de farinha de arroz por isolado proteico de soja.

O aumento dos valores de concentração de aminoácidos essenciais – treonina, metionina, isoleucina e leucina – colocou o pão enriquecido com 3% de *Spirulina* no nível do pão feito com farinha de trigo (ABDEL-AAL e HUCL, 2002). E em relação à proteína, esse pão apresenta valores correspondentes ao padrão FAO, WHO, UNU (1985).

3.2 Volume específico e dureza dos pães controle e enriquecidos com *Spirulina*

Na Tabela 4, observam-se os valores determinados de volume específico (VE) e dureza do miolo uma e 24 h

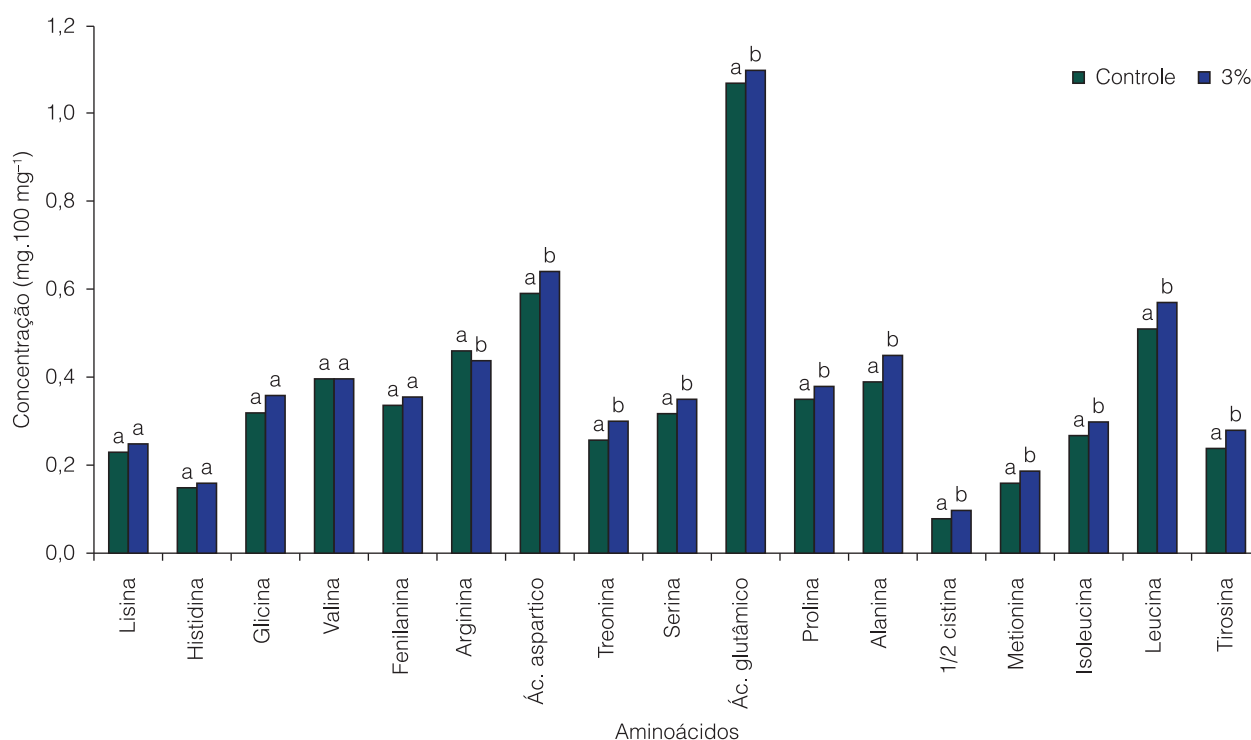


Figura 1. Perfil de aminoácidos do pão controle e do pão com 3% de *Spirulina*. Obs.: *Letras iguais nas colunas: resultados não diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

após o forneamento dos pães controle e adicionados de *Spirulina platensis*.

É possível observar pelos dados da Tabela 3 que a adição de até 4% de *S. platensis* não causou diferença significativa no volume específico dos pães, mas a adição de 5% reduziu tal volume. A enzima transglutaminase é capaz de introduzir ligações cruzadas covalentes entre proteínas (NONAKA et al., 1989), o que leva indiretamente à conversão de proteínas solúveis em polímeros proteicos insolúveis de alto peso molecular, por meio da formação de ligações covalentes de dissulfeto (LARRE et al., 2000). O nível de formação da rede depende da fonte de proteína disponível para a enzima. Sakamoto et al. (1994) apud Moore et al., (2006) relataram que o grau e a natureza das ligações, assim como as condições de reação, variaram de acordo com a fonte de proteína. Os resultados desta pesquisa sugerem que, com a maior quantidade de *S. platensis* adicionada, houve aumento na quantidade de proteína disponível para a TGase formar rede, o que, de acordo com Gujral e Rosell (2004) e Moore et al. (2006), pode causar formação excessiva de ligações cruzadas nas proteínas que a enzima catalisa, tornando assim a massa muito rígida e dificultando a expansão das células de gás, o que reduz o volume específico.

Na dureza medida após uma hora de forneamento, também não houve diferença significativa entre o pão controle e os adicionados de 2, 3 e 4% de *S. platensis*. Como já foi relatado por Moore et al. (2006) e Mezaize et al. (2009), há forte correlação positiva entre o VE e a dureza dos pães, justificada pela maior compactação das células de gás existente nos pães com menor volume específico, que causa aumento na resistência à deformação destes pães, resultando em maior dureza do miolo. Na dureza medida 24 h após o forneamento, os pães que apresentaram maiores valores foram o pão controle e o adicionado de 5% de *S. platensis*. Os pães com 2, 3 e 4%

de microalga apresentaram valores menores de dureza, o que comprova que o fornecimento de proteínas para ação da TGase em quantidades moderadas pode melhorar as características tecnológicas dos pães.

3.3 Cor do miolo dos pães controle e adicionados de *Spirulina platensis*

Na Tabela 5, estão apresentados os parâmetros de cor avaliados no pão controle e nos pães adicionados de *Spirulina platensis*.

É possível observar na Tabela 4 que os pães tiveram redução em seus valores de luminosidade (L^*) com a adição e o aumento na concentração de *S. platensis*, demonstrando que houve escurecimento do pão com as maiores concentrações de microalga. Os valores de a^* e b^* são utilizados para calcular os valores de croma (C^*) e o ângulo hue (h_{ab}). Verifica-se que a adição de *S. platensis* aumentou o valor de C^* , indicando aumento na intensidade da cor dos pães; porém, essa intensidade se reduziu com o aumento das concentrações de *S. platensis* adicionada, dando aos pães uma aparência mais fosca. Analisando-se o ângulo "hue", identificou que o pão controle está mais próximo do ângulo de 90° , que indica coloração amarela. Quanto mais o ângulo se direciona para 180° , mais a superfície tende ao verde, fato que se observa nos pães adicionados de *S. platensis* (Figura 2).

Por meio da análise química, observou-se que o pão que apresentou maior conteúdo proteico foi o adicionado de 5% de *S. platensis*, tendo sido este selecionado para avaliação sensorial. Foi selecionado o pão com 3% de *S. platensis* para comparação sensorial com o de 5% por ter apresentado melhores valores de luminosidade que o adicionado de 4% de microalga e maior conteúdo proteico do que o adicionado de 2% de

Tabela 4. Características tecnológicas¹ dos pães controle e adicionados de *Spirulina platensis*.

Pão	VE (mL.g ⁻¹)	Dureza (g)	Dureza 24 h (g)
Controle	3,11 ^a ± 0,13	215,05 ^b ± 25,31	431,71 ^a ± 57,35
2%	3,03 ^a ± 0,03	308,48 ^b ± 3,31	337,07 ^b ± 7,92
3%	3,09 ^a ± 0,01	289,24 ^b ± 33,89	288,91 ^b ± 17,80
4%	3,10 ^a ± 0,05	277,39 ^b ± 38,34	300,49 ^b ± 43,55
5%	2,43 ^b ± 0,01	460,01 ^a ± 58,17	377,45 ^{ab} ± 20,33

Obs.: *Letras iguais nas colunas: resultados não diferem estatisticamente ($p < 0,05$). ¹valores correspondem à triplicata. VE = volume específico.

Tabela 5. Parâmetros de cor para o pão controle e os adicionados de *Spirulina platensis*.

Pão	L^*	a^*	b^*	C^*	h_{ab}
Cont	75,15 ^a ± 2,28	-1,56 ^a ± 0,05	6,85 ^a ± 0,51	7,03 ^a ± 0,49	102,85 ^a ± 1,19
2%	45,55 ^b ± 0,75	-8,16 ^b ± 0,12	14,41 ^{bc} ± 0,27	16,56 ^b ± 0,23	119,53 ^b ± 0,66
3%	38,84 ^{bc} ± 6,67	-7,77 ^b ± 0,40	14,66 ^c ± 0,68	16,60 ^b ± 0,76	117,93 ^{bc} ± 0,75
4%	33,57 ^{cd} ± 2,09	-6,80 ^c ± 0,29	13,09 ^b ± 0,53	14,75 ^c ± 0,50	117,46 ^{bc} ± 1,38
5%	28,83 ^d ± 0,81	-5,67 ^d ± 0,14	11,48 ^d ± 0,34	12,81 ^d ± 0,37	116,28 ^c ± 0,14

*Letras iguais nas colunas: resultados não diferem estatisticamente ($p < 0,05$); cont = controle.

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

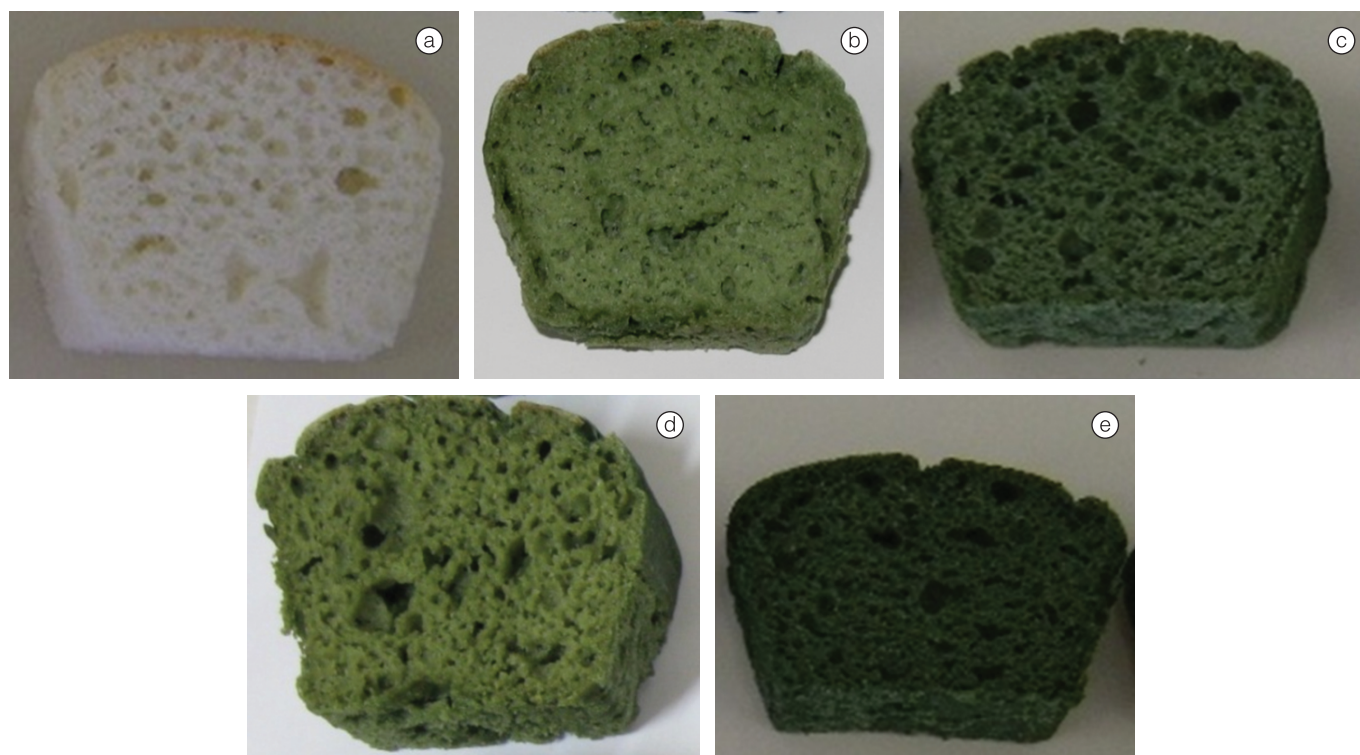


Figura 2. Pães de farinha de arroz, HPMC e TGase controle (a) e adicionados de 2% (b), 3% (c), 4% (d) e 5% (e) de *Spirulina platensis*.

S. platensis; além disso, há o fato de não ter apresentado diferença significativa no VE, na dureza após uma hora e na dureza após 24 h em relação aos pães adicionados de 2 e 4% de *Spirulina*.

3.4 Avaliação sensorial

Dos 36 julgadores que avaliaram os pães adicionados de 3 e 5% de *Spirulina platensis*, 22 deles selecionaram o pão com adição de 3% como preferido. Ao fazer a análise estatística deste resultado, verificou-se que não há diferença significativa no nível de 5% de probabilidade entre os pães avaliados, chegando-se à conclusão de que não houve uma amostra preferida.

4 Conclusões

Concluiu-se que os pães sem glúten elaborados com farinha de arroz com adição de 2 a 5% de *S. platensis* apresentaram maior teor proteico (aumentos de 15,59 e 39,04% em pães com 3 e 5% da microalga, respectivamente) e melhor composição em aminoácidos em relação ao controle, sem microalga (aumentos significativos em 11 aminoácidos, sendo destes, quatro essenciais (treonina, metionina, isoleucina e leucina); note-se que os teores de lipídios e carboidratos diminuíram e os teores de cinzas foram variáveis. Em relação aos pães controle, os pães sem glúten com adição de até 4% da microalga não diferiram em volume específico e em dureza; entretanto, quando elaborados com 2 a 5%,

apresentaram cor do miolo mais escura e com tendência à cor verde proporcional à adição da microalga. Pela análise sensorial, o pão sem glúten adicionado de 5% de *S. platensis* não diferiu do pão com adição de 3% quanto à preferência. Sugere-se o emprego de *S. platensis* para o enriquecimento de pães sem glúten de farinha de arroz, empregando-se na formulação HPMC e TGase, sendo a concentração de microalga sugerida de 3%, a qual pode ser usada por pacientes celíacos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Capes e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências

- ABDEL-AAL, E. S. M.; HUCL, P. Amino acid composition and in vitro protein digestibility of selected ancient wheats and their end products. **Journal of Food Composition and Analysis**, Oxford, v. 15, n. 6, p. 737-747, 2002. <http://dx.doi.org/10.1006/jfca.2002.1094>
- ALONZO, N.; HIRS, C. H. W. Automation of sample application in amino acid analysers. **Analytical Biochemistry**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 272-278, 1968. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90359-X](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(68)90359-X)
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS - AACC. **Approved Methods of the AACC**. 10. ed. Sant Paul: American Association of Cereal Chemists, 2000.

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

- ASSOCIAÇÃO DOS CELÍACOS DO BRASIL - ACELBRA. Disponível em: <<https://www.ancelbra.org.br>>. Acesso em: 11 dez. 2009.
- BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 207-210, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>
- CENTENARO, G. S.; FEDDERN, V.; BONOW, E.; SALAS-MELLADO, M. M. Enriquecimento de pão com proteínas de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 663-668, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000300036>
- COHEN, Z. The chemicals of Spirulina. In: VONSHAK, A. **Spirulina Platensis (Arthrospira) Physiology, Cell-Biology and Biotechnology**. London: Taylor & Francis, 1997. 233 p.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 98, n. 7, p. 1489-1493, 2007. PMID:17070035. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.09.030>
- DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial dos Alimentos**. Curitiba: Champagnat. 1996. 123 p.
- FALQUET, J. **The Nutritional Aspects of Spirulina**. Antenna Technology, 1997. Disponível em: <http://www.antenna.ch/UK/Aspect_UK.htm> Acesso em: 18 dez. 2009.
- FEIGHERY, C. F. Coeliac disease. **British Medical Journal**, London, v. 319, p. 236-239, 1999.
- FIGUEIRA, F. S. **Produção de Pão sem Glúten Enriquecido com *Spirulina Platensis***. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Wheatless Bread**. Roma: FAO, 1989. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/t0207e/T0207E00.htm#Contents>> Acesso em: 19 dez. 2009.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO; UNITED NATIONS UNIVERSITY - UNU. **Energy and Protein Requirements- FAO/WHO Nutrition Meeting**. Genebra: FAO, WHO, 1985.
- FOX, R. D. **Spirulina Production & Potencial**. Aix-en-Provence: Edisud, 1996. 89 p.
- GALLAGHER, E.; GORMLEY, T. R.; ARENDT, E. K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. **Food Science and Technology**, Oxford, v. 15, n. 3-4, p. 143-152, 2004. PMID:21299575. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.012>
- GUJRAL, H. S.; GUARDIOLA, I.; CARBONELL, J. V.; ROSELL, C. M. Effect of cyclodextrinase on dough rheology and bread quality from rice flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington v. 51, n. 13, p. 3814-3818, 2003. PMID:12797748. <http://dx.doi.org/10.1021/jf034112w>
- GUJRAL, H. S.; ROSELL, C. M. 2004. Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase. **Journal of Cereal Science**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 225-230, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2003.10.004>
- KELLY, C. P.; FEIGHERY, C.; GALLAGHER, R. B.; WEIR, D. G. The diagnosis and treatment of gluten-sensitive enteropathy. **Advanced Internal Medicine**, v. 35, p. 341-364, 2004.
- KOTZE, S. L. M. Doença celíaca. **Jornal Brasileiro de Gastroenterologia**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 23-34, 2006.
- KRUPA-KOZAK, U.; WRONKOWSKA, M.; SORAL-SMIETANA, M. Effect of buckwheat flour on microelements and proteins contents in gluten-free bread. **Czech Journal of Food Sciences, Czech Republic**, v. 29, n. 2, p. 103-108, 2011.
- LARRE, C.; DENERY-PAPINI, S.; POPINEAU, Y.; DESHAYES, G.; DESSERME, C. Biochemical analysis and rheological properties of gluten modified by transglutaminase. **Cereal Chemistry**, Manhattan, v. 77, p. 121-127, 2000.
- MARCO, C.; PEREZ, G.; LEON, A. E.; ROSELL, C. M. Effect of transglutaminase on protein electrophoretic pattern of rice, soybean, and rice-soybean blends. **Cereal Chemistry**, Manhattan, v. 85, n. 1, p. 59-64, 2008. <http://dx.doi.org/10.1094/CHEM-85-1-0059>
- MEZAIZE, S.; CHEVALLIER, S.; LE BAIL, A.; DE LAMBALLERIE, M. Optimization of Gluten-Free Formulations for French-Style Breads. **Journal of Food Science**, Malden, v. 74, n. 3, p. 140-146, 2009. PMID:19397719. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01096.x>
- MINOLTA. **Precise Color Communication: Color Control form Feeling to Instrumentation**. Osaka: Minolta Camera Co. Ltd., 1993. 49 p.
- MONDRAGÓN, B. M. A. **Cultivo y uso del Alga Tecuitlatl (*Spirulina Maxima*), Estúdio Recapitulativo**. 1984. Tesis (Doctorado)-Universidad Nacional Autónoma de México, México, 1984.
- MOORE, M. M.; HEINBOCKEL, M.; DOCKERY, P.; ULMER, H. M.; ARENDT, E. K. Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. **Cereal Chemistry**, Manhattan, v. 83, n. 1, p. 28-36, 2006.
- MOORE, S.; SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H. Chromatography of amino acid on sulfonated polystyrene resins **Analytical**

Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*

FIGUEIRA, F. S. et al.

- Chemistry**, Oxford, v. 30, n. 7, p. 1185-1190, 1958. <http://dx.doi.org/10.1094/CC-83-0028>
- MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2006.
- MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; ANDRADE, M. R.; TEIXEIRA, G. G.; BRUSCH, L. R. F.; COSTA, J. A. V. Pilot scale semi continuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, Oxford, v. 294, n. 1-2, p. 60-64, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.05.009>
- MURRAY, J. A. The widening spectrum of celiac disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 69, n. 3, p. 354-365, 1999.
- NABESHIMA, E. H.; EL-DASH, A. A. Modificação química da farinha de arroz como alternativa para o aproveitamento dos subprodutos do beneficiamento do arroz. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 107-120, 2004.
- NISHITA, K. D.; ROBERTS, R. L.; BEAN, M. M. Development of yeast-leavened rice-bread formula. **Cereal Chemistry**, Manhattan, v. 53, n. 5, p. 626-635, 1976.
- NONAKA, M.; TANAKA, H.; OKIYAMA, A.; MOTOKI, M.; ANDO, H.; UMEDA, K.; MATSUURA, A. Polymerization of several proteins by Ca²⁺-independent transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, Bunkyo-ku, v. 53, n. 10, p. 2619-2623, 1989.
- PIZZINATO, A.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação Tecnológica de Produtos Derivados da Farinha de Trigo (Pão, Macarrão, Biscoitos)**. São Paulo: ITAL, 1993. Boletim ITAL.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology Biotechnology**, Heidelberg, v. 65, n. 6, p. 635-648, 2004. PMID:15300417. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x>
- RAMÍREZ-MORENO, L.; OLVERA-RAMÍREZ, R. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*arthrospira* sp.). **Interciência**, Caracas, v. 31, n. 9, p. 657-663, 2006.
- ROSELL, C. M.; COLLAR, C. Rice based products. In: **Handbook of food products manufacturing**. Ed. Hui, Y. H. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2007, p. 523-538. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470113554.ch22>
- SDEPANIAN, V. L.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES-NETO, U. Doença celíaca: avaliação da obediência à dieta isenta de glúten e do conhecimento da doença pelos pacientes cadastrados na Associação dos Celíacos do Brasil (ACELBRA). **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 232-239, 2001.
- SPACKMAN, D. H.; STEIN, W. H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 7, p. 1190-1206, 1963. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60139a006>
- TECHAWIPHARATA, J.; SUPHANTHARIKAA, M.; BEMILLER, J. N. Effects of cellulose derivatives and carrageenans on the pasting, paste, and gel properties of rice starches. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 417-426, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.12.019>
- WRONKOWSKA, M.; TROSYNSKA, A.; SORAL-SMIETANA, M.; WOLEJSZO, A. Effects of buckwheat flour (*Fagopyrum esculentum* Moench) on the quality of gluten-free bread. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, Olsztyn, v. 58, n. 2, p. 211-216, 2008.