

Aplicação de proteína de *Spirulina platensis* como emulsionante na elaboração de gelados

Paula Eduarda Madureira Castro de Paula

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar no âmbito da dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientado por

Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa

Professora Doutora Maria Filomena Filipe Barreiro

Professora Doutora Deisy Alessandra Drunkler

**Bragança
2023**

Este trabalho foi parcialmente financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) no âmbito do apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020 e UIDP/00690/2020) e SusTEC (LA/P/0007/2020) através de fundos nacionais FCT/MCTES (PIDDAC).



RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal desenvolver gelados utilizando emulsionantes à base de *Spirulina platensis* e avaliar suas propriedades físicas e sensoriais. Foram utilizados dois tipos de emulsionantes: biomassa de *Spirulina platensis* em pó e extrato proteico de *Spirulina*, tendo sido utilizado um emulsionante comercial como controle. Os gelados foram preparados com diferentes formulações (25, 50, 75 e 100% dos novos emulsionantes), levando em consideração o teor de proteína presente na biomassa e no concentrado proteico de *Spirulina*. As curvas de congelação dos gelados foram determinadas registrando-se a temperatura de congelação ao longo do tempo. As propriedades físicas dos gelados foram avaliadas através da análise da derretibilidade, do overrun (incorporação de ar) e da textura. A análise sensorial foi realizada com a participação de 50 provadores, os quais avaliaram a aparência geral, cor, textura, sabor e apreciação geral de três gelados (controle (gelado preparado com o emulsionante comercial), 100% biomassa e 100% concentrado proteico como emulsionantes) numa escala hedônica não estruturada. Os resultados demonstraram que as curvas de congelação dos vários gelados foram semelhantes. Pelo contrário, a adição de *Spirulina* (biomassa e concentrado proteico) afetou a cor dos gelados, mas não influenciou significativamente a derretibilidade e o overrun. Em termos de textura, avaliada por dois tipos de ensaio, medição da força de compressão, determinada durante o teste com a célula de corte *Knife Edge* (HDP/BS) (Lâmina Warner Bratzler), e da espalhabilidade (*spreadability*), verificou-se que os gelados com biomassa de *Spirulina* mostraram-se mais suaves e menos resistentes ao corte em comparação com o gelado controle. Pelo contrário, os gelados com concentrado proteico mostraram um comportamento mais variável em relação à textura. Em relação à análise sensorial, o gelado controle foi o melhor classificado em termos de aparência geral, sabor e apreciação geral. Pelo contrário, os provadores classificaram de forma idêntica os três gelados em relação à textura. O gelado controle foi o preferido por cerca de 43,8% dos provadores, seguido do gelado com o concentrado de *Spirulina* (31,3%). Em conclusão, os resultados obtidos fornecem informações importantes para o desenvolvimento futuro de gelados mais saudáveis e sustentáveis, atendendo às preferências dos consumidores.

Palavras-chave: *Spirulina platensis*; gelado; emulsionantes; propriedades físicas; análise sensorial.

ABSTRACT

The present work had as main objective to develop ice creams using emulsifiers based on *Spirulina platensis* and to evaluate their physical and sensory properties. Two emulsifiers were used: powdered *Spirulina platensis* biomass and *Spirulina* protein extract, using a commercial emulsifier as a control. The ice creams were prepared with different formulations (25, 50, 75 and 100% of the new emulsifiers), considering the protein content present in the biomass and in the *Spirulina* protein concentrate. The ice cream freezing curves were determined by recording the freezing temperature over time. The physical properties of the ice creams were evaluated through the analysis of meltability, overrun (incorporation of air) and texture. Sensory analysis was carried out with the participation of 50 tasters, who assessed the overall appearance, colour, texture, flavour and general appreciation of three ice creams (control (ice cream prepared with the commercial emulsifier), 100% biomass and 100% protein concentrate as emulsifiers) on an unstructured hedonic scale. The freezing curves of the various ice creams were similar. On the contrary, adding *Spirulina* (biomass and concentrated protein) affected the colour of the ice creams but did not significantly influence the meltability and overrun. In terms of texture, evaluated by two types of tests, measurement of the compressive strength, determined during the test with the Knife Edge (HDP/BS) cutting cell (Warner Bratzler blade), and the spreadability, it was found that the ice creams with *Spirulina* biomass were softer and less resistant to cutting compared to the control ice cream. On the contrary, ice creams with protein concentrate showed a more variable behaviour concerning texture. Concerning sensory analysis, the control ice cream was ranked the highest in overall appearance, flavour and general appreciation. On the contrary, the tasters identically classified the three ice creams in relation to texture. The control ice cream was preferred by about 43.8% of the tasters, followed by the ice cream with *Spirulina* concentrate (31.3%). In conclusion, the present results provide important information for the future development of healthier and more sustainable ice creams to meet consumer preferences.

Keywords: *Spirulina platensis*; ice cream; emulsifiers; physical properties; sensory analysis.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de dedicar este agradecimento especial a todas as pessoas que contribuíram para a realização desta tese de mestrado, pois sem o apoio, orientação e incentivo de cada um de vocês, esta conquista não seria possível.

Primeiramente, agradeço a Deus por guiar meus passos e iluminar meu caminho ao longo desta jornada. Sua presença constante foi minha fonte de força e inspiração, sustentando-me nos momentos mais desafiadores e fortalecendo minha fé.

À minha amada família, expresso minha gratidão por todo o amor, apoio e compreensão que vocês me proporcionaram. Suas palavras de incentivo e encorajamento foram meu combustível para perseverar diante dos obstáculos. Agradeço por sempre acreditarem em mim e me lembrarem da importância deste momento em minha vida.

A Professora Elsa Ramalhosa, minha orientadora, a Professora Filomena Barreiro, minha coorientadora, e a Professora Deisy Drunkler, minha orientadora do Brasil, minha profunda gratidão por seus ensinamentos, orientações e dedicação ao longo desta jornada acadêmica. Suas contribuições foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para minha formação como pesquisadora. Agradeço por compartilharem seu conhecimento, paciência e por acreditarem em meu potencial.

Expresso minha profunda gratidão ao Professor Pedro João pelo auxílio com os sensores de temperatura. Sua experiência e conhecimento técnico foram essenciais para a implementação bem-sucedida dessa parte do projeto. Além disso, desejo agradecer à Samara por sua ajuda na obtenção da *Spirulina*, um elemento fundamental para a realização desta pesquisa.

Além disso, quero estender um agradecimento especial à empresa Algikey - Algae-based Solutions S.A por sua generosa doação da biomassa e concentrado proteico de *Spirulina*, que tiveram um papel crucial no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Heitor, meu namorado, expresso minha profunda gratidão por sua compreensão e apoio durante toda a jornada de pesquisa. Sua paciência, carinho e compreensão pela minha ausência e pela distância foram essenciais para minha motivação e bem-estar emocional. Sou grata por ter você ao meu lado, compartilhando as alegrias e desafios desta caminhada.

Aos amigos que caminharam comigo em Medianeira e Bragança, minha gratidão por estarem presentes em minha vida. Suas palavras de incentivo, momentos de descontração e apoio mútuo foram fundamentais para meu equilíbrio emocional e fortalecimento ao longo dessa jornada acadêmica.

Agradeço a cada pessoa que, de alguma forma, contribuiu para o sucesso deste trabalho. Seja através de palavras encorajadoras, apoio técnico ou simplesmente por estarem presentes em minha vida, cada um de vocês teve um papel significativo nesta conquista.

Em suma, meu sincero agradecimento a Deus, à minha família, às Professoras Elsa, Filomena e Deisy, ao Professor Pedro João, à Samara, ao meu namorado e aos amigos que estiveram ao meu lado. Sou grata por todo o apoio, incentivo e contribuições valiosas. Esta conquista é nossa!

ÍNDICE GERAL

1.	Motivação e objetivos	1
1.1	Objetivo geral.....	2
1.2	Objetivos específicos	2
2.	Revisão bibliográfica.....	4
2.1	Microalgas	4
2.1.1	<i>Spirulina platensis</i>	5
2.2.	Tecnologia de produção de gelado	9
2.3	Emulsionantes	10
3.	Materiais e métodos	13
3.1	Emulsionantes utilizados no presente trabalho	13
3.2	Elaboração dos gelados com os emulsionantes à base de <i>Spirulina platensis</i>	13
3.3	Determinação do teor de proteína na biomassa e concentrado proteico da <i>Spirulina platensis</i>	14
3.4	Determinação das curvas de congelação dos gelados	15
3.5	Caracterização física dos gelados.....	15
3.5.1	Avaliação da derretibilidade, <i>overrun</i> e textura	15
3.5.2	Análise da cor.....	17
3.6	Análise Sensorial.....	17
3.7	Análise Estatística	18
4.	Resultados e Discussão.....	19
4.1	Curvas de congelação	19
4.2	Derretibilidade	23
4.3	Overrun.....	24
4.4	Cor	26

4.5 Textura.....	27
4.5.1 Dureza avaliada com a célula de corte <i>Knife Edge</i> (HDP/BS)	27
4.5.2 Análise à Espalhabilidade (<i>Spreadability</i>).....	29
4.6 Análise Sensorial.....	30
5. Conclusões Finais.....	33
Referências bibliográficas	34
Anexo I.....	40

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Teores de carboidratos, proteínas e lípidos em microalgas	5
Tabela 2 - <i>Spirulina platensis</i> como emulsionante em diferentes produtos alimentares.	7
Tabela 3-Emulsionantes utilizados em formulações de gelados	11
Tabela 4 - Formulações dos gelados com biomassa de <i>Spirulina platensis</i>	13
Tabela 5 - Formulações dos gelados com concentrado proteico de <i>Spirulina platensis</i>	14
Tabela 6 – Equações das retas, intervalos de confiança (IC) do declive e ordenada da origem, e coeficientes de determinação (R^2) determinados para o período I da curva de congelação dos gelados elaborados no presente trabalho.	21
Tabela 7 - Equações das retas, IC do declive e ordenada da origem, e coeficientes de determinação (R^2) determinados para o período III da curva de congelação dos gelados elaborados no presente trabalho.....	22
Tabela 8 – Equações das retas, IC do declive e ordenada da origem, e coeficientes de determinação (R^2) determinados para a derretibilidade dos gelados elaborados no presente trabalho.....	24
Tabela 9 – Parâmetros de cor CIELab dos gelados produzidos com biomassa e concentrado proteico na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100%.	26
Tabela 10 – Resultados referentes à análise de textura dos gelados com biomassa e concentrado na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100% determinada pelo teste da espalhabilidade.	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Spirulina platensis</i> (Fonte: Borowitzka, 2018).	6
Figura 2 - Sensores de temperatura colocados nos gelados com 25% de biomassa.	15
Figura 3 – Avaliação da derretibilidade dos gelados.	16
Figura 4 – Avaliação da textura dos gelados através do teste com a célula de corte <i>Knife Edge</i> (HDP/BS) (A) e o acessório <i>TTC Spreadability Rig</i> (HDP/SR) (B).	17
Figura 5 - Curva de congelação dos gelados na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100%: A) Produzidos com biomassa; B) Produzidos com concentrado proteico.	20
Figura 6 – Curva de congelação da água pura (Adaptado de: Ordóñez <i>et al.</i> , 2005).	21
Figura 7 - Curvas de derretibilidade dos gelados produzidos com biomassa e concentrado proteico na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100%.	23
Figura 8 - Overrun dos gelados produzidos com biomassa e concentrado proteico na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100% (Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$)).	25
Figura 9 - Dureza dos gelados com biomassa e concentrado na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100% determinada pelo teste de corte (Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$)).	28
Figura 10 - Análise sensorial aos gelados controlo e com biomassa e concentrado proteico de <i>Spirulina</i> na proporção de 100% (Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$)).	31
Figura 11 - Percentagem de preferência dos gelados controlo e com biomassa e concentrado proteico de <i>Spirulina</i> na proporção de 100%.	32

1. Motivação e objetivos

As microalgas têm sido amplamente estudadas por apresentarem elevado valor proteico (50–70%), aminoácidos essenciais, vitaminas (especialmente B12), sais minerais, pigmentos (carotenóides, ficocianinas e clorofilas), ácidos gordos polinsaturados, incluindo os ácidos gordos ómega-3, e outros compostos biologicamente ativos (Borowitzka, 2018). Entre as várias microalgas existentes, destaca-se a *Spirulina platensis*, que apesar de ser usada como componente alimentar há alguns séculos, começando pelos povos indígenas, teve o cultivo para fins alimentares desenvolvido há apenas algumas décadas (Lupatini et al., 2016). Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de utilizar tanto a sua biomassa integral na aplicação de produtos alimentares bem como as proteínas extraídas desta alga e, neste caso, em número menos significativo (Lupatini, 2016).

Resultado da grande preocupação da população por alimentos mais saudáveis, as pesquisas por alternativas naturais visando substituir os aditivos sintéticos utilizados na indústria alimentar têm aumentado. Entre os alimentos focados na Norma Portuguesa NP 3293 de 2008 do Instituto Português de Qualidade, os gelados são definidos como um género alimentar obtido por congelação, e mantido nesse estado até ao momento de ser ingerido pelo consumidor. Na sua composição podem entrar todos os ingredientes alimentares, bem como os aditivos previstos pela legislação em vigor, nomeadamente misturas de matérias gordas e substâncias proteicas, com ou sem adição de outros ingredientes alimentares, ou uma mistura de água, açúcar e outros ingredientes alimentares. Os gelados precisam de ter ingredientes que lhes confira algum equilíbrio, sendo que entre estes os emulsionantes ocupam um papel importante, sendo adicionados para suavizar a textura e a homogeneizar a distribuição das células de ar, não podendo ser usado mais do que 0,2% com base no seu peso para não causar um derretimento mais lento ou defeitos na textura (Syed et al., 2018). Segundo o Regulamento (CE) N.º 1333/2008, emulsionantes são *substâncias que tornam possível a formação ou a manutenção de uma mistura homogénea de duas ou mais fases imiscíveis, como óleo e água, nos géneros alimentícios*.

Neste contexto, os gelados, alimento amplamente consumido por todas as faixas etárias, usam na sua produção uma série de aditivos referidos na legislação, tais como corantes, aromatizantes, estabilizantes, emulsionantes, entre outros. O papel dos emulsionantes nos gelados é de produzir uma sensação de maior maciez ao paladar e produzir um derretimento mais lento. Com a sua adição é obtida uma textura espumosa, acarretando uma certa firmeza

no produto final. Procurar alternativas para a produção de formulações de gelados mais saudáveis, nomeadamente pela substituição dos emulsionantes usados, é, assim, um tema de estudo de elevado interesse.

As microalgas, em especial a *Spirulina*, têm chamado a atenção dos investigadores pela sua composição, em especial, pelo seu teor de proteína. As proteínas são importantes agentes emulsionantes e vários estudos apontam que as extraídas de microalgas podem ser empregues como agentes emulsionantes (Lupatini, 2016). No entanto, há uma tendência atual para a utilização da biomassa integral da microalga e não apenas uma fração desta, uma vez que a mesma apresenta outros compostos que poderiam auxiliar na capacidade emulsionante. Adicionalmente, numa perspetiva de bioeconomia e sustentabilidade, a utilização da biomassa integral é também mais atrativa, evitando a geração de resíduos.

Com a procura de um estilo de vida mais saudável, a preferência por aditivos naturais é grande, motivando a realização de trabalhos de pesquisa nesta área que assumem cada vez mais relevância. Com o intuito de se obter mais conhecimento neste tema, a utilização da *Spirulina platensis*, quer na forma de biomassa (mais atrativa do ponto de vista de sustentabilidade), quer na forma de proteína extraída da biomassa (potencialmente mais eficiente), como emulsionante na preparação de gelados, será estudada em alternativa aos emulsionantes sintéticos, correntemente utilizados nas formulações de gelados comerciais.

1.1 Objetivo geral

Comparar o efeito da utilização da biomassa e do concentrado proteico da microalga *Spirulina platensis* nas características físico-químicas e sensoriais de gelados, utilizando como referência uma formulação comercial.

1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do presente trabalho são os seguintes:

- Elaborar gelados com e sem adição de biomassa ou concentrado proteico em diferentes proporções;
- Determinar a curva de congelação de cada formulação;
- Realizar as análises de cor, dureza, derretibilidade e *overrun*, bem como avaliar a aparência visual;

— Determinar a aceitabilidade sensorial das formulações de gelados mais promissoras obtidos nos ensaios anteriores.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Microalgas

Segundo Andrade e Costa (2008), as microalgas são microrganismos eucariontes, fotossintéticos, com requerimentos nutricionais simples. Desenvolvem-se em meio líquido, multiplicando-se rapidamente, libertando oxigênio e produzindo biomassa, rica em compostos biologicamente ativos. As suas taxas de crescimento de biomassa são elevadas, fornecendo benefícios técnicos e comerciais relevantes (Chronakis *et al.*, 2000). Além de sua importância nutricional, as microalgas possuem uma grande quantidade de biopolímeros estruturais, tais como proteínas e carboidratos, que são de grande interesse para aplicação em produtos alimentares, devido às suas funcionalidades tecnológicas, como potencial estabilizante, corante e emulsionante (Bernaerts *et al.*, 2019).

De acordo com Saranraj e Sivasakthi (2014), as microalgas azul-esverdeadas (cianobactérias) são uma das mais primitivas formas de vida na terra. As suas estruturas celulares são simples e, tal como as plantas, têm a capacidade de realizar a fotossíntese. Zahra *et al.* (2020) afirmam que as microalgas foram os primeiros microrganismos fotossintéticos que contribuíram para a oxigenação da terra.

As microalgas possuem características únicas que as tornam excelentes sistemas de modificação genética para sintetizar e acumular produtos não nativos, como a *Dunaliella salina*, *Chlorella*, *Chlamydomonas* e *Phaeodactylum sp.*, já que os seus genomas foram totalmente sequenciados. Nos últimos anos, as biotecnologias de cultivo, colheita e extração de microalgas aumentaram rapidamente. Hoje, as microalgas são já cultivadas comercialmente para produzir suplementos alimentares saudáveis, produtos farmacêuticos, cosméticos, lubrificantes, rações para a aquicultura, agricultura e em muitas outras aplicações (Levasseur *et al.*, 2020).

As microalgas apresentam na sua constituição concentrações de lípidos que servem de matéria-prima para a produção de cosméticos, medicamentos, detergentes, borracha, aditivos alimentares e tecidos. O consumo de ômega-3 das microalgas é benéfico, podendo prevenir problemas coronários, diabetes, artrite, asma, depressão e esquizofrenia (Bertoldi, 2017).

Os carboidratos são encontrados nas microalgas na sua parede celular e no citoplasma, onde também se armazenam polissacarídeos. Algumas espécies de cianobactérias estão envoltas por um material polimérico, correspondendo, maioritariamente, a polissacarídeos que conferem

uma camada protetora à célula. O potencial biotecnológico deste polímero tem atraído cada vez mais atenção de indústrias farmacêuticas, de bioplásticos e alimentares (Khanra *et al.*, 2018).

Na Tabela 1 encontram-se indicados os teores de carboidratos, proteínas e lípidos característicos de algumas microalgas.

Tabela 1 -Teores de carboidratos, proteínas e lípidos em microalgas

Microalga	Proteína (%)	Carboidratos (%)	Lípidos (%)
<i>Spirulina platensis</i>	50 – 65	8 – 14	4 – 9
<i>Chlorella sp.</i>	51 – 58	12 – 17	14 – 22
<i>S. maxima</i>	60 – 71	13 – 16	6 – 7
<i>Dunaliella sp.</i>	49 – 57	4 – 32	6 – 8
<i>Ulva lactuca</i>	6 – 10	46 – 72	0,5 – 4

Fonte: Adaptado de Sarkar *et al.*, 2022

Apesar do grande número de espécies de microalgas na natureza, o qual foi estimado entre centenas de milhares e vários milhões de espécies existentes (Norton *et al.*, 1996), onde aproximadamente 73 000 espécies foram isoladas e publicadas ou estão sendo processadas para classificação (Guiry, 2012), apenas uma fração pequena de espécies são usadas em aplicações industriais. Entre estas espécies de algas encontram-se a *Spirulina* e a *Chlorella*, que lideram o mercado mundial de microalgas para aplicações em nutrição e alimentos para a área da saúde (Koyande *et al.*, 2019).

Segundo Becker (2007) e Spolaore *et al.* (2006), apesar do valor nutritivo elevado, as microalgas ainda não são muito utilizadas como alimento, devido à sua coloração e odor, limitando a sua incorporação em alimentos convencionais. Porém, as microalgas podem ser encontradas em mercados de alimentos saudáveis, geralmente na forma de comprimidos e cápsulas.

2.1.1 *Spirulina platensis*

Segundo Saranraj e Sivasakthi (2014), uma das tendências da biotecnologia é o uso da microalga *Spirulina platensis* que tem sido utilizada como aditivo em alimentos e rações na agricultura, indústria alimentar, produtos farmacêuticos, perfumes, entre outros. A *Spirulina*

platensis pertence à classe Cyanophyceae e à família Microcoleaceae (Guiry, 2010). É uma microalga de cor verde-azulada com alto teor proteico e valor nutritivo devido à sua composição em aminoácidos, além de altas concentrações de vitaminas, ácidos gordos essenciais e minerais. É muito utilizada como complemento alimentar devido à sua alta concentração de nutrientes (Andrade & Costa, 2008).

A sua forma é em espiral (Figura 1) e as suas dimensões variam mesmo entre as da mesma espécie. Os seus filamentos são compostos de células cilíndricas dispostas em tricomas helicoidais não ramificados. O tricoma pode variar de 6 a 12 μm e o diâmetro da hélice de 30 a 70 μm . A reprodução da *Spirulina* ocorre por fissão binária transversal, pela formação do tricoma que se destaca e origina um novo filamento (Vonshak, 1997).

Conforme Saranraj e Sivasakthi (2014), esta microalga cresce naturalmente nas águas alcalinas dos lagos de regiões quentes, apresentando cerca de 0,1 mm de diâmetro, exibindo-se geralmente na forma de minúsculos filamentos verdes enrolados em espiral. A incidência de luz solar, altas temperaturas, presença de águas salinas e condições alcalinas, são fatores que favorecem o crescimento da *Spirulina* (Wan *et al.*, 2016).

Segundo Zahra *et al.* (2020), a *Spirulina* em pó consiste em 24% de carboidratos, 51–71% de proteína, 8% de gordura e 5% de água, sendo uma fonte rica em nutrientes essenciais, como o ferro e a vitamina B12.



Figura 1 - *Spirulina platensis* (Fonte: Borowitzka, 2018).

Esta microalga foi a primeira cianobactéria a ser cultivada comercialmente com biotecnologia moderna. A primeira unidade de produção comercial da *Spirulina* foi estabelecida no final dos

anos 1970, sendo que a produção mundial anual de biomassa, em 2000, foi estimada em cerca de 2000 toneladas. A biomassa de *Spirulina* é comercializada mundialmente, estando a sua maior produção localizada na região da Ásia (Hu, 2004).

A *Spirulina* tem sido utilizada para a extração de ficocianina, que é um pigmento azul, a partir do qual se desenvolveu um dos corantes azuis natural a ser utilizado na indústria alimentar (Böcker *et al.*, 2020). A ficocianina foi utilizada em iogurtes pela sua propriedade antibacteriana, e também por modificar as suas propriedades físico-químicas. Neste estudo foi possível observar um aumento da firmeza, estabilidade da cor e ausência de crescimento de microrganismos patogénicos (Mohammadi-Gouraji *et al.*, 2019).

Outros estudos compreendem a avaliação do concentrado proteico como emulsionante. No trabalho de Böcker *et al.* (2020), a interação do isolado proteico da *Spirulina* com a interface óleo-água, para analisar o seu potencial como emulsionante e agente de formação de espuma, foi efetuado. Law *et al.* (2018) identificaram que não apenas o isolado proteico poderia ser usado como emulsionante, mas também a biomassa da *Spirulina*, sendo esta destacada como um bioemulsionante. De acordo com Malik *et al.* (2013), para não ocorrer alteração dos atributos sensoriais do produto, a *Spirulina* em pó só pode ser utilizada na concentração máxima de 0,15% para substituir 50% do estabilizante na preparação de um gelado.

Na Tabela 2 encontram-se descritos os resultados de alguns trabalhos que utilizaram a *Spirulina platensis* e/ou o seu concentrado proteico como emulsionantes.

Tabela 2 - *Spirulina platensis* como emulsionante em diferentes produtos alimentares.

<i>Spirulina platensis</i> (Forma utilizada)	Produto alimentar	Quantidade aplicada	Parâmetros avaliados no produto alimentar	Referência
Extrato de Ficocianina	Gelado	0,52g/64,5 mL de água	Análise sensorial e análises físico-químicas	Vendruscolo <i>et al.</i> , 2020
Biomassa	Gelado	7,7g/770g de gelado	Análises físico-químicas e análise sensorial	Tiepo <i>et al.</i> , 2021
Microesferas		30,8g/770g de gelado		
Biomassa	Linguças frescas	6,25g/Kg de produto	Análises físico-químicas e análise sensorial	Rodrigues <i>et al.</i> , 2013

Biomassa	Massa de macarrão	5, 10 e 20g/ 100g de farinha de trigo	Parâmetros de cozimento, análise de textura, microscopia e qualidades nutricionais	De Marco <i>et al.</i> , 2014
----------	-------------------	---------------------------------------	--	-------------------------------

Os resultados físico-químicos e sensoriais permitem afirmar que o desenvolvimento de gelados artesanais com *Spirulina* pode ser realizado sem influenciar o potencial antioxidante da microalga e os parâmetros de qualidade, aumentando ainda mais o valor nutricional, por meio do aumento do teor de proteínas. Apesar de uma ligeira redução na aceitabilidade da formulação com *Spirulina*, o perfil sensorial obtido mostra que o consumidor está cada vez mais adaptado ao consumo de produtos verdes e saudáveis (Tiepo *et al.*, 2021).

Segundo Vendruscolo *et al.* (2020), o extrato de ficocianina obtido da *Spirulina* apresentou propriedades emulsionantes e estabilizantes efetivas, proporcionando a obtenção de um produto com boa qualidade para consumo. No seu estudo desenvolveram uma nova aplicação para a ficocianina extraída de microalgas, que é normalmente usada como corante em produtos alimentares. Neste estudo mostraram que a ficocianina pode substituir agentes estabilizantes e emulsionantes em produtos que requerem algum tipo de estabilização.

Conforme Rodrigues *et al.* (2013), a *Spirulina platensis* mostrou atividade antioxidante, mantendo resultados próximos aos obtidos com a formulação padrão. Visualmente e em medidas efetuadas num texturómetro, a massa da linguiça com *Spirulina* apresentou-se mais granulosa. Porém esse facto não interferiu no resultado positivo do teste de aceitabilidade no que se refere à textura. Outros atributos como o aroma e sabor apresentaram também aceitabilidade acima de 70%. Adicionalmente, não foram observadas diferenças significativas entre as formulações com polifosfato ou *Spirulina* no teste de preferência pareada.

Já para De Marco *et al.* (2014), a incorporação da *Spirulina* na formulação de massas alimentares não aumentou o teor de proteína digerida, como seria esperado. Devido à baixa digestibilidade encontrada, o facto da cianobactéria possuir inúmeros compostos bioativos, como compostos fenólicos, que poderiam melhorar o perfil nutricional do produto, tal não foi observado. Pelo contrário, a massa com microalgas, em todos os níveis de incorporação, exibiu maior atividade antioxidante do que a amostra controle. Adicionalmente, a estrutura da massa não foi muito afetada pela adição de *Spirulina* e as alterações realizadas não modificaram o índice glicémico estimado.

2.2. Tecnologia de produção de gelado

Souza *et al.* (2010) reportam que o gelado é fabricado a partir de uma emulsão estabilizada, também chamada de calda, pasteurizada, que através de um processo de congelação com agitação contínua e incorporação de ar, produz uma substância cremosa, suave e agradável ao paladar. Contudo, noutros métodos de fabrico de gelados, principalmente em situações de menor escala, a agitação contínua não é sempre utilizada. Esta emulsão é composta por produtos lácteos, água, gordura, açúcar, estabilizantes, emulsionantes, corantes e/ou aromatizantes. O gelado é rico em vitaminas, cálcio, fósforo e outros minerais, sendo considerado um alimento completo e de alto valor do ponto de vista nutricional (Souza *et al.*, 2010).

Segundo Alvarez *et al.* (2005), o gelado é um dos derivados lácteos mais apreciado pela população, sendo que em 2005, a sua média de consumo no Brasil foi de 4,7 litros per capita (ABIA, 2006). Em 2020, a ABIA (2020) também observou que o consumo de gelado per capita no Brasil foi de 5,4 litros por ano, nos Estados Unidos foi de 20,8 litros e na Nova Zelândia, o consumo per capita de gelado foi em torno de 28,3 litros.

O conhecimento da composição e do processamento do gelado é importante, por interferir nas características físicas do produto final, uma vez que estas estão relacionadas com o processo que pode influenciar o estado de agregação dos glóbulos de gordura, a quantidade de ar incorporada, o tamanho das bolhas de ar e o tamanho e estado de agregação dos cristais de gelo (Dickinson & Stainsby, 1982).

Com o aumento do consumo de produtos com menor teor em carboidratos e lípidos, a indústria alimentar viu-se obrigada a procurar substitutos para estes componentes, para manter as características sensoriais dos seus produtos (Nabeshima *et al.*, 2001). Segundo o Regulamento (CE) N.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro de 2008 relativo aos aditivos alimentares, com as modificações realizadas em 2022, nos sorvetes¹ (produtos incluídos na Categoria 3), os emulsionantes que podem ser adicionados são os seguintes:

- Ácido fosfórico – fosfatos – di, tri e polifosfatos (E 338-452);
- Alginato de propilenoglicol (E 405) (unicamente sorvetes à base de água);
- Goma de cássia (E 427); Polissorbatos (E 432-436);
- Ésteres de sacarose de ácidos gordos – sacaroglicéridos (E 473-474);

¹ De referir que sorvete, segundo a NP 3293 de 2008, é definido como sendo um gelado de frutas *ao qual não é adicionada qualquer gordura e que contém, no mínimo 25% de frutas. Este teor pode ser inferior consoante os frutos utilizados, tal como indicado na NP 3293 de 2008.*

- Ésteres de propilenoglicol de ácidos gordos (E 477);
- Ésteres de sorbitano (E491-495).

De referir que no Regulamento (CE) N.º 1333/2008 não são indicados gelados, só sorvetes. Se os gelados forem incluídos nas sobremesas, relativas à Categoria 16, os emulsionantes acima indicados também são autorizados, bem como os abaixo referidos:

- Goma *karaya* (E 416);
- Ésteres de poliglicerol de ácidos gordos (E 475);
- Estearoil-2-lactilatos (E 481-482);
- Tartarato de estearilo (E 483).

2.3 Emulsionantes

Os agentes emulsionantes são muito usados na indústria alimentar, principalmente na produção de molhos e cremes. Segundo Guzey e McClements (2006), as emulsões são formadas por meio de agentes emulsionantes que contribuem para a homogeneização de duas fases (ex. óleo e água). Estes agentes são adsorvidos na interface reduzindo a tensão superficial. Estas emulsões podem, por exemplo, ser estabilizadas por proteínas. Estas possuem capacidade de formar uma membrana interfacial e causar interações repulsivas, sendo de grande importância para estabilizar as gotículas de óleo, impedindo a sua coalescência durante o armazenamento do produto (McClements, 2004).

A eficácia da aplicação de um emulsionante inclui características como a quantidade mínima necessária para produzir uma emulsão estável (adição de agentes surfactantes), a capacidade de produzir pequenas gotas durante a homogeneização (aplicação de energia mecânica) e a capacidade de impedir que estas gotas se agreguem com o tempo (estabilidade). Inclui também a estabilidade a condições externas como pH, força iónica, tipo de óleo, interações entre os ingredientes, temperatura, agitação mecânica e o alimento no qual o emulsionante é introduzido, influenciando diretamente nas características da emulsão (McClements, 2015).

Atualmente ainda são muito utilizados os emulsionantes sintéticos, como os ésteres de sacarose e ésteres de sorbitano. No entanto, a população tem preferência por alimentos mais naturais e assim os fabricantes têm procurado ingredientes alternativos. Neste contexto, fontes de proteína animal, tal como leite (proteínas do soro e caseínas) ou ovos, são comumente utilizadas, porém, estas causam um elevado impacto na produção de dióxido de carbono. As proteínas vegetais,

devido às menores emissões associadas, são consideradas fontes mais sustentáveis, sendo uma boa alternativa às de origem animal (Poore & Nemecek, 2018; Van Der Goot *et al.*, 2016).

Entre outras alternativas, as microalgas surgem como uma possibilidade a explorar, uma vez que possuem proteínas. Benelhadj *et al.* (2016) estudaram as suas propriedades emulsionantes, tendo verificado que as mesmas são minimizadas no pH próximo ao ponto isoelétrico. Nestas condições existe uma menor estabilização da interface óleo/água e menor solubilidade das proteínas, levando à diminuição da capacidade de formação de emulsão.

É evidente que as propriedades funcionais das proteínas das microalgas, nomeadamente a capacidade emulsionante, são importantes do ponto de vista tecnológico. No entanto, não existem metodologias oficiais das condições ideais de produção de emulsões estabilizadas por proteínas de microalgas.

Em relação aos gelados, que consistem numa emulsão, no seu fabrico têm sido utilizados diferentes emulsionantes, tais como os indicados na Tabela 3.

Tabela 3-Emulsionantes utilizados em formulações de gelados

Ingredientes	Emulsionantes utilizados	Referência
Gordura do leite, sacarose, xarope de milho, estabilizantes	Monoglicérideos e diglicérideos	Pereira <i>et al.</i> , 2011
Proteína, sacarose, xarope de milho, leite em pó	Goma guar, monoglicérideos e diglicérideos	Segall, 2003
Água, leite em pó, açúcar, glicose, gordura vegetal	Extrato de ficocianina	Vendruscolo <i>et al.</i> , 2020
Sacarose, leite, estabilizante e polpa de abacaxi	Goma xantana	Guedes <i>et al.</i> , 2018
Leite, açúcar, xarope de milho, natas, aroma de baunilha, leite em pó	Monoglicérideos e diglicérideos, goma cássia, goma tara e goma guar	Pinto & Souza, 2015

Segundo a ASAE — Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (2023), existem 61 tipos diferentes de emulsionantes, estabilizantes, espessantes e gelificantes. Entre eles os mais usados são os mono e diglicéridos de ácidos gordos, gomas guar, xantana e arábica. Os mono e diglicéridos são produtos formados da hidrólise das gorduras, sendo preparados quimicamente. A goma guar é um polissacarídeo do tipo galactomanana, extraído de sementes de leguminosas

do género *Cyamopsis*, nativas da Índia. A goma arábica é um polissacarídeo complexo excretado pela casca de acácias africanas e a goma xantana é um polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris* durante o processo fermentativo de hidratos de carbono.

De forma a tentar substituir os emulsionantes sintéticos por um produto natural, no presente trabalho pretende-se avaliar a capacidade emulsionante da biomassa e de um concentrado proteico da alga *Spirulina platensis* ao nível da produção de gelados.

3. Materiais e métodos

3.1 Emulsionantes utilizados no presente trabalho

Para a realização do presente estudo foi utilizada a biomassa de *Spirulina platensis* (em pó) e o extrato proteico de *Spirulina*, como concentrado proteico, fornecidos pela empresa Algikey – Algae Based Solutions S.A. (Póvoa de Santa Iria, Portugal), para serem incorporados nos gelados. De referir que no controlo foi aplicado um emulsionante comercial, designadamente o produto intitulado “Emustab” da Selecta, que consiste num emulsionante e estabilizante neutro para gelados, pães e bolos do fabricante “Duas Rodas Industrial Ltda”, do Brasil.

3.2 Elaboração dos gelados com os emulsionantes à base de *Spirulina platensis*

Foram preparadas diferentes formulações de gelado, tal como indicado na Tabela 4. Os ensaios foram sempre realizados em triplicado.

Tabela 4 - Formulações dos gelados com biomassa de *Spirulina platensis*.

	Leite Gordo (mL)	Açúcar (g)	Estabilizante ¹ (g)	Emulsionante ² (g)	Biomassa (g)
Controle	300	75	3	3,000	0
25% Biomassa	300	75	3	2,244	0,744
50% Biomassa	300	75	3	1,500	1,500
75% Biomassa	300	75	3	0,744	2,244
100% Biomassa	300	75	3	0	3,000

¹Estabilizante: corresponde ao produto intitulado “Super Liga Neutra” da Selecta, que consiste num estabilizante em pó para gelados comestíveis do fabricante “Duas Rodas Industrial Ltda”, do Brasil.

²Emulsionante: corresponde ao produto intitulado “Emustab” da Selecta, que consiste num emulsionante e estabilizante neutro para gelados, pães e bolos do fabricante “Duas Rodas Industrial Ltda”, do Brasil.

Para definir a quantidade de concentrado proteico a adicionar aos gelados, foram tidas em conta a percentagem de proteína presente na biomassa e no concentrado proteico, de forma que as formulações com concentrado proteico ficassem com os mesmos teores de proteína do que as preparadas com biomassa.

Como o teor de proteína determinado na biomassa foi de 68,1% e no concentrado foi de 90,5%, os gelados preparados com o concentrado de *Spirulina* apresentaram as composições indicadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Formulações dos gelados com concentrado proteico de *Spirulina platensis*.

	Leite Gordo (mL)	Açúcar (g)	Estabilizante (g)	Emulsionante (g)	Concentrado (g)
Controle	300	75	3	3,000	0
25% Concentrado	300	75	3	2,244	0,565
50% Concentrado	300	75	3	1,500	1,130
75% Concentrado	300	75	3	0,744	1,690
100% Concentrado	300	75	3	0	2,260

O modo de preparação seguiu as indicações do produto comercial. Em síntese, todos os ingredientes, exceto o emulsionante, foram misturados num liquidificador por 3 minutos, sendo posteriormente colocados numa arca congeladora horizontal, onde ficaram por 3 horas. Em seguida, foi adicionado o emulsionante e a mistura novamente colocada no liquidificador, tendo sido misturada por mais 5 minutos. Após esse período, a mistura foi transferida para um recipiente plástico, ao qual estava adaptado um sensor de temperatura. Os recipientes plásticos foram novamente colocados na arca congeladora para que o processo de congelação ocorresse.

3.3 Determinação do teor de proteína na biomassa e concentrado proteico da *Spirulina platensis*

Para determinar o teor de proteína na biomassa e concentrado proteico da *Spirulina platensis*, usou-se o método de Kjeldahl. Este método é o descrito na Norma Portuguesa NP EN ISO 5983-1:2007 e no Método AOAC nº 920.87 (1995). Ambas as amostras foram analisadas em triplicado, sendo em simultâneo realizado um branco. Pesaram-se 0,25 g de amostra para um tubo de Kjeldahl e juntaram-se duas pastilhas catalisadoras (Kjeltabs) com uma composição de 3,5 g de sulfato de potássio e a mesma quantidade de selénio. O passo seguinte consistiu em adicionar 15 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado e colocaram-se os tubos a digerir num bloco digestor a 420 °C, durante 70 minutos. No final, após a digestão estar completa e as

amostras terem arrefecido, colocaram-se os tubos no analisador de Kjeldahl da Velp Scientifica UDK 152, fazendo-se a destilação e titulação, obtendo-se assim o teor de azoto. O teor de proteína obteve-se multiplicando a percentagem de azoto total pelo fator de 6,25. Os resultados foram expressos em percentagem de proteína presente em cada amostra.

3.4 Determinação das curvas de congelação dos gelados

Para a determinação das curvas de congelação dos gelados foram utilizados os sensores de temperatura mostrados na Figura 2. Por intermédio destes, a evolução da temperatura dos gelados foi registada a cada minuto, tendo os dados sido gravados num ficheiro do Google Drive. Os dados foram utilizados para produzir os perfis de congelação para cada formulação. Contudo, como a quantidade de dados para o tempo de amostragem de 1 minuto originava curvas em que era difícil distinguir as barras de erro, optou-se por representar os pontos experimentais a cada 30 minutos.



Figura 2 - Sensores de temperatura colocados nos gelados com 25% de biomassa.

3.5 Caracterização física dos gelados

3.5.1 Avaliação da derretibilidade, *overrun* e textura

Os testes para determinar a derretibilidade ou taxa de derretimento foram realizados numa estufa à temperatura controlada de 25 °C. Amostras de 50 gramas de gelado foram transferidas para uma peneira de plástico e posicionadas sobre um funil de vidro acoplado a uma proveta de 100 ml (Figura 3). Os volumes de gelado escoados para a proveta foram registados a cada 10 minutos (Pinto & Souza, 2015).

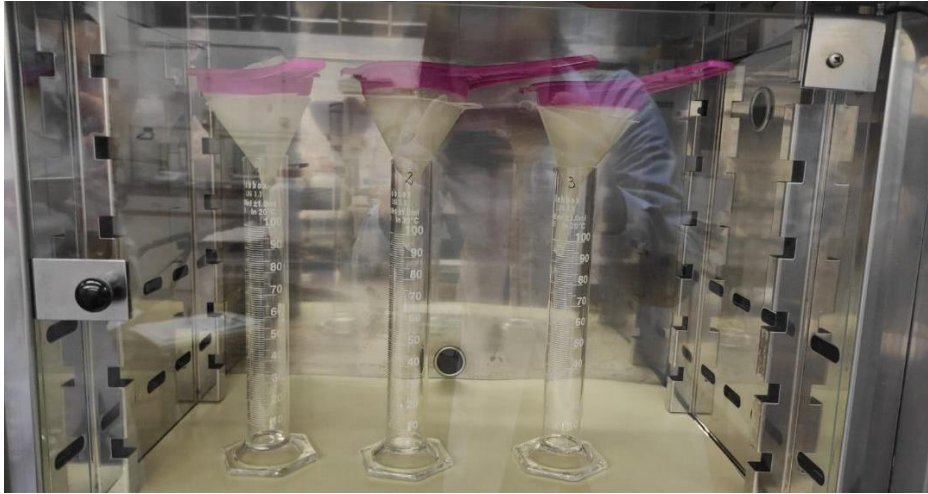


Figura 3 – Avaliação da derretibilidade dos gelados.

O *overrun* (incorporação de ar) foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$\text{Overrun (\%)} = \frac{(V_{\text{final}} - V_{\text{inicial}})}{V_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

V_{final} é o volume do produto após ter sido “batido” na misturadora, incorporando ar, e V_{inicial} é o volume inicial da mistura antes de ser “batido” na misturadora (Pagani *et al.*, 2015).

A análise da textura foi realizada no texturómetro TA. XT Plus Texture Analyser, equipado com uma célula de carga de 50 kg e envolveu a realização de dois ensaios. O primeiro consistiu na análise da dureza do gelado através da medição da força de compressão, determinada durante o teste com a célula de corte *Knife Edge* (HDP/BS) (Lâmina Warner Bratzler) (Figura 4A). A dureza consistiu na força máxima determinada durante o ensaio, sendo expressa em gramas (g). O segundo ensaio consistiu em avaliar a espalhabilidade (*spreadability*) ou “suavidade” do gelado utilizando o acessório *TTC Spreadability Rig* (HDP/SR) (Figura 4B). Neste ensaio avaliaram-se os seguintes parâmetros: firmeza (força máxima positiva, expressa em gramas), trabalho de corte (*work of shear*) (avaliado pela área na zona positiva, expresso em g.s), adesividade (*stickiness*) (força máxima negativa, expressa em gramas) e trabalho de adesão (*work of adhesion*) (avaliado pela área na zona negativa, expresso em g.s). A aquisição e a integração de dados foi realizada através do software Texture Exponent TPA32.

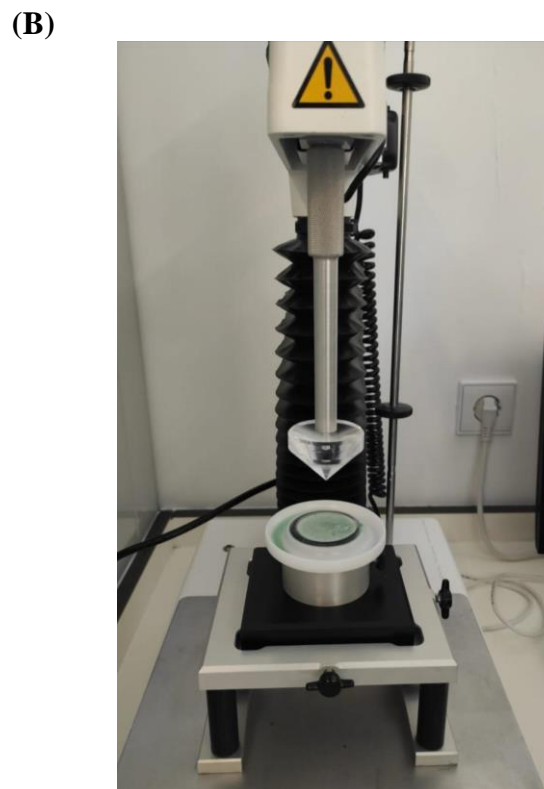
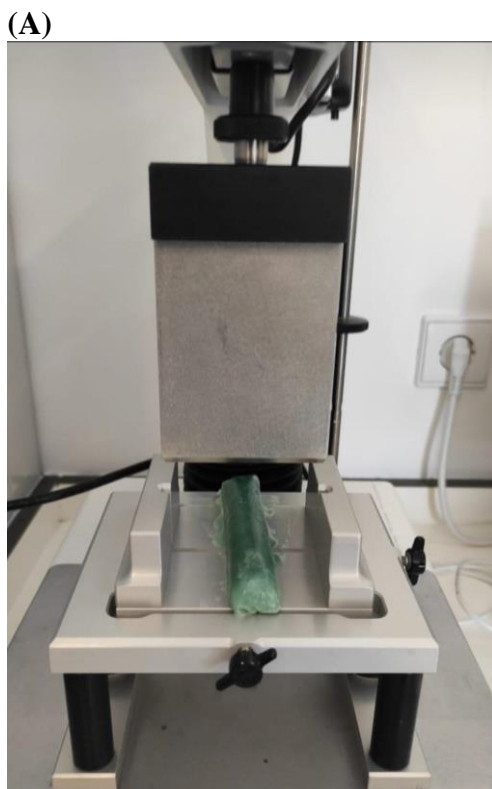


Figura 4 – Avaliação da textura dos gelados através do teste com a célula de corte *Knife Edge* (HDP/BS) (A) e o acessório *TTC Spreadability Rig* (HDP/SR) (B).

3.5.2 Análise da cor

A cor foi determinada utilizando um colorímetro Konica Minolta, modelo Chroma Meter CR 400, empregando o sistema CIELab e o iluminante C. A calibração do aparelho foi sempre realizada no início das determinações com uma placa branca padrão. Os parâmetros avaliados foram o L^* (luminosidade), para o qual valores mais altos indicam cores mais claras e valores mais baixos indicam cores mais escuras, a^* (tonalidade de vermelho a^+ a verde a^-), b^* (tonalidade de amarelo b^+ a azul b^-), C^* (Croma ou intensidade da cor), onde valores maiores indicam cores mais intensas, e o h (Tonalidade ou pureza da cor), como proposto por Menegotto *et al.* (2019).

3.6 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no Instituto Politécnico de Bragança, tendo sido recrutados 50 provadores não treinados na faixa etária entre os 16 a 60 anos, incluindo discentes e funcionários do referido instituto. As amostras fornecidas consistiram num gelado controlo (com o emulsionante comercial “Emustab” da Selecta), gelado com 100% de biomassa de *Spirulina platensis* e gelado com 100% de concentrado proteico de *Spirulina platensis*, como

emulsionantes. Todos os gelados foram avaliados em relação à sua aceitabilidade em termos de aparência geral, cor, textura, sabor e apreciação geral, utilizando-se uma escala hedônica não estruturada (linha com o comprimento de 10 cm), cujos extremos correspondiam a gostei muito (10) e desgostei muito (0). No final da prova dos três gelados, os provadores foram questionados em relação à amostra que preferiram (Teste de Preferência).

Todas as amostras foram oferecidas em copos de papel reciclado, codificadas com números de três dígitos aleatórios, acompanhadas com uma colher e um copo de água para limpar o palato entre as amostras (Dutcosky, 1996). A folha de prova utilizada na análise sensorial encontra-se no Anexo I.

3.7 Análise Estatística

A análise estatística dos parâmetros avaliados foi realizada recorrendo ao software Minitab versão 14 (Pennsylvania, USA). Para analisar a normalidade e homogeneidade da variância foram utilizados os testes Shapiro-Wilk e Levene, respetivamente. No caso em que não se observou normalidade e homogeneidade da variância aplicaram-se testes não-paramétricos, designadamente o Teste de Kruskal-Wallis. Quando os dados seguiram uma distribuição normal e se observou homogeneidade de variâncias, aplicou-se a ANOVA. Seguidamente, no caso de existirem diferenças significativas entre amostras ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de Tukey. Quando não se observou homogeneidade de variâncias, aplicou-se a ANOVA-Welch. No caso de existirem diferenças significativas entre amostras ($p < 0,05$), aplicou-se o teste Post-hoc de Games-Howell.

4. Resultados e Discussão

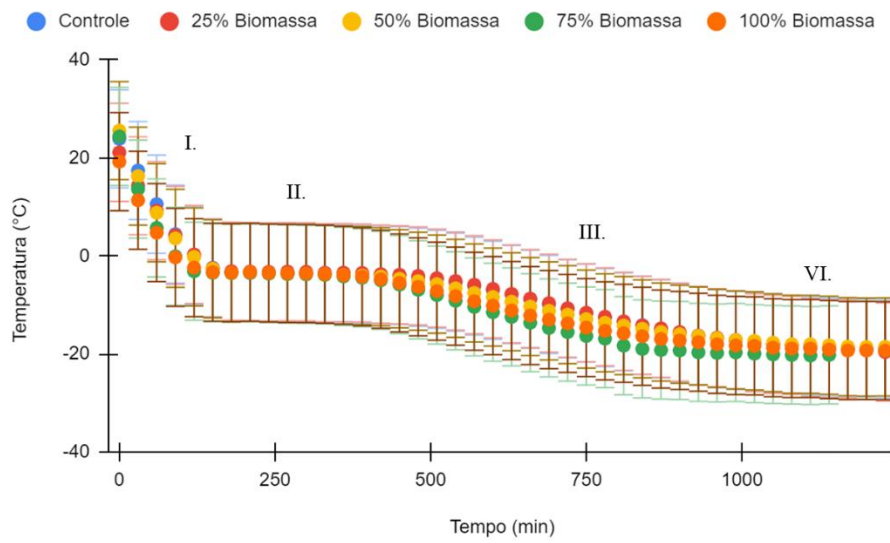
Na presente seção são apresentados os resultados obtidos durante a realização do trabalho proposto. Primeiro são mostradas as curvas de congelação obtidas durante o processo de produção dos gelados e posteriormente são apresentadas as propriedades físicas e os resultados obtidos na análise sensorial realizada.

4.1 Curvas de congelação

As curvas de congelação obtidas para as diferentes formulações utilizando a biomassa podem ser observadas na Figura 5A. Foi possível detetar quatro períodos distintos, designados por I, II, III e IV. As curvas de congelação obtidas são semelhantes às obtidas para a água pura (Figura 6), não se tendo detetado a presença de misturas eutéticas. Este facto pode dever-se ao leite ser o componente maioritário do gelado, com uma percentagem de água próxima dos 90%, tendo em conta a composição nutricional indicada no pacote do leite gordo UHT utilizado.

O período I corresponde ao decréscimo da temperatura observado quando a mistura dos gelados é colocada no interior da arca congeladora, tendo-se obtido um perfil linear. As retas das diferentes formulações com biomassa apresentaram declives semelhantes, a variar entre -0,157 a -0,229 (Tabela 6), com intervalos de confiança sobrepostos, indicando que a utilização de biomassa não afetou de forma significativa a velocidade de congelação inicial. O período II corresponde à formação de cristais, tendo-se observado que a congelação da mistura decorreu a uma temperatura inferior à da congelação da água pura (0 °C), resultado da presença de solutos (depressão crioscópica). A depressão crioscópica é uma das propriedades coligativas de soluções e designa a diminuição da temperatura de fusão de uma solução relativamente ao solvente puro. Os resultados indicam que a adição crescente de biomassa não provocou um decréscimo da temperatura de congelação face ao controlo, possivelmente pela pequena quantidade utilizada de biomassa face aos restantes componentes (ex. solutos presentes no leite e o açúcar, os quais são os componentes maioritários dos gelados elaborados). O período III corresponde ao decréscimo da temperatura dos cristais até se atingir a temperatura da arca congeladora (início do período IV), a qual variou entre os -18 e os -20 °C.

(A)



(B)

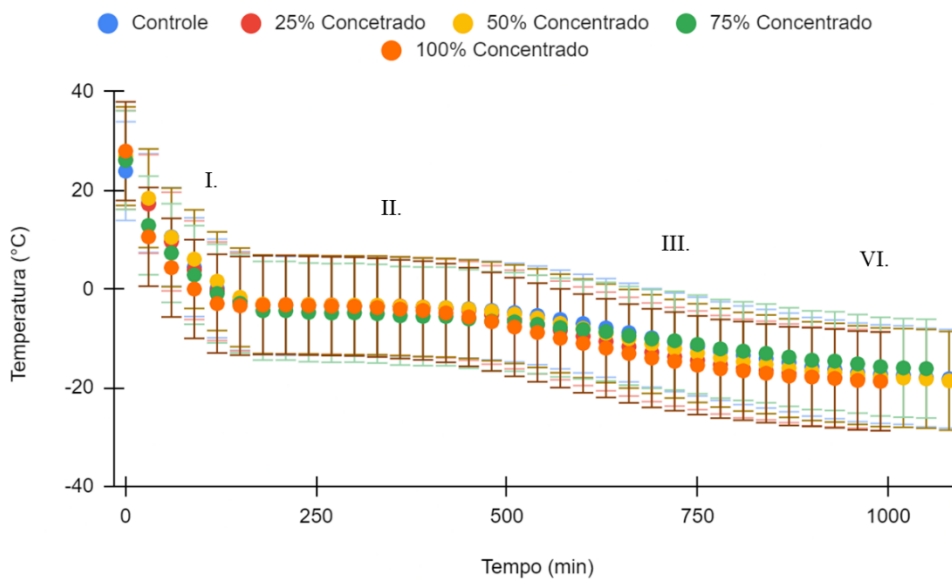


Figura 5 - Curva de congelamento dos gelados na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100%: A) Produzidos com biomassa; B) Produzidos com concentrado proteico.

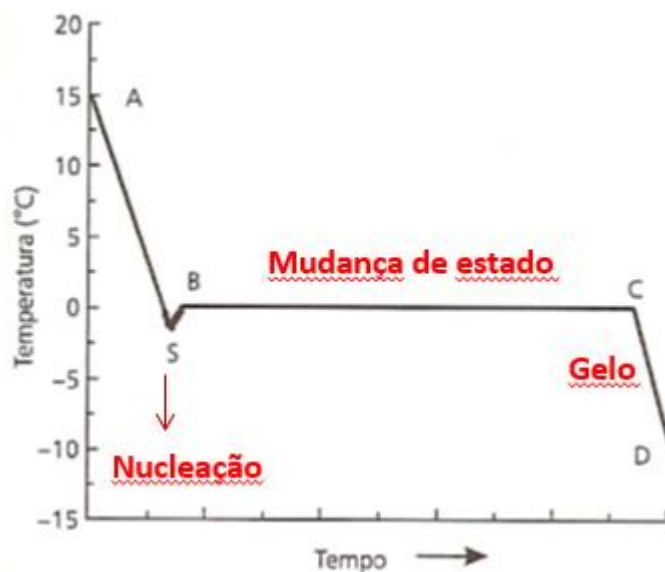


Figura 6 – Curva de congelamento da água pura (Adaptado de: Ordóñez *et al.*, 2005).

Tabela 6 – Equações das retas, intervalos de confiança (IC) do declive e ordenada da origem, e coeficientes de determinação (R^2) determinados para o período I da curva de congelamento dos gelados elaborados no presente trabalho.

Amostra	Equação da reta	IC Ordenada da origem	IC Declive	R^2
Controlo	$-0,181 \times x + 22,5$	19,1 a 26,0	-0,218 a -0,142	0,978
25% Biomassa	$-0,157 \times x + 19,6$	16,8 a 22,3	-0,187 a -0,127	0,981
50% Biomassa	$-0,186 \times x + 22,5$	17,1 a 27,9	-0,245 a -0,126	0,95
75% Biomassa	$-0,229 \times x + 17,5$	15,2 a 28,5	-0,319 a -0,138	0,956
100% Biomassa	$-0,183 \times x + 17,5$	12,5 a 22,6	-0,251 a -0,114	0,960
25% Conc.	$-0,193 \times x + 23,4$	18,2 a 28,7	-0,250 a -0,135	0,956
50% Conc.	$-0,189 \times x + 24,4$	19,9 a 28,9	-0,238 a -0,138	0,965
75% Conc.	$-0,182 \times x + 21,2$	13,7 a 28,6	-0,264 a -0,099	0,904
100% Conc.	$-0,241 \times x + 22,5$	9,9 a 35,0	-0,412 a -0,070	0,870

Em relação aos declives do período III (Tabela 7), o maior valor absoluto foi obtido para a mistura com 75% de biomassa (declive igual a -0,0331). Contudo, o IC deste declive sobrepõe-se a outros das restantes misturas, não sendo detetadas diferenças significativas entre as formulações. Também deve ser referido que os declives do período III são cerca de 10 vezes menores do que os do período I, indicando que o processo de arrefecimento dos cristais é mais lento (período III) do que o processo inicial de abaixamento da temperatura (período I). Em

termos globais, os períodos II e III são os mais longos, contribuindo numa maior proporção para o tempo total do processo de congelação.

Tabela 7 - Equações das retas, IC do declive e ordenada da origem, e coeficientes de determinação (R²) determinados para o período III da curva de congelação dos gelados elaborados no presente trabalho.

Amostra	Equação da reta	IC Ordenada da origem	IC Declive	R ²
Controle	-0,0258×x+8,02	9,65 a 12,31	-0,032 a -0,027	0,989
25% Biomassa	-0,0268×x+8,85	7,96 a 9,74	-0,027 a -0,025	0,992
50% Biomassa	-0,0234×x+5,47	4,31 a 6,64	-0,024 a -0,021	0,981
75% Biomassa	-0,0331×x+8,53	7,74 a 9,33	-0,034 a -0,031	0,995
100% Biomassa	-0,0260×x+5,67	4,52 a 6,82	-0,027 a -0,024	0,984
25% Conc.	-0,0365×x+12,4	11,69 a 13,10	-0,037 a -0,035	1,000
50% Conc.	-0,0348×x+12,9	12,43 a 13,38	-0,035 a -0,034	1,000
75% Conc.	-0,0193×x+3,28	1,36 a 5,19	-0,022 a -0,016	0,987
100% Conc.	-0,0358×x+10,5	9,94 a 11,15	-0,036 a -0,034	0,999

Em relação à utilização do concentrado (Figura 5B), o comportamento foi semelhante ao da biomassa, tendo também sido detetados os quatro períodos anteriormente referidos. Em relação aos declives do Período I (Tabela 6), os valores médios variaram entre -0,241 a -0,182, havendo sobreposição dos intervalos de confiança, indicando não existir diferenças significativas entre as amostras. Adicionalmente, houve sobreposição dos intervalos de confiança entre os gelados preparados com biomassa, concentrado e controlo, sugerindo não se detetarem diferenças significativas entre os emulsionantes utilizados.

Relativamente ao Período II, voltou-se a observar a depressão crioscópica. No Período III (Tabela 7), os declives das retas variaram entre -0,0365 e -0,0193, apresentando a amostra com 75% de concentrado o menor declive. Além disso, foi a amostra que originou intervalos de confiança do declive que se distinguiram das restantes amostras, não sendo encontrada justificação para o ocorrido. Exceto essa situação, em termos gerais, ao comparar os valores

dos intervalos de confiança do declive para a biomassa e concentrado, não se detetaram diferenças significativas entre as amostras.

4.2 Derretibilidade

As curvas de derretibilidade podem ser observadas na Figura 7. O comportamento foi linear e bastante semelhante entre as amostras, indicando que o derretimento foi progressivo e aumentou com o tempo. Ao calcular as equações das retas (Tabela 8), os valores de determinação (R^2) foram elevados (0,980-0,999) indicando que os modelos lineares explicaram 98,0 a 99,9% da variância da variável dependente (volume medido) tendo em conta o tempo (variável independente), mostrando existir um bom ajuste. Adicionalmente, ao analisar os intervalos de confiança dos declives de todas as amostras observou-se existir sobreposição, indicando que não foram detetadas diferenças significativas entre elas, independentemente de se ter utilizado biomassa ou concentrado proteico. Assim, a adição desses ingredientes não demonstrou contribuir para uma maior resistência ao derretimento dos gelados.

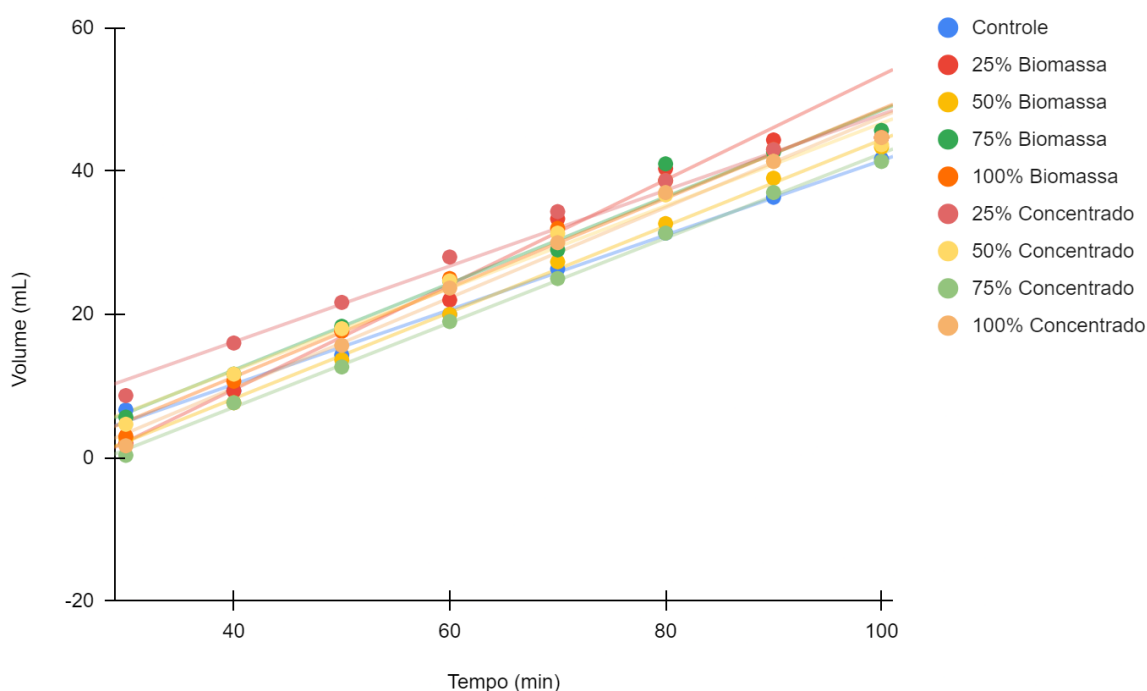


Figura 7 - Curvas de derretibilidade dos gelados produzidos com biomassa e concentrado proteico na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100%.

Tabela 8 – Equações das retas, IC do declive e ordenada da origem, e coeficientes de determinação (R²) determinados para a derretibilidade dos gelados elaborados no presente trabalho.

Amostra	Fórmula	IC Ordenada da origem	IC Declive	R ²
Controle	0,539×x-11,0	-19,7 a -7,6	0,534 a 0,711	0,999
25% Biomassa	0,731×x-19,7	-24,9 a -14,5	0,648 a 0,813	0,990
50% Biomassa	0,602×x-15,8	-17,9 a -13,8	0,572 a 0,631	0,998
75% Biomassa	0,606×x-11,9	-17,9 a -5,9	0,517 a 0,690	0,981
100% Biomassa	0,623×x-13,7	-19,7 a -7,6	0,534 a 0,711	0,980
25% Conc.	0,529×x-5,01	-10,2 a 0,22	0,453 a 0,604	0,980
50% Conc.	0,576×x-11,0	-15,6 a -6,3	0,508 a 0,644	0,986
75% Conc.	0,590×x-16,6	-18,4 a -14,7	0,562 a 0,617	0,998
100% Conc.	0,630×x-15,5	-20,4 a -11,0	0,564 a 0,700	0,986

Tri Winarni *et al.* (2016) refere que a adição de *Spirulina* em pó influencia o ponto de fusão do gelado. A sua presença resulta num ponto de fusão mais baixo, o que pode afetar a estabilidade do gelado, levando a um derretimento mais lento. No presente trabalho, esse facto não foi observado, uma vez que as amostras que apresentaram maior resistência ao derretimento foram o controle, e os gelados que continham 50% de biomassa e 25% de concentrado (menores declives), apresentando um tempo maior para derreter, não correspondendo às amostras com maior quantidade de *Spirulina*. Contudo, tal como indicado anteriormente, houve sobreposição ao nível dos intervalos de confiança dos declives, não se observando diferenças na estabilidade das amostras.

4.3 Overrun

Tendo como base os resultados obtidos no presente trabalho, no qual se substituiu o emulsionante por diferentes proporções de *Spirulina platensis*, não foi possível observar uma tendência de redução no overrun do gelado à medida que a quantidade de biomassa aumentou (Figura 8), uma vez que não se detetaram diferenças significativas entre as amostras. Deve ser referido que este parâmetro demonstrou uma grande variabilidade nas próprias amostras, sendo

um parâmetro de difícil determinação. Ao comparar os emulsionantes utilizados, o comportamento observado nos gelados com concentrado proteico foi semelhante ao observado com a biomassa. Estes resultados, tal como mostrado na Figura 8, sugerem que a presença de *Spirulina* nas formulações dos gelados não afetou de forma significativa a incorporação de ar durante o processo de fabrico, resultando em gelados com uma quantidade idêntica de ar incorporado. Alterações ao nível do overrun poderia ter implicações na textura e densidade dos gelados, influenciando a percepção sensorial e a experiência do consumidor no futuro.

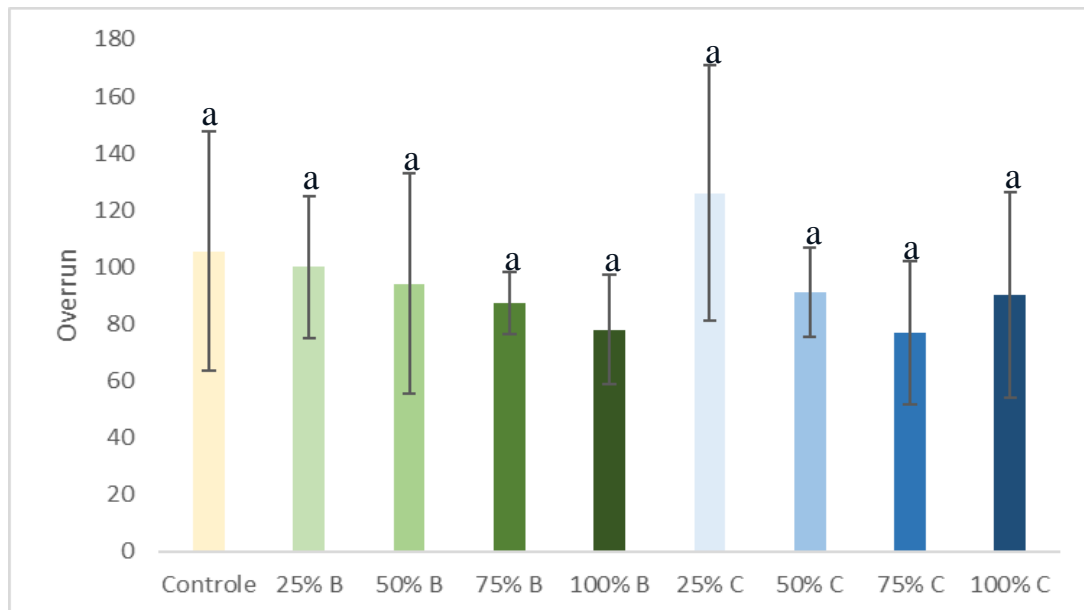


Figura 8 - Overrun dos gelados produzidos com biomassa e concentrado proteico na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100% (Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$)).

Outros estudos indicam que a adição de componentes aos gelados pode afetar o overrun. Mohammed *et al.* (2020) e Alfaro *et al.* (2015) verificaram que a adição de nano emulsões de óleo de Nigella e óleo de farelo de arroz em gelados, respetivamente, teve um impacto no seu overrun. Mohammed *et al.* (2020) indicaram um overrun de 66,7% para o controlo e 75,4% para o gelado com 10% de nano emulsões de óleo de Nigella, indicando um aumento nesta propriedade. Por outro lado, o estudo de Alfaro *et al.* (2015) relatou um overrun de 19% a 22% para um iogurte congelado contendo nano emulsões de óleo de farelo de arroz. Esses resultados sugerem que a adição de nano emulsões de óleo podem ter efeitos diferentes no overrun do gelado. Estes últimos resultados de overrun (19 a 22%) são bastante inferiores aos determinados no presente trabalho, sendo estes últimos mais semelhantes aos referidos por Mohammed *et al.* (2020).

O presente trabalho permitiu verificar que a adição de biomassa ou de concentrado de *Spirulina platensis* não afetou o overrun. Pelo contrário, a adição de nano emulsões de óleo pode provocar variações no overrun, dependendo do tipo de óleo utilizado. Essas descobertas ressaltam a importância de considerar cuidadosamente os ingredientes e proporções utilizadas na formulação de gelados, a fim de alcançar as características desejadas de textura e qualidade.

4.4 Cor

Os resultados da análise de cor encontram-se descritos na Tabela 9. O controlo diferenciou-se das restantes amostras em relação ao L^* , b^* e h . Foi a amostra que apresentou o maior valor de luminosidade (L^* igual a 75,22), sendo a mais clara. Os gelados com biomassa apresentaram valores médios de L^* entre 41,92 e 56,83, enquanto os gelados com concentrado apresentaram valores entre 35,80 e 48,21. Em ambos os casos, a adição de biomassa e de concentrado reduziram os valores de luminosidade.

Em relação ao parâmetro a^* , obtiveram-se valores negativos para o controlo (-2,91) e para os gelados com biomassa (-9,77 a -4,70) indicando uma predominância dos tons verdes, com maior relevo nos últimos. De facto, os gelados com biomassa apresentaram uma tonalidade mais verde, ao contrário dos preparados com concentrado, que se mostraram mais azuis. Estes últimos gelados apresentaram os valores de b^* mais negativos (-23,58 a -31,94), demonstrando a sua cor azul. Pelo contrário, o controlo apresentou o valor de b^* mais positivo (2,26), em linha com a sua cor a amarela.

Tabela 9 – Parâmetros de cor CIELab dos gelados produzidos com biomassa e concentrado proteico na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100%.

Amostra	L^*	a^*	b^*	C^*	h
Controlo	75,22±4,18 ^a	-2,91± 0,35 ^d	2,26±0,91 ^a	3,75±0,60 ^d	143,33±12,25 ^e
25% Biomassa	56,83 ± 2,15 ^b	-9,77± 0,81 ^f	-0,91±0,65 ^b	9,83±0,76 ^c	185,55±4,16 ^d
50% Biomassa	51,62± 2,50 ^{b,c}	-8,18± 2,47 ^f	-0,89±0,62 ^b	8,27±2,37 ^{c,d}	187,79±7,72 ^d
75% Biomassa	45,96 ± 1,02 ^{d,e}	-4,70± 1,17 ^{d,e}	-2,36±0,41 ^c	5,27±1,19 ^{c,d}	207,14±3,62 ^c
100% Biomassa	41,92± 1,16 ^{e,f}	-6,91± 1,35 ^{e,f}	-3,09±0,88 ^c	7,63±1,27 ^{c,d}	204,42±8,06 ^c
25% Conc.	48,21 ± 3,67 ^{c,d}	3,35 ± 2,01 ^c	-23,58±2,47 ^d	23,88±2,50 ^b	278,04±4,76 ^b
50% Conc.	38,12 ± 3,54 ^{f,g}	9,36± 1,62 ^b	-25,44±3,64 ^{d,f}	27,11±3,95 ^b	290,16±1,24 ^a
75% Conc.	37,72 ± 2,75 ^{f,g}	10,42±1,77 ^{a,b}	-24,00±5,53 ^{d,e,f}	26,19±5,68 ^b	293,72±2,47 ^a
100% Conc.	35,80 ± 3,46 ^g	13,39±2,38 ^a	-31,94±3,83 ^{e,f}	34,71±3,79 ^a	292,84±4,26 ^a

Nota: Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

Em relação ao C^* , parâmetro que avalia a intensidade ou pureza da cor, este variou entre 3,75 e 34,71, tendo as amostras com concentrado se distinguido das restantes, apresentando os maiores valores. Relativamente ao h (tonalidade), o controlo apresentou o menor valor médio (143,33), seguido da biomassa (185,55 a 207,14) e concentrado (278,04 a 293,72). Estes valores de tonalidade vão de encontro ao referido anteriormente, uma vez que os gelados com biomassa se apresentaram mais verdes ($h=180^\circ$) e os gelados com concentrado mais azuis ($h=270^\circ$), em linha com os valores médios determinados.

Estes resultados são consistentes com estudos anteriores realizados em outros produtos alimentícios aos quais adicionaram *Spirulina*. Os estudos conduzidos por Morsy *et al.* (2014) e Lucas *et al.* (2018) demonstraram que a adição de *Spirulina* em snacks resultou em mudanças significativas na cor. Porém, essas alterações não afetaram a aceitação geral do produto. Este facto sugere que os consumidores podem estar dispostos a aceitar variações na cor dos alimentos, desde que não comprometam a sua qualidade sensorial. Assim, os resultados do presente estudo corroboram com as descobertas de estudos anteriores, indicando que a cor dos alimentos pode ser modificada com a adição de *Spirulina* sem prejudicar a aceitação sensorial. Esta situação abre possibilidades para o desenvolvimento de produtos com características visuais distintas, aproveitando os benefícios nutricionais da *Spirulina* e atendendo às preferências dos consumidores.

Em suma, os resultados deste estudo fornecem evidências de que a substituição do emulsionante por *Spirulina platensis* em gelados, resulta em alterações de cor dos produtos finais. Portanto, a adição de *Spirulina* pode ser uma estratégia viável para alterar a cor de alimentos, proporcionando oportunidades de inovação na indústria alimentícia.

Uma vantagem da utilização da *Spirulina* é o facto de muitos gelados disponíveis no mercado serem coloridos artificialmente. Ao usar as microalgas, o gelado pode adquirir uma cor mais natural, o que é mais facilmente aceite pelo consumidor. Isso pode ser benéfico para atender à procura por produtos mais naturais e saudáveis, porém estará limitada para alguns sabores.

4.5 Textura

4.5.1 Dureza avaliada com a célula de corte *Knife Edge* (HDP/BS)

Os resultados obtidos para a dureza avaliada com a célula de corte *Knife Edge* (HDP/BS) encontram-se representados na Figura 9. Verificou-se uma redução na dureza do gelado à medida que a quantidade de *Spirulina* aumentou, tendo o gelado controlo apresentado o maior valor de corte, igual a 2100 g, indicando uma consistência mais rígida. No entanto, à medida

que a proporção de *Spirulina* aumentou para 25%, 50%, 75% e 100%, os valores de dureza diminuíram. Esses resultados indicam que a substituição do emulsionante por biomassa de *Spirulina platensis* resultou em gelados com uma textura mais suave e menos resistente ao corte. Pelo contrário, os gelados com concentrado proteico apresentaram um comportamento mais variável, tendo-se obtido o maior valor de dureza para os gelados com 75% de concentrado, seguidos dos 25% de concentrado, não tendo sido encontrada uma justificativa para este comportamento.

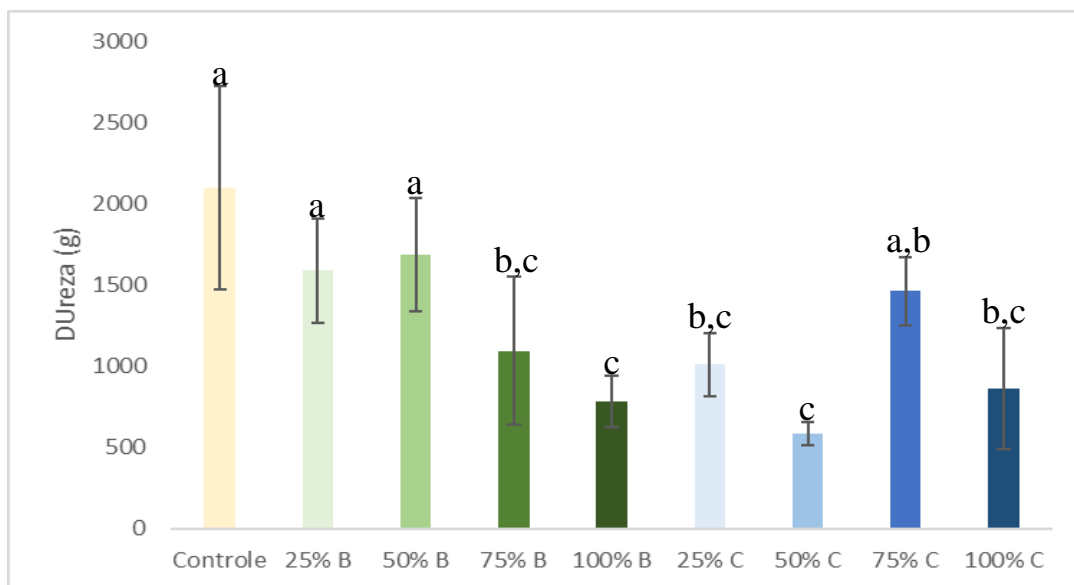


Figura 9 - Dureza dos gelados com biomassa e concentrado na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100% determinada pelo teste de corte (Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$)).

Esses resultados estão em linha com estudos anteriores, como o de *Malik et al.* (2013), os quais observaram uma redução significativa na dureza do gelado com o aumento da substituição do estabilizador por *Spirulina*. Este facto sugere que a incorporação de *Spirulina* conferiu ao gelado uma textura mais suave e agradável ao paladar. Além disso, *Sofijan e Hartel* (2004) destacaram que, à medida que a quantidade de *Spirulina* aumenta, o gelado tende a se tornar mais macio, o que é comprovado pela obtenção de valores de dureza inferiores.

Esses resultados indicam que a substituição do emulsionante pela *Spirulina platensis* nas diferentes proporções afeta a dureza e a textura do gelado, tornando-o mais macio e menos resistente ao corte. Essas mudanças podem ser atribuídas às propriedades da *Spirulina*, como a sua capacidade de reter água e a sua interação com a estrutura do gelado.

4.5.2 Análise à Espalhabilidade (*Spreadability*)

Os resultados obtidos na análise de *spreadability* dos gelados encontram-se descritos na Tabela 10. Os maiores valores de firmeza (força máxima positiva) foram obtidos para o controlo, 50 e 75% de biomassa, bem como com as quatro percentagens de concentrado. Mesmo que tenham sido observadas diferenças significativas entre algumas amostras, não foi detetada qualquer tendência ou um comportamento distinto face ao controlo ao nível da firmeza, em relação à adição de biomassa de *Spirulina* ou de concentrado proteico.

Em relação ao trabalho de corte, correspondente à área abaixo da curva na zona positiva, também não foram detetadas diferenças significativas na maioria das amostras, indicando um comportamento idêntico entre os vários gelados.

Relativamente à adesividade (força máxima negativa), os gelados elaborados mostraram uma baixa adesividade, com valores aproximadamente 10 a 20 vezes menores do que a firmeza. O trabalho de adesão também foi bastante inferior ao trabalho de corte, mostrando que as amostras de gelado não apresentaram uma adesão significativa.

Em termos gerais, ao comparar as amostras, não se detetou qualquer tendência com a adição de biomassa ou o concentrado, sugerindo que os gelados com maior quantidade de biomassa não apresentaram uma aderência diferente ou exigiram um trabalho de desprendimento de uma superfície distinto quando comparado com o controlo. Este facto pode ser considerado um aspeto desejável para melhorar a experiência do consumidor ao optar por um gelado com *Spirulina*.

Tabela 10 – Resultados referentes à análise de textura dos gelados com biomassa e concentrado na proporção de 0, 25, 50, 75 e 100% determinada pelo teste da espalhabilidade.

Amostra	Firmeza (g)	Trabalho de corte (g.s)	Adesividade (g)	Trabalho de adesão (g.s)
Controle	55167±2643 ^{a,b}	79656±6808 ^a	-3845±276 ^{b,c}	-354±22 ^{a,b}
25% Biomassa	17479±2667 ^c	24491±3176 ^b	-2844±812 ^{a,b,c}	-268±32 ^{a,b}
50% Biomassa	40641±1558 ^{a,b}	62757±1477 ^{a,b}	-1819±1244 ^{a,b,c}	-242±250 ^{a,b}
75% Biomassa	42467±4800 ^{a,b}	66603±13934 ^{a,b}	-3441±664 ^{b,c}	-492±120 ^b
100% Biomassa	34087±4298 ^{b,c}	50854±12697 ^{a,b}	-2843±1956 ^{a,b,c}	-300±220 ^{a,b}
25% Conc.	60836±2352 ^a	94772±7456 ^a	-859±1467 ^{a,b}	50±243 ^a
50% Conc.	46900±19010 ^{a,b}	65202±39630 ^{a,b}	-1776±1795 ^{a,b,c}	-35±330 ^{a,b}

75% Conc.	55893±5189 ^a	74156±9155 ^a	-333±214 ^a	-15±0,5 ^{a,b}
100% Conc.	47723±4474 ^{a,b}	74856±7947 ^a	-4354±158 ^c	-370±76 ^{a,b}

Nota: Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

Em termos gerais, os resultados indicam que a substituição do emulsionante pela *Spirulina* não alterou a textura dos gelados em termos de espalhabilidade, bem como a sua resistência ao corte.

4.6 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada aos gelados sem e com biomassa e concentrado proteico de *Spirulina*, para substituir o emulsionante, tendo revelado percepções importantes dos provadores em relação aos atributos sensoriais, como aparência, cor, textura, sabor e apreciação geral dos produtos.

Os resultados (Figura 10) indicam que em relação à aparência geral, os gelados foram considerados visualmente atraentes pelos provadores. No entanto, o controlo foi o mais bem pontuado, sendo a diferença estatisticamente significativa. Em relação à cor, alguns provadores relataram que o gelado com a adição de concentrado proteico apresentava uma cor que parecia artificial, o que poderia ter afetado negativamente a percepção da qualidade e autenticidade do produto, já que os consumidores geralmente preferem cores naturais e autênticas nos alimentos. Contudo, os gelados com concentrado de *Spirulina* não foram pontuados negativamente em relação ao controlo, não tendo sido detetadas diferenças significativas entre as duas amostras. Já o gelado com biomassa de *Spirulina* foi pontuado de forma mais negativa. Deve ser referido que as amostras com *Spirulina* apresentaram uma maior variação nas respostas. Pelo contrário, ao nível da textura, os provadores não detetaram diferenças significativas entre os três tipos de gelado, em linha com os resultados obtidos no texturómetro. Contudo, no dia da análise sensorial, o gelado com biomassa de *Spirulina* apresentou uma textura mais líquida, pois derreteu mais rapidamente em comparação com os outros produtos. Essa característica foi mencionada por alguns provadores como um aspeto negativo, explicando a maior variabilidade nos valores, porém, não se observaram diferenças significativas entre as amostras, como anteriormente mencionado.

Quanto ao sabor, os provadores mencionaram que os gelados tinham um sabor pronunciado de *Spirulina*, tendo dado uma menor classificação aos gelados com biomassa ou concentrado proteico face ao controlo. Novamente se observou uma grande variação nas pontuações dadas

ao sabor dos gelados com a alga (biomassa e concentrado proteico) em relação ao gelado controlo. A perceção dos consumidores pode ser interpretada de forma diversa, pois alguns podem até apreciar o sabor característico da *Spirulina*, enquanto outros podem considerá-lo muito forte ou desagradável.

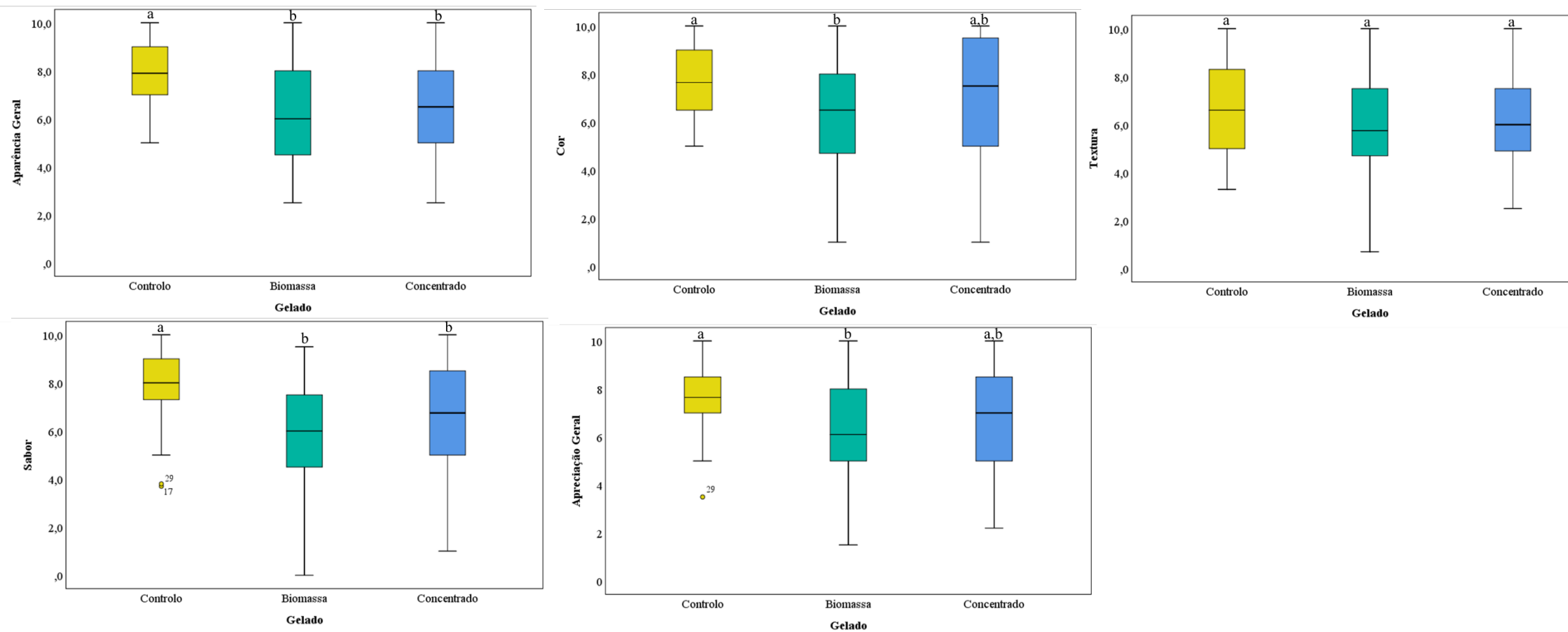


Figura 10 - Análise sensorial aos gelados controlo e com biomassa e concentrado proteico de *Spirulina* na proporção de 100% (Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$)).

Em relação à apreciação geral, os especialistas avaliaram positivamente todos os gelados, indicando uma percepção positiva dos consumidores. Contudo, o gelado com biomassa foi o pior classificado, não sendo detetadas diferenças significativas entre o controlo e o gelado com o concentrado proteico. Novamente foi observado uma maior variabilidade nas respostas dos gelados com a alga.

Na Figura 11 estão indicadas as percentagens de preferência de cada um dos gelados, tendo o controlo sido o mais preferido, por 43,8% dos provadores, seguido do gelado com concentrado proteico de *Spirulina* (31,3%). O menos preferido foi o de biomassa (25,0%).

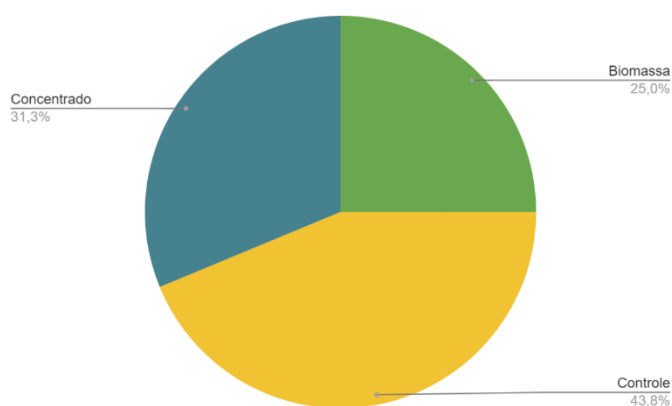


Figura 11 - Percentagem de preferência dos gelados controlo e com biomassa e concentrado proteico de *Spirulina* na proporção de 100%.

5. Conclusões Finais

Os resultados obtidos nas curvas de congelação demonstraram que a presença de biomassa e concentrado proteico de *Spirulina* não afetou significativamente a velocidade de congelação dos gelados.

Em relação à derretibilidade, os gelados com biomassa de *Spirulina* e concentrado proteico apresentaram um comportamento de derretimento progressivo, semelhante ao gelado controlo. Isso indica que a adição desses ingredientes não afetou a resistência ao derretimento dos gelados. Resultados idênticos foram observados para o overrun. Desse modo, a presença de biomassa de *Spirulina* e concentrado proteico não afetou significativamente a incorporação de ar nos gelados. Pelo contrário, a adição de biomassa de *Spirulina* e de concentrado proteico teve um impacto na cor dos gelados. Os gelados com biomassa apresentaram uma tonalidade mais verde, enquanto os gelados com concentrado proteico apresentaram uma tonalidade mais azul. No entanto, essas mudanças de cor não afetaram negativamente a aceitação sensorial dos gelados. Em termos de textura, os gelados com biomassa de *Spirulina* mostraram-se mais suaves e menos resistentes ao corte em comparação com o gelado controlo. Pelo contrário, os gelados com concentrado proteico mostraram um comportamento mais variável em relação à textura. A análise sensorial revelou que os gelados com biomassa de *Spirulina* e concentrado proteico foram considerados visualmente atraentes pelos provadores. No entanto, a preferência pelo sabor foi menor em comparação com o gelado controlo. Alguns dos provadores mencionaram um sabor pronunciado de *Spirulina* nos gelados com esses ingredientes. No entanto, a apreciação geral dos gelados foi positiva, indicando uma perceção globalmente favorável.

Em conclusão, os resultados desta pesquisa indicam que a adição de biomassa de *Spirulina* e concentrado proteico afeta algumas propriedades físicas e características sensoriais dos gelados, como a cor e o sabor. No entanto, essas alterações não comprometeram a qualidade geral e aceitação sensorial dos gelados. Portanto, a substituição do emulsionante por biomassa de *Spirulina* e concentrado proteico pode ser uma estratégia viável para a produção de gelados com características nutricionais e visuais distintas, atendendo às preferências dos consumidores por produtos mais naturais e saudáveis.

Referências bibliográficas

ABIA — Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. Produção e consumo de gelado no Brasil. Disponível em: < <http://www.sicongel.org.br/estat.htm>>. Acesso em: 1 dez. 2021.

Alfaro, L., *et al.* Physical properties of a frozen yogurt fortified with a nano-emulsion containing purple rice bran oil. *LWT — Food Science and Technology*, 62(2), 1184–1191. doi:10.1016/j.lwt.2015.01.05. 2015

Alvarez, V.B. *et al.* Physical properties of ice cream containing milk protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 862 – 871, 2005.

Andrade, M. D. R; Costa, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes: Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1551 – 1556, set./2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/CgCHqnQbzbQ73KDZDdgjvhP/?lang=pt>. Acesso em: 19 out. 2021.

ASAE — Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. Emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes. (s.d.). Disponível em: < <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/aditivos-alimentares/emulsionantes-estabilizadores-espessantes-e-geleficantes.aspx>> Acesso em: 21 jan. 2023

Becker, E. W. Microalgae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, 25, 207–210, 2007

Benelhadj, S. *et al.* Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. **Food Chemistry**, 194, 1056–1063, 2016

Bernaerts, T. M. M., *et al.* The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review. *Biotechnology Advances*, 37, 107419, 2019

Bertoldi, F. C. Review: Microalgae Biotechnology. January 2008, 2017

Bocker, L. *et al.* Effect of *Arthrospira platensis* microalgae protein purification on emulsification mechanism and efficiency. **Journal of Colloid and Interface Science**, Brasil, v. 584, n. 2021, p. 344 – 353, set./2020.

Borba, V. I. A., *et al.* Cianobactéria *Arthrospira (Spirulina) platensis*: biotecnologia e aplicações 2019. Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz, 2019.

- Borowitzka, M. A. Biology of Microalgae. **Microalgae in Health and Disease Prevention** (pp. 23–72). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811405-6.00003-7>, 2018
- Castro, R.R.; Martins, O.A. Análise físico-química de cobertura líquida para gelado sabor chocolate em diferentes temperaturas de armazenamento. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência (REEC)**, Brasil, v. 2, n. 3, p. 1-5, abr./2012.
- Chronakis, I. S., *et al.* The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air/water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 173(1–3), 181–192. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(00\)00548-3](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00548-3), 2000
- De Marco E.R., *et al.* Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT- Food Science and Technology**, 2014
- Dickinson E.; Stainsby, G. *Colloids in foods*. London: **Elsevier Applied Science Publishers**, 1982.533 p., 1982
- Dutcosky. S. D. Análise sensorial de alimentos. Curitiba: Champagnat, 123p., 1996
- Guiry, M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org/>, 2010
- Guiry, M.D. How many species of algae are there? **J. Phycol** 48, 1057–1063, 2012
- Guzey, D., McClements, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, 128–130, 227–248, 2006
- Hu, Q. Environmental effects on cell composition. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, 1, 83–93, 2004
- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia. Lisboa: INSA IP. 2019
- Instituto Portugues da Qualidade (IPQ). NP 3293: Gelados alimentares e mistura embaladas para congelar — Definição, classificação, características, embalagem, conservação e rotulagem. Lisboa, Portugal. 2008

- Khanra, S., *et al.* Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review. **Food and Bioproducts Processing**, 110, 60–84, 2018
- Koyande, A.K., *et al.* Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. **Food Sci. Human Wellness** 8, 16–24, 2019
- Law S. Q. K., *et al.*, Emulsifying properties of ruptured microalgae cells: Barriers to lipid extraction or promising biosurfactants?, *Colloids Surf, B* 170, 438–446, 2018
- Levasseur W., *et al.*, A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. **Biotechnol. Adv.**41,107545, 2020
- Lucas BF, *et al.*, *Spirulina* for snack enrichment: nutritional, physical and sensory evaluations. **LWT — Food Science and Technology**. 90: 270 – 276. 2018
- Lupatini, A.L. Extração de proteína e carboidratos da biomassa de *Spirulina platensis* e caracterização da fração proteica. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.
- Lupatini, A. L., *et al.* Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Brasil, v. 1, n. 97, p. 724 – 732, set./2016.
- Malik, *et al.*, Quality characteristics of ice cream enriched with *Spirulina* powder. **International Journal of Foods And Nutritional Sciences**, Brasil, v. 2, n. 1, p. 44 – 50, abr./2013.
- McClements, D. J. Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9, 305–313, 2004
- McClements, D. J. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press, 2015
- Mohammed, N. K., *et al.*, Characterization of nanoemulsion of *Nigella sativa* oil and its application in ice cream. *Food Science and Nutrition*, 8(6), 2608–2618. doi:10.1002/fsn3.1500. 2020
- Morsy OM, *et al.*, Production and evaluation of some extruded food products using *Spirulina* algae. **Annals of Agricultural Science**. 52: 329 – 342. 2014

Nabeshima, E.H., *et al.*, Propriedades físicas do gelado de baunilha elaborado com substitutos de gordura e sacarose. **Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 169 – 182, 2001.

Norton, T.A., *et al.*, Algal biodiversity. *Phycologia* 35,308-326, 1996.

Ordóñez, J.A., Rodríguez, M.I.C., Álvarez, L.F., Sanz, M.L.G., Minguillón, G.D.G.F., Perales, L.H., Cortecero, M.D.S. (2005). *Tecnologia de Alimentos, Vol. 1, Componentes os Alimentos e Processos*. Juan A. Ordóñez Pereda (Ed.), Artmed Editora, Brasil.

Pagani, A. A. C., *et al.*, Influência da substituição parcial do leite em pó desnatado por extrato de soja na estrutura e qualidade do gelado. **Eur Food Res Technol**. 2011

Pinto, T.B., Souza, C.H.B. Estudo do comportamento de diferentes marcas de emulsionantes em gelados: determinação das características físico-químicas, textura e overrun. **6º Seminário de Iniciação Científica**, 2015.

Poore E, J., Nemecek, T. Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. **Science**, 360, 987–992, 2018.

Regulamento (CE) n. o 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de Dezembro de 2008 relativo aos aditivos alimentares (Texto relevante para efeito. (s.d.). Disponível em:< <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX:32008R1333>> Acesso em: 21 jan. 2023

Rodrigues, E. F., *et al.* *Spirulina platensis* como substituto de polifosfatos no desenvolvimento de linguças frescas. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**, 2015.

Santana, I. A., *et al.* Evaluation of green coconut (*Cocos nucifera* L.) pulp for use as milk, fat and emulsifier replacer in ice cream. **SciVerse ScienceDirect**, Brasil, v. 1, n. 1, p. 1447–1453, set./2011.

Santos, J. d. (s.d.). Processamento de gelado por congelamento convencional e criogênio: teste de aceitabilidade. **Propriedade Intelectual e Conhecimento Tradicional**. 2015

Saranraj, P.; Sivasakthi, S. *Spirulina platensis*—Food for future: A review. **Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology**, Brasil, v. 4, n. 1, p. 26 – 33, jan./2014.

Sarkar, S., *et al.* Extraction of carbohydrates and proteins from algal resources using supercritical and subcritical fluids for high-quality products. **Innovative and Emerging Technologies in the Bio-marine Food Sector** (pp. 249–275). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820096-4.00008-0>, 2022

Silva, N. D. *et al.* Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda. p. 107–323, 2017

Sofijan, R. P. and Hartel, R. W. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice-cream. **International Dairy Journal**, 14(3): 255–262. 2004

Souza, J. C. B., *et al.* Gelado: composição, processamento e viabilidade da adição de probiótico. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 1, p. 155–165, 2010.

Spolaore, P., *et al.* Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 101, 87–96, 2006

Syed, Q. A., *et al.* Effects of different ingredients on texture of ice cream. **Journal of Nutritional Health & Food Engineering**, 2018

Tiepo, C. B. V. *et al.* Addition of *Spirulina platensis* in handmade ice cream: Physicochemical and sensory effects. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 9, p. 88106–88123, set./2021.

Van Der Goot, A. J., *et al.* Concepts for further sustainable production of foods. **Journal of Food Engineering**, 168, 42–51, 2016

Vendruscolo, E. F. R. A. L. P. *et al.* Phycocyanin as substitute for texture ingredients in ice creams: Phycocyanin as substitute for texture ingredients. **British Food Journal**, Inglaterra, v. 122, n. 2, p. 693-707, nov./2019. Disponível em: <www.emeraldinsight.com/0007-070X.htm>. Acesso em: 10 out. 2021.

Vonshak, A. *Spirulina platensis* arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology. **CRC Press**, 1997

Wan, D., *et al.* Chapter 42 - *Spirulina*. In R. C. Gupta (Ed.), *Nutraceuticals* (pp. 569–583). Academic Press, 2016

Zahra, Z. *et al.* Cyanobacteria: Review of Current Potentials and Applications. **Environments**, Brasil, v. 7, n. 13, p. 1-1, fev./2020.

Anexo I

Análise Sensorial de Gelados

A presente ficha pretende avaliar o nível de aceitação e de preferência de provadores relativamente a três gelados. Este inquérito insere-se num trabalho académico, designadamente numa Tese de Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar, desenvolvida no Instituto Politécnico de Bragança. Todas as respostas são anónimas e serão utilizadas somente para fins académicos.

Pessoas alérgicas à lactose, não devem provar o produto.

Dados do provador:

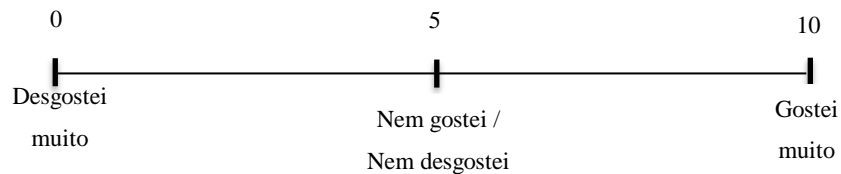
Sexo: Feminino Masculino

Idade: _____

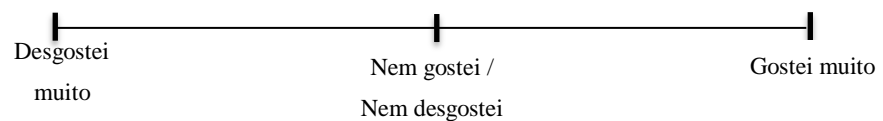
Observe as amostras dadas e na escala de 0 a 10 abaixo representada coloque um traço vertical no local onde considera que melhor representa a sua opinião para cada uma das amostras.

Amostra: _____

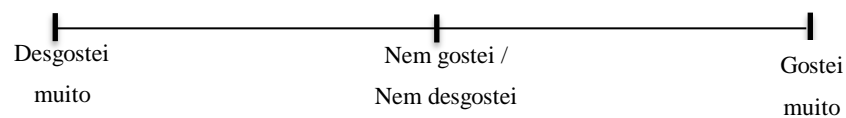
Aparência Geral



Cor

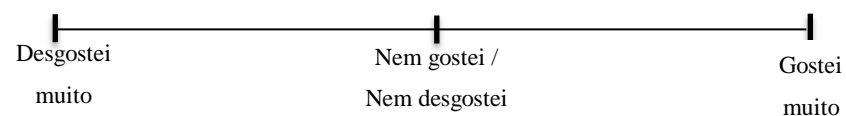


Textura



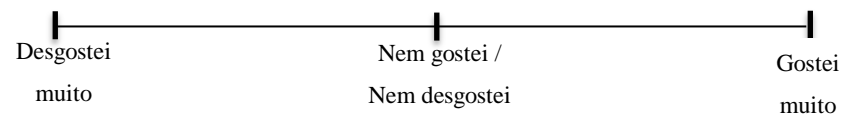
Se respondeu desgostei, explique o porquê? _____

Sabor



Se respondeu desgostei, explique o porquê? _____

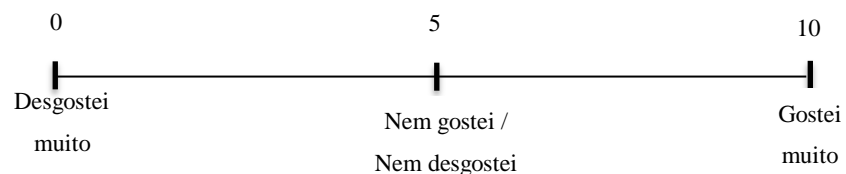
Apreciação Geral



Estaria disponível a comprar este gelado? Sim Não

Amostra: _____

Aparência Geral



Qual das amostras gostou mais? Indique o código. _____

Obrigada pela sua participação.