



Ciência e Tecnologia de Alimentos

ISSN: 0101-2061

revista@sbcta.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência e
Tecnologia de Alimentos

Brasil

JACOB-LOPES, Eduardo; Queiroz ZEPKA, Leila; QUEIROZ, Maria Isabel; NETTO, Flavia
Maria

CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO PROTÉICA DA CIANOBACTÉRIA *Aphanothece*
Microscopica Nägeli CULTIVADA NO EFLUENTE DA PARBOILIZAÇÃO DO ARROZ

Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 26, núm. 2, abril-junio, 2006, pp. 482-488

Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Campinas, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940078036>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO PROTÉICA DA CIANOBACTÉRIA *Aphanothece Microscopica Nágeli* CULTIVADA NO EFLUENTE DA PARBOILIZAÇÃO DO ARROZ¹

Eduardo JACOB-LOPES², Leila Queiroz ZEPKA², Maria Isabel QUEIROZ², Flavia Maria NETTO³

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a fração protéica da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nágeli* cultivada no efluente da parboilização do arroz quando submetida a diferentes condições de secagem. A produção da biomassa foi realizada a partir da água residuária do processo de parboilização do arroz em bioreatores de coluna de bolhas. A biomassa foi separada do efluente por centrifugação e desidratada em secador descontínuo de bandejas nas condições de 40, 50 e 60°C e espessuras de bandejas de 5 e 7 mm. O comportamento eletroforético das proteínas da biomassa foi analisado por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) e apresentou bandas com peso molecular de 15 kDa a 62,5 kDa. O perfil aminoacídico mostrou teores superiores aos recomendados pelo padrão FAO, com exceção dos aminoácidos lisina e dos sulfurados (MET+CYS). A caracterização funcional, expressa em termos de solubilidade e capacidade emulsificante, demonstrou a influência da condição de secagem na funcionalidade protéica da biomassa.

Palavras chave: cianobactéria, *Aphanothece microscopica Nágeli*, proteína, aminoácidos.

SUMMARY

PROTEIN CHARACTERISATION OF THE *Aphanothece microscopica Nágeli* CYANOBACTERIUM CULTIVATED IN PARBOILED RICE EFFLUENT. The objective of the present work was to evaluate the protein fraction of *Aphanothece microscopica Nágeli* cyanobacteria cultivated in the parboiled rice effluent, submitted to different drying conditions. The production of the biomass was done by using wastewater from the process of rice parboiling in a bubble column bioreactor. The biomass was separated from the effluent by centrifugation and dehydrated in a tray dryer at 40, 50 and 60°C and thicknesses of 5 and 7 mm. The eletroforetic profile of proteins of the biomass was analysed by SDS-PAGE and presented bands with molecular weight between 62.5-15kDa. The amino acid profile was higher than the concentrations recommended by standard FAO, with the exception of the amino acids (LYS) and the sulphurated (MET+CYS). The functional properties characterisation in terms of protein solubility and emulsification capacity demonstrated the influence of the drying condition in the protein functionality of the biomass.

Keywords: cyanobacteria, *Aphanothece microscopica Nágeli*, protein, aminoacids.

1 - INTRODUÇÃO

As cianobactérias são consideradas como uma fonte potencial de proteínas devido aos altos teores apresentados, geralmente entre 40 e 60% em peso seco. O teor protéico associado ao balanço de aminoácidos indica o alto valor biológico destas proteínas, que em muitos casos é comparável e até mesmo superior a fontes protéticas convencionais como a carne, ovos [1]. A composição destes microorganismos também apresenta ácidos graxos com predominância dos insaturados, vitaminas, carboidratos e pigmentos, que viabilizam o seu uso na complementação da dieta [22].

A utilização de proteínas unicelulares como ingrediente de alimentos está condicionada à funcionalidade de seus constituintes. Neste sentido, a caracterização da fração protéica é um fator relevante no desenvolvimento de ingredientes protéticos, a serem utilizados na formulação de alimentos [2, 8, 11].

As proteínas são modificadas pelas condições de processamento do produto. Tratamentos térmicos comumente afetam sua estrutura e solubilidade. A insolubilização é um dos maiores obstáculos na inclusão de proteínas em sistemas alimentares. Solubilidade elevada pode ser considerada um indicador de sua funcionalidade, já que esta propriedade é requerida para a aplicação das proteínas em sistemas alimentares [17, 35].

A *Aphanothece microscopica Nágeli* é uma cianobactéria que vem sendo cultivada na água residuária do processo de parboilização com o propósito de associar a produção de nutrientes a partir da bioconversão de compostos presentes no efluente, e assim empregar a biomassa gerada como complemento da dieta [14]. Para tanto, diversos trabalhos vêm sendo realizados, entre eles, a caracterização do odor da *Aphanothece* desi-

¹Recebido para publicação em 16/11/2005. Aceito para publicação em 28/4/2006 (001638)

²Laboratório de Biotecnologia, Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (Furg)
CEP 96201-900 – Rio Grande (RS), Brasil,
Telefone: +55 (53) 3233-8655

³Laboratório de Bioquímica Nutricional, Departamento de Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)
Caixa Postal 6121 – Campinas (SP), Brasil, Telefone: +55 (19) 3788-4080

dratada, do perfil de ácidos graxos e do efeito da dieta contendo a *Aphanothece* em ratos, que demonstram sua viabilidade para aplicação como fonte de nutrientes [28, 29, 30]. A bioconversão de resíduos agrícolas, abrangendo a remoção dos compostos associada à produção de nutrientes como proteínas, lipídeos e pigmentos, valoriza os resíduos agroindustriais, gerando, ainda, um benefício adicional para a produção de nutrientes de baixo custo.

Em face disto, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar a fração protéica da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nágeli* por eletroforese SDS-PAGE, determinar o perfil aminoacídico e caracterizar as propriedades funcionais em termos de solubilidade e capacidade emulsificante desta biomassa quando cultivada no efluente da parboilização do arroz e submetida à operação de secagem.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Microorganismo e condições de cultivo

A *Aphanothece* (RSMan92) foi cedida pela unidade de pesquisa em cianobactérias/Fundação Universidade Federal do Rio Grande (Furg), RS. As culturas de *Aphanothece* foram propagadas e mantidas em meio padrão BGN, em câmara de cultivo com luminosidade de 2 Klux, temperatura de 30°C e fotoperíodo de 12 h. A biomassa foi produzida em bioreatores de coluna de bolhas, utilizando como meio de cultura o efluente da parboilização do arroz nas condições de ausência de luminosidade, pH 8,0, razão C/N 50 (ajustada quando necessário com sacarose e sulfato de amônio), temperatura de 30°C e tempo de detenção hidráulica de 72 h.

2.2 - Secagem da biomassa

A biomassa foi separada do efluente por centrifugação. A pasta obtida (95% de umidade) foi desidratada em um secador descontínuo de bandejas, com escoamento de ar paralelo (1,5 m/s) nas condições de 40, 50, 60°C e espessuras de bandeja de 5 e 7 mm. Foi realizada a liofilização da biomassa (Edwards Pirani 501), nas condições de -50°C e 10⁻¹ mbar, considerando como método de secagem de referência para as propriedades funcionais.

2.3 - Determinação do conteúdo de proteína total

O teor de nitrogênio da *Aphanothece* foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl. O fator 6,25 foi utilizado para a conversão do nitrogênio em proteína [4].

2.4 - Determinação do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

A determinação do perfil eletroforético das proteínas totais foi realizado de acordo com LAEMMLI [18], utilizando gel de poliacrilamida 12%. As amostras foram dispersas

(0,4% de proteína) em tampão contendo 0,5M Tris-HCl (pH 6,8), 10% SDS, 10% glicerol, 5% β-mercaptoetanol e 0,1% azul de bromofenol, aquecidas a 95°C por 5 min e resfriadas. Aliquotas de 4 µl de cada amostra foram aplicadas no gel. Após a corrida, os géis foram mantidos por 2,5 h em solução aquosa a 0,2% (p/v) de azul de Coomasie R-250 e decorados em solução aquosa contendo 30% metanol e 10% ácido acético. O peso molecular das proteínas foi determinado utilizando-se o padrão LMW Calibration Kit (Pharmacia): fosforilase B (94,0 kDa); albumina bovina (67,0 kDa); ovalbumina (43,0 kDa); anidrase carbônica (30,0 kDa); inibidor de tripsina (20,1 kDa) e α-lactoalbumina (14,4 kDa). A densitometria dos géis foi efetuada em densitômetro Sharp JX 330, empregando software Image Máster (Pharmacia), que calculou os pesos moleculares aparente de cada banda comparando as proteínas-padrão.

2.5 - Determinação do perfil em aminoácidos

Os aminoácidos foram identificados e quantificados a partir da hidrólise da biomassa com HCl 6 N, a 110°C, por 22h. Após a evaporação completa do ácido a vácuo, as amostras foram recuperadas em tampão citrato pH 2,2. Aliquotas de 25 µL foram injetadas no analisador Beckman, modelo 7300 (Beckman Instruments, Palo Alto, CA-USA), onde a separação dos aminoácidos ocorreu em coluna de troca iônica e reação pós-coluna com ninidrina [36]. A quantificação dos aminoácidos foi realizada por padronização externa Sigma (St. Louis, MO, USA). Para determinação do triptofano, utilizou-se hidrólise com LiOH 4 N durante 24 h a 110°C.

2.6 - Escore químico (E.Q)

O escore químico foi calculado pelo quociente da concentração de cada um dos aminoácidos essenciais da proteína teste pela concentração do mesmo aminoácido da proteína usada como referência, padrão FAO/WHO [10] de acordo com a Equação 1 [13]:

$$EQ = \frac{\text{mg de aminoácido/g de proteína teste}}{\text{mg de aminoácido/g de proteína padrão}} \quad (1)$$

2.7 - Determinação da solubilidade protéica

A solubilidade protéica foi determinada pelo método de MORR et al. [24], na faixa de pH compreendida entre 2 e 10, em solução de NaCl 0,1 M.

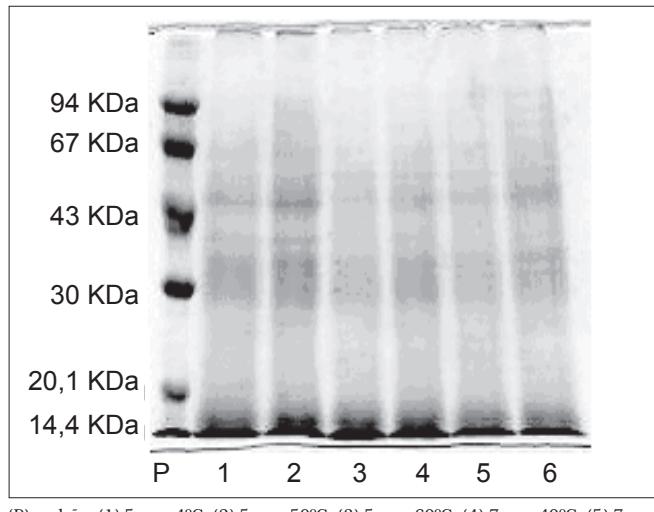
2.8 - Determinação da capacidade emulsificante

A capacidade emulsificante (CE) foi expressa em mL de óleo de soja emulsificado por 1 g de proteína. A concentração das dispersões foi de 5% de proteína em água e pH 7,0, conforme indicado por ANUSUYA DEVI et al. [3].

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Caracterização da fração protéica por eletroforese SDS-PAGE

Na Figura 1, estão apresentados os perfis eletroforéticos das proteínas da biomassa da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nágeli. As frações protéicas na *Aphanothece*, seca sob diferentes condições, distribuíram-se em uma faixa de peso molecular entre 15 kDa e 62,5 kDa. Estes resultados são muito próximos ao intervalo de peso molecular (14,3 a 66,0 kDa) encontrado por VENKATARAMAN et al. [37] para a cianobactéria *Spirulina*. ROUXEL et al. [31], que estudaram a fração protéica de algas *Chondrus crispus*, *Palmaria palmata* e *Porphyra umbicalis*, utilizadas na alimentação humana, também obtiveram perfis semelhantes ao da *Aphanothece microscopica* Nágeli.



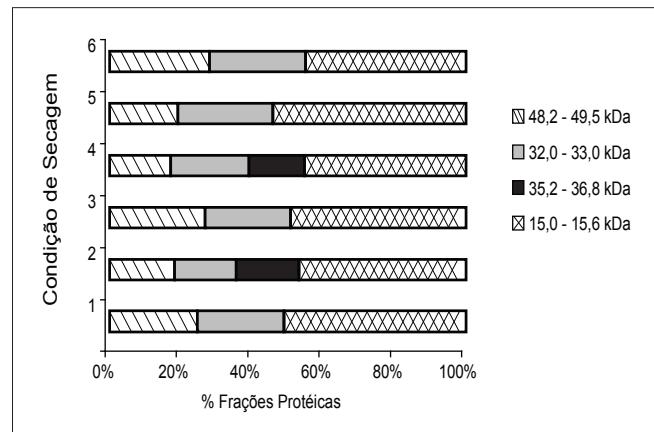
(P) padrão, (1) 5 mm 4°C, (2) 5 mm 50°C, (3) 5 mm 60°C, (4) 7 mm 40°C, (5) 7 mm 50°C, (6) 7 mm 60°C

FIGURA 1 – Eletroforetograma da *Aphanothece microscopica* Nágeli nas diferentes condições de secagem

A composição relativa das bandas de maior representatividade da biomassa nas diferentes condições de secagem analisadas são apresentadas na Figura 2. A fração com peso molecular na faixa de 15 kDa aparece como predominante, seguida pela fração de peso molecular de aproximadamente 32 kDa. Na biomassa seca nas condições 2 (5 mm-50°C) e 4 (7 mm-40°C) foram detectadas quatro bandas bem definidas enquanto as demais biomassas apresentaram apenas três. Esta banda apresentou peso molecular na faixa de 35,2 a 36,8 kDa.

Autores como ROUXEL et al. [31] e CHRONAKIS et al. [8] relacionam as variações no perfil eletroforético de microalgas a fatores como o cultivo em diferentes estações do ano, a diferentes temperaturas, pH e a forma como estas proteínas foram isoladas da matriz biológica, desengorduradas e preparadas para a realização da eletroforese. No entanto, para a obtenção do eletroforegrama da

Aphanothece microscopica Nágeli todos estes parâmetros foram mantidos fixos, tendo como única fonte de variação a condição de secagem da biomassa, que pode ter causado insolubilização parcial desta fração.



*Condição de secagem 1 – 5 mm-40°C, 5 mm-50°C, 5 mm-60°C, 7 mm-40°C, 7 mm-50°C, 7 mm-60°C

FIGURA 2 – Composição relativa das subunidades majoritárias que compõem a fração protéica da biomassa da *Aphanothece microscopica* Nágeli submetida a diferentes condições de secagem

3.2 - Perfil aminoacídico da *Aphanothece microscopica* Nágeli

O perfil aminoacídico da *Aphanothece microscopica* Nágeli, cultivada no efluente da parboilização do arroz e seca a 7 mm e 60°C, bem como seu escore químico (EQ) com base nas quantidades recomendadas pelo padrão FAO/WHO [10], para crianças na faixa etária de 2 a 5 anos, estão apresentados na Tabela 1. Para fins de comparação, foi também reportada a composição em aminoácidos do arroz polido.

TABELA 1 – Composição em aminoácidos essenciais (g/16 g N) e escore químico (EQ), da biomassa da *Aphanothece microscopica* Nágeli, do padrão FAO/WHO e do arroz polido

Aminoácidos	Aphanothece	FAO*	Arroz**
Lisina	3,82	5,8	3,80
Metionina + Cisteína	2,14	2,5	4,97
Fenilalanina + Tirosina	6,56	6,3	10,36
Leucina	6,60	6,60	8,24
Isoleucina	3,54	2,8	4,13
Valina	4,14	3,5	7,27
Treonina	4,90	3,4	4,34
Triptofano	1,10	1,1	1,21
EQ (%)	65,86		65,55

*Padrão referência protéica FAO/ WHO [13]

**SGARBieri [33]

Os aminoácidos essenciais fenilalanina+tirosina, isoleucina, valina e treonina, na biomassa de *Aphanothece microscopica* Nágeli, encontram-se em concentrações superiores ao padrão FAO/WHO [13]. A composição em aminoácidos essenciais da fração protéica da *Aphanothece*

microscopica Nágeli é semelhante à do arroz polido, com EQ em torno de 65%, tendo como aminoácido limitante a lisina. Os aminoácidos sulfurados (metionina+cisteína) também encontram-se em concentrações inferiores ao do padrão da FAO/WHO [13].

Esta carência em lisina e sulfurados é característico do perfil aminoacídico de algas verdes azuis [5, 23, 26, 32]. Baixas concentrações de lisina, como a observada para a biomassa da *Aphanothece*, podem estar associadas às perdas ocorridas durante a secagem pois a lisina pode reagir com açúcares livres ou mesmo com a parede celular, resultando na redução dos teores deste aminoácido [1, 38]. Esta informação é corroborada por MORIST et al. [23], que reportaram menor teor de lisina em biomassa da cianobactéria *Spirulina platensis* submetida ao tratamento térmico por atomização (3,3 g/16 g N). O teor de lisina na biomassa de *Aphanothece* (3,82 g/16 g N) é superior ao encontrado em alimentos convencionalmente consumidos, como as massas alimentícias (2,57 g/16 g N). Massas alimentícias tem o aminoácido treonina (3,10 g/16 g N) em concentrações inferiores ao recomendado pela FAO/WHO [7].

Este aminoácido na biomassa da *Aphanothece*, desenvolvida no efluente da parboilização do arroz, apresentou teores superiores ao padrão da FAO. Esta constatação justificaria a utilização desta biomassa em formulações de macarrão, e neste contexto é importante salientar ainda que a carência de aminoácidos sulfurados na *Aphanothece* seria complementada neste consórcio, uma vez que o macarrão apresenta teores de metionina e cistina na ordem de 3,74 g/16 g N, concentração superior ao aminograma de referência [7]. Isto faz da biomassa da *Aphanothece* uma fonte protéica a ser explorada, com destaque para a recuperação dos nutrientes da água residiária do processo de parboilização de arroz.

3.3 - Caracterização funcional

A variação da solubilidade protéica da biomassa da *Aphanothece microscopica* Nágeli em função do pH obtida em diferentes condições de secagem está expressa na Figura 3.

Os menores valores de solubilidade foram observados em pH 3,0, o que indica que o ponto isoelétrico das proteínas na *Aphanothece* está situado nesta faixa de pH. Proteínas de outras microalgas como *Spirulina platensis* e *Scenedesmus obliquus* também apresentaram pH na faixa de 3,0 a 4,0 [3, 9]. As maiores solubilidades protécicas foram obtidas na faixa de pH alcalino, independente da condição de secagem. A máxima solubilidade obtida foi de 48,6% em pH 10,0, valor semelhante aos reportados por outros autores que obtiveram 50% de solubilidade protéica nesta mesma faixa de pH, para outras espécies de microalgas [3, 9, 11, 25].

O aumento da solubilidade em pH fortemente alcalino ocorre devido à predominância de cargas negativas que geram forças de repulsão eletrostática capazes de promover a dissociação dos complexos e consequente solubilização da proteína [34]. Foi observado, para to-

dos os tratamentos, queda da solubilidade no pH 9,0, indicando que há ao menos uma fração protéica com pH nesta faixa de valores. NIRMALA et al. [25] observaram diminuição da solubilidade das proteínas de *Spirulina platensis* em pH acima 10,0, explicada pelos autores como sendo resultado de associação devido ao pH alcalino ou ainda devido à formação de pontes dissulfeto favorecidas neste pH.

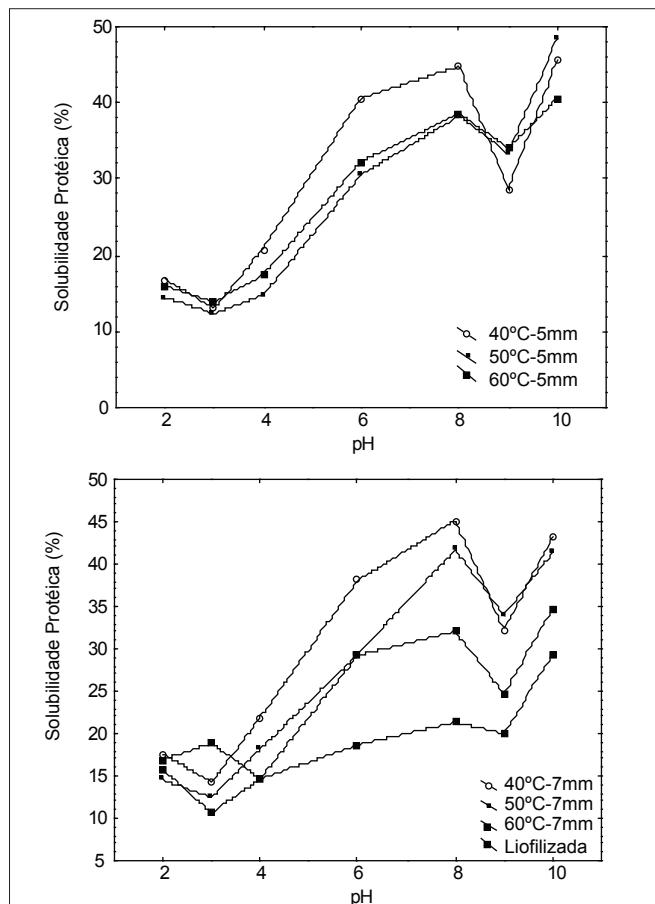


FIGURA 3 – Curvas de solubilidade protéica em função do pH nas diferentes condições de secagem

Em relação à influência da condição de secagem no percentual de proteína solúvel, observou-se que as maiores solubilidades foram obtidas nas amostras secas sob as menores temperaturas utilizadas (40°C), independente da espessura na bandeja. Em geral a solubilidade das proteínas é incrementada na faixa de temperatura entre 40 e 50°C. O decréscimo da solubilidade em função do tratamento térmico ocorre devido ao efeito da temperatura nas bandas não covalentes (pontes de hidrogênio, eletrostáticas e hidrofóbicas) envolvidas na estabilização das estruturas secundárias e terciárias da proteína, fazendo com que os grupos hidrofóbicos interajam e reduzam a associação com a água. O desdobramento destas estruturas favorece a interação entre os grupos hidrofóbicos, que levam à agregação, através da coagulação e precipitação, reduzindo a interação proteína-água [15, 19, 21, 27].

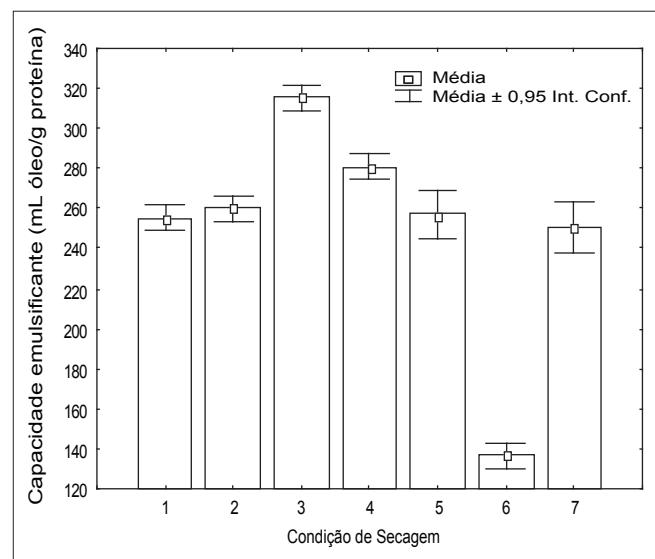
NIRMALA et al. [25] reportaram que elevadas temperaturas e condições inadequadas de secagem chegam a reduzir aproximadamente 30% dos valores da solubilidade protéica das cianobactérias. MORIST et al. [23] consideraram a liofilização como método de secagem de referência para cianobactérias, por ocasionar mínimas alterações em suas propriedades físico-químicas, nutricionais e sensoriais. No entanto, no presente trabalho, a biomassa liofilizada apresentou menor solubilidade que a obtida por desidratação em secador de bandejas, nas diferentes condições de pH avaliadas. GUIL-GUERRERO et al. [11] observaram para dois tipos de microalgas liofilizadas, solubilidade de cerca de 60 e 35% (*P. tricornutum* e *P. cruentus*, respectivamente) em pH 10,0 e inferior a 10% em pH 4,0.

Para a microalga em estudo, que foi liofilizada, a solubilidade em pH 10,0 foi em torno de 20% e em pH 3,0 (região do pH) ficou em torno de 10%. Estes valores são semelhantes aos obtidos para *P. cruentus*. Segundo os autores, a baixa solubilidade das proteínas das microalgas deve-se à parede celular, que impede a solubilização das proteínas. Como a solubilidade aumentou quando a biomassa foi submetida à secagem em camada delgada sob diferentes condições, possivelmente o tratamento térmico induziu à ruptura e/ou desnaturação protéica, aumentando a sua solubilidade no meio aquoso.

A capacidade emulsificante (CE) é um índice geralmente utilizado para medir a habilidade de emulsões formadas por proteínas ou peptídeos, sendo definida geralmente como volume de óleo (mL) que pode ser emulsionado pela proteína ou peptídeos antes que a inversão de fase ou colapso da emulsão ocorra [16]. A CE da biomassa da *Aphanthece microscopica Nágeli*, desidratada sob diferentes condições está apresentada na Figura 4.

Verifica-se que a condição de secagem ocasionou alterações na capacidade emulsificante das proteínas da biomassa da *Aphanthece*, obtendo-se maiores valores para a biomassa desidratada na condição de secagem de 60°C e 5 mm de espessura da bandeja, que corresponde à condição de menor tempo de exposição da biomassa ao ar aquecido. Diversas operações unitárias são utilizadas na secagem de proteínas visando sua utilização como agente emulsificante, provocando alterações na funcionalidade destas proteínas durante o processamento.

A intensidade do tratamento térmico afeta as propriedades da emulsão, já que em condições inadequadas de secagem pode ocorrer a exposição dos grupos reativos originalmente localizados em seu interior. Estes grupos reativos aumentam a interação atrativa entre as proteínas, alterando a susceptibilidade da emulsão à coalescência [6, 20]. De acordo com GUO et al. [12], as alterações físico-químicas causadas pelo processamento térmico ocasionam a redução da capacidade emulsificante devido à degradação na estrutura da proteína, resultando em um decréscimo na concentração de proteína disponível para a emulsificação.



(1^a) 40°C-5 mm; (2^a) 50°C-5 mm; (3^b) 60°C-5 mm; (4^c) 40°C-7 mm; (5^a) 50°C-7 mm; (6^d) 60°C-7 mm; (7e) liofilizada

*Letras diferentes em função da condição de secagem diferem significativamente pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$)

FIGURA 4 – Variação da capacidade emulsificante nas diferentes condições de secagem

4 - CONCLUSÕES

O perfil eletroforético das proteínas da biomassa *Aphanthece microscopica Nágeli* evidenciou pesos moleculares mínimos, abrangendo o intervalo de 15 a 54,8-62,5 kDa.

O aminograma das proteínas da *Aphanthece microscopica Nágeli* indicaram deficiência em lisina e aminoácidos sulfurados (metionina+cisteína) em relação ao modelo de referência FAO/WHO. O escore químico registrado para *Aphanthece* foi de 65,86%, relativo ao aminoácido lisina.

A condição de secagem exerceu influência nas propriedades funcionais da cianobactéria *Aphanthece microscopica Nágeli*, sendo obtidos máximos de 48,6% e 316 mL/g para solubilidade protéica e capacidade emulsificante, respectivamente.

A caracterização da fração protéica da cianobactéria *Aphanthece microscopica Nágeli* qualifica esta biomassa como uma fonte potencial de proteína unicelular, para o uso como ingrediente funcional de alimentos.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALOMAR, D.; FUCHSLOCHER, R.; STOCKBRAND, S. Effects of oven or freeze-drying on chemical composition and NIR spectra of pasture silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 80, p. 309-319, 1999.
- [2] ANUPAMA, P.; RAVINDRA, L. Value-added food: Single cell protein. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 459-479, 2000.
- [3] ANUSUYA DEVI, M.; VENKATARAMAN, V.L.; SUBBULAKSHMI, G.; MADHAVI DEVI, K. Studies on the proteins of mass cultivated blue-green alga *Spirulina*

- platensis*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 29, p. 522-525, 1981.
- [4] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**, 15th ed. Washington, D.C., 1990.
- [5] CAMPANELLA, L.; CRESCENTINI, G.; AVINO, P. Simultaneous determination of cysteine, cystine and 18 other amino acids in various matrices by high-performance liquid chromatography. **Journal Chromatography**, v. 833, p. 137-145, 1999.
- [6] CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. In: O.R. FENNEMA (ed.), **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985, p. 245-369.
- [7] CIACCO, C.F.; CHANG, Y.K. **Tecnologia de massas alimentícias**. Ícone Editora Ltda., p. 127, 1986.
- [8] CHRONAKIS, I.S. Gelation of edible blue-green algae protein isolate (*Spirulina platensis* strain pacifica): thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, p. 888-898, 2001.
- [9] DUA, S.; KAUR, M.; AHLUWALIA, A.S. Functional properties of two pollutant grown green algae. **Journal Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 25-28, 1993.
- [10] FAO/WHO. **Report of ad Hoc Expert Committee on Energy and Protein Requirements**. Tech. Report. Series 522. Roma, 1985.
- [11] GUIL-GUERRERO, J.L.; NAVARRO-JUAREZ, A.; LÓPEZ-MARTINEZ, J.C.; CAMPRAMADRID, P.; REBOLLOSO-FUENTES, M.M. Functional properties of the biomass of three microalgal specie. **Journal of Food Engineering**, v. 30, p. 312-318, 2004.
- [12] GUO, M.R.; FOX, P.F.; FLYNN, A.; KINDSTED, R.S. Heat-induced modifications of the functional properties of sodium caseinate. **International Dairy Journal**. v. 6, p. 473-483, 1996.
- [13] HENLLEY, E.C.; KUSTER, J.M. Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring. **Food Technology**. v. 48, p. 74-77, 1994.
- [14] JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L.Q.; GOLDBECK, R.; MITTERER, M.L.; QUEIROZ, M.I.; TREPTOW, R.O.; PINTO, L.A.A. Avaliação da cor da cianobactéria *Aphanthece microscopica* Nágeli em diferentes condições de secagem. **Vetor**, v. 15, p. 20-28, 2006.
- [15] KIM, J.C. Milk protein/stainless steel interaction relevant to the initial stage off ouling in thermal processing. **Journal of Food Process Engineering**. v. 21(5), p. 369-386, 1998.
- [16] KINSELLA, J.E. Functional properties in novel proteins some methods for improvement. **Chemistry and Indutry**. v. 5, p. 171-181, 1976.
- [17] KRÜGER, C.; CENI, G.; SGARBieri, V.; CÂNDIDO L. Propriedades hidrofílicas de concentrados protéicos de leite bovino. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36(2), p. 122-127, 2002.
- [18] LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head bacteriophage. **Nature**. v. 277, p. 680-685, 1970.
- [19] LANGERDORFF, V.; CUVELIER, G.; LAUNAY, B.; MICHIN, C.; PARKER, A.; KRUIF, C.G. Casein micelle/ iota carragenan interactions in milk: Influence of temperature. **Food Hydrocolloids**. v. 13(1), p. 211-218, 1999.
- [20] MCCLEMENTS, D.J. Protein-stabilized emulsions. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 9, p. 305-313, 2004.
- [21] MINE, Y. Recent advances in the understanding off egg white protein functionally. **Trends in Food Science and Technology**. v. 6 (7), p. 225-232, 1995.
- [22] MOLINA GRIMA, E.; BELARBI, E.H.; ACIÉN-FERNANDEZ, F.G.; ROBLES, M.A.; CHISTI, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process option and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 491-515, 2002.
- [23] MORIST, A.; MONTESINOS, J.L.; CUSIDÓ, J.A.; GÓDIA, F. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. **Process Biochemistry**. v. 37, p. 535-547, 2001.
- [24] MORR, C.V.B.; GERMAN, J.; KINSELLA, J.M.; REGESTein, J.P.; VAN BUREN, A.; KILARA, B.A. A collaborate study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**. v. 50, p. 1.715-1.718, 1985.
- [25] NIRMALA, C.; PRAKASH, V.; VENKATARAMAN, L.V. Physico-chemical and functional properties of proteins from spray dried algae (*Spirulina platensis*). **Journal of Food Biochemistry**. v. 36, p. 569-577, 1992.
- [26] OMAR, H.H. Bioremoval of zinc ions by *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus quadricauda* and its effects on growth and metabolism. **International Biodegradation and Biodegradation**. v. 5, p. 95-100, 2002.
- [27] PELEGRI, D.H.G.; GASPERETTO, C.A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 38, p. 77-80, 2005.
- [28] QUEIROZ, M.I.; SOARES, L.A.S.; KOETZ, PR.; TREPTOW, R.O.; YUNES, J.S. Avaliação do teor de proteína da *Aphanthece* sp. Caracterização em aminoácidos. In: **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 1998, v. 2, n. 1, p. 1.089-1.091.
- [29] QUEIROZ, M.I.; SOARES, L.A.S.; KOETZ, PR.; BARROS, F.A.; DADALT, G.M. Quality evaluation of the *Aphanthece* cyanobacteria protein and perspective of its use in alimentary diets. In: **Proceedings of the 8th International Congress on Engineering and Food (ICEF 8)**, 2001, Pennsylvania, USA, p. 1.911-1.914, 2001.
- [30] QUEIROZ, M.I.; ZEPKA, L.Q.; BASTOS, R. Evaluation of single cell-protein production by *Aphanthece microscopica* Nágeli in batch reactor. **Food Science and Biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 215-220, 2004.
- [31] ROUXEL, C.; DANIEL, A.; JERONE, M.; ETIENNE, M.; FLEURENCE, J. Species identification by SDS-PAGE of red algal used as seafood or a food ingredient. **Food Chemistry**, v. 74, p. 349-353, 2001.
- [32] SATO, Y.; MURAKAMI, M.; MIYAZAWA, K.; HORI, K. Purification and characterization of a novel from a freshwater cyanobacterium *Oscillatoria agardii*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 25, p. 169-177, 2000.
- [33] SGARBieri, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades-degradações-modificações**. São Paulo: Edunicamp, 1996.
- [34] SGARBieri, V.C. Propriedades funcionais de proteínas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 212-220, 1998.

- [35] SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T.B. Diferentes métodos de concentração de proteína de levedura e suas implicações nas propriedades funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36(2), p. 83-94, 2002.
- [36] SPACKMAN, D.H.; SETEIN, W.; MOORE, S. **Automatic recording apparatus for use in the chromatography of aminoacids**. Beckman Instruments, Palo Alto, 1977.
- [37] VENKATARAMAN, V.; PRAKASH, V.; NIRMALA, C. Physico-chemical and functional properties of proteins from spray dried algae (*Spirulina platensis*). **Die Nahrung**, v. 36, p. 569-577, 1992.
- [38] YANG, B.L.; WING, L.; MC GARRY, D. Report of a work-shop on high-rotes algae ponds. **Wastewater Treatment and Resource Recovery**, v. 27, p. 29-32, 1980.