



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE
ALIMENTOS



LEILA MAGDA RODRIGUES ALMEIDA

**INCORPORAÇÃO DE BIOMASSA DE *SPIRULINA SP.* PARA
O DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
ALIMENTO FUNCIONAL**

Salvador – BA
2018

LEILA MAGDA RODRIGUES ALMEIDA

**INCORPORAÇÃO DE BIOMASSA DE *SPIRULINA SP.* PARA
O DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
ALIMENTO FUNCIONAL**

Orientadora: Prof^a Carolina Oliveira de Souza

Coorientadora: Prof^a Janice Izabel Druzian

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Salvador – BA
2018

SISTEMA DE BIBLIOTECA - UFBA

Almeida, Leila Magda Rodrigues
INCORPORAÇÃO DE BIOMASSA DE SPIRULINA SP. PARA O
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ALIMENTO
FUNCIONAL / Leila Magda Rodrigues Almeida. --
Salvador, 2018.
99 f.

Orientadora: Carolina Oliveira de Souza.
Coorientador: Janice Izabel Druzian.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em
Ciência de Alimentos) -- Universidade Federal da
Bahia, Faculdade de Farmácia, 2018.

1. Arthospira platensis. 2. Biomassa. 3. Novos
alimentos. I. Souza, Carolina Oliveira de. II.
Druzian, Janice Izabel. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

LEILA MAGDA RODRIGUES ALMEIDA

INCORPORAÇÃO DE BIOMASSA DE *Spirulina Sp.* PARA O DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ALIMENTO FUNCIONAL

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 13 de dezembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA



Dr^a. Carolina Oliveira de Souza
Universidade Federal da Bahia
Orientadora



Dr. Carlos Pasqualin Cavalheiro
Universidade Federal da Bahia



Dr. Denilson de Jesus Assis
Universidade Federal da Bahia

AGRADECIMENTOS

À Deus por sua infinita misericórdia e por prover mais essa conquista em minha vida.

À minha mãe Kenia e meu pai Gilmaci, pelo amor incondicional, pelo cuidado, pela luta incansável, confiança, e incentivo para que eu conseguisse superar as dificuldades.

À minha irmã Lívia por fazer sempre o melhor por mim, por todo amor, carinho, apoio e por acreditar em mim.

Ao meu namorado Tiago pelo amor, carinho, amizade, compreensão nos momentos de ausência, e por estar sempre me apoiando.

As amigas Larissa e Ludmila pela amizade, conversas, companhia durante os muitos e longos dias de laboratório, e apoio na execução deste trabalho; obrigada pela convivência, carinho e respeito.

À Maria e Joseane por me acolheram com muito amor e incentivo, e por serem fortaleza nos momentos que mais precisei.

À minha orientadora Carolina por todo aprendizado e dedicação na realização desse trabalho.

À minha co-orientadora Janice por ser a idealizadora desse trabalho e por acreditar que eu pudesse executar.

À todos os colegas do laboratório LAPESCA pela convivência diária e troca de conhecimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro.

Enfim, meu muito obrigado a todos que contribuíram com a realização desse sonho.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana”.

Carl Jung

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1. Composição nutricional da <i>Spirulina sp</i> por 100g	22
TABELA 2. Composição de aminoácidos da biomassa <i>Spirulina sp</i> por 100g	24
TABELA 3. Relação dos produtos elaborados contendo ingredientes funcionais	35
TABELA 4. Relação dos produtos desenvolvidos com biomassa de <i>Spirulina</i>	37

CAPÍTULO II

TABELA 1. Resultados das buscas nas bases <i>Espacenet</i> e <i>INPI</i>	58
---	----

CAPÍTULO III

TABELA 1. - Formulação do molho controle e molhos contendo diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> .	74
TABELA 2. Valores de pH e acidez para o molho controle e molhos adicionados de diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> após 24 h de armazenamento.	79
TABELA 3. Parâmetros obtidos na análise de textura e avaliação sensorial para o molho controle e molhos adicionados de diferentes concentrações de <i>Spirulina</i> após 24 h de armazenamento.	80
TABELA 4. Valores médios das características físico-químicas do molho controle e molho adicionado com 4% de <i>Spirulina</i> durante o armazenamento por 45 dias.	83
TABELA 5. Resultados obtidos na determinação de elementos minerais do molho controle e molho adicionado com 4% de <i>Spirulina</i> .	85
TABELA 6. Perfil de ácidos graxos do molho controle e molho adicionado com 4% de <i>Spirulina</i> durante 45 dias de armazenamento.	88
TABELA 7. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante do molho controle e molho adicionado com 4% de <i>Spirulina</i> durante 45 dias de armazenamento.	90

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

FIGURA 1. Gênero <i>Spirulina</i> vista ao microscópio (40x)	19
FIGURA 2. Cultivo artificial aberto da microalga <i>Spirulina</i>	21
FIGURA 3. Biomassa da microalga <i>Spirulina</i>	27
FIGURA 4. Estrutura química dos ácidos benzoicos	30

CAPÍTULO II

FIGURA 1. Principais Códigos de Classificação Internacional dos documentos de patentes associadas a incorporação de microalgas em alimentos	58
FIGURA 2. Principais países depositantes de documentos de patentes relacionados à incorporação microalgas em alimentos	59
FIGURA 3. Evolução anual do número de deposito de documentos patentes relacionadas à incorporação microalgas em alimentos entre o ano de 2000 a 2016	60
FIGURA 4. Inventores com maior número de documentos de patentes depositadas relacionadas à incorporação de microalgas em alimentos	61
FIGURA 5. Principais titulares de documentos de patentes relacionados a incorporação de microalgas em alimentos	62
FIGURA 6. Distribuição dos tipos de titulares de documentos de patentes relacionadas a microalgas	63
FIGURA 7. Principais produtos alimentares incorporados com biomassa de microalgas	64
FIGURA 8. Efeito terapêutico dos alimentos funcionais desenvolvidos com biomassa de microalgas	64

CAPÍTULO III

FIGURA 1. Variações nos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (vermelho) e b^* (amarelo) no molho controle e molho com 4% de <i>Spirulina</i>	93
FIGURA 2. Molho controle e molho adicionado de <i>Spirulina</i>	93

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
CAPÍTULO I	18
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
1. MICROALGA <i>SPIRULINA SP.</i>	19
2. ASPECTOS NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS DA <i>SPIRULINA SP.</i>	21
2.1 Proteínas e aminoácidos	24
2.2 Ácidos graxos	25
2.3 Minerais	27
2.4 Pigmentos	28
2.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante	30
3. ALIMENTOS FUNCIONAIS	32
4. INOVAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS	34
5. DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS COM BIOMASSA DE <i>SPIRULINA</i>	36
REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO II	
PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA	52
Estudo prospectivo sobre produtos alimentares incorporados de biomassa de microalgas	53
CAPÍTULO III	67
MOLHO FUNCIONAL COM ALTO CONTEÚDO PROTEICO E POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELA ADIÇÃO DE <i>SPIRULINA PLATENSIS</i>	68
RESUMO	68
ABSTRACT	68

1. INTRODUÇÃO	69
2. MATERIAL E MÉTODOS	71
2.1 Materiais	71
2.2 Métodos	71
2.2.1 Formulações dos molhos	72
2.2.2 Elaboração dos molhos	73
2.2.3 Análises físico-químicas	73
2.2.3 Análise de textura	73
2.2.4 Avaliação sensorial	74
2.2.5 Identificação e quantificação de Ácidos graxos	74
2.7 Compostos Fenólicos e atividade antioxidante	75
2.5 Análise da cor	76
2.9 Análise microbiológica	76
3.0 Análise estatística	77
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
3.1 Seleção da melhor formulação contendo biomassa de <i>Spirulina</i> : parâmetros físico-químicos, textura e sensoriais	77
3.2 Composição físico-química	77
3.3 Identificação e quantificação de ácidos graxos	85
3.4 Atividade antioxidante	87
3.5 Determinação de Cor	90
3.6 Qualidade microbiológica	92
4. CONCLUSÃO	92
5. REFERÊNCIAS	92

RESUMO

Pesquisas inovadoras envolvendo a biotecnologia por meio da utilização de micro-organismos para a produção de novos produtos, inclusive alimentos, tem sido destaque na indústria global de alimentos. A *Spirulina platensis* LEB-18 é uma microalga com composição nutricional apropriada para uso como complemento alimentar, destacando o seu alto teor de proteína, ácidos graxos mono e poli-insaturados, compostos bioativos, vitaminas e minerais, caracterizando-a no âmbito dos alimentos funcionais. O estudo prospectivo demonstrou que os principais alimentos desenvolvidos com aplicação de microalgas são os alimentos instantâneos e alimentos funcionais. Sendo assim, as necessidades do mercado por produtos práticos e saudáveis motivaram a elaboração do presente trabalho, que teve como objetivo desenvolver um molho funcional enriquecido com a biomassa de *Spirulina platensis*, bem como avaliar suas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e antioxidantes. Para o desenvolvimento dos molhos, foram elaboradas, de acordo com as técnicas dietéticas, quatro formulações: controle (sem biomassa de *Spirulina*) e molhos contendo diferentes concentrações de biomassa de *Spirulina* (2,0%; 3,0% e 4,0%). Dentre essas formulações, a que obteve melhores resultados nos parâmetros físico-químicos (pH e acidez), texturais e sensoriais foi selecionada para o monitoramento e avaliação durante 45 dias de armazenamento (refrigeração 4 - 6°C). Para a formulação selecionada, foram avaliados durante o período de armazenamento os parâmetros: pH, acidez, atividade de água, proteína totais, lipídios totais, carboidratos, fibra bruta, cinzas totais, minerais, perfil de ácidos graxos, potencial antioxidante, cor e análise microbiológica. O emprego de *Spirulina* nos molhos aumentou o valor do pH e alterou o perfil global de textura, conferindo molhos mais firmes com o aumento das concentrações. O maior valor de firmeza (0,45 N) foi atribuído ao molho contendo 4,0% de biomassa, assim como as maiores notas na avaliação sensorial (aroma, sabor, textura, impressão global, intenção de compra). Sendo assim, esta formulação foi selecionada para as análises durante o armazenamento. O molho incorporado com 4,0% de biomassa obteve altos teores de proteínas totais (7,94%), fibras (1,05%), minerais (884,43 mg/100g), compostos fenólicos (350,30 mgEAG.g⁻¹) e potencial antioxidante (IC₅₀ 12,20 mg.ml⁻¹), sobressaindo à formulação controle, além de apresentar os ácidos graxos insaturados (C18:3n3 – 6,40% e C18:1n9 – 20,11%) que não foram encontrados no controle. Em relação à cor, a formulação apresentou uma expressiva coloração verde escuro, o que se justifica pela presença de pigmentos, incluindo a clorofila e a ficocianoína, responsáveis pela coloração verde-azul desta microalga. A análise microbiológica demonstrou para ambos os molhos a ausência de *Salmonella sp.*, e ausência de Coliformes ($\leq 3,0$ NMP/g de produto) e *Staphylococcus coagulase positiva* ($\leq 10^2$ UFC/g de produto), estando de acordo com legislação vigente. Após os 45 dias de armazenamento as características físico-químicas, a atividade antioxidante e os parâmetros de cor foram conservados, indicando que as condições de estocagem (refrigeração 4 - 6°C) foram apropriadas para a conservação do produto natural e isento de conservantes. Os resultados da pesquisa permitiram concluir que o molho enriquecido com 4,0% de biomassa de *Spirulina* é um alimento seguro, sensorialmente aceito e apresenta possíveis benefícios para a saúde, apresentando características de um alimento funcional. No entanto, há necessidade de mais estudos no desenvolvimento de novos produtos alimentícios com adição de *Spirulina*, visto que a mesma é legalmente autorizada como alimento e representa uma fonte alternativa com potencial valor comercial, nutricional e tecnológico.

Palavras-chave: biomassa; *Arthospira platensis*; condimento, desenvolvimento, novos alimentos.

ABSTRACT

Innovative research involving biotechnology through the use of microorganisms for the production of new products, including food, has been prominent in the global food industry. *Spirulina platensis* LEB-18 is a microalgae with nutritional composition suitable for use as a food supplement, highlighting its high protein content, mono and polyunsaturated fatty acids, bioactive compounds, vitamins and minerals, characterizing it in the context of functional foods. The prospective study demonstrated that the main foods developed with application of microalgae are instant foods and functional foods. Therefore, the market needs for practical and healthy products motivated the elaboration of the present work, whose objective was to develop a functional sauce enriched with the biomass of *Spirulina platensis*, as well as to evaluate its physical-chemical, microbiological, sensorial and antioxidant characteristics. For the development of the sauces, according to the dietary techniques, four formulations were prepared: control (without *Spirulina* biomass) and sauces containing different concentrations of *Spirulina* biomass (2.0%, 3.0% and 4.0%). Among those formulations, the one that obtained the best results in the physical-chemical parameters (pH and acidity), texture and sensory was selected for the monitoring and evaluation during 45 days of storage (refrigeration 4-6°C). For the selected formulation, the parameters: pH, acidity, water activity, total protein, total lipids, carbohydrates, crude fiber, total ashes, minerals, fatty acid profile, antioxidant potential, color and analysis were evaluated during the storage period. microbiological study. The use of *Spirulina* in the sauces increased the pH value and altered the overall texture profile, giving stronger sauces with increasing concentrations. The highest value of firmness (0.45 N) was attributed to the sauce containing 4.0% of biomass, as well as the highest notes in the sensory evaluation (aroma, flavor, texture, overall impression, purchase intention). Thus, this formulation was selected for analysis during storage. The incorporation of the soybean meal with 4.0% of biomass obtained high levels of total proteins (7.94%), fibers (1.05%), minerals (884.43 mg / 100g), phenolic compounds (350.30 mgEAG.g (C18: 3n3 - 6.40% and C18: 1n9 - 20.11%), which presented a high antioxidant potential (IC50 12,20 mg.ml⁻¹). were not found in the control. Regarding color, the formulation presented a significant dark green coloration, which is justified by the presence of pigments, including chlorophyll and phycocyanine, responsible for the blue-green coloration of this microalgae. The microbiological analysis showed for both sauces the absence of *Salmonella* sp., And absence of Coliforms (≤ 3.0 MPa / g of product) and Coagulase positive *Staphylococcus* ($\leq 10^2$ CFU / g of product), being in agreement with current legislation. After 45 days of storage, the physicochemical characteristics, antioxidant activity and color parameters were maintained, indicating that the storage conditions (refrigeration 4 - 6°C) were appropriate for preservation of the natural product and free of preservatives. The results of the research allowed to conclude that the enriched sauce with 4.0% of *Spirulina* biomass is a safe food, sensorially accepted and presents possible health benefits, presenting characteristics of a functional food. However, there is a need for further studies in the development of new food products with addition of *Spirulina*, as it is legally authorized as food and represents an alternative source with potential commercial, nutritional and technological value.

Keywords: biomass; *Arthospira platensis*; condiment, development, new foods.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As microalgas são organismos microscópicos fotossintéticos encontrados amplamente na natureza em ambientes marinhos e de água doce. Constituem um grupo diversificado de organismos procarióticos e eucarióticos e possuem um mecanismo fotossintético semelhante ao das plantas terrestres (KREITLOW, MUNDT, LINDEQUIST, 1999; MOLNÁR, GYENIS, VARGA, 2009).

A *Spirulina platensis* é um representante dessa classe de microalgas, a qual tem sido utilizada na alimentação humana desde a idade antiga por apresentar uma biomassa essencialmente rica em nutrientes (HABIB et al., 2008). A redescoberta dessa microalga como suplemento alimentar se deu na década de 60 e desde então vem sendo utilizada no enriquecimento de produtos utilizados na alimentação, e principalmente, em substituição, à proteína de origem animal, visto que, a pecuária bovina consiste em uma prática que gera custos elevados na produção (SHIMAMATSU, 2004; LÓPEZ et al., 2013).

Segundo a FDA (Food and Drug Administration), a biomassa de *Spirulina* é classificada como *GRAS* (*Generally Recognized as Safe*), o que garante a sua comercialização e o seu uso como alimento seguro (AMBROSI et al., 2008). Estudos científicos evidenciam que essa biomassa tem um dos mais altos teores de proteína já encontrados, além de boa digestibilidade e todos os aminoácidos essenciais (AVILA-LEON et al., 2012; RABELO et al., 2013). De acordo com NEHAL (2014) a microalga *Spirulina* é classificada como um *superfood*, especialmente pelo seu alto teor de proteínas, vitaminas (vitamina A, B, C, D, E), minerais (ferro, potássio, sódio), polifenóis, polissacarídeos, fibras e baixas calorias.

Atualmente, a biomassa dessa microalga tem sido indicada e utilizada na produção de alimentos funcionais e nutracêuticos (BATISTA et al., 2013; SHAHIDI & AMBIGAIPALAN, 2015; EL BAKE et al., 2015; WELLS et al., 2017), pois podem promover efeitos terapêuticos como a diminuição da hiperlipidemia, dos níveis séricos de glicose, da pressão arterial, proteção contra danos renais, auxílio no crescimento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* da microbiota intestinal, além das propriedades antioxidantes, atribuídas aos compostos fenólicos e a ficocianina (AMBROSI et al., 2008; MICZKE et al., 2016; SZULINSKA et al., 2017). Alguns alimentos como macarrão, biscoitos, barras de cereais, iogurtes e outros produtos funcionais, já foram desenvolvidos pela incorporação de biomassa de *Spirulina*. Os autores descrevem que

esses alimentos foram sensorialmente aceitos e podem representar uma tendência sustentável no mercado, por unir a alimentação comum do dia-a-dia com efeitos benéficos adicionais à saúde (FIGUEIRA et al., 2011; LEMES et al., 2012; MORAIS, MIRANDA, COSTA, 2006; RODRÍGUEZ et al., 2014).

É possível observar que a procura por alimentos funcionais sofreu um aumento nos últimos anos, consequência do crescente interesse dos consumidores por alimentos saudáveis. Este acréscimo foi motivado aos cuidados à saúde, da expectativa média de vida e pela preocupação da população no melhoramento da qualidade de vida (PLAZA et al., 2009; KRAUS, 2015; SHAHIDI & AMBIGAIPALAN, 2015). Aliado a isso, pesquisas apontam as grandes tendências de mercado para produtos alimentícios de fácil manipulação e preparo, bem como, a possibilidade do consumo instantâneo. Estas características são comumente observadas no mundo moderno em que consumidores buscam opções relacionadas à praticidade, tempo e saúde (MONTEIRO, 2008; BUCHER et al., 2016).

Nessa perspectiva, a inovação na área de alimentos tem sido amplamente estimulada dentro da indústria tradicional. Novos produtos, processos ou serviços são reconhecidos como um instrumento importante para que o mercado de alimentos satisfaça as expectativas dos consumidores (MENRAD, 2003; BUCHER et al., 2016). No entanto, apesar das microalgas serem fortes aliados para o desenvolvimento de novos alimentos com potencial valor nutricional, pesquisas tem reportado que a maior utilização da *Spirulina* é como suplemento alimentar, comprimidos e cápsulas. Neste contexto, é necessário diversificar essa utilização para outros produtos, a fim garantir o contínuo desenvolvimento da biotecnologia de microalgas na área de alimentos (LIANG et al., 2004; BUONO et al., 2014).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi desenvolver um molho funcional pela adição de diferentes concentrações de biomassa de *Spirulina platensis* LEB-18, avaliando suas propriedades físico-químicas, sensoriais e antioxidante, além da estabilidade durante 45 dias de armazenamento.

REFERÊNCIAS:

AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; et al. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 115-123, 2008.

AVILA-LEON, I.; MATSUDO, M. C.; SATO, S.; et al. *Arthrospira platensis* biomass with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen source. **Journal of Applied Microbiology**, v. 6, n. 112, p. 1086-1094, 2012.

BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; et al. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. **Algal Research**, v. 2, n. 2, p. 164-173, 2013.

BUCHER, T.; COLLINS, C.; ROLLO, M. E.; et al. Nudging consumers towards healthier choices: a systematic review of positional influences on food choice. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 12, p. 2252-2263, 2016.

BUONO, S.; LANGELLOTTI, A. L.; MARTELLO, A.; et al. Functional ingredients from microalgae. **Food & function**, v.5, n.8, p. 1669-1685, 2014.

EL BAKY, H. H. A.; EL BAROTY, G. S.; IBRAHEM, E. A. Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina* biomass. **Nutricion hospitalaria**, v. 32, n. 1, p. 231-241, 2015.

FIGUEIRA, F. D. S.; CRIZEL, T. D.; SILVA, C. R.; et al. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 308–316, 2011.

HABIB, M. A. B.; PARVIN, M.; HUNTINGTON, T. C.; et al. A review on culture, production and use of *Spirulina platensis* as food humans and feeds for domestic animals and fish. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, v. 1034, p. 1-33, 2008.

KRAUS, A. Factors influencing the decisions to buy and consume functional food. **British Food Journal**, v. 117, n. 6, p. 1622-1636, 2015.

KREITLOW, S.; MUNDT, S.; LINDEQUIST, L. Cianobactérias - uma fonte potencial de novas substâncias biologicamente ativas. **Journal Biotechnol**, v. 70, p. 61-3; 1999.

LEMES, A. C.; et al. Fresh pasta production enriched with *Spirulina platensis* biomass. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 5, p. 741–750, 2012.

LIANG, S.; LIU, X.; CHEN, F.; CHEN, Z. et al. Current microalgal health food R & D activities in China. **Hydrobiologia**, v. 512, p. 45-48, 2004.

LÓPEZ, E. P. Superalimento para un mundo en crisis: *Spirulina platensis* a bajo costo. **Idesia**, v. 31, n. 1, p. 135-139, 2013.

MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 181-188, 2003.

MICZKE, A.; SZULINSKA, M.; HANSDORFER-KORZON, R.; et al. Effects of spirulina consumption on body weight, blood pressure, and endothelial function in overweight hypertensive Caucasians: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 1, p. 150-6, 2016.

MOLNÁR, N.; GYENIS, B.; VARGA, G. Influência de um pó *Spirulina platensis* biomassa na produção de ácido de lactococci no leite. **Milchwissenschaft**, v. 60, n. 4, p. 380-2; 2005.

MONTEIRO, C. S. *Desenvolvimento de molho de tomate Lycopersicon esculentum Mill formulado com cogumelo Agaricus brasiliensis*. 2008. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; & COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: Características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 323–328, 2006.

PLAZA, M.; HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; et al. Innovative Natural Functional Ingredients from Microalgae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 7159–7170, 2009.

RODRÍGUEZ, M. E.; STEFFOLANI, M. E.; MARTÍNEZ, C. S.; et al. Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102–108, 2014.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Novel functional food ingredients from marine sources. **Current Opinion in Food Science**, v. 2, p. 123-129, 2015.

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

SZULINSKA, M.; GIBAS-DORNA, M.; MILLER-KASPRZAK, E.; et al. Spirulina maxima improves insulin sensitivity, lipid profile, and total antioxidant status in obese patients with well-treated hypertension: a randomized double-blind placebo-controlled study. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 21, n. 10, p. 2473-2481, 2017.

WELLS, M. L.; POTIN, P.; CRAIGIE, J. S.; et al. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **Journal of applied phycology**, v. 29, n. 2, p. 949-98, 2017.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver molho funcional pela incorporação de diferentes concentrações de biomassa de *Spirulina platensis*, bem como avaliar suas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e antioxidantes.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar um estudo prospectivo sobre produtos alimentares incorporados com biomassa de microalgas;
- Utilizar a biomassa de *Spirulina* como ingrediente alimentar de acordo com a legislação vigente, associada a condimentos vegetais para a elaboração de molho não emulsionado pronto para o consumo;
- Avaliar a composição físico-química, os parâmetros de textura e as características sensoriais das formulações dos molhos desenvolvidos;
- Selecionar a formulação que apresentar os melhores resultados nos parâmetros físico-químicos, de textura e sensorial para avaliação do armazenamento (refrigeração 4-6°C) durante 45 dias;
- Avaliar comparativamente durante o armazenamento o molho selecionado e molho controle (sem adição de *Spirulina*) quanto aos parâmetros físico-químicos, antioxidantes e características microbiológicas;
- Comparar os parâmetros físico-químicos e as características microbiológicas obtidos durante o armazenamento dos produtos com os valores estabelecidos pelas respectivas legislações;
- Agregar valor nutricional ao produto elaborado com enfoque nos teores de proteínas totais e compostos bioativos pela incorporação de biomassa de *Spirulina*.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Microalga *Spirulina sp.*

O gênero *Arthrospira platensis* (nome comum: *Spirulina*) pertence à família Oscillatoriaceae e compreende o grupo das cianobactérias filamentosas (microalgas verde-azuladas). É caracterizado por cadeias de células, constituindo um filamento na forma de espiral, denominado tricoma (Figura 1). Os tricomas são constituídos por células cilíndricas, curtas e largas, revestidas por uma fina membrana. Seu diâmetro pode variar de 6 a 12 μm , e as estruturas helicoidais formadas por este filamento podem apresentar diâmetros que variam de 30 a 70 μm . (ROUT et al, 2015; MA et al., 2018).

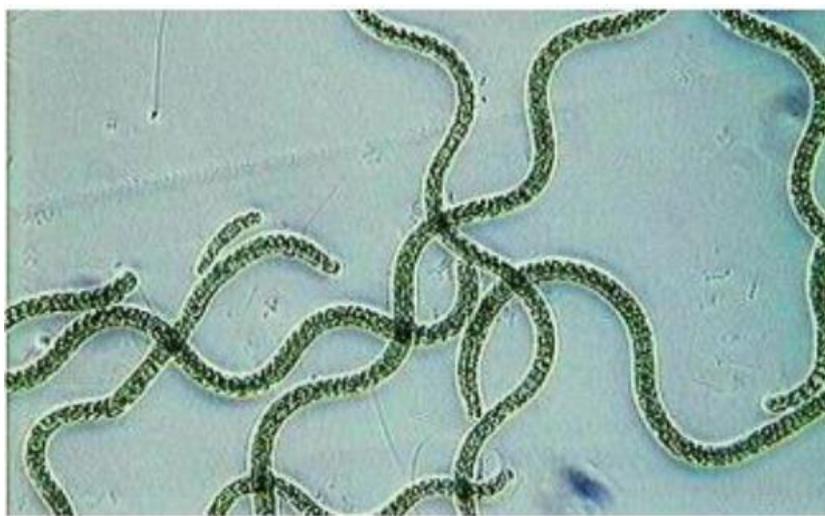


FIGURA 1. Gênero *Spirulina* vista ao microscópio (40x). Fonte: SILVA, 2008.

Originariamente, trata-se de um organismo procedente de lagoas da África e da América tropical, que tem se estendido em outras zonas quentes do mundo, aproveitando a sua capacidade de adaptação em lugares onde não podem crescer outros organismos (HABIB et al., 2008).

A *Spirulina* pode ser encontrada em meios aquáticos ricos em sais minerais, compostos principalmente por bicarbonato e carbonato de sódio, com pH de 8 a 11. Entretanto, também pode ser encontrada nos mais diferentes ambientes, pois apresenta grande capacidade de adaptação a condições ambientais extremas (AVILA LÉON et al., 2012). Além disso, se multiplica rapidamente, sendo capaz de realizar fotossíntese oxigênica, produzindo biomassa rica em compostos biologicamente ativos (HABIB, 2008). Essa microalga cresce de forma natural em lagoas de todos os continentes, incluindo regiões da África, Ásia, América do Sul, América do Norte, Europa, e até

mesmo na Antártida, algumas vezes perto de lagoas muito salgadas, vulcões e desertos (KEBEDE & HLGREN, 1996).

No Brasil, a *Spirulina* já foi identificada na Lagoa da Mangueira (RS) (33° 30' 12" S, 53° 08' 58" W) e nas Lagoas Salina do Meio (19° 13' 29" S, 56° 57' 14" W) e Salitrada Campo Dora no Pantanal (MS) (19° 15' 59,3" S, 56° 59' 20,2" W) (SANTOS, 2013). Os principais centros de pesquisa com microalgas no país localizam-se nas regiões Sudeste e Sul e estão voltados principalmente para cultivo em nível experimental. A exemplo, têm-se a Universidade Federal do Rio Grande (FURG) que realiza pesquisas com a microalga *Spirulina* LEB 18, isolada da Lagoa da Mangueira, acerca do cultivo e aproveitamento da biomassa para diversos fins, entre eles: desenvolvimento de alimentos enriquecidos com *Spirulina*, obtenção de compostos de interesse das indústrias alimentícia, química e farmacêutica, etc (BARROS, 2010; MENDONÇA et al. 2012).

Com a divulgação de estudos científicos demonstrando que os compostos bioativos produzidos pela *Spirulina* desempenham atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica, citotóxica e propriedades de inibição enzimática (HAJIMAHMOODI et al., 2010, WU et al., 2016; MALLIKARJUN et al., 2017), como também potencial econômico e ecológico, inúmeras indústrias foram instaladas para a produção de biomassa em escala comercial, sendo o gênero *Spirulina* a mais cultivada. Desde então, os estudos com microalgas têm se expandido em vários países (WALTER, 2011; ZHAI et al., 2017; SHAO et al., 2018).

O sistema de cultivo da microalga *Spirulina* pode ser feito em lugares abertos ou fechados. O sistema aberto (Figura 2), chamado race-way, é o mais utilizado em nível industrial, e é empregado em lugares onde as condições de luz, temperatura e espaço são favoráveis. Esse método necessita de luz solar como a principal fonte de energia para o metabolismo das microalgas (ZHANG et al., 2015; EL-SAYED & MOSTAFA, 2018). Nesse sistema de cultura, a mistura e a turbulência são necessárias para evitar limitações no crescimento por causa da foto-inibição, que depende da intensidade da luz e da concentração de oxigênio. A aeração e a agitação favorecem a oxigenação das culturas e a homogeneização de nutrientes, obtendo-se uma melhor fotossíntese e aporte de CO₂ para o crescimento celular (HABIB et al., 2008; ZHANG et al., 2015).

Os principais produtores de *Spirulina*, em nível mundial, localizam-se nos Estados Unidos, no Japão, em Israel e na Austrália, abastecendo a seus próprios mercados e a outros, como a Comunidade Europeia e o Canadá. Por outra parte, China e

Índia constituem importantes produtores de biomassa de culturas de pequena a média escala, que realizam agrupações comunitárias, principalmente para consumo interno, (HABIB et al.,2008; CARVAJAL et al., 2009)

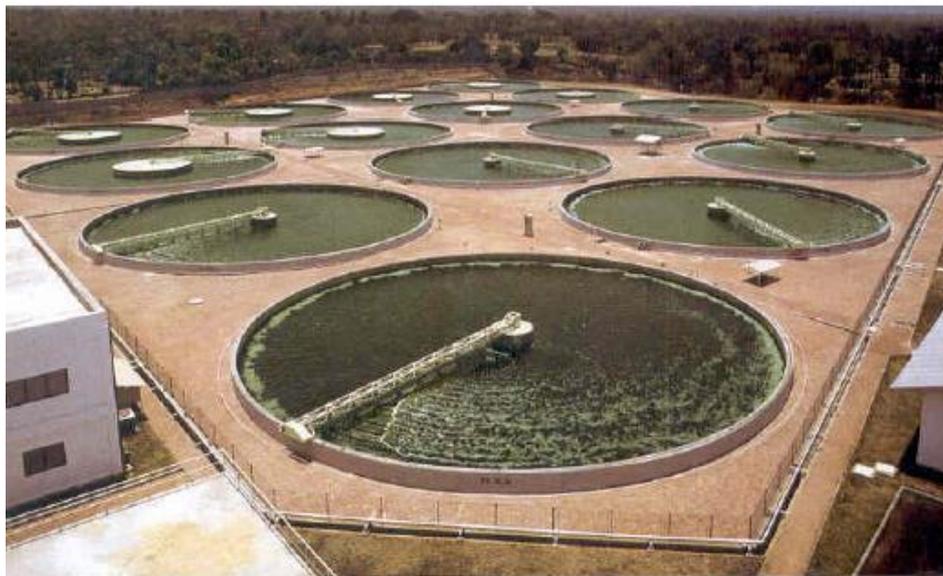


FIGURA 2. Cultivo artificial aberto da microalga *Spirulina*. Fonte: HABIB et al., 2008.

2. Aspectos nutricionais e funcionais da *Spirulina sp.*

As microalgas têm sido estudadas em pesquisas biotecnológicas devido à sua importância nutricional, econômica e ecológica (SONI et al., 2017). Estudos mostram que esses microrganismos são fontes de compostos biologicamente ativos e podem ser empregadas para diversas finalidades: pigmentos, antioxidantes, enzimas, fármacos, alimentos, entre outros (AMBROSI et al., 2008; EL BAKE et al., 2015; WU et al., 2016; WELLS et al., 2017).

A *Spirulina* é consumida há décadas pelo seu alto valor nutricional e benefícios à saúde (HABIB et al., 2008; SONI et al., 2017). Atualmente é descrita como um *superfood*, sendo considerada como o milagre que cresce naturalmente em oceanos e lagos salgados em climas subtropicais (LÓPEZ, 2013). Essa microalga contém praticamente todos os componentes que a classifica como um alimento completo (Tabela 1). Em sua composição está presente uma proporção considerável de proteínas, vitaminas, sais minerais, carboidratos, pigmentos e ácidos graxos essenciais (SONI, 2017; AMBROSI et al, 2008).

Tabela 1. Composição nutricional da biomassa de *Spirulina sp* por 100g

Nutrientes	Concentração	Nutrientes	Concentração
Proteína (g)	56,6 – 70,0	Vitamina B ₈ (mg)	0,005 – 0,008
Carboidrato (g)	11,3 – 22,0	Vitamina B ₉ (mg)	0,05 – 0,09
Lipídios (g)	2,20 – 4,10	Vitamina B ₁₂ (mg)	0,35 – 0,60
Minerais (g)	7,0 – 8,00	Cálcio (mg)	1000 – 2000
Fibra alimentar (g)	7,0 – 16,4	Fósforo (mg)	670 – 800
Vitamina A (mg)	212 - 240	Magnésio (mg)	400 – 480
Vitamina E (mg)	10 – 13	Ferro (mg)	58 – 62
Vitamina B ₁ (mg)	1,4 - 3,5	Zinco (mg)	3,00 – 3,30
Vitamina B ₂ (mg)	0,4 – 6,9	Cobre (mg)	1,10 – 1,20
Vitamina B ₃ (mg)	1,3 – 5,9	Manganês (mg)	0,50 – 0,70
Vitamina B ₅ (mg)	0,2 – 0,3	Cromo (mg)	0,03 – 0,05
Vitamina B ₆ (mg)	4,0 – 6,0	Potássio (mg)	1,4 – 1,5

Fonte: adaptada AMBROSI et al., 2008; ROBERTO, 2015; MARCINKOWSKA-LESIAK et al., 2018.

Trabalhos científicos têm documentado que esta microalga não apresenta nenhuma toxicidade, por isso, ela é classificada pelo FDA (Food and Drug Administration, 2003) como GRAS (Generally Recognized As Safe), baseada em pesquisas científicas realizadas pelas empresas americanas Cyanotech Corporation, localizada no Havaí (Costa de Kona) e pela Earthrise Nutritionals®, sediada na Califórnia, o que garante seu uso seguro e nutritivo na alimentação humana ou animal. Estudos ‘*in vitro*’ e ‘*in vivo*’ mostram que as propriedades nutricionais da microalga *Spirulina* têm sido relacionadas com possíveis propriedades terapêuticas que podem auxiliar no tratamento de problemas de saúde como diabetes, artrite, anemia, desnutrição, obesidade, tensão pré-menstrual, doenças cardiovasculares, câncer, entre outros (ESTRADA et al. 2001; WANG et al. 2007; AMBROSI et al. 2008). Por esta razão essa microalga tem sido adicionada em produtos farmacêuticos e alimentares sendo comercializada principalmente como alimento funcional, nutracêutico, suplemento alimentar ou em cápsulas (ESTRADA et al. 2001; HERRERO et al. 2005; COLLA et al. 2007; WANG et al. 2007; AMBROSI et al. 2008; CHU et al. 2010; MENDONÇA et al. 2012). No Brasil, a *Spirulina* é enquadrada na legislação na categoria de novos ingredientes que, quando utilizados em produtos dispensados da

obrigatoriedade de registro, estes passarão a ter obrigatoriedade de registro, e sua ingestão diária não deve exceder 1,6 g (BRASIL, 2008).

As propriedades funcionais e antioxidantes da *Spirulina* estão relacionadas aos compostos fenólicos presentes nessa microalga. Os compostos fenólicos existentes na *Spirulina* são ácidos orgânicos como os ácidos caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico, os quais agem individualmente ou sinergicamente com ação antioxidante em sistemas *in vivo* e *in vitro* (AMBROSI et al., 2008). Estudo conduzido por El-Sheekh et al. (2014) avaliou a utilização de *Spirulina* no controle da hiperlipidemia induzida em ratos. Os resultados mostraram que a administração de *Spirulina* nas concentrações de 5 e 10% diminuiu o colesterol total, triacilgliceróis e LDL séricos, e promoveu um aumento significativo nos valores séricos de HDL. O mesmo estudo também foi conduzido em humanos, onde o perfil lipídico de 20 pacientes foi mensurado antes e após três semanas de tratamento com 4g de *Spirulina* ao dia. Ao final do tratamento, o nível do colesterol sérico total caiu em 28,44%, os triacilgliceróis séricos tiveram uma redução de 31,6%, o HDL obteve um aumento de 28% e o LDL reduziu cerca de 37,7%. Os autores atribuem essa redução à ação antioxidante dos compostos fenólicos que em geral estão relacionados, principalmente, com efeito protetor contra doenças cardiovasculares. Similarmente, Colla et al. (2008) avaliaram a *Spirulina* como potencial agente redutor da hipercolesterolemia induzida em coelhos. O efeito da suplementação com *Spirulina* foi avaliado medindo os níveis de colesterol sérico total, triacilgliceróis e HDL ao início do tratamento e após 30 e 60 dias. Os resultados mostraram que os níveis de colesterol sérico foram reduzidos, os de HDL foram aumentados, mas os níveis de triacilgliceróis não apresentaram redução significativa.

Zaid et al. (2015) conduziram um estudo focado nas propriedades anticancerígenas e antioxidantes do extrato aquoso de *Spirulina*. Os resultados indicaram um potencial antioxidante do extrato, atribuído à alta concentração de compostos fenólicos. A atividade antiproliferativa das linhagens celulares também ficou evidente, quando o extrato preparado com 1.5g/100mL foi responsável pela inibição de 50% das células cancerígenas (células de carcinoma de cólon (HCT116) e células de carcinoma hepatocelular (HEPG2)).

No que se refere à atividade antimicrobiana da *Spirulina*, Parisi et al. (2009) avaliaram o potencial de extratos fenólicos dessa microalga frente aos microorganismos *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 6538P, mediante

técnicas de disco difusão e concentração inibitória mínima (CIM). Os melhores resultados foram observados para a inibição de *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva, com halos de inibição de 22 e 19 mm. A CIM dos extratos fenólicos da *Spirulina* obtida para inibir o crescimento da bactéria *S. aureus* foi de 47,46 mg.mL⁻¹. Os resultados demonstram o potencial dos compostos fenólicos presentes na microalga para a inibição do crescimento de microrganismos Gram-positivos, especialmente *S. aureus*.

2.1 Proteínas e aminoácidos

A biomassa da *Spirulina* é composta por cerca de 60-70% de proteína e aminoácidos específicos, (AMBROSI et al. 2008; SONI et al., 2017) como os não essenciais alanina, arginina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico, glicina, histidina, prolina, serina e tirosina e os essenciais isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina e valina (Tabela 2) (AMBROSI et al. 2008). A *Spirulina* se destaca como uma das mais ricas fontes proteicas de origem microbiana, apresentando teores acima dos encontrados para a carne de peixe (15-20 %), sementes de soja (35 %), ovos (12 %), cereais (8-14 %) e leite integral (3 %) (HENRIKSON, 1995). Devido à ausência da parede celulósica, as proteínas dessa microalga são de boa digestibilidade, as mesmas possuem uma cobertura frágil de mucopolissacarídeo, que se configura como uma vantagem, tanto na produção, quanto na conservação de constituintes como vitaminas e ácidos graxos poli-insaturados, que se encontra em grande concentração nessa espécie (VONSHAK, 1997).

Tabela 2. Composição de aminoácidos da biomassa *Spirulina sp* por 100g

Aminoácido	%	Aminoácido	%
Ac. Glutâmico	10,70 - 12,60	Isoleucina	4,36 - 6,00
Ac. Aspártico	8,60 - 9,20	Serina	4,20 - 4,31
Leucina	8,00 - 8,20	Prolina	3,90 - 4,04
Alanina	6,51 - 6,90	Tirosina	3,20 - 3,90
Fenilalanina	4,90 - 5,75	Lisina	2,95 - 4,60
Glicina	4,8 - 5,17	Histidina	1,80 - 2,72
Arginina	4,94 - 6,50	Triptofano	2,53 - 1,40
Treonina	4,60 - 4,87	Metionina	1,40 - 1,64
Valina	4,61 - 6,50	Cistina	0,40 - 0,47

Fonte: adaptada MORAIS et al., 2009; USLU et al., 2015; BASHIR et al., 2016.

Desde a década de 1950 essa espécie de microalga foi proposta como uma fonte inovadora de proteína (SOLETTO et al., 2005). Por isso tem sido usada como suplemento proteico na elaboração de alimentos. Muitas das atividades biológicas como antioxidante (ZAID et al., 2015) anti-hipertensivo (FITZGERALD & MURRAY, 2006), anticancerígeno imunomodulatório (SHEIH et al., 2009), hepato-protetor (HWANG, KIM, & NAM, 2008) e atividades anticoagulantes (ATHUKORALA & JEON, 2005) estão associados com as proteínas e os peptídeos proteicos.

As ficobiliproteínas são um grupo peculiar de proteína de microalgas, são pigmentos fotossintéticos incluindo a ficoeritrina, ficocianina, aloficocianina e ficoeritrocianina. A *Spirulina* spp., *Synechococcus* spp. (VISKARI & COLYER, 2003) e *Porphyridium cruentum* (algas vermelhas) são as algas de maior interesse e mais utilizadas para a extração de ficobiliproteínas (SAMARAKOON & JEON, 2012). Este grupo de proteínas em particular, é usado como corantes naturais em alimentos como chicletes, sorvetes e doces (ROMÁN et al, 2002). Sendo também comercializados em uma variedade de produtos nutracêuticos, como comprimidos e cápsulas, (GUILGUERRERO et al, 2004) mostrando alta atividade funcional por possuírem ação antioxidante (PANDEY, PANDEY & SHARMA, 2013).

2.2 Ácidos graxos

Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) da *Spirulina* podem representar cerca de 25% a 60% dos ácidos graxos totais. O ácido linoleico e o ácido linolênico podem estar presentes em até 1,0g/100g da biomassa seca. Os ácidos graxos predominantes são o ácido palmítico (44,6% - 54,1%), ácido oleico (1% - 15,5%), ácido linoleico (10,8% - 30,7%) e o ácido γ -linolênico (8,0% - 31,7%), mas também fornece o ácido α -linolênico, ácido estearidônico, ácido eicosapentaenóico (EPA), ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido araquidônico (HABIB, 2008; DRAAISMA et al., 2013).

O principal ponto de interesse refere-se à possibilidade de obter os ácidos eicosapentaenoico (EPA - C20:5n3) e docosahexaenóico (DHA - C22:6n3), os quais são utilizados como ingredientes funcionais (BUONO et al, 2014).

O consumo de suplementos de EPA e DHA tem sido utilizados para prevenir doenças cardiovasculares e inflamação (SIJTSMAN & SWAAF, 2004) para melhorar a função cerebral e o desenvolvimento do sistema nervoso (CALDER, 2001). A principal

fonte de EPA e DHA para nutrição humana é proveniente de peixes marinhos, como sardinha, bacalhau, salmão etc. (GUNSTONE, 2012). No entanto, o óleo de peixe não é consumido por vegetarianos e o odor característico é muitas vezes um fator limitante para o seu uso como ingrediente alimentar. Além disso, a disponibilidade de peixes está cada vez menor (WORM et al, 2006) e a presença de alguns contaminantes químicos, como o mercúrio estimulou as empresas a buscarem fontes alternativas destes ácidos graxos (MAHAFFEY, CLICKNER & JEFFRIES, 2008).

Os ácidos graxos essenciais, importantes sob o ponto de vista nutricional, não são sintetizados no organismo humano pela ausência das enzimas dessaturases específicas, responsáveis pela formação das duplas ligações nestes compostos, dessa forma, esses ácidos graxos devem ser introduzidos através da dieta. Os ácidos graxos reconhecidos pela WHO/FAO como essenciais são o linoleico, α -linolênico, γ -linolênico e araquidônico (ALONSO & MAROTO, 2000). O ácido γ -linolênico, apesar de ser sintetizado a partir do ácido linoleico, é considerado como essencial por existirem evidências da perda desta capacidade com o envelhecimento (MURRAY et al., 2002).

A essencialidade destes ácidos graxos está relacionada ao fato de serem os precursores das prostaglandinas e leucotrienos, substâncias semelhantes aos hormônios, as quais controlam numerosas funções. As prostaglandinas PGE1 intervêm na regulação da tensão arterial, na síntese de colesterol, inflamações e crescimento celular. No organismo, também podem ser sintetizados a partir do ácido linoleico da dieta, transformando-se em ácido γ -linolênico (GLA) e posteriormente em PGE1 (RICHMOND, 1990).

Em relação aos ácidos graxos ômega 3 e ômega 6, sabe-se que razão n-6/n-3 é fundamental para a prevenção do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. No entanto a dieta ocidental é caracterizada pelo consumo excessivo de óleos, predominantemente o de soja, conferindo alto conteúdo de ácidos graxos da série ômega 6 em detrimento dos ômegas 3, ocasionando consequências indesejáveis à saúde humana (NUNES et al., 2017). Frente à desproporção do consumo de ácidos graxos ômega 3 e 6, os alimentos desenvolvidos com *Spirulina* seriam uma alternativa importante no sentido de contribuir para o aumento da ingestão de n-3 (GORJZDADEH et al., 2016; FELLER et al., 2018). Estudos tem reportado que essa microalga constitui uma potencial fonte na obtenção de ácido graxo ômega 3, estando diretamente relacionado com benefícios á saúde (FERREIRA et al, 2013; GORJZDADEH et al., 2016; JESUS et al, 2018). Além disso, as maiores concentrações de ácidos graxos

obtidos dessa microalga são de insaturados, enquanto que as maiores fontes de proteína possuem alto teor de ácidos graxos saturados. Sendo assim, a *Spirulina* apresenta um perfil lipídico apropriado para sua utilização no consumo alimentar (BUONO et al, 2014; FELLER et al., 2018)

2.3 Minerais

A biomassa de *Spirulina* (Figura 3) possui em sua composição todos os minerais essenciais (cálcio, fósforo, magnésio, ferro, zinco, cobre, manganês, cromo, potássio), que correspondem a cerca de 2,76% - 3,0% do peso total, em condições específicas para produção comercial (HABIB et al, 2008).



FIGURA 3. Biomassa da microalga *Spirulina*. Fonte: SONI et al., 2017.

Conforme apresentado na Tabela 1, a biomassa de *Spirulina* contém altos teores de minerais como magnésio, cálcio, potássio, zinco e fósforo, sendo que os principais são o cálcio (1000 a 2000mg/g de biomassa), fósforo (670 a 800mg/g de biomassa) e o magnésio (400 a 480mg/g de biomassa) (AMBROSI et al., 2008; ROBERTO, 2015).

Também é uma potencial fonte de ferro apresentando um conteúdo 20 vezes maior que o trigo (SONI, SUDHAKAR & RANA, 2017). O ferro é um mineral presente, principalmente, em alimentos de origem animal como carne e peixe, entretanto, pelo alto teor de ferro, a biomassa dessa microalga é uma opção viável para atletas, vegetarianos, mulheres grávidas e adolescentes (HABIB et al, 2008; RAVINDRAN et al., 2016).

2.4 Pigmentos

Entre os pigmentos que compõem a *Spirulina*, verifica-se a presença dos carotenóides, ficocianina e clorofila.

I) Carotenóides: são fotopigmentos lipossolúveis podendo apresentar-se como β -caroteno, xantofilas, zeaxantina e luteína. Segundo Gireesh et al. (2001) a *Spirulina platensis* pode alcançar uma quantidade de β -caroteno de aproximadamente de $0,5 \text{ g Kg}^{-1}$ de massa seca, o que a torna viável como fonte deste pigmento. Dessa forma, além de apresentar propriedade nutricional e terapêutica (AMBROSI et al. 2008), esta microalga pode ser considerada mais uma fonte alternativa para a produção em escala comercial do pigmento β -caroteno (MA et al., 2016).

A propriedade antioxidante apresentada pelos carotenoides está relacionada principalmente à estrutura destas substâncias que é composta por ligações duplas conjugadas, característica que permite que estes compostos atuem na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, câncer, doenças degenerativas, dentre outras (CONCEIÇÃO et al., 2017; OLIVEIRA, 2010; FELLER et al., 2018).

Cerca de 50 carotenoides apresentam atividade de pró-vitamina A, mas esta função está limitada a aqueles que possuem um anel β -ionona não substituído em pelo menos uma das suas extremidades e uma cadeia poliênica com no mínimo 11 carbonos, tais como: β - caroteno, α -caroteno, e β -criptoxantina, entre outros. Todavia, dentre os isômeros presentes entre os carotenoides o mais importante é o β -caroteno, pois é o único carotenoide que apresenta dois radicais β -ionona, que ao romper-se forma duas moléculas de pró-vitamina A, além disso, é o pigmento mais abundante nos alimentos e o mais interessante economicamente (OLIVEIRA, 2010; RODRIGUEZ-AMAYA, 2010; CARVALHO et al., 2014; ARAGÓN et al., 2018).

O consumo de β -caroteno tem sido indicado por reduzir os riscos do desenvolvimento de câncer, devido principalmente à capacidade antioxidante desses pigmentos, agindo na inibição dos radicais livres, evitando suas ações no organismo. Também podem estimular populações de lactobacilos intestinais, aumentando a absorção de vitamina B1. Devido esta característica a microalga tem sido utilizada em tratamentos da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), já que um dos efeitos da doença é a incapacidade do intestino de absorver minerais, o que pode desencadear o desenvolvimento de infecções (HENRIKSON, 1995; KAIO et al., 2013).

II) Ficocianina: Principal pigmento encontrado na *Spirulina platensis*, vem sendo estudada por possuir várias propriedades como antioxidante, hepatoprotetora, antiinflamatória e inibidora da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) (ESTRADA et al.,

2001; WULANDAR et al., 2016; PARK et al., 2018). O efeito protetor da ficocianina é atribuído a sua capacidade de captar radicais livres. Vadiraja et al. (2001) observaram que essa ficobiliproteína e seu cromóforo ficocianobilina foram capazes de captar peroxinitrito (ONOO•) e proteger contra danos oxidativos no DNA de maneira dose dependente. Ademais, Estrada et al. (2001) estudaram o efeito antioxidante de diferentes frações obtidas durante o processo de purificação da ficocianina através da atividade de captação do radical hidroxila e verificaram uma relação entre o aumento da concentração de ficocianina e o aumento na atividade antioxidante, nas diferentes frações do extrato da *S. platensis*.

A ficocianina possui potencial valor comercial e biotecnológico como nutracêutico para pesquisas na área farmacêutica e biomédica, além de ser utilizada como corante natural para a indústria cosmética e de alimentos. Seu uso inclui coloração de doces, sorvetes, produtos lácteos e bebidas não alcoólicas (KUDDUS et al., 2013; PARK et al., 2018).

III) Clorofila: As clorofilas destacam-se dentre os mais conhecidos pigmentos vegetais, sendo responsáveis por transformar a energia da luz solar em energia química através do processo de fotossíntese. Neste processo, a energia absorvida pela clorofila transforma dióxido de carbono e água em carboidratos e oxigênio (TATAGIBA et al., 2015). A intensa cor verde das clorofilas deve-se a suas fortes absorções nas regiões do azul e vermelho do espectro eletromagnético, fazendo com que transmitam na região do verde (MILNE et al., 2015). Presentes em quase todos os tipos de plantas, algas e algumas bactérias, estes pigmentos têm sido apontados como excelentes fotossensibilizadores, antioxidantes e como agentes terapêuticos no combate de diversas doenças (XU et al., 2014; RODRIGUES et al., 2016; WANG et al., 2018). Na microalga *Spirulina* é encontrada principalmente na forma de clorofila *a*. Esta tem sido empregada em várias composições farmacêuticas, como cosméticos, materiais de higiene bucal e em dietas, além de participarem na atenuação dos danos celulares provenientes do desequilíbrio entre a formação de radicais livres e espécies reativas e a defesa antioxidante (HABIB et al., 2008; XU et al., 2014).

2.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Em alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. Esta classe engloba compostos que apresentam desde moléculas simples, até moléculas com alto grau de polimerização, podendo estar presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a proteínas e açúcares (ANGELO & JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados por plantas durante o seu desenvolvimento normal, e em resposta à condições de estresse tais como injúria mecânica, infecções, radiação ultravioleta (UV) entre outras. Estes compostos compreendem uma grande variedade de moléculas que tem uma estrutura de polifenol, ou seja, grupos hidroxilas em um anel aromático (IGNAT et al., 2011).

Quimicamente, os compostos fenólicos podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxila (Figura 4) (ANGELO & JORGE, 2007; SILVA et al., 2010).

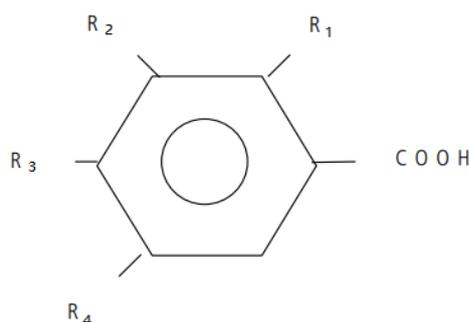


FIGURA 4. Estrutura química dos ácidos benzoicos. $R_1 = OH$ -Ácido Salicílico; $R_1 = R_4 = OH$ - Ácido Gentísico; $R_3 = OH$ - Ácido p-hidroxibenzoico; $R_2 = R_3 = OH$ - Ácido Protocatequímico; $R_2 = OCH_3$; $R_3 = OH$ - Ácido Vanílico; $R_2 = R_3 = R_4 = OH$ - Ácido Gálico; $R_2 = R_4 = OCH_3$; $R_3 = OH$ = Ácido Siríngico. Fonte: SOARES, 2002.

A estrutura química dos compostos fenólicos determina sua capacidade de atuarem como sequestradores de radicais livres. O tipo de composto, o grau de metoxilação e o número de hidroxilas são alguns dos parâmetros que determinam esta atividade antioxidante, possibilitando atuarem como agentes redutores, exercendo proteção ao organismo contra o estresse oxidativo. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e na quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SILVA et al., 2010; IGNAT et al., 2011).

Pesquisas têm apontado que a microalga *Spirulina platensis* é uma excelente fonte de ácidos fenólicos, incluindo o ácido cafeico, o ácido clorogênico, salicílico e o ácido trans-cinâmico (COLLA et al., 2007; MACHADO et al., 2017). Souza et al. (2015), reportaram que as concentrações dos ácidos fenólicos presentes em *Spirulina platensis* em extrato bruto determinada por CLAE-UV foram $396,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; $347,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; $54,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $3,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para ácido gálico, ácido caféico, ácido salicílico e o ácido trans-cinâmico, respectivamente, totalizando $801 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ácidos fenólicos livres. Já Machado et al. (2017) encontraram como principais fenólicos os ácidos gálico ($18,00 \mu\text{g}/\text{g}$), protocatecoico ($15,25 \mu\text{g}/\text{g}$) e clorogênico ($4,5 \mu\text{g}/\text{g}$); e Klejdus et al. (2009) identificaram os fenóis: ácido cafeico ($0,169 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido clorogênico ($0,072 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido vanílico ($0,254 \mu\text{g g}^{-1}$) e ácido p-hidroxibenzóico ($2,23 \mu\text{g g}^{-1}$), ambos determinados na *Spirulina platensis*.

A partir dos dados obtidos é possível observar diferenças qualitativas e quantitativas de compostos fenólicos na mesma espécie, sendo que os autores afirmam que essas variações ocorrem principalmente devido ao efeito de fatores abióticos e bióticos (luz, temperatura, pH, umidade, ecossistema, etc), os quais são os principais determinantes na produção de compostos metabólicos como os fenólicos (SOUZA et al., 2015; MACHADO et al., 2017).

É notável que a *Spirulina* possui um grande potencial a ser explorado de maneira sustentável como fornecedora de biocompostos com alta atividade antioxidante. A saber, para ser considerado um bom antioxidante algumas características são necessárias como ter a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo; e acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (MANACH et al., 2004; IGNAT et al., 2011).

Quanto ao mecanismo de combate aos radicais livres, os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Outra classificação divide os antioxidantes em sintéticos (butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) e galato de propila (GP), etc) e naturais (tocoferóis, vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos, etc) (MARIUTTI & BRAGAGNOLO, 2007; OLIVEIRA et al., 2009).

A busca por antioxidantes a partir de fontes naturais tem recebido muita atenção, e esforços estão sendo feitos na identificação de compostos que podem atuar como antioxidantes adequados para substituir os sintéticos. Além disso, estes antioxidantes

obtidos de fontes naturais podem ser utilizados para a elaboração de alimentos com propriedades funcionais, ajudando a prevenir o dano oxidativo que ocorre no organismo (AMBROSI et al., 2008; DUNG et. al., 2008). A este respeito, destaca-se a microalga *Spirulina*, reconhecida por apresentar potencial antioxidante proveniente dos compostos bioativos inerentes da sua composição química (COLLA et al, 2007; SOUZA et al., 2015; CONCEIÇÃO et al., 2017). Por ser considerada um importante antioxidante de origem natural, essa microalga tem sido utilizada no desenvolvimento de alimentos saudáveis, os quais representam uma opção viável para os consumidores que buscam qualidade nutricional (ÖZYURT et al., 2015; LUCAS et al., 2018; KUMAR et al., 2018).

3. Alimentos funcionais

Os alimentos funcionais se caracterizam por oferecer benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônico degenerativas (NEUMANN, et al., 2000; TAIPINA, et al., 2002). Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados de dois modos: quanto à fonte, de origem vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que oferecem, atuando em seis áreas do organismo: no sistema gastrointestinal; no sistema cardiovascular; no metabolismo de substratos; no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular; no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (SOUZA, et al., 2003). Uma grande variedade de produtos tem sido caracterizada como alimentos funcionais, incluindo componentes que podem trazer inúmeras funções relevantes tanto para o estado de bem-estar e saúde como para a redução do risco de doenças (BIGLIARDI & GALATI, 2013).

Os alimentos funcionais apresentam as seguintes características:

- a) devem ser alimentos convencionais e serem consumidos na dieta normal/usual;
- b) devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- c) devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;

d) a alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico; (ROBERFROID, 2002).

Além do mais, a literatura existente propõe diferentes classificações de alimentos funcionais:

a) alimentos fortificados com nutrientes adicionais, como sucos de frutas enriquecidos com vitamina C, vitamina E, ácido fólico, zinco e cálcio;

b) alimentos com novos nutrientes ou componentes adicionais normalmente encontrado em um determinado alimento, como probióticos ou prebióticos;

c) alimentos dos quais um componente deletério foi removido, reduzido ou substituído por outro com efeitos benéficos; (COSTA & ROSA, 2016).

Por sua vez, o nutracêutico não é um alimento, mas uma substância de ocorrência natural com evidente efeito benéfico à saúde que faça parte, como ingrediente, de alimentos específicos, alimentos funcionais ou suplementos alimentares, projetados pela indústria farmacêutica ou alimentícia, em formas variadas de apresentação como: cápsulas, tablets, cereais, sopas, bebidas entre outros (GOMES et al., 2017).

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os Alimentos Funcionais através das seguintes resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99; ANVISA/MS 19/99:

a) Resolução ANVISA/MS 16/99 - trata de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, cuja característica é de não necessitar de um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para registro, além de permitir o registro de novos produtos sem histórico de consumo no país e também novas formas de comercialização para os já consumidos (BRASIL, 1999a);

b) Resolução ANVISA/MS 17/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança de Alimentos, baseado em estudos e evidências científicas, se o produto é seguro sob o ponto de risco à saúde ou não (BRASIL, 1999b);

c) Resolução ANVISA/MS 18/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999c);

d) Resolução ANVISA/MS 19/99 - Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem (BRASIL, 1999d).

O registro de um alimento funcional só pode ser realizado após comprovada a alegação de propriedades funcionais ou de saúde com base no consumo previsto ou recomendado pelo fabricante, na finalidade, condições de uso e valor nutricional, ou na evidência(s) científica(s): composição química ou caracterização molecular, e ou formulação do produto; ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecidas sob propriedades e características do produto e comprovação de uso tradicional, observado na população, sem associação de danos à saúde (BRASIL, 1999c; BRASIL 1999d; PIMENTEL, et al., 2005).

O mercado de alimentos funcionais se destaca como um negócio em rápido crescimento. A ascensão desse mercado deve-se principalmente a uma conscientização da população a cerca dos cuidados com a saúde. O Japão é o maior mercado do mundo em alimentos funcionais, seguido pelos EUA e Europa. Estes três mercados dominantes contribuem com mais de 90% das vendas totais (BENKOUIDER, 2005). Não é surpreendente que no Japão este mercado seja significativo devido ao fato de ser considerado o berço do alimento funcional (HILLIAM, 2000). No Japão produtos alimentícios funcionais são lançados frequentemente no mercado. Em outros países como França, Estados Unidos, China e Tailândia o mercado de alimentos funcionais, utilizando microalgas em massas, pães, iogurtes e bebidas, também vem se destacando e apresenta um rápido desenvolvimento (PULZ & GROSS, 2004).

Numerosos novos alimentos funcionais foram desenvolvidos nos últimos anos, abrangendo quase todas as categorias de alimentos, mesmo não sendo distribuídas homoganeamente em todos os segmentos da indústria de alimentos. Entre os produtos lançados no mercado de alimentos funcionais, destacam-se principalmente as categorias do leite, confeitaria, refrigerantes, padaria e alimentos para bebês (GIMENEZ-BASTIDA & ZIELINSKI, 2015; BELTRÁN-BARRIENTOS et al., 2016).

4. Inovação na indústria de alimentos e desenvolvimento de novos produtos

As Inovações introduzidas na indústria de alimentos referem-se principalmente a novos conhecimentos técnico-científicos, abordagens no processamento de alimentos, e à introdução de novos alimentos. Essas inovações são focadas, geralmente, na formulação de produtos e qualidades ou necessidades do consumidor. Além disso,

precisa-se combinar inovação tecnológica com aspectos sociais e culturais, a fim de produzir alimentos que satisfaçam as necessidades nutricionais, necessidades pessoais e sociais de todas as comunidades (BIGLIARDI & GALATI, 2013).

Entre todas as inovações introduzidas na indústria, pesquisadores reconhecem os alimentos funcionais como uma das áreas mais interessantes de pesquisa e inovação (JONES & JEW, 2007; SIRO et al., 2008; ANNUNZIATA & VECCHIO, 2011). Sua relevância está relacionada ao aumento do custo com cuidados de saúde, o aumento constante na expectativa de vida e o desejo das pessoas em melhorar a qualidade de vida ao longo dos anos (ROBERTFROID, 2000; KOTILAINEN et al., 2006).

É possível observar uma crescente variedade de novos alimentos desenvolvidos com ingredientes funcionais, utilizando principalmente fibras alimentares e probióticos (Tabela 3).

Tabela 3. Relação dos produtos elaborados contendo ingredientes funcionais

Produto	Ingrediente funcional	Estudo
Barra de cereais	Proteína de soja e fibra alimentar	Freitas & Moretti (2006)
Frozen yogurt	Inulina e Probiótico (<i>Bifidobacterium</i>)	Gonçalves & Eberle (2008)
Biscoito com farinha de linhaça	Lignanas (Fitoesteróis) e ácidos graxos ômega 3	Maciel et al. (2008)
Bolo com aveia	Fibras alimentares	Gutkoski et al. (2009)
Iogurte de leite de cabra suplementado	Probiótico (<i>Bifidobacterium</i>)	Mazochi et al. (2010)
Massa funcional pronta para tortas	Inulina	Pinto & Paiva (2010)
Sobremesa láctea diet	Inulina, Oligofrutose e Probiótico (<i>Lactobacillus paracasei</i>)	Pickina et al. (2011)
Pré-mistura de pão de queijo com fibra de soja	Fibra alimentar	Rosa e Flores (2010)
Iogurte a base de soro de queijo	Probiótico (<i>Lactobacillus bulgaricus</i>)	Soares et al. (2011)
Biscoito com farinha da casca de jabuticaba	Flavonoides (antocianina) e Pectina	Ferreira et al. (2012)

Fonte: próprio autor.

A Tabela 3 demonstra que em sua maioria são alimentos prontos ou semiprontos enriquecidos com nutrientes. Apesar de não serem novidades no mercado mundial e nacional, esses alimentos semiprontos impõem desafios tecnológicos para as empresas que optam por desenvolvê-los (GOUVEIA, 2006). As tecnologias associadas a esses desafios são: pesquisas por novos realçadores de sabor, especiarias, corantes naturais, amidos modificados, agentes de textura, entre outros (TONETTO et al, 2008; CARRIJO et al., 2012). Os agentes de textura, por exemplo, são fundamentais para garantir estabilidade aos molhos semiprontos (AZEREDO, 2012).

Além disso, alimentos semiprontos também demandam durabilidade, por isso, nitratos, nitritos e sulfitos são pesquisados e utilizados para conservar esses alimentos, pois coíbem a ação de bactérias (CARVALHO, 2005). Para o maior tempo de conservação dos produtos, processos podem ser alterados, por exemplo, processos térmicos, que permitem eliminar micro-organismos ou desnaturar enzimas por meio das altas temperaturas. Contudo, exposição excessiva a altas temperaturas pode diminuir o valor nutricional de alguns alimentos (LOPES, 2007; SOUSA et al., 2013).

A crescente busca por dietas saudáveis desafia a indústria alimentícia a alterar a composição dos alimentos, seja via adição de compostos desejáveis, seja via supressão ou redução dos indesejáveis (SICHIERI, 2013). O desafio é tornar os alimentos mais completos suplementando ou adicionando componentes (ômega 3, vitaminas, minerais e fibras) nos que não os contenham ou aumentando a dosagem nos que os têm. Seguem essa tendência os alimentos funcionais, que contêm probióticos, imunopeptídeos, antioxidantes, isoflavonas, entre outras substâncias (GOUVEIA, 2006; BIGLIARDI & GALATI, 2013).

A atenção às características nutricionais dos alimentos tem aumentado entre consumidores e indústrias de alimentos, por isso alimentos desenvolvidos com microalgas têm ganhado espaço e destaque no mercado atual. As microalgas fornecem uma biomassa rica em nutrientes, podendo ser incorporada em produtos alimentícios transferindo essas propriedades aos alimentos com ela enriquecidas, esses alimentos configuram-se como alternativas de alimentos saudáveis e fontes viáveis de proteína e nutrientes para a população (BUONO, 2014; SONI et al., 2017).

5.0 Desenvolvimento de produtos com biomassa de *Spirulina*

A Tabela 4 demonstra alguns dos alimentos já desenvolvidos com a microalga *Spirulina*. Os resultados destes estudos indicam que a biomassa de *Spirulina* é adequada para o desenvolvimento de novos alimentos. Estes apresentam qualidade nutricional relevante com alto conteúdo de nutrientes, além de aceitabilidade sensorial e boa intenção de compra.

Tabela 4. Relação dos produtos desenvolvidos com biomassa de *Spirulina*

Produto	Concentração de biomassa de <i>Spirulina</i>	Referências
Biscoitos	1%; 3% e 5%	Morais et al. (2006); Bolanho et al. (2014); Batista et al. (2017)
Pão sem glúten	2%; 3% ; 4% e 5%	Figueira et al. (2011)
Iogurte	0,25%; 0,75% e 1%	Barkallah et al. (2017)
Macarrão	0,5% - 20%	Fradique et al. (2010); Lemes et al. (2012); Marco et al. (2014); Torres et al. (2014); Pagnussatt et al. (2014).
Massa fresca	5%;10% e 15%	Özyurt et al. (2015)
Petisco tipo “salgadinho”	2,6%	Lucas et al. (2018)
Alimento em pó para idoso	750mg/100g	Santos et al. (2016)
Barra nutricional	3%; 4% 5% e 6%	Kumar et al. (2018)
Pão integral	10%	Ak et al. (2016)

Fonte: Próprio autor.

Verifica-se que as pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de alimentos com *Spirulina* apontam para um processo de substituição de fontes convencionais de proteínas e outros nutrientes, e ganham espaço em meio à busca de processos produtivos mais sustentáveis, que possam ser produzidos em larga escala, com a finalidade de suprir as necessidades nutricionais da população moderna que busca praticidade em uma alimentação de qualidade (DAMASCENO, 2016).

6.0 Molhos

Os molhos prontos, altamente consumidos no mundo moderno, representa um alimento propício para adicionar componentes funcionais não existentes em sua formulação base e modificando sua composição nutricional, atribuindo benefícios adicionais à saúde (RIBEIRO et al., 2013).

Segundo a legislação da ANVISA Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005, os molhos são definidos como produtos em forma líquida, pastosa, emulsão ou suspensão à base de especiaria(s) e ou tempero(s) e ou outro(s) ingrediente(s), fermentados ou não, utilizados para preparar e ou agregar sabor ou aroma aos alimentos. Os molhos podem ser acrescidos de cebola, manjericão, sal, óleo, alho e vários outros ingredientes para conferir sabor. Essa mistura deve ser fervida, obtendo-se um líquido viscoso pronto para o consumo. Assim, surgem os molhos com variações de sabores e mais sofisticados, oferecendo ao consumidor maior praticidade (AMANTE, 2003).

Para que o molho esteja dentro das especificações, deve ser observado além da qualidade da matéria prima, o binômio tempo/temperatura durante o tratamento térmico, pois, o produto deve apresentar-se seguro microbiologicamente para o consumo e não ter suas características sensoriais afetadas pelo processo (EMBRAPA, 2006).

Devido à praticidade para o consumidor no preparo de pratos elaborados com molhos, estes destacam-se no mercado com 20% de participação e constantes lançamentos de novas formulações; em embalagens metálicas (66%), cartonada (28%) e vidro (6%) (JAIME et al., 1998; MELO, 2016; SOUZA, 2016).

Nesse contexto o desenvolvimento de um molho com incorporação de biomassa de *Spirulina* se apresenta como uma alternativa inovadora para o mercado de alimentos, pois agrega valor nutricional a um produto já conhecido pela população e altamente consumido no mundo moderno.

REFERÊNCIAS

AK, B.; AVŞAROĞLU, E.; ISIK, O.; et al. Nutritional and Physicochemical Characteristics of Bread Enriched with Microalgae *Spirulina platensis*. **International Journal of Engineering Research and Application**, v. 6, p. 30-38, 2016.

ALONSO, D. L.; MAROTO, F. G. Plants as ‘chemical factories’ for the production of polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 6, p. 481-497, 2000.

AMANTE, E. Efeito do cultivo orgânico e convencional sobre a vida-deprateleira de alface americana (*lactuca sativa* L.) minimamente processada, **Ciencia Tecnologia Alimmentar**, v. 23, n.3, p. 418-126, 2003

AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; et al. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 115-123, 2008.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Functional foods development in the European market: a consumer perspective. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 3, p. 223-228, 2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Rótulo Padrão. Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. **Resolução - RDC nº. 360, de 23 de dezembro de 2003**. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/rotulo/Acesso> em 19 ago. 2018.

ATHUKORALA, Y.; JEON, Y. J. Screening for angiotensin 1-converting enzyme inhibitory activity of *Ecklonia cava*. **Preventive nutrition and food science**, v. 10, n. 2, p. 134-139, 2005.

ARAGÓN, I. J.; CEBALLOS, H.; DUFOUR, D.; et al. Pro-vitamin A carotenoids stability and bioaccessibility from elite selection of biofortified cassava roots (*Manihot esculenta*, Crantz) processed to traditional flours and porridges. **Food & function**, v. 9, n. 9, p. 4822-4835, 2018.

AVILA-LEON, I.; MATSUDO, M.C.; SATO, S.; et al. *Arthrospira platensis* biomass with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen source. **Journal of Applied Microbiology**, v. 6, n. 112, p. 1086-1094, 2012.

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

BATISTA, A. P.; NICCOLAI, A., FRADINHO, P.; et al. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. **Algal Research**, v. 26, p. 161-171, 2017.

BASHIR, S.; SHARIF, M. K.; BUTT, M. S.; et al. Functional properties and amino acid profile of *Spirulina platensis* protein isolates. **Pakistan Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 59, p. 12-19, 2016.

BELTRÁN-BARRIENTOS, L. M.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A., TORRES-LLANEZ, M. J.; et al. Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 6, p. 4099-4110, 2016.

BENKOUIDER, C. The world's emerging markets. Functional Foods and Nutraceuticals. 2005. Available at:
<http://www.ffnmag.com/NH/ASP/strArticleID/770/strSite/FFNSite/articleDisplay.asp>
Accessed 09.10.18

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 118-129, 2013.

BOLANHO, B. C.; EGEEA, M. B.; JÁCOME, A. L. M.; et al. Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fibre. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 53, n. 2, p. 171–179, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. VII Lista dos novos ingredientes aprovados – Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. 2008. Disponível em URL: <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/cs>. Acesso em 16 de jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico para especiarias, temperos e molhos. Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília, 1999d.

BUONO, S.; LANGELLOTTI, A.; MARTELLO, A.; et al. Functional ingredients from microalgae. **Food & function**, v. 5, n. 8, p. 1669-1685, 2014.

- CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. **Lipids**, v. 36, n. 9, p. 1007-1024, 2001.
- CAMPÊLO, M. C. S. *Uso de conservadores naturais na elaboração de carne de sol com teores reduzidos de cloreto de sódio*. 2016. Dissertação (Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.
- CARRIJO, K. F.; PRAXEDES, C. I. S.; NOBRE, F. S. D.; et al. Condimentos e especiarias empregados no processamento de alimentos: considerações a respeito de seu controle físico-químico. **Revista de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 6, p. 1417-1422, 2012.
- CARVAJAL, J. C. L. *Caracterização e modificações químicas da proteína da microalga spirulina (Spirulina máxima)*. 2009. Tese. (Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- CARVALHO, L. M. J.; SMIDERLE, L. D. A. S. M.; CARVALHO, J. L.; et al. Assessment of carotenoids in pumpkins after different home cooking conditions. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 365-370, 2014.
- CARVALHO, P. R. Aditivos dos alimentos. **Revista Logos**, v. 12, p. 57-69, 2005.
- CHU, W. L.; LIM, Y.-W.; RADHAKRISHNAN, A. K.; LIM, P.-E. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 53, p. 3-8, 2010.
- CLÉMENT, G. Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *maxima*. **Annales de la Nutrition et de L'alimentation**. v. 29, p.477-488, 1975.
- COLLA, L. M.; BADIALE-FURLONG, E COSTA, J.A.V. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 1, p. 161-167. 2007.
- COLLA, L. M.; MUCCILLO-BAISCH, A. L.; COSTA, J. A. V. *Spirulina platensis* effects on the levels of total cholesterol, HDL and triacylglycerols in rabbits fed with a hypercholesterolemic diet. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51 n. 2, p. 405-411, 2008.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; et al. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1489-1493, 2007.
- CONCEIÇÃO, K.N.; SAMPAIO, F. A. S. A., DA SILVA, V. F., et al. Poder antioxidante de carotenoides, flavonoides e vitamina e na prevenção da arteriosclerose. **Revista Ciência & Saberes-Facema**, v. 2, n. 4, p. 320-324, 2017.
- COSTA, J.A.V.; MORAIS, M.G.; DALCANTON, F.; et al. Simultaneous cultivation of *Spirulina platensis* and the toxigenic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 61, p. 105-110. 2006.

COSTA, N. M.B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Editora Rubio, 2016.

DAMASCENO, I. A. M. *Desenvolvimento de barra de cereal enriquecida com biomassa de *Arthrospira platensis**. 2016. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas.

DE AZEREDO, H. Fundamentos da estabilidade de alimentos. Editora Técnica, 2ª edição, EMBRAPA, Brasília, 2012.

DE SOUZA, A. T. F.; ZANELATO, E. D. F. N.; VIANA, E. D. S. M.; et al. Desenvolvimento de um molho à base de linhaça (*linum usitatissimum* l.) e chia (*salvia hispânica* l.). **Anais Simpac**, v. 6, n. 1, 2016.

DIEZ, A. M.; SANTOS, E. M.; JAIME, I.; et al. Application of organic acid salts and high-pressure treatments to improve the preservation of blood sausage. **Food Microbiology**, v. 25, p.154–161, 2008.

DRAAISMA, R.B; WIJFFELS, P. M. E.; SLEGGERS, L. B.; et al. Food commodities from microalgae. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, p. 169–177, 2013.

EL-SHEEKH, M. M.; HAMAD, S. M.; GOMAA, M. Protective Effects of *Spirulina platensis* on the Liver Function and Hyperlipidemia of Rats and Human. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n.1, p. 77-86, 2014.

DUNG, N. T., KIM, J. M.; KANG, S. C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx 68 operculatus* (Roxb.) Merr and Perrybuds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 648-653, 2008.

EMBRAPA. **Cultivo de Tomate para industrialização**. Brasília, 2000. 168p. Disponível em: www.sistemadeproducao.cnptia.embrapa.br.

EL-SAYED, A.; EL-K.; MOSTAFA, EL-S. Outdoor Cultivation of *Spirulina platensis* for Mass Production. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 10, n. 1, p. 38-44, 2018.

ESTRADA, J. E. P.; BESCÓS, P. B.; FRESNO, A. M. V. del. Antioxidant activity of diferente fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **II Farmaco**, v. 56, p. 497-500, 2001.

FELLER, R.; MATOS, Â. P.; MAZZUTTI, S.; et al. Polyunsaturated ω -3 and ω -6 fatty acids, total carotenoids and antioxidant activity of three marine microalgae extracts obtained by supercritical CO₂ and subcritical n-butane. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 437-443, 2018.

FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, L.; COSTA, J. A. V. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 275-287, 2013.

FERREIRA, A. E.; FERREIRA, B. S.; LAGES, M. M. B.; et al. Produção, caracterização e utilização da farinha de casca de jaboticaba em biscoitos tipo cookie. **Revista Alimentação Nutrição**, v. 23, n.4, p.603-607, 2012.

FIGUEIRA, F. S.; CRIZEL, T. M.; SILVA, R. S.; et al. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 308-316, 2011.

FITZGERALD, R. J.; MURRAY, B. A. Bioactive peptides and lactic fermentations. **International Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 2, p. 118-125, 2006.

FREITAS, D. G. C.; MORETTI, R. H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. **Revista de Ciência e Tecnologia**, v.26, n.2, p. 318-324, 2006.

GIMENEZ-BASTIDA, J. A.; ZIELINSKI, H. Buckwheat as a functional food and its effects on health. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 36, p. 7896-7913, 2015.

GIREESH, T.; JAYADEEP, A.; RAJASEKHARAN, K. N.; et al. Production of deuterated β -carotene by metabolic labeling of *Spirulina platensis*. **Biotechnology Letters**, v. 23, p. 447-449, 2001.

GHAENI, M.; ROOMIANI, L.; MORADI, Y. Evaluation of carotenoids and chlorophyll as natural resources for food in spirulina microalgae. **Applied Food Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 39-44, 2014.

GOMES, A. S.; MAGNUS, K.; SOUZA, A. H. Riscos e benefícios do uso de nutracêuticos para a promoção da saúde. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 11, n. 9, p. 57-75, 2017.

GORJZDADEH, H.; SAKHAEI, N.; DOUSTSHENAS, B.; et al. Fatty acid composition of *Spirulina* sp., *Chlorella* sp. and *Chaetoceros* sp. microalgae and introduction as potential new sources to extinct omega 3 and omega 6. **Iranian South Medical Journal**, v. 19, n. 2, p. 212-224, 2016.

GOUVEIA, F. Indústria de Alimentos: no caminho da inovação e de novos produtos. **Inovação Uniemp**, v. 2, n. 5, Campinas, 2006.

GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I. R.; Frozen Yogurt com bactérias probióticas. **Revista Alimentação e Nutrição**, v.19, n.3, p. 291-297, 2008.

GUTKOSKI, L.C.; TEIXEIRA, D. M. F.; DURIGON, A.; et al. Influência dos teores de aveia e de gordura nas características tecnológicas e funcionais de bolos. **Revista Ciência Tecnologia Alimentos**, v.29, n.2, p. 254- 261, 2009.

GUIL-GUERRERO, J. L.; NAVARRO-JUÁREZ, R.; LÓPEZ-MARTINEZ, J. C.; et al. Functional properties of the biomass of three microalgal species. **Journal of Food Engineering**, v. 65, n. 4, p. 511-517, 2004.

- GUNSTONE, F. D. **Fatty acid and lipid chemistry**. Springer, 2012.
- HAJIMAHMOODI, M.; FARAMARZI, M. A.; MOHAMMADI, N.; et al. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. **Journal Applied Phycology**, v. 22, p. 43-50, 2010.
- HENRIKSON, R. **Microalga Spirulina: superalimento del futuro**. Barcelona: Ediciones Urano S.A., 1995.
- HERRERO, M.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J.; SEÑORÁNS, F. J.; et al.. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga. **Food Chemistry**, v. 93, p. 417-423, 2005.
- HILLIAM, M. **Fortified juice trends**. The World of Food Ingredients. 12, 17-19, 2000.
- HOSEINI, S. M.; KHOSRAVI-DARANI, K.; MOZAFARI, M. R. Nutritional and Medical Applications of *Spirulina* Microalgae. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v.13, n.8, p. 1231-1237, 2013.
- HWANG, H. J.; KIM, I.H.; NAM, T. J. Effect of a glycoprotein from *Hizikia fusiformis* on acetaminophen-induced liver injury. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 11, p. 3475-3481, 2008.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821- 1835. 2011.
- JAIME, S. B. M.; ALVES, R. M. V.; SEGANTINI, E.; et al. Estabilidade do molho de tomate em diferentes embalagens de consumo. **Food Science and Technology**, v. 18, n. 2, p. 193-199, 1998.
- JESUS, C. S.; UEBEL, L. S.; COSTA, S. S.; et al. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina sp.* LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. **Bioresource technology**, 256, 86-94, 2018.
- JONES, P. J.; JEW, S. Functional food development: concept to reality. Trends in **Food Science & Technology**, v. 18, p. 387-390, 2007.
- KAIO, D. J.; RONDÓ, P. H. C.; SOUZA, J. M. P.; et al. Vitamin A and beta-carotene concentrations in adults with HIV/AIDS on highly active antiretroviral therapy. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 59, n. 6, p. 496-502, 2013.
- KEBEDE, E. A. G.; AHLGREN, G. Optimum growth condition and light utilization efficiency of *Spirulina platensis* (*Athrospira fusiformis*) (Cyanophyta) from lake Chitu, Ethiopia. **Hydrobiologia**, v. 332, n. 2, p. 99-109, 1996.
- KLEJDUS, B.; KOPECKÝ, J.; BENEŠOVÁ, L.; et al. Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 5, p. 763-771, 2009.

KOTILAINEN, L.; RAJALAHTI, R.; RAGASA, C.; et al. Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. Discussion Paper 30. Washington, DC: World Bank, 2006.

KUDDUS, M.; SINGH, P.; THOMAS, G.; et al. Recent developments in production and biotechnological applications of C-phycoyanin. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

KUMAR, A; MOHANTY, V.; YASHASWINI, P. Development of High Protein Nutrition Bar Enriched with *Spirulina plantensis* for Undernourished Children. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal**, v. 6, n. 3, 2018.

LEMES, A. C.; TAKEUCHI, K. P.; CARVALHO, J. C. M.; et al. Fresh pasta production enriched with *Spirulina platensis* biomass. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 5, p. 741-750, 2012.

LOPES, R. L.T. Conservação de alimentos. **Dossiê Técnico, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas**, 2007.

LUCAS, B. F.; DE MORAIS, M. G.; SANTOS, T. D.; et al. Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 270-276, 2018.

MA, C. Y.; ZHAO, J. M.; LIU, L. H. Experimental study of the temporal scaling characteristics of growth-dependent radiative properties of *Spirulina platensis*. **Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer**, v. 217, p. 453-458, 2018.

MA, Q. Y.; FANG, M.; ZHENG, J. H.; et al. Optimised extraction of β -carotene from *Spirulina platensis* and hypoglycaemic effect in streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1783-1789, 2016.

MACHADO, A. R.; GRAÇA, C. S.; ASSIS, L. M.; et al. Uma abordagem sobre caracterização e avaliação do potencial antioxidante de extratos fenólicos de microalgas *Spirulina* sp. LEB-18 e *Chlorella pyrenoidosa*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 264-278, 2017.

MAHAFFEY, K. R.; CLICKNER, R. P.; JEFFRIES, R. A. Methylmercury and omega-3 fatty acids: co-occurrence of dietary sources with emphasis on fish and shellfish. **Environmental Research**, v. 107, n. 1, p. 20-29, 2008.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: antioxidantes naturais da família lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MALLIKARJUN, G. K. G.; KAVITHA, M. D.; SARADA, R. Antihyperglycemic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Butanol Extract from *Spirulina Platensis*. **Journal of food biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 594-602, 2015.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARCINKOWSKA-LESIAK, M.; ONOPIUK, A.; ZALEWSKA, M.; et al. The effect of different level of Spirulina powder on the chosen quality parameters of shortbread biscuits. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 3, p. e13561, 2018.

MARCO, E. R.; STEFFOLANI, M. E.; MARTÍNEZ, C. S.; et al. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102-108, 2014.

MACIEL, L. M. B.; PONTES, D. F.; RODRIGUES, M. C. P. Efeito da adição de farinha de linhaça no processamento de biscoito tipo cracker. **Revista Alimentação e Nutrição**, v.19, n.4, p. 385-392, 2008.

MAZOCHI, V.; MATOS, J. F. E.; VAL, C. H.; et al. Iogurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com Bifidobacterium spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1484-1490, 2010.

MELO, S. S.; SILVA, M. D. C. M.; SANTANA, Y. A. G.; et al. Formulação, caracterização físico-química, sensorial, microbiológica e vida de prateleira de molho de tomate para pizza. **Revista de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 6, p. 1352-1356, 2016.

MENDONÇA, T. A.; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L. Prospecção tecnológica da utilização da *Spirulina platensis*. **Cadernos de Prospecção Tecnológica**, v. 5, n. 1, p. 44-52, 2012.

MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 181-188, 2003.

MILNE, B. F.; TOKER, Y.; RUBIO, A.; et al. Unraveling the intrinsic color of chlorophyll. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 7, p. 2170-2173, 2015.

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

MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; ANDRADE, M. R.; et al. Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, v. 294, n. 1, p. 60-64, 2009.

MULITERNO, A.; MOSELE, P. C.; COSTA, J. A. V.; et al. Cultivo mixotrófico da microalga *Spirulina platensis* em batelada alimentada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 6, p. 1132-1138, 2005.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; et al. *Harper: Bioquímica*. 9ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 860p, 2002.

NEHAL, N. Seaweed: A potential “superfood” unexplored and untapped. **International Journal of Agriculture and Food Science Technology**, v. 5, n. 6, p. 631, 2014.

NEUMANN, P.; de la CRUZ, A. I.; ABREU, E. S. D.; et al. Alimentos saudáveis, alimentos funcionais, fármaco alimentos, nutracêuticos...você já ouviu falar? **Higiene Alimentar**. v. 14, p. 19-23, 2002.

NILSON, E. A. F.; JAIME, P. C.; RESENDE, D. O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 32, p. 287-292, 2012.

ÖZYURT, G.; USLU, L.; YUVKA, I.; et al. Evaluation of the cooking quality characteristics of pasta enriched with *Spirulina platensis*. **Journal of Food Quality**, v. 38, n. 4, p. 268–272, 2015.

OLIVEIRA, A. C. D.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; de et al. Vegetals as natural sources of antioxidants. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, C. G. *Extração e caracterização do betacaroteno produzido por Rhodotorula glutinis tendo como substrato o suco de caju*. 2010. Dissertação (Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PAGNUSSATT, F. A.; SPIER, F.; BERTOLIN, T. E. C.; et al. Technological and nutritional assessment of dry pasta with oatmeal and the microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 296-304, 2014.

PANDEY, V. D.; PANDEY, A.; SHARMA, V. Biotechnological applications of cyanobacterial phycobiliproteins. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 2, p. 89-97, 2013.

PARK, W.; KIM, H. J.; LI, M; et al. Two Classes of Pigments, Carotenoids and C-Phycocyanin, in *Spirulina* Powder and Their Antioxidant Activities. **Molecules**, v. 23, n. 8, p. 2065, 2018.

PARISI, A. S.; YOUNES, S.; REINEHR, C. O.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis*. **Revista Ciência Farmaceutica Básica Aplicada**, v.30, n.3, p.297-301, 2009.

PIMENTEL, B. M. V.; FRANCKI, M.; GOLLÜCKE, B. P. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Editora Varela, 2005.

PINTO, A. L. D.; PAIVA, C. L. Desenvolvimento de uma massa funcional pronta para tortas utilizando o método de Desdobramento da Função Qualidade (QFD). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.36-43, 2010.

PICKINA, G. C.; COSTA, M. R.; ARAGONALEGRO, L. C.; et al. Aceitação de sobremesa láctea diet simbiótica de maracujá por idosos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.383, n.66, p.57-62, 2011.

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

RAVINDRAN, B.; GUPTA, S.; CHO, W. M.; et al. Microalgae potential and multiple roles—current progress and future prospects—an overview. **Sustainability**, v. 8, n. 12, p. 1215, 2016.

RIBEIRO, A. T.; RAIMUNDO, A.; LARANJEIRA, C.; et al. Desenvolvimento de diferentes formulações de chutney. **Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém**, p. 164-176, 2013.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Mass Culture**. Boston: CRC Press. ISBN 0- 84933240-0. 1990.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, n. 2, p. 105-110, 2002.

ROBERTFROID, M. B. Concepts and strategy of functional science: the European perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1660-1664, 2000.

ROBERTO, P. S. Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: Na approach on flue gases utilization for third generation biofuels. **Journal of Cleaner Production**, v. 98, p. 53-65, 2015.

RODRIGUES, L. S.; CAPANEMA, L. X. D. L.; GUIMARÃES, D. D.; et al. Inovação na indústria de alimentos: importância e dinâmica no complexo agroindustrial brasileiro. **BNDES Setorial**, n. 37, p. 333-370, 2013.

RODRIGUES, C. R.; RODRIGUES, T. M.; LUZ, J. M. Q.; et al. Clorofila *a* e *b* de tomateiro tratado com silicato de potássio e fungicida. **Global Science and Technology**, v. 9, n. 2, 2016.

ROMÁN, R. B.; ALVAREZ-PEZ, J. M.; FERNÁNDEZ, F. A.; et al. Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. **Journal of Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 73-85, 2002.

ROUT, N. P.; KHANDUAL, S.; GUTIERREZ-MORA, A.; et al. Divergence in three newly identified *Arthrospira* species from Mexico. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 7, p. 1157-1165, 2015.

ROSA, P. T.; FLORES, S. H. Desenvolvimento de pré mistura de pão de queijo com fibra de soja Fibrarich. **Revista Alimentação e Nutrição**, v.22, n.1, p.121-127, 2010.

SAMARAKOON, K.; JEON, Y. J. Bio-functionalities of proteins derived from marine algae—A review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 948-960, 2012.

SANTOS, K. R. S. *Estudos de Desenvolvimento, Moleculares e do Potencial Biotecnológico em Cepas de Cianobactérias provenientes de lagoas salinas do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil: Anabaenopsis elenkinii (Nostocales) e Arthrospira platensis (Oscillatoriales)*. 2013. Tese (Biologia) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.

SANTOS, T. D.; FREITAS, B. C. B.; MOREIRA, J. B.; et al.. Development of powdered food with the addition of Spirulina for food supplementation of the elderly population. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 37, p. 216-220, 2016.

SHAO, W.; EBAID, R.; ABOMOHRA, A. E. F.; et al. Enhancement of Spirulina biomass production and cadmium biosorption using combined static magnetic field. **Bioresource technology**, 2018.

SHEIH, I. C.; FANG, T. J.; WU, T. K.; et al. Anticancer and antioxidant activities of the peptide fraction from algae protein waste. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 2, p. 1202-1207, 2009.

SICHERI, R. Consumo alimentar no Brasil e o desafio da alimentação saudável. **Com Ciência**, n. 145, 2013.

SIJTSMA, L.; SWAAF, M. E. Biotechnological production and applications of the ω -3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 146-153, 2004.

SILVA, L. A. *Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da Spirulina platensis*. 2008. Dissertação (Engenharia Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SILVA, M. L.; SILVA, C. R.; SANTOS, S. A.; et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SIRO, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; et al. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456-467, 2008.

SOARES, E. S. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, A. M.; SOUZA, B. D. S. N. D.; BEZERRA, I. N.; et al. Impacto da redução do teor de sódio em alimentos processados no consumo de sódio no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, p. e00064615, 2016.

SOUZA, T. D.; PRIETTO, L.; SOUZA, M. M. E.; et al. Profile, antioxidant potential, and applicability of phenolic compounds extracted from *Spirulina platensis*. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 41, p. 2903-2909, 2015.

SOLETTI, D. L.; BINAGHI, A.; LODI, J. C. M.; et al. Batch and fedbatch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. **Aquaculture**, 2005, 243, 217-224.

SONI, R. A.; SUDHAKAR, K.; RANA, R. S. *Spirulina*—From growth to nutritional product: A review. **Trends in food science & technology**, v. 69, p. 157-171, 2017.

SOUSA, L. C. F. S.; SILVA, S. J.; BORGES, M. D. G. B.; et al. Tecnologia de embalagens e conservação de alimentos quanto aos aspectos físico, químico e microbiológico. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 8, n. 1, p. 19-28, 2013.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA, N. M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

TAIPINA, M. S.; FONTS, M. A. S.; COHEN, V. H. Alimentos funcionais – nutracêuticos. **Higiene Alimentar**. v. 16, n. 100, p. 28-29, 2002.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Fotossíntese em *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Revista Engenharia na Agricultura-Reveng**, v. 23, n. 4, p. 336-345, 2015.

TONETTO, A.; HUANG, A.; YOKO, J.; et al. O uso de aditivos de cor e sabor em produtos alimentícios. **São Paulo: Faculdade de ciências farmacêuticas**, 2008.

TORRES, A.; PARRA, J.; ROJAS, D.; et al. Efecto de la suplementación de sémola de trigo com *Spirulina platensis* sobre calidad, ceptabilidad y composición física y química de espaghetis. **Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica**, v. 21, n. 2, p. 81-89, 2014.

USLU, L. H.; IŞIK, O.; SAYIN, S.; et al. The effect of temperature on protein and amino acid composition of *Spirulina platensis*. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 26, p. 139-142, 2015.

VADIRAJA, B. B.; MADYASTHA, K. M. Scavenging of peroxyntirite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA, **Biochemical and biophysical research communications**, v. 285, n. 2, p. 262-266, 2001.

VISKARI, P. J.; COLYER, C. L. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples. **Analytical Biochemistry**, v. 319, n. 2, p. 263-271, 2003.

VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthospira): Physiology, cell biology and biotechnology*. Taylor & Francis, London.1997.

XU, D.; WU, Y.; LI, Y.; et al. Influence of UV radiation on chlorophyll, and antioxidant enzymes of wetland plants in different types of constructed wetland. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 17, p. 10108-10119, 2014.

WALTER, A. *Estudo do processo biotecnológico para obtenção de ficocianina a partir da microalga Spirulina platensis sob diferentes condições de cultivo*. 2011. Dissertação (Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

WANG, L.; PAN, B.; SHENG, J.; et al. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, v. 105, p. 36-41, 2007.

WANG, Z. B.; WANG, Y. F.; ZHAO, J. J.; et al. Effects of GeO₂ on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes in apple leaves under strong light. **Photosynthetica**, v. 56, n. 4, p. 1081-1092, 2018.

WORM, B.; BARBIER, E. B.; BEAUMONT, N.; et al. Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. **Science**, v. 314, n. 5800, p. 787-790, 2006.

WU, Q.; LIU, L.; MIRON, A.; et al. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. **Archives of toxicology**, v. 90, n. 8, p. 1817-1840, 2016.

WULANDARI, D. A.; SETYANINGSIH, I.; SYAFRUDIN, D.; et al. Phycocyanin Extraction from Spirulina platensis and Its Antimalarial Activity In-Vitro. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**, v. 19, n. 1, p. 17-25, 2016.

ZAID, A. A.; HAMMAD, D. M.; SHARAF, E. M. Antioxidant and Anticancer Activity of *S. platensis* Water Extracts. **International Journal of Pharmacology**, v. 11, n.7, p.846-851, 2015.

ZHANG, L.; CHEN, L.; WANG, J.; et al. Attached cultivation for improving the biomass productivity of Spirulina platensis. **Bioresource technology**, v. 181, p. 136-142, 2015.

ZHAI, J.; LI, X.; LI, W. et al. Optimization of biomass production and nutrients removal by Spirulina platensis from municipal wastewater. **Ecological engineering**, v. 108, p. 83-92, 2017.

CAPÍTULO II

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

**Estudo prospectivo sobre produtos alimentares incorporados de biomassa de
microalgas**

Publicação: Cadernos de Prospecção

D.O.I.:<http://dx.doi.org/10.9771/cp.v10i4.23053>

ESTUDO PROSPECTIVO SOBRE PRODUTOS ALIMENTARES INCORPORADOS DE
BIOMASSA DE MICROALGAS

Leila Magda Rodrigues Almeida^{1*}, Carolina Oliveira de Souza², Paulo Leonardo Lima Ribeiro³,
Janice Izabel Druzian⁴, Maria Spínola Miranda⁵

^{1,2,3,4,5} Universidade Federal da Bahia, BA, Brasil

Rec.: 14/07/2017. Ace.:21/11/2017

ESTUDO PROSPECTIVO SOBRE PRODUTOS ALIMENTARES INCORPORADOS DE BIOMASSA DE MICROALGAS

RESUMO

As microalgas constituem um grupo diversificado de organismos procarióticos e eucarióticos e são uma excelente fonte de nutrientes. A biomassa de microalgas vem sendo utilizada no mercado de alimentos saudáveis, incorporada em produtos alimentares a fim de garantir a produção de alimentos ricos em nutrientes e substâncias terapêuticas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo prospectivo sobre produtos alimentares incorporados com biomassa de microalgas. Para a realização da busca de patentes, utilizou-se a base de dados do Espacenet e do INPI. A busca foi realizada utilizando palavra-chave e códigos de classificação internacional de patente, obtendo um total de 169 documentos de patentes. Os resultados evidenciaram que ainda há poucos produtos alimentares com incorporação da biomassa de microalgas, tendo uma grande área para ser explorada na indústria de alimentos com um alto potencial para gerar inovação.

Palavras chave: Algas comestíveis. Alimentos. Patentes. Microalgas.

PROSPECTIVE STUDY ON FOOD PRODUCTS CONTAINING MICROALGAE BIOMASS

ABSTRACT

Microalgae constitute a diverse group of prokaryotics and eukaryotics organisms and are an excellent source of nutrients. Microalgae biomass has been used in the health food market, being incorporated into food products to ensure the production of foods rich in nutrients and therapeutic substances. Therefore, the objective of this work was to conduct a prospective study on food products incorporated with microalgae biomass. For the search of patents, the Espacenet and INPI database was used. The search was conducted using keyword and international classification codes, obtaining a total of 169 patent documents. The results showed that there are still few food products with the incorporation of microalgae biomass, having a large area to be explored in the food industry with a high potential to generate innovation.

Keywords: Edible algae. Foods. Patents. Microalgae.

Área tecnológica: Ciência e Tecnologia de Alimentos

INTRODUÇÃO

As microalgas são organismos microscópicos fotossintéticos amplamente encontrados na natureza em ambientes marinhos e de água doce. Constituem um grupo diversificado de organismos procarióticos e eucarióticos, e possuem um mecanismo fotossintético semelhante ao das plantas terrestres (CARLSSON et al., 2007). Estima-se que existem em média 50.000 espécies de microalgas, dessas cerca de 30.000 espécies estão sendo estudadas e caracterizadas (KREITLOW; MUNDT; LINDEQUIST, 1999). Os grupos de microalgas mais abundantes pertencem às algas verdes (Chlorophyceae), algas vermelhas (Rhodophyceae), diatomáceas (Bacillariophyceae) e algas marrons (Phaeophyceae). Apesar das cianobactérias (algas verdes azuis) pertencerem ao domínio das bactérias, elas são consideradas microalgas, sendo autotróficos e procarióticos (MENDES; VERMELHO, 2013; RICHMOND, 2008).

A indústria global de alimentos vem explorando amplamente a utilização das microalgas como fonte promissora para novos alimentos, tão quanto para produtos alimentares funcionais. As mais utilizadas comercialmente são as *Chlorella* e *Spirulina*; além dessas, a *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Schizochytrium*, *Scenedesmus*, *Aphanizomenon*, *Odontella* e *Porfirídio* estão ganhando aceitação no mercado de alimentos saudáveis. A composição de nutrientes de microalgas geralmente é composta de: proteínas (40% a 70%), glicídios (12% a 30%), lipídios (4% a 20%), caroteno (8% a 14%) e vitaminas (BECKER, 2007). Nota-se que a alta quantidade e qualidade da proteína competem favoravelmente com outras fontes convencionais como soja e ovos, tornando as microalgas uma fonte promissora de proteína (BATISTA et al., 2013; GRAZIANI et al., 2013). No entanto a quantidade desse nutriente pode variar conforme alguns fatores, como o tipo e espécie, fase de crescimento, qualidade do meio e da luz (FONTES et al., 1987; MIRANDA, 1997).

As inovações na indústria de alimentos, como a aplicação de novas abordagens científicas e técnicas na transformação de alimentos e a introdução de novos alimentos, são consideradas um instrumento de extrema importância, a fim de atender as demandas atuais dos consumidores. A este respeito, as microalgas desempenham papel destacado, como demonstrado pela grande presença de nutrientes. Alguns alimentos como macarrão, biscoitos, barra de cereais e outros produtos funcionais, já foram desenvolvidos utilizando a biomassa de microalgas (FIGUEIRA et al., 2011; LEMES et al., 2012; MORAIS; MIRANDA; COSTA, 2006; RODRÍGUEZ et al., 2014).

Estudos evidenciam que a incorporação de biomassa de microalgas nos alimentos pode conferir a eles importantes efeitos terapêuticos, como anticancerígeno, hiperlipidêmico, efeito protetor contra a diabetes e obesidade (HIRAHASHI *et al.*, 2002; KURD; SAMAVATI, 2015; PONCE *et al.*, 2010). A viabilidade para que isso ocorra é condicionada a fatores como a matriz alimentar, o tipo de processamento e interações com outras substâncias alimentares. As principais dificuldades relacionadas à incorporação de microalgas em alimentos referem-se ao seu cheiro forte, a cor verde escura e sua consistência em pó, o que limitam a sua utilização em alimentos convencionais.

Segundo Liang (2004), os comprimidos de microalgas são os produtos mais popularmente comercializados derivados de algas, assim como cápsulas e alimentos em formato de pós, sendo necessário diversificar a outros produtos finais para garantir o contínuo desenvolvimento da biotecnologia de microalgas na área de alimentos. Sendo assim, com os avanços e investimentos da indústria de alimentos para desenvolver novos produtos ricos em nutrientes e/ou funcionais, torna-se necessário conhecer o panorama de documentos de patentes relacionado aos produtos alimentares incorporados com a biomassa microalgas.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo prospectivo no intuito de coletar informações sobre produtos alimentares incorporados com biomassa de microalgas, relacionando com os documentos de patentes depositados.

METODOLOGIA

Essa prospecção foi realizada entre os meses de janeiro e fevereiro de 2017, tendo como base de dados de patentes o *European Patent Office* (Espacenet) e o banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil. Para esta pesquisa foi elaborada uma estratégia de busca levando-se em consideração inicialmente a palavra-chave *microalgae* (microalga) a fim de conhecer o panorama mundial da utilização das microalgas em diversos setores. Posteriormente, a pesquisa foi refinada utilizando a palavra chave *microalga* (*microalgae*), acrescida de outros substantivos de interesse, como: alimento (*food*) e biomassa (*biomass*), além disso, utilizou-se os códigos de classificação internacional: A23L33/00 (modificação das qualidades nutritivas dos alimentos; produtos dietéticos; preparação ou tratamento dos mesmos) e A23L17/60 (algas comestíveis). Para o levantamento de dados nos bancos de patentes foram

utilizados a pesquisa avançada (*Advanced Search*), o campo de pesquisa “IPC” e os campos de pesquisa “título” e “resumo”. Os arquivos dos documentos de patentes foram compactados e exportados para o *software Microsoft Office Excel 2010* por meio do programa CSVed version 2.4 2016 (Sam Francke), sendo possível realizar o tratamento e análise das informações obtidas dos documentos de patentes encontrados.

Os dados foram analisados considerando os indicadores: códigos de classificação internacional, o ano de depósito, os inventores, as empresas e instituições de ensino com maior número de depósitos realizados, o país de origem da patente e área de aplicação. Os resultados encontrados foram apresentados na forma de gráficos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

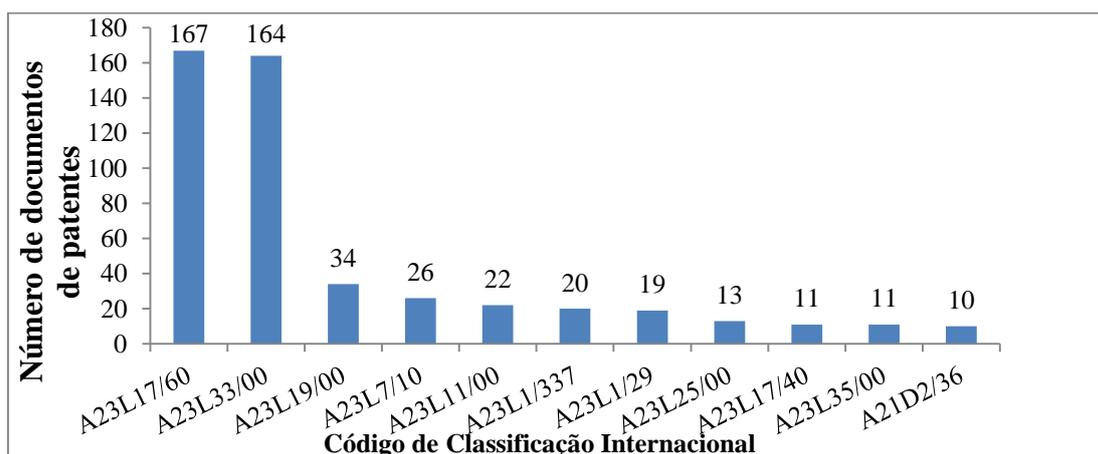
O resultado da busca de documentos de patentes utilizando a palavra-chave *microalgae* (microalga) revelou um universo total de 4594 documentos de patentes, englobando diferentes áreas de aplicação, como: cultivo, área farmacêutica, área médica, alimentação animal, biodiesel e indústria de alimentos, corroborando com os resultados encontrados por Barcellos (2012) e Mendonça (2012) que descreveram os diversos setores de aplicação das microalgas. Para obtenção de uma análise detalhada referente à área de alimentos, a pesquisa foi refinada utilizando a combinação de palavra-chave e códigos de classificação internacional. Nesse sentido, o universo de dados dessa pesquisa correspondeu a 169 documentos de patentes, resultado da combinação dos códigos: A23L17/60 (algas comestíveis) e A23L33/00 (modificação das qualidades nutritivas dos alimentos; produtos dietéticos; preparação ou tratamento dos mesmos) com a palavra-chave *food* (alimento). Vale ressaltar que os 169 documentos de patentes consultados foram exportados do banco de dados do Espacenet, não sendo encontrados documentos de patentes referentes a produtos alimentares com incorporação de biomassa de microalgas no banco de dados do INPI.

Tabela 1. Resultados das buscas nas bases *Espacenet* e INPI.

	Espacenet	INPI	Total
Microalgae (microalga)	4576	18	4594
Microalgae and food and biomass (microalga e alimento e biomassa)	12	0	12
A23L17/60	8298	1	8299
A23L17/60 and A23L33/00 and food (A23L17/60 e A23L33/00 e alimento)	169	0	169
Total	13055	19	13296

Fonte: Elaborado pelo autor, com base em dados do *Espacenet*® e INPI, 2017.

A Figura 1 apresenta os principais códigos de classificação internacionais das patentes depositadas. Esses códigos são utilizados para classificar e separar as patentes de acordo com o tema de interesse. Neste estudo, a maioria das patentes relacionadas a produtos alimentares modificados e algas comestíveis se encontra na seção A, classificados na classe A23. Dentre os subgrupos da classe A23, predomina o A23L16/60 e o A23L33/00 que se trata do assunto estudado.

Figura 1. Principais Códigos de Classificação Internacional dos documentos de patentes associadas a incorporação de microalgas em alimentos.

Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

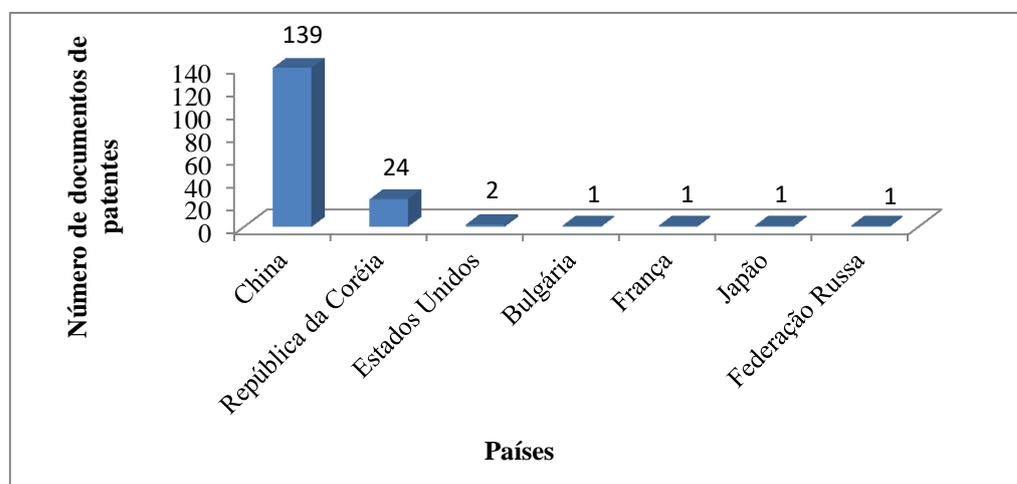
A23L17/60: algas comestíveis; A23L33/00: modificação das qualidades nutritivas dos alimentos; produtos dietéticos; preparação ou tratamento dos mesmos; A23L19/00: Produtos de frutas ou produtos hortícolas, preparação ou tratamento dos mesmos; A23L7/10: Produtos derivados de cereais, produtos à base de malte; A23L11/00: Pulsos, ou seja, frutos de leguminosas, destinados à produção de forragens ou de alimentos, produtos de leguminosas, preparação ou tratamento do mesmo, tratamento com fosfatos; A23L1/337; A23L1/29; A23L25/00: Alimentos constituídos principalmente por noz ou sementes, preparação ou tratamento dos mesmos; A23L17/40: Marisco; A23L35/00: Alimentos ou géneros alimentícios não previstos nos grupos A23L5/00-A23L33/00, preparação ou tratamento dos mesmos; A21D2/36: Material vegetal.

Dentre os países depositantes de patentes (Figura 02), a China é o país que detém o maior número de depósitos relacionados a alimentos incorporados com microalga, totalizando 139 documentos. A República da Coreia está na sequência, seguido dos Estados Unidos da América. Os demais países apresentaram apenas uma patente depositada.

A utilização da microalga na alimentação humana ocorre desde a idade antiga. Povos asiáticos, especialmente da China já consumiam produtos elaborados com a biomassa de *Spirulina spp*, com a finalidade principalmente para o suprimento de proteínas (BOROWITZKA, 1999; SHIMAMATSU, 2009). Segundo Pulz & Gross (2004), o mercado de alimentos funcionais, utilizando microalgas como fonte de nutrientes e compostos ativos, apresenta rápido desenvolvimento em países como China, França, Estados Unidos e Tailândia.

Nota-se que no Brasil não foi encontrado depósitos de patentes referentes a esta tecnologia. Logo, percebe-se a necessidade de maiores investimentos e incentivos do mercado brasileiro em pesquisas nas universidades e empresas, e políticas públicas que permitam avanço e desenvolvimento tecnológico. Ressalta-se que a promulgação da Lei de Inovação (10.973/2004) reúne esforços para promover o avanço em pesquisa científica no Brasil. Esta lei mantém e amplia o apoio às parcerias entre universidade e empresa, promove a participação das universidades e dos centros de pesquisa no processo de inovação e permite a transferência do conhecimento da universidade para as empresas através, principalmente, da obrigatoriedade de criação dos Núcleos de Inovação Tecnológica (NITs) nas universidades.

Figura 2. Principais países depositantes de documentos de patentes relacionados à incorporação microalgas em alimentos.



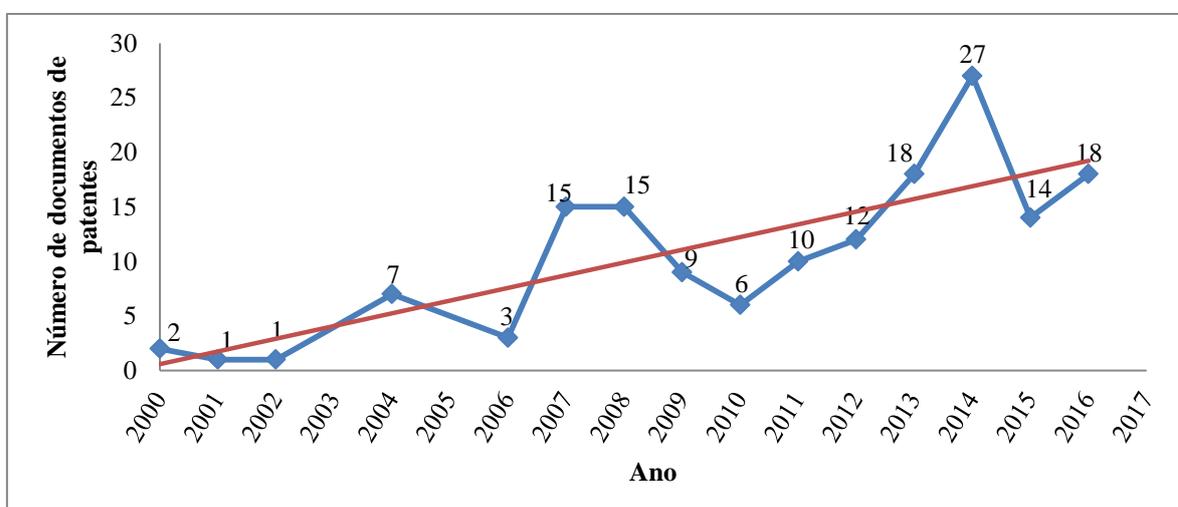
Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

A análise da evolução anual do número de depósitos das patentes relacionadas à utilização de biomassa de microalgas em alimentos no período de 2000 a 2016 permite inferir que dentre as décadas pesquisadas, o crescimento dessa tecnologia iniciou a partir do ano de 2006, tendo várias oscilações entre os anos como pode ser visto na Figura 3. Todavia, a primeira patente depositada foi no ano de 1993, na China e refere-se à elaboração de um suplemento natural utilizando microalga.

Adiante, verifica-se que no ano de 2007 houve uma maior presença de pedidos de patentes em relação aos anos anteriores. Estudos evidenciam que a partir deste ano a utilização de microalgas como alimento foi ganhando divulgação mundial por meio de estudos científicos que demonstraram que as mesmas são uma excelente fonte de proteínas, ácidos graxos poli-insaturados, pigmentos, vitaminas e compostos fenólicos (COLLA et al., 2007; MADHYASTHA; VATSALA, 2007; OGBONDA et al., 2007).

Sendo assim, o ápice no depósito de patentes ocorreu no ano de 2014, o que pode ser resultado de um maior investimento financeiro em biotecnologia por parte dos países investidores na intenção de proporcionar avanços e desenvolvimento de tecnologias na área de interesse. Percebe-se também através da linha de tendência um crescente número de documentos de patentes depositadas, impulsionada, sobretudo, nos últimos 10 anos. Vale ressaltar que o decréscimo no número de depósitos entre os anos de 2015 – 2016 pode ser justificado pelo período de sigilo, que corresponde a 18 meses após o depósito.

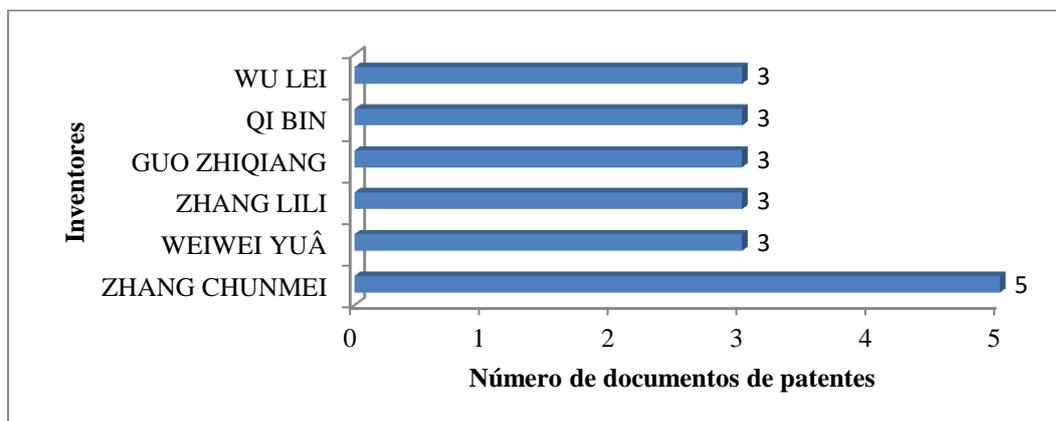
Figura 3. Evolução anual do número de depósito de documentos patentes relacionadas à incorporação microalgas em alimentos entre o ano de 2000 a 2016.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Quanto aos inventores (Figura 4), verifica-se um total de 298. Zhang Chunmei foi o que mais se destacou, sendo o único com 5 documentos de patentes, todas depositadas no ano de 2013; os demais inventores mostrados na Figura 4 apresentaram 3 documentos de patentes. Mais recentemente, no ano de 2015, Guo Zhiqiang, inventor chinês, apresentou 3 documentos de patentes depositadas, as quais enfatizam a invenção de alimentos instantâneos em pó e alimento funcional com efeitos positivo na imunidade e memória. Nota-se que a maioria dos inventores (93%) apresentou apenas um documento de patente depositada. Os inventores majoritariamente são chineses, o que está de acordo com o fato da China possuir 139 documentos de patentes depositados.

Figura 4. Inventores com maior número de documentos de patentes depositadas relacionadas à incorporação de microalgas em alimentos.

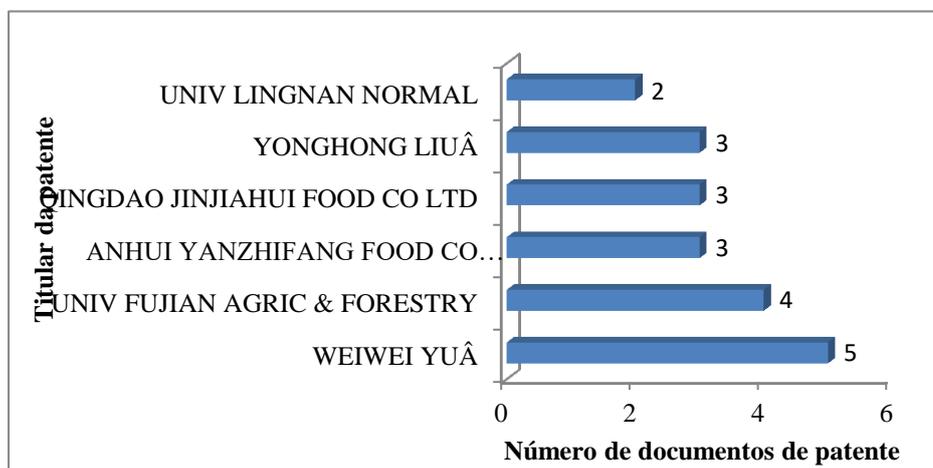


Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Em relação aos principais titulares que depositaram patentes relacionadas à utilização de microalgas em alimentos (Figura 5), encontram-se pessoas físicas, empresas e universidades. A Anhui Yanzhifang Food CO LTD, empresa sediada na China em que a linha de negócios inclui farinhas de grãos e sopas em pó, apresentou 3 documentos de patentes depositadas. Os dois titulares, Weiwei Yuâ e Yonghong Liuâ, são pessoas físicas e possuem 5 e 3 documentos de patentes respectivamente, sendo as únicas pessoas físicas entre os principais titulares. O Yonghong Liuâ apresenta em seus documentos de patentes o macarrão e bebida produzidos com microalgas, ambos depositados no ano de 2009. Nota-se também a importante presença das universidades entre os principais titulares que totalizam 18 documentos de patentes depositadas. As universidades com maior número de depósitos estão localizadas na China. A maioria das instituições de ensino (66%) apresentou apenas uma patente depositada. Percebe-se que a participação do campo acadêmico referente ao depósito de patente na área de

microalgas é pouca. Essa participação iniciou na década de 2000 envolvendo principalmente instituições dos Estados Unidos e da China.

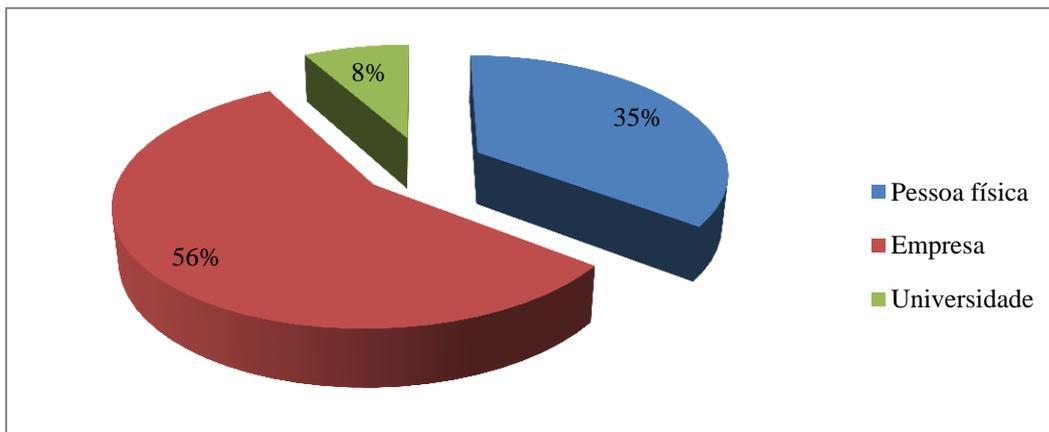
Figura 5. Principais titulares de documentos de patentes relacionados a incorporação de microalgas em alimentos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Dentre os setores da sociedade, as empresas apresentaram maior destaque referente ao número de depósito de documentos de patentes com cerca de 60%, seguidas de pessoas físicas, com 35%, e as universidades, com os 8% restantes, conforme a Figura 6. Nota-se neste estudo que a soma das porcentagens de número de depósitos de patentes por pessoas físicas e universidades foi menor que os depósitos no setor empresarial, mostrando que o domínio da tecnologia no desenvolvimento de produtos alimentares com microalgas está atraído para o setor empresarial, necessitando, dessa forma, ser explorado por outros setores da sociedade, sobretudo as universidades, uma vez que as mesmas representam um potencial centro de pesquisa que podem contribuir com o avanço e desenvolvimento de produtos com essa tecnologia. Sendo assim, as pesquisas desenvolvidas nas universidades podem ser transferidas para as empresas permitindo-lhes inovar e ampliar sua capacidade tecnológica.

Figura 6. Distribuição dos tipos de titulares de documentos de patentes relacionadas a microalgas.

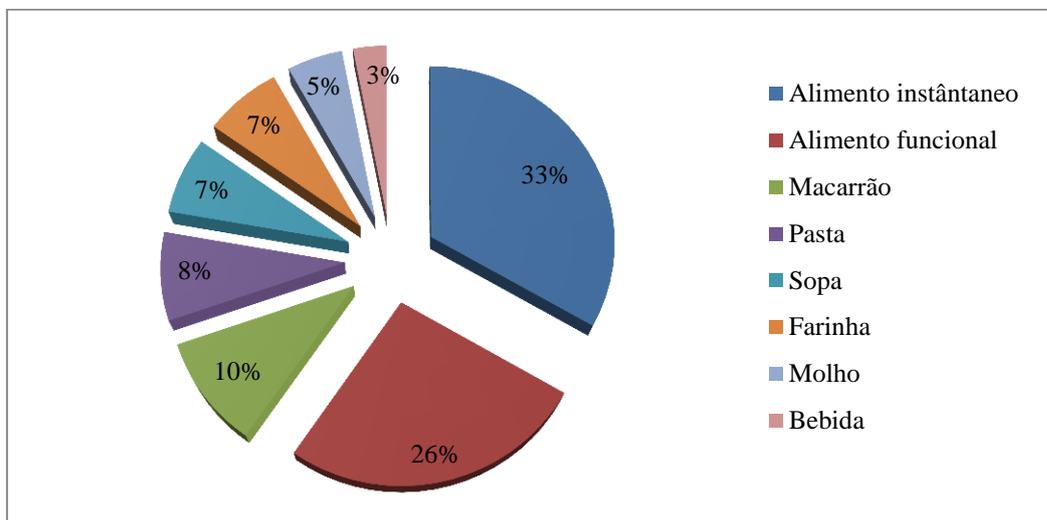


Fonte:

Elaborado pelo autor (2017).

A Figura 7 mostra os tipos de produto alimentar desenvolvidos com a aplicação de biomassa de algas comestíveis. Estes alimentos são os mais prevalentes entre as patentes depositadas, no entanto existe uma vasta variedade de alimentos que aparecem apenas uma única vez e que não estão demonstrados na figura. Verifica-se que os alimentos instantâneos e os alimentos funcionais são os mais prevalentes entre as patentes analisadas, geralmente esses alimentos são apresentados em formas de pós para serem dissolvidos em água ou outras bebidas. Em seguida tem-se o macarrão, segundo Buono (2014) o grupo de massas representa um veículo para ser enriquecido com microalgas; pão ou macarrão podem ser incorporados com uma porcentagem limitada de biomassa de microalgas, para a consistência e o sabor não se tornarem desagradáveis e pouco atraentes. Ademais, Gouveia (2007) relata a inclusão da biomassa de microalgas como um pigmento e ingrediente funcional em produtos alimentares. Neste estudo observou-se a presença de uma patente relacionada a pigmento derivado da alga *Undaria pinnatifida*, esta patente foi depositada pela multinacional Dalian Gaishi Health Food CO LTD sediada na China.

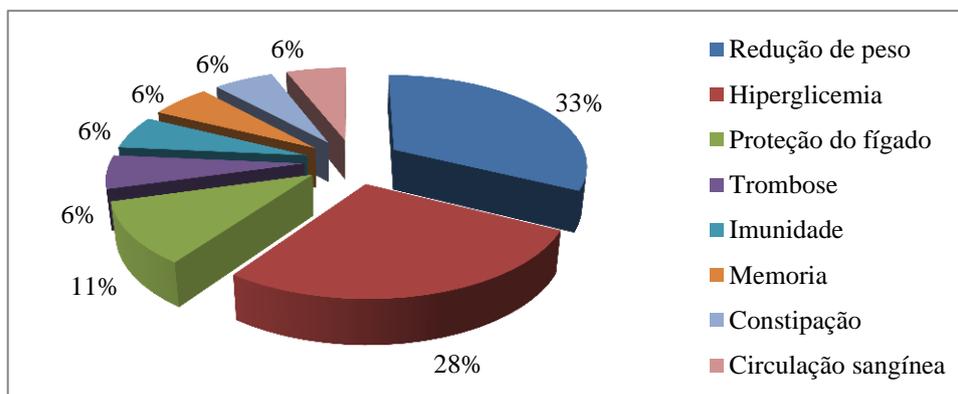
Figura 7. Principais produtos alimentares incorporados com biomassa de microalgas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Em relação ao efeito terapêutico associado aos alimentos funcionais encontrados nas patentes analisadas (Figura 8), destacam-se alimentos com efeito para redução de peso, seguido do efeito protetor contra a hiperglicemia. Estudos científicos evidenciam importantes efeitos terapêuticos provenientes do consumo de biomassa de microalgas, como: anticancerígeno, hipolipidêmico, proteção contra diabetes e obesidade. (KURD; SAMAVATI, 2015; PONCE-CANCHIHUAMÁN et al., 2010; ANITHA; CHANDRALEKHA, 2010).

Figura 8. Efeito terapêutico dos alimentos funcionais desenvolvidos com biomassa de microalgas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

CONCLUSÃO

No estudo verificou-se que a China é o país com maior número de documentos de patentes, isso demonstra o interesse deste país em proteger a tecnologia e garantir direito de exclusividade aos depositantes. O ápice no número de depósito de documentos de patentes sobre o tema ocorreu no ano de 2014, o que pode ser resultado de um maior investimento financeiro em biotecnologia por parte dos países investidores na intenção de proporcionar avanços e desenvolvimento de tecnologias na área específica. Os principais alimentos desenvolvidos com aplicação de microalgas são os alimentos instantâneos e alimentos funcionais. As microalgas também são adicionadas a massas, biscoitos, bebidas como suplementos nutricionais ou corantes alimentares naturais. Observa-se que até o momento há poucos produtos alimentares incorporados de biomassa de microalgas, indicando que ainda há uma grande oportunidade para ser explorada nesta área.

REFERÊNCIAS

- ANITHA, L.; CHANDRALEKHA, K. Effect of supplementation of Spirulina on blood glucose, glycosylated hemoglobin and lipid profile of male non-insulin dependent diabetics. **Journal of Experimental Biological Science**, 1(11), 36–46, 2010.
- BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; FRANCO, J. M.; RAYMUNDO, A. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. **Algal Research**, 2, 164-173, 2013.
- BARCELLOS, A. D.; BARRETO, A. G. S.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Microalgas e seu potencial de uso. **Cadernos de Prospecção**, 5 (4), 178-184, 2012.
- BECKER, E. W. Microalgae as a source of protein. **Biotechnology advances**, 25 (2), 207-210, 2007.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters, **Journal of Biotechnology**, 70, 313–321, 1999.
- BUONO, S.; LANGELLOTTI, A. L.; MARTELLO, A. R. F.; FOGLIANO, V. Functional ingredients from microalgae. **Food & Function**, 5 (8), 1669-1685, 2014.

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

FIGUEIRA, F. D. S.; CRIZEL, T. D. M.; SILVA, C. R.; SALAS, M. M. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, 14 (4), 308–316, 2011.

FONTES, A. G.; RIVAS, J.; GUERRERO, M. G.; LOSADA, M. Factors affecting the production of biomass by a nitrogen-fixing blue-green alga in outdoor culture. **Biomass**, 13 (1), 33-43, 1987.

GOUVEIA L.; NOBRE B. P.; MARCELO F. M.; MREJEN S.; CARDOSO M. T.; PALAVRA A. F. Functional food oil coloured by pigments extracted from microalgae with supercritical CO₂. **Food Chemistry**, 101 (2), 717-723, 2007.

GRAZIANI, G.; SCHIAVO, S.; NICOLAI, M. A.; BUONO, S.; FOGLIANO, V.; PINTO, G. *et al.* Microalgae as human food: Chemical and nutritional characteristics of the thermo-acidophilic microalga *Galdieria sulphuraria*. **Food & function**, 4 (1), 144-152, 2013.

HIRAHASHI, T.; MATSUMOTO, M.; HAZEKI, K.; SAEKI, Y.; UI, M.; SEYA, T. Activation of the human innate immune system by *Spirulina*: Augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. **International Immunopharmacology**, 2 (4), 423-434, 2002.

KREITLOW, S.; MUNDT, S.; LINDEQUIST, U. Cyanobacteria—a potential source of new biologically active substances. **Journal of Biotechnology**, 70 (1), 61-63, 1999.

KURD, F.; SAMAVATI, V. Water soluble polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction and in vitro anti-cancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, 74, 498-506, 2015.

LEMES, A. C.; TAKEUCHI, K. P.; DE CARVALHO, J. C. M.; DANESI, E. D. G. Fresh pasta production enriched with *Spirulina platensis* biomass. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 55 (5), 741-750, 2012.

LIANG, S.; LIU X.; FENG C.; ZIJIAN C. Current microalgal health food R & D activities in China. **Hydrobiology**, 45-48, 2004.

MADHYASTHA, H. K.; VATSALA, T. M. Pigment production in *Spirulina fusciformis* in different photophysical conditions. **Biomolecular Engineering**, 24,(3), 301-305, 2007.

MENDES, L. B. B.; VERMELHO, A. B. V. Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation. **Biotechnology for Biofuels**, 6 (1), 152, 2013.

MENDONÇA, T. A.; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L. Prospecção tecnológica da utilização da *Spirulina platensis*. **Cadernos de Prospecção**, 5 (1), 44-52, 2012.

MIRANDA, M. P. S. **Antioxidantes naturais em microalgas cultivadas em condições especiais: avaliação química e biologia**. 1997. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

MIRANDA, M. S. et al. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. **Brazilian Journal of Medical and biological research**, 31 (8), 1075-1079, 1998.

MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis* : Características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, 17 (3), 323–328, 2006.

OGBONDA, K.H.; AMINIGO, R.E.; ABU, G.O. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, 98 (11), 2207–2211, 2007.

PONCE, C. J. C.; PÉREZ, O.; HERNÁNDEZ, M. R.; TORRES, P. V.; JUÁREZ, M. A. Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. **Lipids in Health and Disease**, 9 (1), 35, 2010.

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

RICHMOND, A. (Ed.). **Manual de cultura de microalgas: biotecnologia e psicologia aplicada** . John Wiley & Sons, 2008.

RODRÍGUEZ DE MARCO, E.; STEFFOLANI, M. E.; MARTÍNEZ, C. S.; LEÓN, A. E. Effects of *Spirulina* biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, 58 (1), 102–108, 2014.

SHIMAMATSU H., Mass production of *Spirulina*, an edible microalga, **Hydrobiologia**, 512, 39–44, 2009.

CAPÍTULO III

Desenvolvimento e avaliação de molho funcional com alto teor proteico e potencial antioxidante pela adição de *Spirulina platensis*

Desenvolvimento e avaliação de molho funcional com alto teor proteico e potencial antioxidante pela adição de *Spirulina platensis*

RESUMO

A *Spirulina platensis* é uma microalga com composição nutricional apropriada para uso como ingrediente alimentar. O presente estudo teve como objetivo desenvolver molhos enriquecidos com diferentes concentrações de biomassa de *Spirulina platensis*, bem como avaliar suas características físico-químicas, sensoriais, microbiológicas e antioxidantes. Foram desenvolvidos molhos com três diferentes concentrações (2%; 3% e 4% biomassa de *Spirulina*) e uma formulação controle (sem adição de biomassa). A formulação com 4% de *Spirulina* foi adequada para conservar as propriedades físico-químicas, relacionadas à textura e apresentou apreciável aceitabilidade sensorial, sendo escolhida para avaliação durante armazenamento por 45 dias sob refrigeração (4-6°C). Esta formulação apresentou altos teores de proteínas totais (8,26%), fibras (1,05%), minerais, compostos fenólicos (352,84 mgEAG.g⁻¹) e potencial antioxidante (IC₅₀ 11,86 mg.ml⁻¹) em comparação a formulação controle (sem adição de biomassa). Durante o período de armazenamento (45 dias) o molho incorporado com a biomassa não apresentou variações nos parâmetros de cor, textura, características físico-químicas e atividade antioxidante. Assim, diante os resultados obtidos, a biomassa de *Spirulina platensis* pode ser utilizada como um aditivo natural para o desenvolvimento de um novo molho com propriedades funcionais.

Palavras-chave: biomassa; *Arthospira platensis*; processamento; elaboração; condimento.

ABSTRACT

Spirulina platensis is a microalga with nutritional composition suitable for use as a feed additive. The present study aimed to develop enriched sauces with different biomass concentrations of *Spirulina platensis*, as well as to evaluate their physicochemical, sensorial, microbiological and antioxidant characteristics. Sera were developed with three different concentrations (2%, 3% and 4% *Spirulina* biomass) and a control formulation (without addition of biomass). The formulation with 4% of *Spirulina* was adequate to preserve the physicochemical properties, related to the texture and presented appreciable sensorial acceptability, being chosen for evaluation during storage for 45 days under refrigeration (4-6 ° C). This formulation had high levels of total proteins (8.26%), fibers (1.05%), minerals, phenolic compounds (352.84 mgEAG.g⁻¹) and antioxidant potential (IC 50 11.86 mg.ml⁻¹) compared to the control formulation (without addition of biomass). During the storage period (45 days), the bake incorporated with the biomass did not present variations in the parameters of color, texture, physical-chemical characteristics and antioxidant activity. Thus, the results obtained, the biomass of *Spirulina platensis* can be used as a natural additive for the development of a new sauce with functional properties.

Keywords: biomass; *Arthospira platensis*; processing; elaboration; condiment.

1. INTRODUÇÃO

Arthrospira platensis pertence ao gênero *Arthrospira* e à família *Oscillatoriaceae*, compreende o grupo das cianobactérias filamentosas, de cor verde azulada. Podem ser encontradas na natureza em ambientes aquáticos, marinhos e de água doce (Habib, Parvin, Huntington & Hasan, 2008). As regiões mais propícias para o seu desenvolvimento são as tropicais de clima quente e úmido, com maior tempo de exposição à luz (Jesus et al., 2018). Tais microrganismos apresentam uma diversidade de aplicações nas indústrias de alimentos, farmacêuticas e cosméticas, e, por isso, despertam o interesse biotecnológico para obtenção de compostos de alto valor nutricional (Wang, Pan, Sheng, Xu & Hu, 2007).

Desde a idade antiga povos residentes nas proximidades do Lago Texcoco (México) já utilizavam a biomassa de *Arthrospira platensis* para alimentação humana, principalmente para o suprimento de proteínas (Habib, Parvin, Huntington & Hasan, 2008). Esta é uma das mais ricas fontes proteicas de origem microbiana (55 a 70 %), estando acima de fontes convencionais como as carnes (22 a 24 %) ovos (cerca de 47 %) e queijos (cerca de 36%) (Bashir, Sharif, Butt & Shahid, 2016; Henrikson, 1994), além de apresentar todos os aminoácidos essenciais nas proporções recomendadas pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) e boa digestibilidade (Becker, 2007). Comercialmente a *Arthrospira platensis* é conhecida como *Spirulina platensis*, (Tomaselli et al. 1997; Koru, 2012), e refere-se à biomassa seca da cianobactéria. Mais de 70% da sua comercialização é para consumo humano, principalmente como alimento funcional, nutracêutico e/ou suplemento alimentar (Koru, 2012).

O interesse atual neste micro-organismo ocorre principalmente devido à sua composição química, que apresenta propriedades antioxidantes devido à presença de compostos fenólicos (ácido cafeico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico), favorecendo o seu uso como alimento funcional. Além disso, sua importância deve-se ainda pelo seu alto conteúdo proteico, pela presença de aminoácidos essenciais, vitaminas, especialmente a B₁₂, além de A, E e C, minerais (ferro, cálcio, cobre, magnésio, manganês, fósforo, potássio, sódio e zinco), pigmentos fotossintéticos (carotenoides, ficocianina e clorofila), e ácidos graxos poli-insaturados (ômega-6 e ômega-3). Vale ressaltar que a presença do ácido alfa-linolênico (C18:3 n-3) é muito importante do ponto de vista nutricional, uma vez que a dieta ocidental é geralmente

deficiente nesse ácido graxo, o qual tem papel profilático relevante no tratamento de diversas doenças crônicas (Koru, 2012; Bolanho et al., 2012; Wang et al., 2015).

Estudos científicos têm demonstrado que esta microalga não apresenta efeitos tóxicos ao organismo, sendo classificada pelo FDA (FDA, 2003) como *GRAS* (*Generally Recognized As Safe*), o que garante seu uso como complemento alimentar de forma segura e nutritiva na alimentação humana. Somado a isso, ensaios científicos ‘*in vitro*’ e ‘*in vivo*’ tem demonstrado que associado às propriedades nutricionais estão às propriedades terapêuticas, podendo auxiliar nos tratamentos de diabetes, anemia, desnutrição, obesidade, doenças cardiovasculares, câncer, entre outros. Sendo assim, a utilização da *Spirulina platensis* representa uma alternativa para a produção de alimentos funcionais e nutracêuticos com alto valor agregado (Lee et al., 2017; Ambrosi, Reinehr, Bertolin, Costa & Colla, 2009; Kurd & Samavati, 2015; Ponce-Canchihuamán, Pérez-Méndez, Hernández-Muñoz, Torres-Durán & Juárez-Oropeza, 2010).

Por este motivo, a indústria global de alimentos vem explorando amplamente a utilização da *S. platensis* como fonte promissora para o desenvolvimento de novos produtos. A possibilidade de incorporar a biomassa dessa microalga em determinados alimentos se configura como uma inovação de alto potencial tecnológico e comercial, pois agrega valor nutricional a produtos já conhecidos pela população (Gupta & Abu-Ghannam, 2018). Alguns alimentos como macarrão, biscoito, barra de cereais e outros produtos funcionais, já foram desenvolvidos com a incorporação de biomassa de *S. platensis* (Fradique et al., 2010; Widjanarko, Nugroho & Estiasih, 2011; Lemes, Takeuchi, Carvalho & Danesi, 2012; Marco, Steffolani, Martínez & León, 2014; Melo et al., 2017; Barkallah et al., 2017). Comparado com a *Spirulina* em pó comercial, esses alimentos são sensorialmente mais aceitos e variáveis, combinando a atratividade e os benefícios para a saúde dos consumidores (Lucas, Moraes, Santos & Costa, 2018).

Em adição, estes novos produtos representam uma tendência sustentável na indústria de alimentos, visto que há uma crescente exigência dos consumidores por alimentos saudáveis e práticos, formulados com baixo teor de gordura e açúcares, e enriquecidos com proteína e compostos bioativos (Pszczola, 2008; Pereira, Lisboa & Costa, 2018). Nessa esfera, destacam-se os molhos prontos, que relacionado ao conceito de conveniência e praticidade no preparo de pratos elaborados, sobressaem no mercado com constantes lançamentos e novas formulações (Bendini et al., 2017). Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi desenvolver um molho funcional, pronto para

consumo, enriquecido biomassa da microalga *S. platensis*, bem como avaliar suas propriedades físico-químicas, sensoriais, antioxidantes e microbiológicas durante 45 dias de armazenamento.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais

A *Spirulina sp* LEB 18 utilizada neste estudo foi isolada na Lagoa da Mangueira (33° 30' 12'' S, 53° 08' 58'' W), localizada entre o Oceano Atlântico e o lago Mirim, no extremo sul do estado do Rio Grande do Sul (Morais et al., 2008), e cultivada em condições *outdoor*, com meio *Zarrouk* conforme descrito por Costa et al. (2004), na planta piloto do Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada da Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia (Salvador - BA, Brasil; 12° 58'16 " S / 38° 30'30 " W) (Jesus et al., 2018). A biomassa obtida foi liofilizada (Liofilizador L 101, Liotop, a - 49°C por 48 horas), em seguida macerada em um almofariz e passada em peneira 32-mesh (abertura 500 mm/ μ m) para uniformizar e melhorar a solubilidade, obtendo-se um produto pulverizado.

Os demais ingredientes utilizados na elaboração dos molhos (cebola, alho, tomate, alecrim, orégano e cominho, vinagre, óleo vegetal comestível e sal) foram adquiridos no comércio local da cidade de Salvador-BA.

2.2 Métodos

2.2.1 Formulações dos molhos

Para definir as concentrações a serem utilizadas no estudo, foram realizados testes preliminares com diferentes proporções dos ingredientes e da biomassa de *Spirulina*. Os critérios utilizados para a escolha tiveram como parâmetros o aspecto visual, aroma predominante de especiarias, uniformidade, homogeneidade, textura macia e aspectos físico-químicos conforme determinado pela legislação vigente (Brasil, 2005) que trata do Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. Foram elaboradas quatro formulações de molhos: controle (sem adição de *Spirulina sp*) e molhos contendo 2%; 3% e 4% de biomassa de *Spirulina sp*. Essas formulações foram

avaliadas 24h após a elaboração, quanto aos parâmetros físico-químicos (pH e acidez), além da análise de textura e aceitação sensorial. Após a avaliação inicial, a formulação que obteve melhor resposta em todos esses aspectos foi selecionada para avaliação das características físico-químicas (pH, acidez, atividade de água, proteína totais, lipídios totais, carboidratos, fibra bruta, cinzas totais, minerais, perfil de ácidos graxos, cor), microbiológicas e antioxidantes (DPPH, ABTS, FRAP) durante 45 dias de armazenamento (0, 7, 15, 30 e 45 dias) sob refrigeração (4 – 6°C), juntamente com o molho controle. Todas as formulações foram elaboradas em três repetições e analisadas em triplicatas.

2.2.2 Elaboração dos molhos

Os ingredientes foram pesados utilizando balança analítica (Modelo AY220, Shimadzu, Brasil), triturados, homogeneizados em liquidificador (Philips Walita Daily RI2001) e cozidos por 10 min. a 95°C. A biomassa de *Spirulina sp.* foi submetida ao tratamento com luz ultravioleta (UV-C) para descontaminação, sendo posteriormente adicionada aos demais ingredientes. O envasamento do molho recém-preparado foi realizado em potes de vidros de 200 ml com tampas de metal, previamente esterilizados em água em ebulição (100°C) durante 30 min. Após o envase do produto (150g) e lacre das tampas, foi realizado o processo de pasteurização que consistiu no aquecimento por 40 segundos a 98°C (Pérez-Conesa et al., 2009). Após a pasteurização as amostras foram transferidas para refrigerador a 4-6°C com umidade relativa do ar 60% para armazenamento.

Tabela 1 - Formulação do molho controle e molhos contendo diferentes concentrações de *Spirulina*.

Ingredientes (%)	Molho controle	Teor de biomassa de <i>Spirulina</i> (%)		
		2	3	4
Tomate	69,00	69,00	69,00	69,00
Cebola	11,00	11,00	11,00	11,00
Óleo de soja	3,60	3,60	3,60	3,60
Alho	0,97	0,97	0,97	0,97
Cominho	0,38	0,38	0,38	0,38
Sal	0,31	0,31	0,31	0,31
Alecrim	0,24	0,24	0,24	0,24
Salsa	0,14	0,14	0,14	0,14
Orégano	0,11	0,11	0,11	0,11
Água	14,00	14,00	14,00	14,00
<i>S. Platensis</i>	-	2,00	3,00	4,00

2.2.3 Análises físico-químicas

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas: pH por meio de um pHmetro digital (PHS-3D, China) calibrado com soluções padrão de pH (4,0 e 7,0); acidez titulável (TA) por volumetria potenciométrica, que consistiu na titulação da amostra com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até a faixa de pH (8,1-8,2) (method 945.08) de acordo com a AOAC (2005); umidade, utilizando uma balança de infravermelho (Mx – 50) á 105 °C; atividade de água por determinação direta com higrômetro Aqualab lite (AL1612, Decagon Devices, USA) à temperatura de 25°C; cinzas pelo método gravimétrico em forno mufla (QUIMIS) à 550 °C (method 923.03) de acordo com a AOAC (2005); proteína totais pelo método Kjeldahl, utilizando como fator de conversão de nitrogênio para proteína 6,38 (Barkallah et al., 2017) e lipídios totais pelo método de Bligh-Dyer (1959) com clorofórmio, metanol e água em uma proporção de 2:1:1. As fibras totais foram determinadas pelo método não enzimático baseado na precipitação com etanol (method 978.10) de acordo com a AOAC (2005) e os carboidratos totais foram estimados por diferença (IAL, 2008), conforme equação 1.

$$\%CT = 100 - (\%U + \%Cz + \%Ptns + \%LT) \quad \text{Equação 1}$$

Onde: % Umidade: Umidade; % Cz: Cinzas totais; % Ptns: Nitrogênio total; % LT: Lipídeos totais.

A determinação dos minerais: ferro, sódio, cálcio e magnésio foram obtidos por Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). O equipamento empregado foi um ICP OES de marca Agilent Technologies, modelo 720 series. A exatidão do método foi confirmada mediante análise de um material de referência certificado de folha de maçã (NIST 1515) sob as mesmas condições das amostras. As curvas analíticas para cada elemento mostraram-se lineares em toda a faixa de trabalho e cobriram as concentrações das amostras.

2.2.3 Análise de textura

As análises de textura foram realizadas nas amostras armazenadas por no mínimo 24 h a 6°C, usando um analisador de textura Brookfiel CT3, United States. O teste foi realizado utilizando um becker de vidro de 100 ml, com 30 g da amostra e um cilindro 38.1mm D, 20mm L (TA4/1000). Em seguida, as amostras foram comprimidas em 50% da espessura original em um ciclo duplo com uma velocidade do teste de 0,5 mm / s. Os parâmetros obtidos do perfil da textura foram: firmeza (N), coesividade e elasticidade (mm). Os dados foram coletados no programa “Texture Expert for Windows 1.20” (Stable Micro Systems).

2.2.4 Avaliação sensorial

A avaliação sensorial foi realizada por uma equipe de 40 provadores, estudantes e funcionários da Universidade Federal da Bahia, de ambos os sexos (80% mulheres, 20% homens) e com idade entre 19 a 45 anos. A sessão foi conduzida apresentando-se quatro amostras de molho correspondentes às quatro formulações com diferentes concentrações de biomassa de *Spirulina sp.* As amostras foram servidas em pequenos pratos brancos com colher descartável e codificadas de modo aleatório com números de três dígitos. Como veículo para a degustação do molho, porções de 25 g de macarrão foram servidas em recipientes descartáveis. Os provadores avaliaram a aceitação global

das formulações utilizando uma escala hedônica de nove pontos, variando de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente) para os atributos: aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Os provadores também foram questionados quanto à intenção de compra dos produtos, em escala de 1 a 4 (1 = Nunca compraria, 2 = Raramente compraria, 3 = Ocasionalmente compraria, 4 = Sempre compraria). A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande - FURG (processo nº 1.525.184).

2.2.5 Identificação e quantificação de ácidos graxos

Para a determinação do perfil de ácidos graxos, foi realizada a transesterificação segundo Souza et al., (2017). Uma alíquota dos lipídios totais foi submetida à reação com NaOH em metanol (0,5N), seguida de catálise ácida com BF₃ (12% em metanol) e extração com isooctano. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados em cromatógrafo a gás (Varian 3800) equipado com detector de ionização de chama (CG-DIC) e coluna capilar de sílica fundida ELITE-WAX (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm). Os parâmetros de análises foram: temperatura do injetor 250 °C; temperatura do detector 280 °C; temperatura da coluna programada a 150 °C por 16 minutos, aumentando 2 °C por minuto até 180 °C; permanecendo nessa temperatura por 25 minutos, aumentando 5 °C até 210 °C e permanecendo nessa temperatura por 25 minutos. O hélio foi utilizado como gás de arraste a 1,0 mL/minuto. As injeções foram realizadas no modo split (1:90) com volume de injeção de 1 µL. A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com o tempo de retenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos do padrão mix (C4-C24, 18919-AMP, Sigma-Aldrich ®, EUA), e a quantificação por normalização de áreas.

2.7 Compostos Fenólicos e atividade antioxidante

Para as análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante, foram utilizados os extratos obtidos a partir de uma solução etanólica 70% (v/v). A quantificação dos compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu*, como descrito por Singleton e Rossi (1965), no comprimento de onda de 760 nm (Espectrofotométrico Perkin Elmer-lambda 35, São Paulo, Brasil). Para a quantificação, uma curva padrão (50 – 250 µg/mL) foi preparada com ácido gálico e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama da

amostra (mgEAG.g^{-1}). A atividade sequestradora de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; Sigma-Aldrich Chemical) foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Vinson et al. (2001), com leitura da absorbância a 517 nm. A atividade antioxidante (IC_{50}) foi expressa como a concentração final em mg.ml^{-1} da amostra necessária para reduzir a concentração de DPPH em 50%. O poder de redução do íon férrico (FRAP) foi determinado segundo a metodologia descrita por Benzie & Strain (1996), com leitura da absorbância a 595nm. A curva padrão foi desenvolvida com sulfato ferroso (500 – 2000 $\mu\text{M/mL}$), e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de amostra. A capacidade de captura do radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico ácido; Sigma-Aldrich Chemical) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Re et al. (1999), com leitura da absorbância a 734 nm. A curva padrão foi desenvolvida com Trolox (6-hidroxi 2,5,7,8-tetrametilcloromano-2-carboxílico ácido; Sigma-Aldrich Chemical) (100 – 2000 $\mu\text{M/mL}$), e os resultados foram expressos em $\mu\text{M trolox /g}$ de amostra.

2.8 Análise da cor

As análises de cor foram determinadas em colorímetro digital (Konica Minolta – Bench-top Colorimeter CR-5, em espaço de cor $L^* a^* b^*$ do sistema CIE $L^*a^*b^*$). A calibração foi realizada com placa branca padrão, seguindo as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em L^* (luminosidade) que varia de 0 (preto) a 100 (branco); o a^* varia de $-a^*$ (-60,0 verde;) a $+a^*$ (+60,0 vermelho) e o b^* de $-b^*$ (-60,0 azul) a $+b^*$ (+60,0 amarelo).

2.9 Análise microbiológica

Foram realizadas análises para pesquisa de *Salmonella spp.* (ausência ou presença em 25 g), coliformes totais, *Staphylococcus coagulase positiva*, bolores e leveduras. As metodologias de análise adotadas seguiram o *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, da American Public Health Association (APHA, 2001).

Para pesquisa de *Salmonella*, 25 g do molho foram adicionadas a 225 ml de caldo lactosado, com incubação a 37°C por 18h; em seguida foram semeados 0,1 mL no caldo Rapaport (41,5°C, por 24h) e 1,0 mL no caldo tetracionato a 37°C por 24h; após

transferiu-se 1,0 mL para o Ágar Hectoen Enteric e para o Ágar de XLD (desoxicolato-lisina-xilose); as análises foram interrompidas nessa fase, por não apresentarem crescimento.

Para as análises de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase positiva*, bolores e leveduras, foram pesadas assepticamente 25g do molho em sacos plásticos estéreis e adicionado 225 mL de água peptonada estéril 0,1% (AP) (diluição 10^{-1}), a partir dessa diluição foram realizadas as diluições seriadas subseqüente. Para a contagem de coliformes a 45 °C, foram transferidos 1 ml de cada amostra de diluição para tubos contendo 9 ml de Lauril Sulfato Caldo Triptose (LST) com tubos de Durham e incubado a 35°C (24h e 48h). Como não houve confirmação de tubos positivos durante esse período, as etapas subseqüentes não foram realizadas. A contagem de *S. coagulase positiva* foi realizada em Ágar Baird Parker (BP), incubada a 36°C por 48h, e os resultados foram expressos como unidades formadoras de colônias (LogUFCg⁻¹). Para contagem de bolores e leveduras, foram inoculados 0,1 mL de cada diluição em Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), com semeadura em superfície e incubado por sete dias à 25°C. As contagens foram expressas em LogUFCg⁻¹.

3.0 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e aplicado o teste Tukey ($p < 0,05$) para avaliar a diferença entre médias, utilizando o software estatístico R Commender 3.5.1.

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Seleção da melhor formulação contendo biomassa de *Spirulina*: parâmetros físico-químicos, textura e sensoriais

A Tabela 2 mostra os valores iniciais de pH e acidez para o molho controle e para as três formulações de molhos incorporados de *Spirulina*. A formulação controle apresentou menor pH e maior acidez, diferindo das demais formulações. A adição de *Spirulina* aumentou o pH dos molhos, tornando o produto menos ácido, isso

ocorreu porque a biomassa dessa microalga é um produto de baixa acidez, por apresentar pH entre 7,0 e 8,0 (dados não apresentados). É importante ressaltar que todas as formulações obtiveram pH inferior a 4,5, o que segundo Lund et al. (1987) é desejável para impedir a proliferação de microrganismos no produto. Este valor de pH não pode ser ultrapassado, pois, é o limite inferior para o desenvolvimento dos esporos de *Clostridium botulinum*. Embora a formulação com 4% de *Spirulina* tenha apresentado maior valor de pH em relação as demais, essa formulação manteve-se dentro do valor aceitável (pH < 4,5) (Brasil, 2002). Similarmente ao encontrado neste estudo, Souza et al. (2014) encontraram valores de pH inferiores a 4,5 em molho de pequi durante 300 dias de armazenamento.

Assim como o pH, a acidez total também é um parâmetro importante para o estado de conservação de um produto alimentício. Comumente, o processo de decomposição do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera a concentração de íons hidrogênio e, conseqüentemente, sua acidez (Oliveira, Bastos, Feitosa, Branco & Silva, 1999). Observou-se que os valores de acidez total diferiram entre as formulações. Considerando que o aumento nas concentrações de *Spirulina* promoveu a redução da acidez, a formulação com 4% de *Spirulina* foi a que obteve menor valor. Para a correlação estabelecida entre os parâmetros de pH e acidez foi observada uma relação significativa e inversamente proporcional ($R^2 = 0,9975$), demonstrando que quanto menor o pH dos molhos, maior foram os valores de acidez total.

Tabela 2. Valores de pH e acidez para o molho controle e molhos adicionados de diferentes concentrações de *Spirulina* após 24 h de armazenamento.

Parâmetros	Molho Controle	Teor de biomassa de <i>Spirulina</i> (%)		
		2	3	4
pH	3,04±0,01 ^a	3,14±0,01 ^b	3,23±0,02 ^c	4,32±0,02 ^d
Acidez	3,19±0,09 ^c	3,15±0,02 ^c	2,97±0,59 ^b	1,65±0,01 ^a

Os dados são expressos como média ± desvio padrão. ¹Letras iguais na mesma linha indicam que os resultados não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) utilizando o teste de Tukey.

A textura, juntamente com a aparência e o sabor, constituem os três atributos de qualidade organoléptica que determinam a aceitabilidade de um alimento pelo consumidor. De fato, os parâmetros de textura estão correlacionados com as propriedades sensoriais, sendo um atributo fundamental nos alimentos (Talen, Álvarez-

Sabatel, Rios & Rodríguez, 2017). Os valores dos parâmetros de textura (firmeza, coesividade e elasticidade) e a avaliação sensorial do molho controle e dos molhos contendo *Spirulina* estão listados na Tabela 3.

Os molhos contendo 2%, 3% e 4% de *Spirulina* apresentaram comportamentos diferentes quanto à firmeza, coesividade e elasticidade, diferindo entre si e entre o controle. Dessa forma, o emprego de *Spirulina* nos molhos alterou o perfil global de textura, conferindo molhos mais firmes devido ao aumento nas concentrações de *Spirulina*, sendo o maior valor de firmeza atribuído ao molho contendo 4% de biomassa. De modo semelhante ao observado no presente estudo, Bolanho et al. (2014) obtiveram maiores valores de firmeza para formulações de cookies com 5% de biomassa de *Spirulina*, em comparação com a formulação contendo 2% e o controle. Similarmente, Fradique et al. (2010) observaram que o aumento na concentração de biomassa de *Spirulina* em formulações de macarrão resultou em maiores valores de firmeza do produto. O aumento nos valores desse parâmetro proporcionalmente ao aumento na concentração da biomassa, pode estar relacionado à alta quantidade de proteína presente na microalga, proporcionando assim, maior interação proteína-proteína e conseqüentemente uma rede de gel mais rígida e coesa (Fukushima, 2004). A incorporação de *Spirulina* nos molhos também exibiu diferenças para a coesividade e elasticidade de todos os tratamentos ($p < 0,05$), sendo a formulação com 4 % a que obteve menor coesividade e maior elasticidade.

Tabela 3. Parâmetros obtidos na análise de textura e avaliação sensorial para o molho controle e molhos adicionados de diferentes concentrações de *Spirulina*.

Parâmetros	Molho Controle	Teor de biomassa de <i>Spirulina</i> (%)		
		2	3	4
Firmeza (N)	0,40 ± 0,01 ^a	0,40 ± 0,10 ^a	0,43 ± 0,06 ^b	0,45 ± 0,06 ^c
Coesividade	1,23 ± 0,18 ^b	1,38 ± 0,12 ^c	1,42 ± 0,00 ^d	1,09 ± 0,03 ^a
Elasticidade (nm)	3,39 ± 0,47 ^b	4,31 ± 0,20 ^c	2,66 ± 0,01 ^a	5,75 ± 0,01 ^d
Aparência	7,20 ± 0,90 ^b	6,65 ± 0,80 ^{ab}	6,05 ± 0,70 ^a	5,92 ± 1,01 ^a
Aroma	6,90 ± 0,90 ^a	6,75 ± 0,90 ^a	6,50 ± 0,72 ^a	6,80 ± 0,83 ^a
Sabor	6,62 ± 0,71 ^a	6,10 ± 0,93 ^a	6,35 ± 0,75 ^a	6,82 ± 1,00 ^a
Textura	7,00 ± 0,65 ^a	6,87 ± 0,84 ^a	6,75 ± 0,80 ^a	7,00 ± 0,90 ^a
Impressão Global	6,87 ± 1,12 ^a	6,42 ± 1,30 ^a	6,40 ± 0,95 ^a	6,90 ± 1,04 ^a
Intenção de Compra	2,82 ± 0,72 ^a	2,65 ± 0,83 ^a	2,75 ± 0,78 ^a	2,95 ± 0,75 ^a

Os dados são expressos como média ± desvio padrão. ¹Letras iguais na mesma linha indicam que não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) utilizando o teste de Tukey.

Os resultados da avaliação sensorial mostraram que a incorporação de *Spirulina* não afetou a aceitação do produto pelos provadores. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2016) que desenvolveram um alimento em pó para idosos fortificado com *Spirulina* (750mg/100g) e observaram que a adição dessa microalga não afetou a aceitação global do produto pelos provadores, demonstrando que a incorporação das mais altas concentrações de *Spirulina* pode ser realizada sem influenciar nesse parâmetro.

Os tratamentos contendo 2%, 3% e 4% de *Spirulina* não diferiram entre si e entre o controle para os atributos de aroma, sabor, textura, impressão global e intenção de compra ($p > 0,05$). A combinação dos sabores e aromas das especiarias vegetais utilizadas no desenvolvimento dos molhos foi crucial para mascarar o sabor pouco apreciado da *Spirulina* e proporcionar um sabor peculiar, diferente dos molhos tradicionais. Verificou-se que as maiores pontuações para sabor, foram atribuídas ao molho contendo 4%, tratamento este que não apresentou diferença significativa com o controle ($p = 0,924$).

A adição da microalga nos molhos alterou a cor dos produtos, que são comumente vermelhos, para uma coloração verde escuro. Esta característica foi percebida como inadequada, visto no atributo aparência pelos provadores. Sendo assim, o molho controle obteve maiores notas ($p < 0,05$) no atributo aparência em comparação com os molhos com adição de 3% e 4% de *Spirulina*. Similarmente, Bolanho et al. (2014) verificaram que cookies enriquecidos com 5% de *Spirulina* obtiveram menor pontuação no atributo aparência, em relação ao controle.

O resultado obtido para a intenção de compra demonstrou não haver diferenças entre o molho controle e os molhos adicionados de *Spirulina*. As pontuações para este atributo indicam valores próximos de 3,0 o qual se classifica na escala hedônica como “ocasionalmente compraria”. A maior pontuação foi estabelecida para o molho adicionado de 4% (2,95), representado por 57,5% dos provadores que comprariam este molho. Morais et al. (2009) ao desenvolverem biscoitos enriquecidos com *Spirulina*, constataram que 50% e 58% dos provadores comprariam os biscoitos com 1% e 5% de *Spirulina sp.*

Por fim, o resultado da análise sensorial demonstrou que não houve diferença significativa para as propriedades organolépticas (aroma, sabor, textura) entre o controle e os tratamentos (2%, 3% e 4% de *Spirulina*), demonstrando uma aceitabilidade geral pelos provadores. Vale ressaltar que a intenção de compra foi maior para a formulação

com 4%, assim como a impressão global, que obteve maior nota para essa formulação, indicando que esses atributos não foram prejudicados pela aparência. Além disso, o tratamento com 4% foi adequado quanto as características físicas (pH, acidez, textura) ideais para garantir a qualidade final do produto. Sendo assim, o molho adicionado de 4% de *Spirulina* foi selecionado para avaliar as propriedades físico-químicas, microbiológicas e antioxidantes durante 45 dias de armazenamento sob refrigeração.

3.2 Avaliação dos molhos durante armazenamento

3.2.1 Composição físico-química

A determinação dos parâmetros de pH, acidez, umidade e atividade de água são essenciais para avaliar a segurança alimentar de um produto ao longo do tempo. A partir dos dados apresentados na Tabela 4 é possível observar que tanto o molho controle, quanto o molho com adição de *Spirulina* apresentaram um decréscimo gradual no pH durante o período de armazenamento, sendo menor decréscimo na formulação com *Spirulina*. Vale ressaltar que durante todo o período de armazenamento (0, 7, 15, 30 e 45 dias) ambos os molhos apresentaram pH inferior a 4,5, valor esse preconizado como aceitável para alimentos processados (Lund, Grahan & Franklin, 1987). Similarmente, Barkallah et al. (2017) encontraram valores de pH entre 4,04 e 4,53 para iogurte fortificado com 0,25% de *Spirulina sp*, durante 28 dias de armazenamento. Os valores de acidez titulável foram superiores no molho controle durante todos os tempos analisados (Tabela 4), diferindo do molho com *Spirulina*. Os molhos analisados apresentaram uma leve tendência de aumento da acidez ao longo do tempo. Este aumento pode indicar o início de reações hidrolíticas dos ácidos graxos que estão presentes nos produtos. Ao longo dos 45 dias de armazenamento, houve um aumento na acidez do molho controle (17,34%) e do molho com *Spirulina* (7,82%), acompanhado de reduções nos valores de pH (7,5% e 4,8% respectivamente) ($p > 0,05$), sendo essa redução menor no molho com *Spirulina*, tais resultados podem indicar uma estabilidade dos produtos durante o armazenamento a temperatura de refrigeração (4-6°C), sobretudo na formulação com *Spirulina*.

Tabela 4. Valores médios das características físico-químicas do molho controle e molho adicionado com 4% de *Spirulina* durante o armazenamento por 45 dias.

Parâmetros/ Molhos	Tempo (dias)				
	0	7	15	30	45
Ph					
Controle	3,04±0,01 ^{dA}	2,91±0,00 ^{cA}	2,87±0,01 ^{bA}	2,85±0,02 ^{bA}	2,80±0,01 ^{aA}
Molho 4%	4,32±0,01 ^{dB}	4,26±0,00 ^{cB}	4,22±0,00 ^{bB}	4,14±0,01 ^{aB}	4,12±0,01 ^{aB}
Acidez					
Controle	3,19±0,09 ^{aA}	3,72±0,01 ^{bA}	3,76±0,01 ^{bcA}	3,78±0,01 ^{bcA}	3,87±0,08 ^{cA}
Molho 4%	1,65±0,01 ^{aB}	1,70±0,02 ^{bB}	1,72±0,02 ^{bB}	1,75±0,07 ^{cB}	1,78±0,01 ^{dB}
Aw					
Controle	0,99±0,01 ^{abA}	0,99±0,01 ^{bA}	0,98±0,01 ^{aA}	0,98±0,01 ^{bA}	0,99±0,01 ^{bA}
Molho 4%	0,96±0,01 ^{aB}	0,95±0,01 ^{aB}	0,95±0,04 ^{aB}	0,95±0,01 ^{aB}	0,94±0,01 ^{aB}
Umidade %					
Controle	86,01±0,36 ^{aA}	87,63±1,12 ^{bA}	87,09±0,81 ^{abA}	86,41±0,35 ^{abA}	86,13±0,66 ^{abA}
Molho 4%	83,46±0,51 ^{bB}	83,55±0,07 ^{aB}	83,19±0,05 ^{aB}	83,33±0,18 ^{aB}	83,40±0,15 ^{aB}
Proteína %					
Controle	5,44±0,28 ^{aA}	5,07±0,41 ^{aA}	4,93±0,17 ^{aA}	4,90±0,65 ^{aA}	4,91±0,45 ^{aA}
Molho 4%	8,26±0,15 ^{aB}	8,03±0,24 ^{aB}	7,86±0,11 ^{aB}	7,77±0,15 ^{aB}	7,81±0,30 ^{aB}
Lipídios %					
Controle	2,09±0,04 ^{aA}	2,08±0,08 ^{aA}	2,00±0,07 ^{aA}	2,06±0,07 ^{aA}	2,04±0,03 ^{aA}
Molho 4%	1,95±0,05 ^{aB}	1,90±0,10 ^{aB}	2,01±0,08 ^{aB}	2,01±0,13 ^{aB}	2,00±0,09 ^{aB}
Carboidrato%					
Controle	4,44±0,03 ^{cA}	3,24±0,02 ^{aA}	3,93±0,01 ^{bA}	4,69±0,22 ^{dA}	4,90±0,03 ^{cA}
Molho 4%	5,26±0,02 ^{aA}	5,47±0,03 ^{bB}	5,91±0,04 ^{eB}	5,83±0,03 ^{dB}	5,73±0,05 ^{cB}
Cinzas %					
Controle	0,43±0,01 ^{aA}	0,42±0,02 ^{aA}	0,43±0,01 ^{aA}	0,42±0,01 ^{aA}	0,40±0,04 ^{aA}
Molho 4%	1,07±0,03 ^{aB}	1,05±0,11 ^{aB}	1,03±0,03 ^{aB}	1,06±0,04 ^{aB}	1,06±0,03 ^{aB}
Fibra bruta %					
Controle	0,60±0,01 ^{bA}	0,57±0,01 ^{abA}	0,57±0,01 ^{abA}	0,54±0,01 ^{aA}	0,54±0,01 ^{aA}
Molho 4%	1,15±0,02 ^{aB}	1,16±0,01 ^{aB}	1,14±0,02 ^{aB}	1,13±0,01 ^{aB}	1,13±0,01 ^{aB}

Aw: atividade de água. Os dados são expressos como média ± desvio padrão. ¹Letras iguais minúsculas na mesma linha indicam que não diferem estatisticamente ($p>0,05$) utilizando o teste de TuKey. Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna indicam que diferem estatisticamente ($p<0,05$) utilizando o teste de TuKey.

Os valores de umidade e atividade de água no molho com *Spirulina* foram menores que os encontrados no molho controle, o que era esperado devido ao maior conteúdo de sólidos totais provenientes da biomassa da microalga adicionada, o que aumentou o conteúdo de ingredientes secos na formulação.

Os teores de proteína, cinzas e fibras totais foram superiores no molho adicionado de *Spirulina*. Para o teor de proteínas, a adição da microalga ao molho formulado proporcionou um aumento de 34,14% em relação ao molho controle. Isso ocorreu devido à alta quantidade de proteínas presente na biomassa da *Spirulina* utilizada, que corresponde a 69% (dados não apresentados). Qualitativamente, essa microalga fornece proteínas completas, com aminoácidos essenciais presentes nas proporções recomendadas pela FAO. A incorporação de 4% de *Spirulina* no molho contribuiu para agregar valor nutricional ao produto, o que pode colaborar, sobretudo, para o alcance do aporte proteico diário. Uma porção média (60 g) do molho

enriquecido com *Spirulina* pode contribuir com 25% a 33% da ingestão indicada de proteína de acordo com as *Dietary Reference Intakes - DRIs* (15 - 20%) para um indivíduo adulto saudável. Os resultados encontrados neste estudo foram inferiores aos relatados por Morais *et al.* (2006) no desenvolvimento de biscoitos contendo 3% e 5% de biomassa de *Spirulina sp.*LEB-18, os autores reportaram teores de proteínas de 10,9% e 11,1% respectivamente. Já Figueira *et al.* (2011) utilizando a mesma microalga na proporção de 4 % encontraram valores de proteína de 9,33% para pães enriquecidos, similar ao encontrado neste estudo. As variações nos valores de proteína obtidas nos estudos podem estar relacionadas às diferentes condições geográfica/climáticas de cultivo da *Spirulina*, uma vez que a temperatura e luminosidade influenciam diretamente nas características físico-químicas da microalga (Jesus *et al.*, 2018).

O teor de cinzas no molho adicionado de *Spirulina* foi significativamente maior que no molho controle, mas sem apresentar diferenças durante o armazenamento. O tratamento contendo 4% apresentou maior teor de cinzas, possivelmente devido à quantidade de minerais essenciais, como o magnésio, ferro e cálcio naturalmente presente na biomassa desta microalga. Da mesma forma, o teor de fibras totais foi maior na formulação com *Spirulina*, em comparação com a formulação controle. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Bolanho *et al.* (2014), em que biscoitos enriquecidos com 5% *Spirulina* apresentaram teores maiores de cinzas e fibras em relação ao controle. Segundo Koru *et al.* (2012) a biomassa de *Spirulina* tem cerca de 3,0g/100g de fibras, o que possivelmente contribuiu para aumentar o teor desse nutriente no molho.. O conteúdo de carboidrato foi maior no molho com adição de *Spirulina* em relação ao molho controle, em razão possivelmente da quantidade desse componente presente na biomassa da microalga, que segundo Oliveira *et al.* (2009) é torno de 20%.

Os teores dos minerais (ferro, magnésio, cálcio e sódio) obtidos para o molho controle e molho com *Spirulina* no tempo inicial estão descritos na Tabela 5. Os macro (Ca, Mg, K, Na) e microminerais (Fe, Se) são essenciais, em diferentes quantidades, para o desenvolvimento humano. Assim, uma ingestão adequada de alimentos fontes é importante para evitar problemas de saúde relacionados a deficiências nutricionais (Barroso *et al.*, 2009). O molho com *Spirulina* apresentou valores significativamente mais altos de minerais que o molho controle. Segundo Roberto (2015), essa microalga possui elevados níveis de minerais, sendo que os principais são o cálcio (1000 a

2000mg/g de biomassa), fósforo (670 a 800mg/g de biomassa) e o magnésio (400 a 480mg/g de biomassa).

Tabela 5. Resultados obtidos na determinação de elementos minerais do molho controle e molho adicionado com 4% de *Spirulina*.

Minerais*	Molho controle	Molho 4%
Ferro	1,18 ± 0,58 ^a	4,20 ± 0,44 ^b
Magnésio	15,71 ± 2,43 ^a	35,82 ± 3,09 ^b
Cálcio	29,75 ± 1,33 ^a	51,80 ± 2,21 ^b
Sódio	169,74 ± 2,14 ^a	354,67 ± 2,56 ^b
Potássio	243,20 ± 2,51 ^a	437,94 ± 3,14 ^b

*Dados expressos em mg/100g em base úmida. Os dados são expressos como média ± desvio padrão;
¹Letras diferentes minúsculas na mesma linha indicam que diferem estatisticamente (p < 0,05) utilizando o teste de TuKey.

O potássio foi o macromineral majoritário no molho com *Spirulina*, seguido do sódio. De acordo com a *Dietary Reference Intakes* são recomendadas para indivíduos adultos saudáveis 4,7 g de potássio/dia, o que poderia ser 11% suprido com o consumo de duas porções (120g) do molho. O potássio é amplamente distribuído nos alimentos, uma vez que é um dos constituintes essenciais das células. De acordo com a Tabela de Composição dos Alimentos (TACO, 2011), verifica-se que os frutos, carnes e cereais, são boas fontes de potássio. Os resultados na Tabela 6 confirmam quantidades expressivas nos molhos analisados, sobretudo no molho com *Spirulina*.

O sódio foi o segundo mineral de maior abundância nos molhos desenvolvidos. A adição do ingrediente sal contribuiu para aumentar o conteúdo desse mineral no molho com *Spirulina*, tão como no molho controle. O sódio é o principal eletrólito extracelular com funções na condução nervosa, transporte ativo e contrações musculares (WHO / FAO, 2003). No entanto, alta ingestão desse mineral, que normalmente está associada com o consumo de alimentos processados, ocasiona efeitos deletérios à saúde (Sodré, Coutinho & Azevedo, 2015). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária dispôs de uma resolução que define alimentos com alto teor de sódio como aqueles que fornecem uma quantidade igual ou superior a 400 mg de sódio por 100 g ou 100 ml de produto (Brasil, 2012). De acordo com os resultados obtidos (Tabela 4), verifica-se que as concentrações de sódio dos molhos desenvolvidos estão dentro do recomendado, não inferindo riscos à saúde de um indivíduo saudável. Diferentemente deste estudo, Sodré et al. (2015) encontraram altos teores de sódio (400 - 600mg/100g) em 23 tipos de molhos de tomate comercializados em supermercados.

Quanto ao cálcio, é evidente que a quantidade desse mineral em frutos e hortaliças é reduzida, quando comparado a alimentos como o leite e derivados. Sendo assim, em dietas de diferentes grupos populacionais (intolerantes à lactose, veganos, idosos, celíacos), o cálcio é um dos elementos minerais mais limitantes (Krupa-Kozak & Drabińska, 2016; Puranik et al., 2017). Em relação aos valores da Tabela de Composição dos Alimentos (TACO, 2011), muitos dos frutos e hortaliças apresentam concentrações de cálcio inferior à encontrada no molho com *Spirulina*. Sendo assim, este produto se configura como uma alternativa capaz de contribuir com a diversificação e maior aporte desse elemento mineral na dieta. Um consumo alimentar com quantidade adequada de cálcio pode ajudar no controle de doenças causadas pela deficiência desse elemento, como osteopenia e osteoporose (Salinas & Puppo, 2015).

Juntamente com o cálcio, o magnésio atua em conjunto em atividades hormonais vitais ao organismo. A deficiência desses minerais pode provocar osteoporose em adultos (Hayhoe, Lentjes, Luben, Khaw & Welch, 2015). A concentração de magnésio no molho com *Spirulina* foi 2 vezes superior à do molho controle. Embora a deficiência de magnésio seja de difícil ocorrência, recomenda-se a ingestão de cerca de 320 a 420 mg por dia (DRIs, 1997), sendo assim o consumo de duas porções (120g) do molho pode contribuir com 13% do aporte diário para esse mineral. O teor de magnésio encontrado neste estudo para o molho desenvolvido com *Spirulina* foi maior que o encontrado em frutas convencionais, como polpa (7 mg/100g) e casca da manga (22,38 mg/100g) (Bohn, Walczyk, Leisibach & Hurrell, 2004).

Em relação ao ferro, o molho com *Spirulina* apresentou quantidades expressivas desse micro mineral essencial, com teores semelhante aos encontrados em alimentos como castanha (5,5 mg/100 g) e trigo (5,0 mg/100 g) (Sihag et al., 2016). As recomendações de ferro por dia segundo a *Recommended Dietary Allowances - RDA* (2001) equivalem a 8 mg para homens com idade entre 19 e 50 anos e de 18 mg para mulheres na mesma faixa etária, fora de gravidez. Dessa forma, a ingestão de 2 porções (120 g) do molho com *Spirulina* seria suficiente para atender mais da metade das recomendações diárias de adultos do sexo masculino, entretanto, para as mulheres seria necessário um consumo maior.

A anemia por deficiência de ferro (anemia ferropriva) é a forma mais comum de anemia no mundo (Camaschella, 2015). O baixo consumo de ferro e sua baixa biodisponibilidade nos alimentos que compõem a dieta são as principais causas desse tipo de anemia. De fato, o ferro derivado de produtos de origem vegetal (ferro não

heme) tem, geralmente, baixa biodisponibilidade, ao contrário do encontrado nas carnes (ferro heme) (Blanco & Vaquero, 2018). Entretanto, estudos tem demonstrado que o ferro presente na *Spirulina* é de alta biodisponibilidade e bom regenerador de hemoglobina em ratos (Kapoor & Mehta, 1993; Puyfoulhoux et al., 2001).

A adição de biomassa de *Spirulina* no molho resultou em um expressivo aumento no teor de minerais, aumentando o valor nutricional do produto, reforçando a importância da inclusão deste componente na dieta da população.

3.2.2 Identificação e quantificação de Ácidos graxos

Os ácidos graxos mais abundantes presentes nas formulações dos molhos estão apresentados na Tabela 6. O molho adicionado de biomassa de *Spirulina* revelou um perfil com 14 ácidos graxos, o C18:2 n-6 foi o ácido graxo predominante, seguido pelo C18:1 n-9; no controle, o C18:2 n-6 também foi o ácido majoritário, seguido do C16:0. É importante ressaltar, que a principal fonte de lipídios do molho controle é proveniente das frações lipídicas do óleo vegetal, o qual tem altos níveis de ácidos graxos poli-insaturados, enquanto que no molho com *Spirulina* o perfil lipídico recebeu a contribuição dos ácidos graxos desta microalga. Segundo El Baky et al (2015) a *Spirulina platensis* contém altos níveis de ácidos graxos essenciais: C18:2 n-6 (10,51%) e C18:3 n-3 (10,92%) os quais possuem importante aplicação na promoção da saúde.

Em comparação ao molho controle, a adição de *Spirulina* representou um enriquecimento da formulação devido à presença do ácido oleico – C18:1 n-9 (20,11%) e α -linolênico – C18:3 n-3 (6,40%). Sabe-se que a ingestão diária de alimentos fontes de ácido graxo ômega-3 assume grande importância na nutrição humana, no entanto, com a industrialização, ocorreu um aumento progressivo no consumo de óleos refinados com alto teor de ácido linoleico (C18:2 n-6) e uma diminuição no consumo de alimentos rico em ácido alfa linolênico (C18:3 n-3), resultando em uma inadequação na razão n-6/n-3 (Subash-Babu & Alshatwi, 2018). Sendo assim, o molho enriquecido com *Spirulina* representa uma alternativa de alimento prático que pode contribuir para aumentar a ingestão do ácido graxo n-3, e conseqüentemente proporcionar benefícios à saúde, uma vez que a adição dessa microalga proporcionou um aumento nos teores de C18:3 n-3 (6,40%).

No molho adicionado de *Spirulina*, os ácidos graxos insaturados prevaleceram sobre os saturados, com os monoinsaturados apresentando maiores porcentagens.

Barkallah et al. (2016) ao avaliaram iogurte fortificado com *Spirulina*, encontraram quantidades de ácidos graxos monoinsaturados (24,75%) semelhantes às desse estudo, no entanto, os autores descreveram maiores conteúdos de ácidos graxos saturados (70,56%), sobressaindo aos insaturados (29,19%), diferentemente dos nossos achados. Essas diferenças podem ser atribuídas às diferentes características e composições das matrizes alimentícias avaliadas.

Tabela 6. Perfil de ácidos graxos do molho controle e molho adicionado com 4% de *Spirulina* durante 45 dias de armazenamento.

Classes	Ácidos Graxo	Molhos 0 dia		Molhos 45 dias	
		Controle	4% <i>Spirulina</i>	Controle	4% <i>Spirulina</i>
SFA	C11:0	ND	0,24 ± 0,02 ^a	ND	0,21 ± 0,03 ^a
	C14:0	0,14 ± 0,04 ^a	0,14 ± 0,04 ^a	0,18 ± 0,02 ^a	0,17 ± 0,03 ^a
	C16:0	16,07 ± 0,30 ^d	12,68 ± 0,3 ^b	15,85 ± 0,30 ^c	11,73 ± 0,30 ^a
	C17:0	ND	0,10 ± 0,03 ^a	ND	0,13 ± 0,04 ^b
	C18:0	4,92 ± 0,50 ^c	3,98 ± 0,09 ^a	4,97 ± 0,30 ^c	4,05 ± 0,06 ^b
	C20:0	0,47 ± 0,03 ^c	0,35 ± 0,04 ^{ab}	0,39 ± 0,05 ^b	0,30 ± 0,50 ^a
	C22:0	0,49 ± 0,07 ^b	ND	0,47 ± 0,09 ^a	ND
	Total (%)	22,09 ± 0,18^d	17,49 ± 0,08^b	21,86 ± 0,15^c	16,59 ± 0,16^a
MUFA	C16:1c n7	ND	0,25 ± 0,02 ^a	ND	0,21 ± 0,01 ^a
	C18:1c n9	ND	20,11 ± 0,82 ^a	ND	20,13 ± 0,05 ^a
	C20:1 n9	0,21 ± 0,02 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,19 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,01 ^a
	Total (%)	0,21 ± 0,02^a	20,60 ± 0,02^b	0,19 ± 0,01^a	20,56 ± 0,02^b
PUFA	C18:2 n6	77,45 ± 0,6 ^c	54,14 ± 0,5 ^a	77,70 ± 0,3 ^d	54,77 ± 0,01 ^b
	C18:3 n6	0,20 ± 0,04 ^a	1,25 ± 0,2 ^b	0,25 ± 0,07 ^a	1,21 ± 0,02 ^b
	C18:3 n3	ND	6,40 ± 0,7 ^a	ND	6,82 ± 0,05 ^b
	C20:2 n6	ND	0,05 ± 0,01 ^a	ND	0,03 ± 0,05 ^a
	Total (%)	77,65 ± 0,32^b	61,84 ± 0,35^c	77,94 ± 0,18^a	62,83 ± 0,03^d

SFA: Ácidos Graxos Saturados; MUFA: Ácidos Graxos Monoinsaturados; PUFAS: Ácidos Graxos Poli-insaturado. Os dados são expressos como média ± desvio padrão; ND: não detectado. ¹Letras iguais minúsculas na mesma linha indicam que não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) utilizando o teste de TuKey.

Após 45 dias de armazenamento o perfil de ácidos graxos apresentou o mesmo perfil de composição que a observada no dia 0. Para o molho contendo *Spirulina*, os ácidos graxos poli-insaturados foram o grupo dominante, seguido dos ácidos graxos monoinsaturados e saturados.

Os antioxidantes naturais (compostos fenólicos, carotenoides, vitaminas etc) presentes na biomassa de *Spirulina* podem ter contribuído para a estabilidade oxidativa do molho, uma vez que esses compostos previnem a peroxidação lipídica durante o armazenamento e retardam a oxidação (El Baky et al., 2015). Embora a estabilidade oxidativa dos óleos esteja relacionada com a instauração dos seus ácidos graxos, os óleos vegetais comerciais são menos suscetíveis à rancidez oxidativa, devido

principalmente à presença de antioxidantes naturais e aditivos sintéticos (Robledo, Tesio, Ceballos, Zon & Fernández, 2014), sendo assim, a estabilidade do molho controle foi assegurada possivelmente devido à presença destes componentes presentes no óleo utilizado.

3.2.3 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

A *Spirulina platensis* é uma verdadeira fonte de compostos bioativos, que refletem no potencial antioxidante desta microalga, favorecendo o seu uso como alimento funcional (Ambrosi, Reinehr, Bertolin, Costa & Colla, 2009). A Tabela 7 apresenta o conjunto de métodos utilizados para determinação de compostos bioativos e ação antioxidante dos molhos.

O molho contendo *Spirulina* obteve maiores valores de compostos fenólicos ($p < 0,05$), além de maior capacidade de captura do radical DPPH ($p < 0,001$), redução do íon férrico ($p < 0,01$) e captura do radical ABTS ($p < 0,05$) do que o molho controle em todos os tempos analisados. O teor de compostos fenólicos foi 54% superior ao molho controle no tempo inicial, não apresentando variações após 45 dias de armazenamento, demonstrando potencial para o sequestro de radicais livres.

Os menores valores de IC_{50} foram obtidos pelo molho adicionado de *Spirulina*, sendo 90,6% menor que os resultados obtidos para o molho controle no tempo inicial, permanecendo sem alterações significativas ao longo do tempo. A alta atividade antioxidante do molho adicionado de *Spirulina* pode ser atribuída à habilidade de sequestrar radicais livres por meio da doação de hidrogênio, visto que o molho mencionado apresenta alto conteúdo de compostos fenólicos. O teor de compostos fenólicos apresentou forte correlação negativa com a capacidade antioxidante (IC_{50}), tanto para o molho controle ($r = 0,95$) quanto para o molho enriquecido com *Spirulina* ($r = 0,99$), indicando que o sequestro de radicais está correlacionado com o conteúdo de compostos fenólicos totais nos molhos analisados.

El Baky et al. (2015) encontraram valores de IC_{50} de 55,98 $\mu\text{g/g}$ no tempo 0 e 100,41 $\mu\text{g/g}$ no tempo 30 para biscoitos suplementado com 0,9% de biomassa *Spirulina platensis* e observaram que os valores de IC_{50} aumentaram ao longo do armazenamento, similarmente ao comportamento encontrado neste estudo.

Tabela 7. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante do molho controle e molho adicionado com 4% de *Spirulina* durante 45 dias de armazenamento.

Molhos	Tempo (dias)				
	0	7	15	30	45
FT					
Controle	161,73±0,66 ^{cA}	159,84±0,52 ^{bcA}	158,04±1,55 ^{abA}	157,14±0,32 ^{aA}	156,96±0,67 ^{aA}
Molho 4%	352,84±0,08 ^{cB}	350,43±0,04 ^{bB}	349,88±0,74 ^{abB}	349,40±0,58 ^{abB}	348,98±0,41 ^{aB}
DPPH					
Controle	131,92±0,03 ^{cA}	130,45±0,13 ^{bA}	129,61±0,64 ^{bA}	127,11±0,18 ^{aA}	127,48±0,54 ^{aA}
Molho 4%	11,86±0,04 ^{aB}	11,94 ±0,03 ^{abB}	12,05±0,05 ^{bB}	12,26±0,04 ^{cB}	12,89±0,10 ^{dB}
FRAP					
Controle	268,90±0,05 ^{cA}	265,29±0,05 ^{dA}	263,18±0,03 ^{cA}	261,60±0,73 ^{bA}	260,38±0,02 ^{aA}
Molho 4%	500,96±0,05 ^{dB}	502,36±0,28 ^{eB}	498,83±0,31 ^{cB}	497,27±0,07 ^{bB}	495,56±0,05 ^{aB}
ABTS⁺					
Controle	30,01±0,01 ^{cA}	29,70±0,05 ^{dA}	29,60±0,03 ^{cA}	29,30±0,03 ^{aA}	29,40±0,01 ^{bA}
Molho 4%	73,50±0,70 ^{bB}	72,63±0,03 ^{abB}	73,21±0,35 ^{abB}	72,51±0,04 ^{aB}	72,46±0,09 ^{aB}

FT: Fenólicos Totais (mgEAG.g⁻¹); EAG: Equivalente de Ácido Gálico; DPPH (IC₅₀ mg.ml⁻¹); FRAP (mMsulfato ferroso/g⁻¹); ABTS⁺ (µM trolox/g-1). Dados expressos como média ± desvio padrão. ¹Letras iguais minúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente (p>0,05) utilizando o teste de TuKey. Letras diferentes maiúsculas na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05) utilizando o teste de TuKey.

A partir dos dados apresentados na Tabela 6 é possível observar que houve uma leve redução nos compostos fenólicos e na atividade antioxidante dos molhos nos dois primeiros períodos de armazenamento, seguido de redução até o 15º dia e estabilização a partir desse período. A redução foi menor no molho adicionado de *Spirulina*, revelando a eficácia da biomassa dessa microalga na estabilização do molho durante o armazenamento. Alguns fatores associadas ao processamento e armazenamento determinados pela luz, pH, temperatura, exposição ao oxigênio e presença de enzimas oxidantes, podem influenciar os resultados analíticos, levando a uma variação da atividade antioxidante, principalmente quando é necessário proceder à maceração dos tecidos vegetais ou métodos como homogeneização (Phillips et al., 2010)

Os resultados da atividade antioxidante pelo método ABTS foram expressos como capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox. Constata-se, que assim como no teste antioxidante pelo método de captura de radicais DPPH, o molho adicionado de *Spirulina* apresentou valores estatisticamente mais elevados de capacidade antioxidante, sendo 59,3% maior que o molho controle. O coeficiente de correlação relatado entre o método ABTS e compostos fenólicos para o molho adicionado de *Spirulina* foi de 0,81 indicando que os compostos fenólicos contribuem na atividade antioxidante. Quando confrontados os valores de ABTS encontrados neste estudo para o molho com *Spirulina*, com valores obtidos de outros alimentos com potencial antioxidante, como polpa de uva (8,5 µM trolox/g) e polpa de açaí congelada (8,30 µM trolox/g) (Kuskoski,

García, Morales & Fett, 2006), pode-se considerar que o molho adicionado de *Spirulina* é um alimento de elevada ação antioxidante.

Quanto à capacidade de redução do ferro (FRAP), o molho adicionado de *Spirulina* também exibiu atividade significativamente maior que o molho controle, e exibiu valores superiores a algumas das hortaliças analisadas por Pellegrini (2003) como berinjela ($3,77 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{kg FW}^3$), alho-poró ($2,15 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{kg FW}^3$) e cenoura ($1,06 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{kg FW}^3$).

Vale ressaltar que o molho controle também apresentou ação antioxidante, possivelmente proveniente dos ingredientes (especiarias vegetais, tomate, óleo, etc) utilizados no seu desenvolvimento, as quais foram às mesmas utilizadas no molho com *Spirulina*, no entanto, os valores de atividade antioxidante foram menores no controle, que os encontrados no molho com *Spirulina*, demonstrando que a adição dessa microalga conferiu efeito significativo no incremento da capacidade antioxidante do produto.

Outros trabalhos como o descrito por Bolanho et al. (2014) observaram a mesma tendência que a encontrada neste estudo, para biscoitos enriquecidos com biomassa de *Spirulina*, os compostos fenólicos e a atividade antioxidante do produto foram superiores que o controle. Barkallah et al. (2017) também descreveram que a atividade antioxidante foi maior em iogurte suplementado com *Spirulina*, em comparação com a formulação controle.

Foi possível estabelecer uma relação direta entre o conteúdo de fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos molhos analisados. O molho adicionado de *Spirulina* apresentou os maiores teores de compostos fenólicos, proporcionalmente às maiores atividades antioxidantes, tanto utilizando os radicais DPPH e ABTS como o FRAP.

Durante os 45 dias de armazenamento, foram observadas alterações nos valores de compostos fenólicos e conseqüentemente na atividade antioxidante dos molhos, no entanto, essas alterações não implicaram no potencial antioxidante atribuída aos molhos, uma vez que o percentual de redução de compostos fenólicos ao longo do tempo foi de apenas 1,09% para o molho com *Spirulina* e de 2,94% para o molho controle, corroborando com os métodos DPPH, ABTS e FRAP que também pouco reduziram ao longo dos 45 dias.

3.5 Determinação de cor

A cor dos produtos alimentícios apresenta importante influência na aceitação do consumidor. A Figura 1 demonstra os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) das formulações de molho controle e molho adicionado de *Spirulina* de acordo com o tempo de armazenamento. As medições indicaram que a cor permaneceu estável ao longo dos 45 dias de armazenamento para os dois molhos, demonstrando que o armazenamento não alterou a cor dos produtos. No entanto, para todos os parâmetros avaliados, foram observadas diferenças significativas entre o molho controle e o molho adicionado de 4% de *Spirulina*, o que já era esperado devido a cor característica natural da *Spirulina* (verde-azul), que se sobressai sobre os demais ingredientes.

O atributo L^* (luminosidade) mostrou que o molho controle apresentaram valores superiores aos do molho adicionado de *Spirulina*, indicando que essa adição resultou na diminuição da luminosidade, causando o escurecimento do produto (Figura 1A). Os valores de a^* e b^* foram menores para o molho contendo *Spirulina* ($p < 0,001$) em todo o período de armazenamento, comparado com o controle, o que indica que a cor verde sobressai em detrimento da cor amarela (Figura 1B e C).

A *Spirulina* contém muitos pigmentos, incluindo a clorofila e a ficocianoína, responsáveis pela coloração verde-azul desta microalga (Habib, Parvin, Huntington & Hasan, 2008). Devido a esta característica o molho adicionado de *Spirulina* obteve uma expressiva coloração verde escuro (Figura 2).

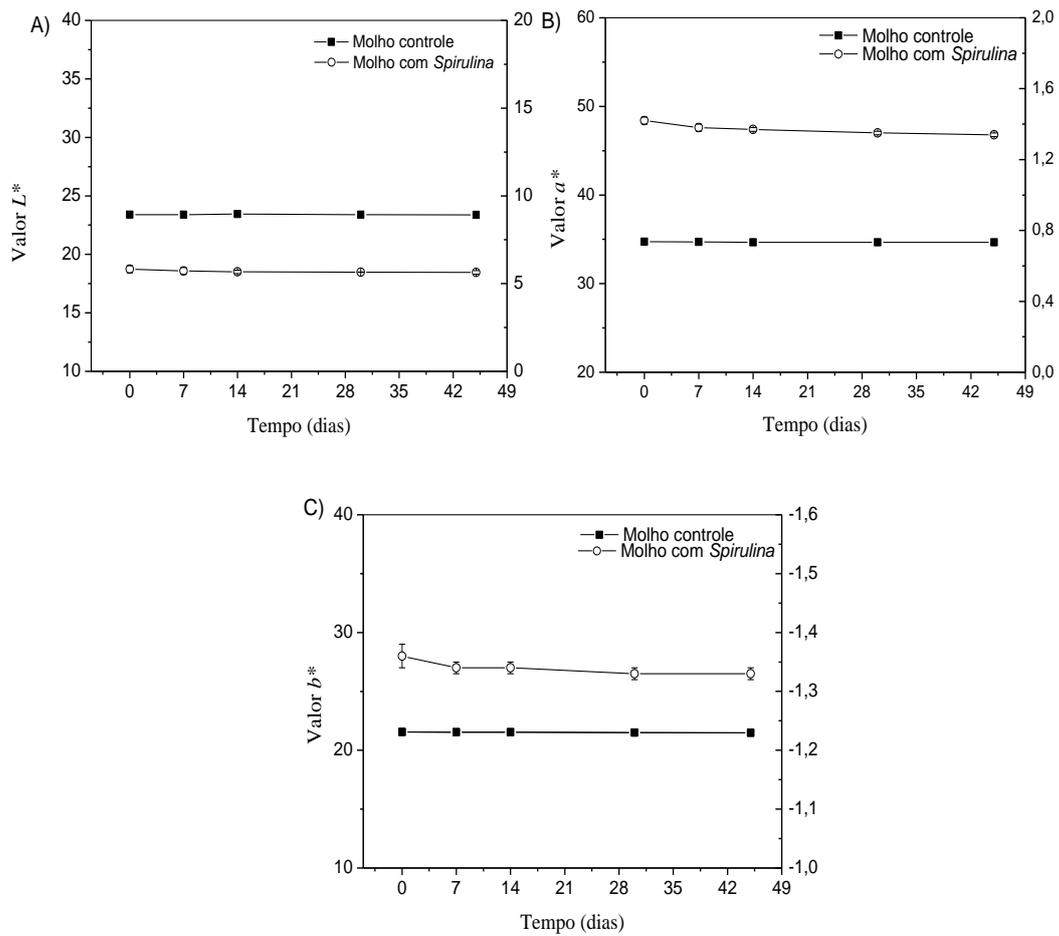


Figura 1. Variações nos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (vermelho) e b^* (amarelo) no molho controle e molho com 4% de *Spirulina*, armazenados por 45 dias (média \pm desvio padrão). Valores na coluna do lado direito referem-se ao molho controle, valores na coluna do lado esquerdo referem-se ao molho com *Spirulina*.



Figura 2. Molho adicionado de 4% de *Spirulina* e molho controle

3.6 Qualidade microbiológica

Os resultados da análise microbiológica demonstraram ausência de *Salmonella sp.*, bolores e leveduras e ausência de coliformes ($\leq 3,0 \text{ NMPg}^{-1}$ de produto) e *Staphylococcus coagulase positiva* (10^2 UFCg^{-1} de produto), no tempo inicial (0 dias) e no tempo final (após 45 dias de armazenamento). Estes resultados estão de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira, o que indica que os molhos são seguros para o consumo humano e que o armazenamento sob refrigeração a 4-6°C foi adequado para garantir a qualidade microbiológicas do produto (Brasil, 2001). De modo similar ao observado neste trabalho, Barkallah et al. (2017) detectou ausência de bolores, leveduras e Coliformes em amostras de iogurte fortificado com *Spirulina sp.* após armazenamento a 4°C por 28 dias.

4. CONCLUSÃO

Os dados relatados neste estudo indicam que o molho enriquecido com 4% de *Spirulina* é um alimento seguro e apresenta benefícios para a saúde por constituir-se com elevado teor de proteínas, fibras, minerais, ácidos graxos monoinsaturado e poli-insaturado e potencial antioxidante, demonstrando ser melhor que a formulação controle. A adição de *Spirulina* foi suficiente não só para aumentar a qualidade nutricional do produto, mas também para atribuir compostos bioativos, o que pode caracterizar o molho desenvolvido como um alimento funcional. O molho elaborado com *Spirulina* resultou em um produto inovador e sensorialmente aceito, com características que satisfazem o interesse atual do consumidor que busca alimentos saudáveis e práticos, sendo uma opção viável para melhorar o consumo alimentar da população que faz uso rotineiramente de alimentos processados e de fácil preparo.

REFERÊNCIAS

- Ambrosi, M. A., Reinehr, C. O., Bertolin, T. E., Costa, J. A. V., & Colla, L. M. (2009). Propriedades de saúde de *Spirulina spp.* *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 29(2), 109-117.
- American Public Health Association (APHA). (2001). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington: APHA. 676 p.

- AOAC. (2005). Official methods of analysis. 18th edn. Association of Official Analytical Chemists; Arlington, Virginia.
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., Ayadi, M. A., Fendri, I., Attia, H., & Abdelkafi, S. (2017). Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. *LWT-Food Science and Technology*, 84, 323-330.
- Barroso, M. F., Silva, A., Ramos, S., Oliva-Teles, M. T., Delerue-Matos, C., Sales, M. G. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2009). Flavoured versus natural waters: macromineral (Ca, Mg, K, Na) and micromineral (Fe, Cu, Zn) contents. *Food chemistry*, 116(2), 580-589.
- Bashir, S., Sharif, M. K., Butt, M. S., & Shahid, M. (2016). Functional properties and amino acid profile of *Spirulina platensis* protein isolates. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research (PJSIR) Series B: Biological Sciences*, 59, 12-19.
- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances*, 25(2), 207-210.
- Bendini, A., Vallverdú-Queralt, A., Valli, E., Palagano, R., Lamuela-Raventos, R. M., & Toschi, T. G. (2017). Italian and Spanish commercial tomato sauces for pasta dressing: study of sensory and head-space profiles by Flash Profiling and solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(10), 3261-3267.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Blanco-Rojo, R., & Vaquero, M. P. (2018). Iron bioavailability from food fortification to precision nutrition. A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-9170.
- Bolanho, B. C., Egea, M. B., Jacome, A. L. M., Campos, I., Carvalho, J. C. M., & Danesi, E. D. G. (2014). Antioxidant and nutritional potential of cookies enriched with *Spirulina platensis* and sources of fibre. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(2), 171-179.
- Bohn, T. ; Walczyk, T. ; Leisibach, S. ; & Hurrell, R. F. (2004). Chlorophyll-bound Magnesium in Commonly Consumed Vegetables and Fruits: Relevance to Magnesium Nutrition. *Journal of Food Science*, 69(9), 347-350.
- Brasil. (2012). Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Informe técnico nº. 50/2012 Teor de sódio dos alimentos processados. Disponível em < <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/856c37804d19e24d9d7aff4031a95fac/INFORME+T%C3%89CNICO+2012-+OUTUBRO.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em 14 Nov 2018.

- Brasil. (2001). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC. Nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 10 jan de 2001.
- Brasil. (2005). Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. ANVISA Aprova o Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 de setembro 2005. Seção I, p. 378.
- Brasil. (2002). Resolução RDC nº 352, de 23 de dezembro de 2002. ANVISA aprova Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Frutas e ou Hortaliças em Conserva e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Frutas e ou Hortaliças em Conserva. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 22 de dezembro de 2002.
- Camaschella, C. (2015). Iron-deficiency anemia. *New England journal of medicine*, 372(19), 1832-1843.
- Costa, J. A. V., Colla, L. M., & Duarte, F. P. F. (2004). Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. *Bioresource Technology*, 92(3), 237-241.
- DRI. Dietary Reference Intakes, 1997. In: Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorous, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington, D. C.: Academic Press, 1997. Disponível em www.nap.edu. Acesso em 15/10/2018.
- DRI. Dietary Reference Intakes, 2004. In: Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride and Sulfate. Washington, D. C.: Academic Press, 2004. 640pp. Disponível em www.nap.edu. Acesso em 15/10/2018.
- El Baky, H. H. A., El Baroty, G. S., & Ibrahim, E. A. (2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina* biomass. *Nutricion hospitalaria*, 32(1), 231-241.
- FDA. Food and Drug Administration. (2003). Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000127 CFSAN/Office of Food Additive Safety. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/ucm153944.html>>. Acessos em: 06 junho. 2018.
- Talens, C., Álvarez-Sabatel, S., Rios, Y., & Rodríguez, R. (2017). Effect of a new microwave-dried orange fibre ingredient vs. a commercial citrus fibre on texture and sensory properties of gluten-free muffins. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 44, 83-88.
- Figueira, F. D. S., Crizel, T. D., Silva, C. R., Salas-Mellado, M., & De Las, M. (2011). Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. *Brazilian Journal of Food Technology*, 14(4), 308-316.
- Fradique, M., Batista, A.P., Nunes, M.C., Gouveia, L., Bandarra, N.M., & Raymundoa, A. (2010). Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products-Part-1: preparation and evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 1656-1664.

- Sihag, M. K., Sharma, V., Goyal, A., Arora, S., & Kapila, R. (2016). In vivo assessment of iron bioavailability from fortified pearl millet based weaning food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4410-4415.
- Fukushima, D. (2004). Soy proteins. In: Yada, R. Y. *Proteins in food processing*. Chap. 6, (pp. 123-142).
- Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of *Spirulina platensis* as food humans and feeds for domestic animals and fish. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. 1034, 1-33.
- Henrikson, R. (1994). Barcelona: Ediciones S.A. Urano, Microalga *Spirulina*: Superalimento del futuro, ISBN: 84-7953-047-2.
- Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 600-609.
- Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. São Paulo: IMESP.
- Jesus, C. S., Uebel, L. S., Costa, S. S., Miranda, A. L., de Moraes, E. G., de Moraes, M. G., Costa, J. A. V., Nunes, I. L., Ferreira, E. S., & Druzian, J. I. (2018). Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina sp.* LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. *Bioresource technology*, 256, 86-94.
- Kapoor, R., & Mehta, U. (1993). Effect of supplementation of blue green alga (*Spirulina*) on outcome of pregnancy in rats. *Plant foods for human nutrition*, 43(1), 29-35.
- Koru, E. (2012). Earth food *Spirulina* (Arthrospira): production and quality standarts. In *Food additive*. InTech.
- Kurd, F., & Samavati, V. (2015). Water soluble polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction and in vitro anti-cancer activity. *International journal of biological macromolecules*, 74, 498-506.
- Kuskoski, E. M., García, A. A., Morales, M. M. T., & Fett, R. (2006). Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, 36(4), 1283-1287.
- Krupa-Kozak, U., & Drabińska, N. (2016). Calcium in gluten-free life: health-related and nutritional implications. *Foods*, 5(3), 51.
- Lee, J., Park, A., Kim, M. J., Lim, H. J., Rha, Y. A., & Kang, H. G. (2017). *Spirulina* Extract Enhanced a Protective Effect in Type 1 Diabetes by Anti-Apoptosis and Anti-ROS Production. *Nutrients*, 9(12), 1363.

- Lemes, A. C., Takeuchi, K. P., Carvalho, J. C. M. D., & Danesi, E. D. G. (2012). Fresh pasta production enriched with *Spirulina platensis* biomass. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(5), 741-750.
- Lucas, B. F., de Moraes, M. G., Santos, T. D., & Costa, J. A. V. (2018). Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. *LWT- Food Science and Technology*, 90, 270-276.
- Lund, B. M., Grahan, A. F., Franklin, J. G. (1987). The effect of acid pH on the probability of growth of proteolytic strains of *Clostridium botulinum*. *International Journal of Food Microbiology*, 4, 215-226.
- Marco, E. R., Steffolani, M. E., Martínez, C. S., & León, A. E. (2014). Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1), 102-108.
- Subash-Babu, P., & Alshatwi, A. A. (2018). Effects of increasing ratios of dietary omega-6/omega-3 fatty acids on human monocyte immunomodulation linked with atherosclerosis. *Journal of Functional Foods*, 41, 258-267.
- Melo, D. I. A., de Lima, P. K. D., Castiglioni, G. L., Monteiro, S., Batista, H., & de Souza, A. R. M. (2017). Barra de cereal enriquecida com biomassa de *Spirulina platensis*. *Agrarian*, 10(37), 278-287.
- Moraes, M. G., Miranda, M. Z., Costa, J. A. V. (2006). Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: Características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. *Alimentos e Nutrição*, 17(3), 323-328.
- Moraes, M. G., Reichert da Cruz, C., Dalcanton, F., Durante, AJ, Marins, LF, & Costa, J. A. V. (2008). Isolation and characterization of a new *Arthrospira* Sp. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(1-2), 144-150.
- Oliveira, E. G. D., Rosa, G. S. D., Moraes, M. A. D., & Pinto, L. A. D. A. (2009). Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. *Bioresource technology*, 100(3), 1297-1303.
- Oliveira, M. E. B. D., Bastos, M. D. S. R., Feitosa, T., Branco, M. A. de A. C., & Silva, M. das G. G. (1999). Physico chemical parameters evaluation of acerola, yellow mombin and cashew apple frozen pulp. *Food Science and Technology*, 19(3), 326-332.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Pereira, A. M., Lisboa, C. R., & Costa, J. A. V. (2018). High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 187-194.
- Pérez-Conesa, D., García-Alonso, J., García-Valverde, V., Iniesta, M. D., Jacob, K., Sánchez-Siles, L. M., Ros, G., & Periago, M. J. (2009). Changes in bioactive

- compounds and antioxidant activity during homogenization and thermal processing of tomato puree. *Innovative food science & emerging technologies*, 10(2), 179-188.
- Ponce-Canchihuamán, J. C., Pérez-Méndez, O., Hernández-Muñoz, R., Torres-Durán, P. V., & Juárez-Oropeza, M. A. (2010). Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids in health and disease*, 9(1), 35.
- Phillips, K. M., Tarrago-Trani, M. T., Gebhardt, S. E., Exler, J., Patterson, K. Y., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2010). Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 253-259.
- Pszczola, D. E. (2008). Sniffing out emerging ingredients. *Food Technology*, 62(7), 53-61.
- Puranik, S., Kam, J., Sahu, P. P., Yadav, R., Srivastava, R. K., Ojulong, H., & Yadav, R. (2017). Harnessing Finger Millet to Combat Calcium Deficiency in Humans: Challenges and Prospects. *Frontiers in plant science*, 8, 1311.
- Puyfoulhoux, G., Rouanet, J. M., Besançon, P., Baroux, B., Baccou, J. C., & Caporiccio, B. (2001). Iron availability from iron-fortified spirulina by an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(3), 1625-1629.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 6(9-10), 1231-1239.
- Robledo, S. N., Tesio, A. Y., Ceballos, C. D., Zon, M. A., & Fernández, H. (2014). Electrochemical ultra-micro sensors for the determination of synthetic and natural antioxidants in edible vegetable oils. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 192, 467-473.
- RDA. Recommended Dietary Allowances. (2001). In: Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, D.C.: National Academic of Sciences.
- Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2015). Optimization of the formulation of nutritional breads based on calcium carbonate and inulin. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 95-101.
- Santos, T. D., de Freitas, B. C. B., Moreira, J. B., Zanfonato, K., & Costa, J. A. V. (2016). Development of powdered food with the addition of *Spirulina* for food supplementation of the elderly population. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 216-220.
- Hayhoe, R. P., Lentjes, M. A., Luben, R. N., Khaw, K. T., & Welch, A. A. (2015). Dietary magnesium and potassium intakes and circulating magnesium are associated

- with heel bone ultrasound attenuation and osteoporotic fracture risk in the EPIC-Norfolk cohort study, 2. *The American journal of clinical nutrition*, 102(2), 376-384.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sodré, A., Coutinho, V. F., & de Azevedo, C. H. (2015). Análise do teor de sódio em molhos de tomate industrializados: um alerta para hipertensão. *Saber Científico*, 4(1), 28-33.
- Souza, J. P., Alves, R. E., de Brito, E. S., de Lucena, M. N. G., & Rufino, M. (2014). Estabilidade de molho de pequi (*Caryocar coriaceum wittm*) armazenado à temperatura ambiente. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2), 425-432.
- Taco, N. (2011). Tabela brasileira de composição de alimentos. *Revista Ampliada NEPA UNICAMP*, 161.
- Tomaselli, L. (1997). Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*, 1-16.
- Wang, F., Miao, M., Chen, B., Wang, R., Sun, B., Ren, D., & Lu, J. (2015). Antineoplastic activity of γ -linolenic acid extract from *Spirulina platensis* on HepG2 cells and its inhibition effect on platelet aggregation. *Food and agricultural immunology*, 26(1), 97-108.
- Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., & Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, 105(1), 36-41.
- Widjanarko, S.B., Nugroho, A., & Estiasih, T. (2011). Functional interaction components of protein isolates and glucomannan in food bars by FTIR and SEM studies. *African Journal of Food Science*, 5, 12-21.
- WHO/FAO. (2003). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*. Geneva: WHO Technical Report Series 916.