



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**DESENVOLVIMENTO DA MICROENCAPSULAÇÃO DA BIOMASSA
DE *Spirulina* sp. LEB-18 E SUA INCORPORAÇÃO EM
ACHOCOLATADO EM PÓ: PROPRIEDADE E POTENCIAL
FUNCIONAL**

THÂMILLA THALLINE BATISTA DE OLIVEIRA

Salvador/BA

2019

THÂMILLA THALLINE BATISTA DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DA MICROENCAPSULAÇÃO DA BIOMASSA
DE *Spirulina* sp. LEB-18 E SUA INCORPORAÇÃO EM
ACHOCOLATADO EM PÓ: PROPRIEDADE E POTENCIAL
FUNCIONAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Eliete da Silva Bispo

Co-orientador: Dr. Leonardo Fonseca Maciel

Salvador/BA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA



Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Batista de Oliveira, Thâmilla Thalline
Desenvolvimento da Microencapsulação da Biomassa de
Spirulina sp. LEB-18 e sua Incorporação em
Achocolatado em Pó: propriedades e potencial funcional
/ Thâmilla Thalline Batista de Oliveira. -- Salvador,
2019.
74 f.

Orientador: Eliete da Silva Bispo.
Coorientador: Leonardo Fonseca Maciel.
Dissertação (Mestrado - Ciência de Alimentos) --
Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal
da Bahia, 2019.

1. Achocolatado. 2. Cacau em pó. 3. Spirulina
platensis. 4. Microencapsulação. 5. Propriedades
funcionais. I. da Silva Bispo, Eliete. II. Fonseca
Maciel, Leonardo. III. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

 UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

THÂMILLA THALLINE BATISTA DE OLIVEIRA

DESENVOLVIMENTO DA MICROENCAPSULAÇÃO DA BIOMASSA DE
Spirulina sp. LEB-18 E SUA INCORPORAÇÃO EM ACHOCOLATADO
EM PÓ: PROPRIEDADE E POTENCIAL 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 31 de maio de 2019.

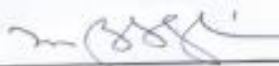
BANCA EXAMINADORA



Dr^a. Eliete da Silva Bispo
Universidade Federal da Bahia
Orientadora



Dr^a. Janice Izabel Druzian
Universidade Federal da Bahia



Dr^a. Maria Beatriz de Abreu Glória
Universidade Federal de Minas Gerais

DEDICO

Aos meus pais Gildecy e Jirreh
e ao meu irmão Ramon Caio.

EPÍGRAFE

Se você tem um sonho,
dê a ele a chance de se realizar.

(Richard M. DeVos)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por proporcionar mais uma graça na minha vida, por me conceder forças e guiar-me com a sua luz e sabedoria.

Aos meus pais, Gildecy e Jirreh por ser fonte de todo amor que possuo, pelo incentivo e pela dedicação em realizar os meus sonhos.

Aos meus familiares por todo o carinho, compreensão e atenção, em especial, a Família Batista que sempre esteve disposta a me ajudar.

Ao meu namorado Franck Júnior pelo amor, paciência e companheirismo.

A Prof^a. Dr^a. Eliete Bispo pela orientação, sabedoria e dedicação. Agradeço, ainda, pela confiança em mim depositada e pelo companheirismo, principalmente nos momentos difíceis.

Ao Dr. Leonardo Fonseca pela co-orientação e disponibilidade.

As alunas de iniciação científica, Mariana, e em especial Izabel, que contribuíram com o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos amigos de turma, que se tornaram meu braço direito durante esses dois anos Jéssica, Pedro, Roberta, em especial, Andressa e Elba. Gratidão por todos os momentos compartilhados, conhecimento adquirido, e, acima de tudo, nossa amizade.

À amizade construída durante a vivência nos laboratórios e na sala de aula, em especial, no LAPESCA: Denilson, Paulo Romano, Karina, Jamille, Tales, Bianca, Saulo, Carolina Oliveira, Ivo e Larissa Farias. Obrigada pela disponibilidade em contribuir com esse trabalho e pela cumplicidade.

Aos amigos da graduação que sempre estiveram presente Rômulo, Larissa e Amanda Galvão, auxiliando e compartilhando os conhecimentos adquiridos ao longo desses anos.

À Prof^a. Dr^a. Glêndara Martins pela amizade e profissionalismo. Um orgulho de ser humano!

As minhas amigas de infância que Amanda Feitoza, Brenda, Caroline e Taise por participarem de todas as fases da minha vida, aconselhando-me e incentivando-me em momentos que senti dificuldade em continuar.

À Ana Barbosa que contribuiu com o seu profissionalismo na reta final do mestrado.

Aos demais amigos que sempre me incentivaram, acompanharam e torceram para que essa conquista fosse realizada. Gratidão!

Ao Técnico Neilson e ao Laboratório de Farmacotécnica pelo auxílio e disponibilidade na execução desse trabalho. Agradeço também a Valdinei, pelo auxílio na execução das análises físicas.

À banca avaliadora desse trabalho, pela disponibilidade e ensinamentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado e a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia pela oportunidade do mestrado em Ciência de Alimentos.

A todos que participaram da minha trajetória no mestrado, contribuindo diretamente ou indiretamente, obrigada pelos incentivos e conhecimento repassado para a realização desse trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

O foco constante de diversas linhas de pesquisas na área de alimentos processados tem sido voltado para a busca de uma alimentação mais saudável. Muitos estudos têm sido realizados para identificar alimentos naturais que possuam em sua composição substâncias com características funcionais. Dentre essas, os compostos fenólicos destacam-se devido aos inúmeros efeitos benéficos que propiciam à saúde. Uma fonte popularmente conhecida de compostos fenólicos é o cacau, e mais recentemente a *Spirulina* sp. LEB-18, que além dos compostos fenólicos é rica em proteínas, vitaminas do complexo B, minerais, antioxidantes, β -caroteno, vitamina E e ácidos graxos poli-insaturados. Porém, no processo industrial, pode haver perdas nutricionais e de compostos bioativos. Sendo assim, utilizar a secagem por atomização é uma alternativa para conservar os compostos termossensíveis da *Spirulina* sp. LEB-18. O objetivo desse estudo é a microencapsulação da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 e incorporá-la em achocolatado, tornando um produto com benefício à saúde. A *Spirulina* sp. LEB-18 foi microencapsulada com maltodextrina e lecitina de soja, e foram desenvolvidas três formulações de achocolatado em pó com diferentes concentrações da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (FControle: 0%; F1: 5,0%; F2: 8,75%). A caracterização da *Spirulina* sp. LEB-18, do microencapsulado e das formulações foram realizadas por análises químicas, físicas, físico-químicas e aceitação sensorial. A *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada pode ser utilizada para melhorar as propriedades físico-químicas em achocolatados, apresentando um aumento no teor proteico, umidade variando de 4,02 a 4,21% e reduzindo os teores de lipídeos totais. Além disso, não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para carboidratos e cinzas dos achocolatados. Quanto à caracterização física, todas as amostras analisadas apresentaram boa estabilidade de suspensão devido à repulsão das partículas e baixa higroscopicidade (<10%). Houve um aumento da solubilidade e redução da sedimentação entre as formulações de achocolatado. Constatou-se também um incremento dos compostos fenólicos de 39% nas formulações de achocolatado contendo *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada. O conteúdo de DPPH apresentou variações de 0.488 a 0.909 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para a F1 e *Spirulina* sp. LEB-18. Sensorialmente, os consumidores alegaram que estão começando a aceitar a incorporação de novos componentes na elaboração de produtos funcionais. A principal desvantagem da *Spirulina* sp. LEB-18 como alimento é que ela tem odor e sabor que desagradam os consumidores, porém, os resultados mostraram que o

microencapsulamento da biomassa de *Spirulina* LEB-18 incorporada ao cacau em pó pode mascarar o sabor e odor da microalga, com a vantagem adicional de potencializar a qualidade nutricional e funcional do achocolatado, podendo ser consumido pelo público que procura por novos alimentos com alegação de propriedades funcionais.

Palavras-chave: Achocolatado; Cacau em pó; *Spirulina platensis*; Microencapsulação; Propriedades funcionais.

ABSTRACT

The focus of several lines of research in the area of processed foods has been directed towards the search for a healthier diet. Many studies have been carried out with the objective of identifying natural foods that have in their composition substances with functional characteristics. Among these substances, the phenolic compounds stand out among the scientific community due to the numerous beneficial effects that promote health. A popularly known source of phenolic compounds is cocoa, and more recently *Spirulina* sp. LEB-18, which in addition to phenolic compounds is rich in proteins, B-complex vitamins, minerals, high quality proteins, antioxidants, β -carotene, vitamin E and polyunsaturated fatty acids. However, in the industrial process, there may be nutritional losses of bioactive compounds. Therefore, using spray drying is an alternative to conserve the thermosensitive compounds of *Spirulina* sp. LEB-18. The objective is a microencapsulation study of *Spirulina* sp. LEB-18 and to incorporate into the chocolate, becoming a product with the health benefit. *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated was with maltodextrin and soy lecithin, and three formulations of powdered chocolate with different concentrations of *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated (Control: 0%, F1: 5,0%, F2: 8,75%). The characterization of *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated and formulations were performed by chemical, physical, physicochemical and sensorial acceptance analyses. *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated can be used to improve physico-chemical properties in chocolate, presenting an increase in protein content, humidity ranging from 4,02 to 4,21% and reducing total lipid contents. In addition, no significant differences were observed for carbohydrates and ashes of chocolates. Regarding the physical characterization, all samples analyzed presented good suspension stability due to repulsion of the particles and low hygroscopicity (<10%). There was an increase in solubility and reduction of sedimentation between the chocolate formulations. Regarding the chemical analyses, there was an increase of the phenolic compounds increasing up to 39% in the formulations of chocolate with addition of *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated. The content of DPPH presented variations from 0,488 to 0,909 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ for F1 and *Spirulina* sp. LEB-18. Sensory, consumers have argued that they are beginning to accept the incorporation of components into the development of new functional products. The main disadvantage of *Spirulina* sp. LEB-18 is that it has odor and taste that displeases consumers, however, the results showed that the microencapsulation of the *Spirulina* LEB-18 biomass incorporated into the cocoa powder masks the taste and odor of the microalga, with

the added advantage of increasing the nutritional and functional quality of the chocolate, and can be consumed by the public that looks for new foods with a claim of functional properties.

Key word: Chocolate milk; Cocoa powder; *Spirulina platensis*; Microencapsulation; Functional properties.

LISTA DE SIGLAS

ANVISA - Agência de Vigilância Sanitária do Brasil

CEPLAC - Comissão Executiva do Plano Cacaueira

FDA - Food and Drug Administration

ICCO - International Cocoa Organization

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

PDI - Índice de polidispersividade

PZ – Potencial Zeta

TG - Curvas termogravimétricas

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: Fruto do cacau em perfeito estado de maturação.	17
Figura 2: Fluxograma do processo industrial do cacau em pó	20
Figura 3: Biomassa da <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 em pó.	25
Figura 4: Tipos de cápsulas da microencapsulação.	28
Figura 5: Esquema representativo da secagem por <i>spray drying</i>	29
Figura 6: Lecitina de soja em pó.	31

CAPÍTULO II

Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 em pó (A), <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 <i>platensis</i> microencapsulada com maltodextrina e lecitina de soja (B), Formulação Controle (C), Achocolatado com adição de 5,0% da <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada (D), e de Achocolatado com adição de 8,75% da <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada (E).....	62
Figura 2: Curvas TG das amostras de <i>Spirulina</i> sp. LEB-18, <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada (S1) e formulações (Fcontrole e F1 e F2 incorporadas com <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada (A), e respectivas dTG (B).....	64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Produtos desenvolvidos com adição da *Spirulina platensis*.....26

CAPÍTULO II

Tabela 1: Matérias primas utilizadas nas formulações dos achocolatados.....53

Tabela 2: Valores médios obtidos nas determinações físicas, químicas e físico-químicas de *Spirulina* sp. LEB-18, *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada e formulações (controle e incorporada com *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada).....58

Tabela 3: Teores médios \pm desvios padrão das amins bioativas e aminoácidos livres das formulações de achocolatado controle e incorporadas com *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada66

Tabela 4: Valores atribuídos pelos provadores a cada atributo para as diferentes formulações de achocolatado67

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	VII
LISTA DE SIGLAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XI
INTRODUÇÃO.....	13
OBJETIVOS	15
Objetivo geral	15
Objetivos específicos.....	15
CAPÍTULO I.....	16
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
1.1 Cacau (<i>Theobroma cocoa</i> L.).....	17
1.1.1 Cacau em pó	21
1.1.2 Achocolatado	22
1.2 <i>Spirulina</i> sp. LEB-18.....	24
1.3 Microencapsulação	27
1.3.1 Agentes encapsulantes.....	29
1.3.2 Lecitina de soja.....	30
1.3.3 Maltodextrina	31
1.4 Alimentos funcionais.....	32
1.4.1 Compostos bioativos	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO II.....	47
Resumo	48
Abstract.....	49
1. Introdução.....	49
2. Material e Métodos.....	52

2.1 Obtenção da matéria-prima	52
2.2 Microencapsulação da <i>Spirulina</i> sp. LEB-18	52
2.3 Formulações dos achocolatados adicionados de <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada	52
2.4 Caracterização das microcápsulas de <i>Spirulina</i> sp. LEB-18 e dos achocolatados	53
2.5 Identificação e quantificação de compostos bioativos	54
2.6 Atividade antioxidante.....	55
2.6.1 Método DPPH	55
2.6.2 Método FRAP.....	55
2.7 Compostos fenólicos totais.....	55
2.8 Quantificação de aminoácidos e aminos bioativas	56
2.8.1 Aminos bioativas	56
2.8.2 Aminoácidos.....	56
2.9 Análise Sensorial	57
2.10 Análise Estatística	57
3. Resultados e Discussão.....	57
3.1 Caracterização físico-química e química.....	57
4. Considerações Finais	68
Referências Bibliográficas.....	69

INTRODUÇÃO

A alimentação saudável é importante para o crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde, visto que, uma boa alimentação tem um papel fundamental na prevenção e no tratamento de doenças (ANDREOLI e FOLLADOR, 2016). A transição nutricional pela qual a sociedade tem passado é caracterizada por uma dieta extremamente calórica, rica em açúcares e gorduras, e insatisfatória quanto ao aporte nutricional, revelando as consequências de uma alimentação sem qualidade. Sendo assim, os alimentos enriquecidos com ingredientes que possam aumentar o efeito benéfico para a saúde de quem os consomem com regularidade, para além do valor nutricional original, são benéficos para a saúde do homem e considerados alimentos funcionais (PLAZA, CIFUENTES, IBÁÑEZ, 2008). Aliado a essa perspectiva, a indústria alimentícia vem cada vez mais investindo na pesquisa, desenvolvimento e marketing de novos produtos com alegações funcionais (ANJO, 2004).

Segundo as legislações nacionais e internacionais (BRASIL, 2005; FOOD ENGLAND, 2003) o achocolatado é obtido pela mistura de cacau em pó solúvel, açúcar refinado, extrato de malte e/ou maltodextrina, podendo conter sal, leite em pó e/ou soro de leite, vitaminas e minerais, além de outras substâncias alimentícias aprovadas que caracterizem o produto, as quais devem ser mencionadas na rotulagem. O mercado de achocolatados segue a tendência do mercado alimentício com relação à fortificação e o apelo funcional (SANTOS, 1992; EDUARDO e LANNES, 2004). Neste âmbito, desenvolver novos produtos incorporando microalga, é uma opção inovadora para a indústria alimentícia, visto que pode ser utilizada em uma diversidade de produtos alimentares. Extratos em pó de cacau ricos em flavonoides e também de *Spirulina platensis* já estão comercialmente disponíveis no mercado, sendo possível também a formulação de um achocolatado contendo *Spirulina platensis* sp. LEB-18 para uso como alimento seja como bebida ou para usos diversos como em bolos, biscoitos, entre outros. Além de proporcionar um grande prazer sensorial, o pó de cacau possui excelentes características como alimento.

A *Spirulina* sp. LEB-18 é uma microalga que tem sido estudada e comercializada por conter elevados percentuais de proteínas (60-70%); vitaminas (pró-vitamina A, vitamina C e vitamina E); minerais, tais como ferro, cálcio, cromo, cobre, magnésio, manganês, fósforo, potássio, sódio e zinco; ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos antioxidantes como a

ficocianina, clorofila e carotenoides (SHALABY; SHANAB, 2013; DE JESUS et al., 2018; ANDRADE et al., 2019). É permitida como suplemento alimentar pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela Agência de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) para uso como ingrediente funcional, indicando-se o consumo de até 1,6 g por pessoa por dia (VON DER WEID et al., 2000; BRASIL, 1999).

Porém, dependendo do processo industrial ao qual a *Spirulina* sp. LEB-18 for submetida, pode-se haver perdas nutricionais e de compostos bioativos, sem contar que a biomassa possui um sabor e *flavor* intenso que normalmente comprometeria a aceitação do pelo produto consumidor. Sendo assim, a secagem por atomização é uma das técnicas mais utilizadas para processos que envolvem microencapsulação de ingredientes (SILVA et al., 2014), uma vez que pode ser utilizada para secagem de componentes termosensíveis (MISHRA et al., 2014) devido ao breve intervalo de tempo em que a matriz a ser encapsulada fica em contato ao calor (SARALA et al., 2012), além de atuar como uma barreira das condições adversas do ambiente (SANCHEZ et al., 2016).

Santos et al. (2016) desenvolveram uma bebida tipo *shaker* contendo *Spirulina platensis* para incrementar a alimentação de idosos, obtendo um aumento do teor proteico em sua composição e uma boa aceitação pelos provadores. Uma barra de cereal enriquecida com *Spirulina platensis*, também foi desenvolvida e apresentou características nutricionais e sensoriais apropriadas, com aumento no teor proteico e aceitação entre os consumidores quanto ao sabor do produto (DE MELO DAMASCENO et al., 2017).

Apesar do potencial de composição nutricional, a desvantagem da *Spirulina* sp. LEB-18 como alimento esta relacionada com odor e sabor que a maioria dos consumidores acham desagradáveis. Nesse contexto, é de grande importância avaliar o efeito da administração conjunta do cacau em pó e *Spirulina* sp. LEB-18 em um achocolatado em pó, que podem fortificar consideravelmente o produto, contribuindo para a saúde do consumidor. Este produto pode apresentar um mérito particular, na medida em que a microencapsulação pode reduzir o *flavor* característico da microalga, somado ao fato de que o cacau também pode mascarar o sabor e odor da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Desenvolver um processo de microencapsulação de biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 e incorporá-la ao achocolatado tornando-o um produto com propriedades de alegação funcional.

Objetivos específicos

- Microencapsular biomassa da *Spirulina* sp. LEB-18 por *Spray Drying*;
- Caracterizar a *Spirulina* sp. LEB-18 e as microcápsulas obtidas através de análises físicas, químicas, físico-químicas, da atividade antioxidante e de compostos fenólicos;
- Formular achocolatados com adição de diferentes teores de *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada;
- Caracterizar o achocolatado incorporado com microcápsulas através de análises físicas, físico-químicas, da atividade antioxidante, de compostos fenólicos, bioativos, aminoácidos e amins bioativas;
- Avaliar as características sensoriais e de aceitabilidade dos achocolatados.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Cacau (*Theobroma cocoa* L.)

O cacauero é uma planta nativa originária do continente Sul Americano, provavelmente das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (ELWERS et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2014; FERRÃO-GONZALES et al., 2013), faz parte da família *Malvaceae* gênero *Theobroma*, espécie *Theobroma cocoa* L., única utilizada comercialmente para a produção de chocolate. Suas plantações têm grande valor ecológico, protegem o solo dos efeitos das chuvas, da erosão e da lixiviação e representam a floresta original sem dispersar o ambiente ecológico existente, preservando a heterogeneidade e com ela o microclima e a vida das espécies vegetais e animais das áreas cultivadas (VERÍSSIMO, 2012; KREIBICH, 2016). O interesse no seu cultivo está no aproveitamento das sementes para produção de derivados de cacau (CRUZ, 2012).

A cadeia produtiva do cacau ascendeu ao longo dos séculos XVIII a XX no Brasil, motivada principalmente pelo crescimento de sua produção primária no período, catalisada pela boa adaptação da cultura em regiões do Nordeste brasileiro (LEITER; HARDING, 2004).

O fruto (Figura 1) é composto por casca, polpa e sementes, sendo que cada fruto contém entre 20 e 50 sementes e a casca representa 75% do total (OETTERER, 2006; AFOAKWA, 2010). Além disso, cada semente possui quantidade considerável de gordura (40-50% de manteiga de cacau) e polifenóis, que representam cerca de 10% do peso seco do grão inteiro (D'EL-REI; MEDEIROS, 2011). O cacau dispõe de uma composição química única, com cerca de 500 compostos, dentre os quais merecem destaque as metilxantinas, classificadas como alcaloides purínicos, consideradas substâncias estimulantes, e as encontradas no cacau são teobromina, em maior concentração, seguida da cafeína (KREIBICH, 2016).

Figura 1: Fruto do cacau em perfeito estado de maturação.



Fonte: Própria Autoria (2018).

O cultivo de cacau no Brasil principalmente na Bahia, é visto como marca registrada em sistema Cabruca, que é um modelo sustentável de agricultura tropical, que se baseia na substituição de estratos florestais por uma cultura de interesse econômico, implantada no sub-bosque de forma descontínua, mantendo a vegetação natural. O termo cacau-cabruca é empregado para caracterizar o plantio de cacau utilizado pelos colonizadores da região Sudeste da Bahia, que implantaram a cacaicultura na mata primária, promovendo um convívio harmônico e duradouro com a natureza. O sistema Cabruca é altamente eficiente, e se caracteriza como um modelo de conservação, a saber: conservação de fragmentos da floresta tropical primária, exemplares arbóreos de grande valor agrônômico, florestal e ecológico, fauna diversificada e tecnicamente pouco conhecida e conservação dos recursos hídricos regionais. Além disso, o sistema gera recursos financeiros e contribui com a permanência do homem no meio rural (LOBÃO et al., 1997).

A espécie *Theobroma Cacao* L. se apresenta em três grupos: Criollo, Forastero e Trinitário. O *Theobroma Cacao* L. cresce entre trópicos de Câncer e Capricórnio, com variedades originárias de áreas florestais da América do Sul. O Forastero, ou cacau básico, é cultivado principalmente no Brasil e na África Ocidental, enquanto o cacau Trinitário é um híbrido de Criollo e Forastero cultivado nas Américas Central e do Sul, sendo mais resistente a doenças. Já o cacau nacional é cultivado no Equador, e é caracterizado pelo sabor mais agradável (AFOAKWA e PATERSON, 2010).

O cacau do grupo Criollo apresenta sementes brancas, ou róseas clara, e frutos com casca vermelha, ou verde quando imaturos; o grupo Forastero possui sementes intensamente pigmentadas e frutos verdes, quando novos; o Trinitário apresenta estrutura mais plana e coloração roxa (PIRES, 2003). Devido ao surgimento de doenças, a exemplo da vassoura-bruxa, foram introduzidas espécies híbridas, as quais além da resistência à doenças apresentam perfis químicos e sensoriais diferenciados dos cultivares de origem (ALEXANDRE et al., 2015; NIEMENAK et al., 2006; OFORI et al., 2016).

De acordo com dados da ICCO (*International Cocoa Organization*), a produção mundial de cacau prevista em 2017/18 foi de 4,7 milhões de toneladas, sendo que dessa produção 75,8% estavam localizadas no continente africano, 16,1% no continente americano e 8,1% no continente asiático e Oceania. A Costa do Marfim é o principal país produtor, seguida por Gana, Indonésia, Equador, Camarões, Nigéria, Brasil, e Papua Nova Guiné (ICCO, 2018). O Brasil, até a chegada da vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) em

1989, era o segundo maior produtor de cacau do mundo caindo para a sexta posição depois do aparecimento desta doença (MARTINI, 2004; LOPES et al., 2011).

O beneficiamento do cacau ocorre diante três principais etapas: a fermentação, a secagem e a torrefação (Figura 2). O investimento em tecnologia adaptada às condições do Brasil, também, é um fator que diferencia o cacau cultivado no país. A Comissão Executiva do Plano Cacaueira (CEPLAC) com o apoio dos agricultores desenvolveram métodos, equipamentos, instalações de beneficiamento e controle específico de temperatura que promoveram avanços no processo de fermentação e secagem, conseqüentemente, na obtenção de amêndoas de qualidade. Também, a combinação do melhoramento no processo pós-colheita com a utilização de novas variedades de cacau, fez surgir aromas e sabores especiais antes desconhecidos no mercado de cacau no Brasil e no Mundo. Com isso, o Brasil foi reconhecido como produtor de cacau fino pelo *Salon du Chocolat* de Paris, recebendo o prêmio internacional de cacau, por apresentar aroma com notas de alcaçuz, frutas secas e especiarias (SANTOS; SANTOS; SANTOS, 2016).

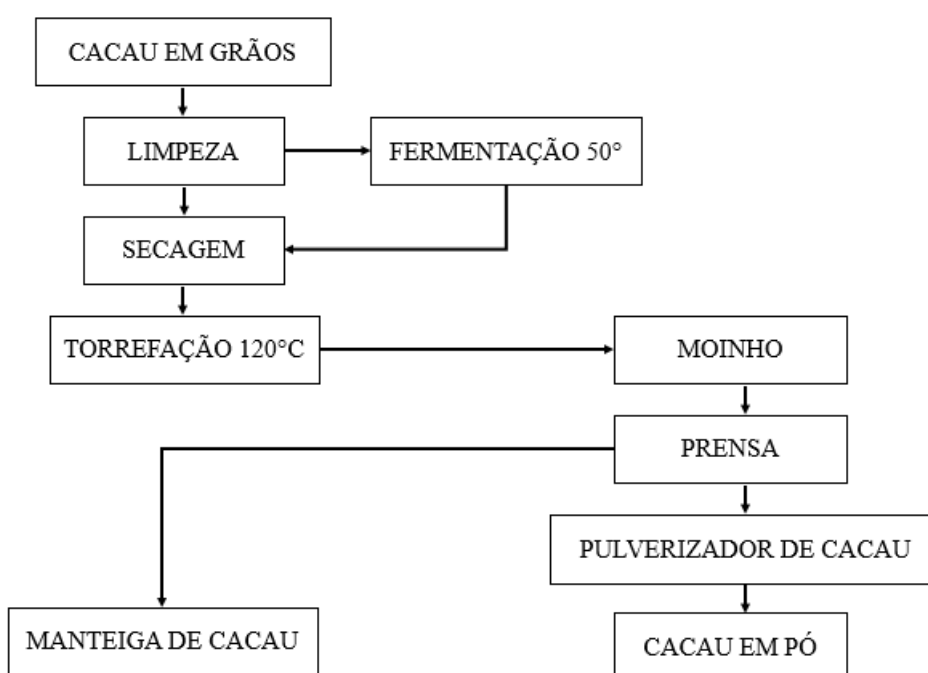
No primeiro dia de fermentação, a polpa aderente se liquefaz e drena, e depois disso constantes aumentos de temperatura. Durante a fermentação, a atividade microbiana na polpa de cacau gera calor e produz etanol, ácidos acético e lático, o que impede a germinação do grão, além de inativação de enzimas e compartimentação de substratos. Ainda, a amêndoa fica exposta a numerosas fontes de microrganismos no ambiente. O efeito imediato desta exposição é o início do ataque microbiológico a polpa ácida rica em açúcar. Nos estágios iniciais, o processo de fermentação ocorre na fase hidrolítica anaeróbica (AFOAKWA e PATERSON, 2010).

As leveduras geram rapidamente uma fermentação alcoólica, e os açúcares na polpa são convertidos em álcool e dióxido de carbono. O ácido cítrico é utilizado no metabolismo das leveduras, o que causa uma elevação no pH da polpa. As leveduras dominam entre 24 e 36 horas do processo de fermentação (AFOAKWA e PATERSON, 2010).

As enzimas liberadas pelas leveduras atacam os constituintes da pectina das paredes celulares da massa da polpa. A liberação subsequente do conteúdo da célula fluida é eliminada da polpa fermentada, o que é chamado de "suor". Exemplos de leveduras isoladas durante a fermentação do cacau incluem: *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces exiguus*, *Candida castelli*, *Cândida saitoana*, *Cândida*

guilliermondii, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia farinosa* e *Torulopsis spp.* As condições da fermentação como a taxa de difusão de ácidos orgânicos para os cotilédones, duração do pH ótimo e o pH final são cruciais para a formação ideal de sabores. Assim, amêndoas com pH entre 5,5 e 5,8 são consideradas não fermentadas, enquanto aquelas com pH mais baixo (4,75–5,19) são consideradas bem fermentadas. Além disso, amêndoas imaturas e não fermentadas desenvolvem pouco sabor de chocolate quando torradas, e a fermentação excessiva produz sabores de putrefação (AFOAKWA e PATERSON, 2010).

Figura 2: Fluxograma do processo industrial do cacau em pó



Fonte: Própria Autoria (2019).

Se por um lado, os compostos fenólicos têm sido estudados há várias décadas devido à influência negativa que exercem no sabor, conferindo o amargor e a adstringência verificados em produtos com elevados teores desses compostos (FORSYTH; QUESNEL, 1957; ROAHN; CONNELL, 1964; CROSS, VILLENEUVE; VINCENT, 1982; BRITO, 2000; SOARES, 2001), por outro lado, descobertas mais recentes sobre seus efeitos benéficos à saúde humana têm provocado interesse em mantê-los durante o processamento dos produtos obtidos do cacau, sem prejuízo do sabor (KEALEY et al., 1998; KEALEY et al., 2005; EFRAIM, 2004; RIZO, 2006).

A fermentação das amêndoas, define a cor do produto final, e libera a teobromina (substância estimulante). Após a fermentação, as amêndoas passam pelo processo de secagem, onde o teor de umidade é reduzido de, aproximadamente, 50% para 6%. Na sequência, ocorre a torrefação, responsável por reduzir os ácidos voláteis indesejáveis (como o acético), inativar enzimas responsáveis pela degradação da manteiga de cacau, e desenvolver cor e aroma característicos de chocolate (MARTINS, 2007). Após, se dá a remoção da casca, para então as amêndoas serem moídas formando a massa de cacau que possui, aproximadamente, 54% de gordura (LANNES, 1997). Para a extração do cacau em pó natural (NOGUEIRA, 2015).

1.1.1 Cacau em pó

O cacau em pó é obtido da prensagem hidráulica da massa de cacau, designada torta, que é moída e resfriada a temperatura equilibrada, podendo ainda ter de 10 a 20% de manteiga de cacau (NOGUEIRA, 2015; BIEHL e MEURSING, 1993). O cacau em pó natural possui pH que pode variar de 5,0–5,9; umidade máxima 5%; teor lipídeos totais 10-12%; cinzas máxima 8%; casca máxima 1,75% e granulometria no mínimo 97,5% passante em peneira de 200 mesh (VISSOTTO, et al., 2006).

O cacau em pó natural, normalmente apresenta baixa dispersibilidade em líquidos devido ao alto teor de gordura, à elevada quantidade de polissacarídeos hidrofóbicos e a sua estrutura capilar característica, que aprisiona bolhas de ar (OMOBUWAJO; BUSARI; OSEMWEGIE, 2000). Por essas razões, o cacau é sem dúvida o componente mais crítico e o responsável por atribuir baixa solubilidade às bebidas em pó, como achocolatados, capuccinos, shakes, entre outros produtos (VISSOTTO, 2006).

Visando melhorar a dispersão do cacau em pó faz-se o processo de alcalinização. A alcalinização e a torrefação são os processos que mais contribuem para o *flavor* e cor dos produtos semi acabados resultantes (licor de cacau ou pasta de cacau, semente de cacau e cacau em pó), exceto a manteiga de cacau (HII et al., 2009; REDOVNIKOVIC et al., 2009).

O tratamento de alcalinização, também conhecido como *dutching*, é um processo que escurece a substância da semente de cacau e altera o seu sabor por redução da sua acidez. O processo de alcalinização envolve vários agentes, o mais comum é o carbonato de sódio

dissolvido em água diretamente no cacau em pó, na pasta ou nas sementes de cacau, deixando a mistura reagir (MILLER et al., 2008). No processo de torrefação, as sementes de cacau no estado natural (cru), ou já com o tratamento de alcalinização, são torradas a elevadas temperaturas (120°C a 150°C) para o desenvolvimento do aroma e o *flavor* resultando o chocolate pretendido (ROHAN, 1964). O tempo, a temperatura e a concentração do alcalino são variáveis que podem afetar o produto final principalmente no que diz respeito ao seu conteúdo em polifenóis (BRITO et al., 2000; HII et al., 2009; WOLLGAST e ANKLAM, 2000).

Diversos tipos de pós de cacau alcalinizados são utilizados em vários produtos tais como achocolatados, "mousses", pós para preparo de pudins, bolos, coberturas, pós para sorvetes e biscoitos, dentre outros, tornando-os mais atrativos e com sabor mais agradável, além de oferecer opções para reduzir o uso de corantes sintéticos (KATTENBERG, 1995; TERINK e BRANDON, 1984).

1.1.2 Achocolatado

Os achocolatados são alimentos consumidos por pessoas de todas as idades e podem ser encontrados em todo o mundo. As suas características sensoriais e nutricionais, assim como sua conveniência e praticidade, fazem com que o produto seja bem aceito pelo consumidor (EDUARDO e LANNES, 2004). Na sua apresentação mais simples, o achocolatado contém cerca de 70% de sacarose ou de outros açúcares e cerca de 30% de cacau em pó (VARNAM, SUTHERLAND, 1997).

Existem no mercado diversas formulações de achocolatado (como os: *diet*, *light* e saborizados), sendo a maioria destinada a crianças e adolescentes. Contudo a aceitação dos achocolatados não se restringe somente a esse público. Logo, os achocolatados podem ser usados como veículo para a complementação alimentar de pessoas com carências nutricionais (MEDEIROS, 2006).

Os consumidores vêm mostrando cada vez mais preocupação em relação à sua alimentação. Pesquisas demonstram a importância da diminuição da ingestão de lipídios e açúcares e do aumento da ingestão de proteínas e carboidratos complexos (CÂNDIDO;

CAMPOS, 1996), bem como alertam quanto ao consumo indiscriminado de produtos contendo alcaloides, como por exemplo a teobromina. Ela está presente, em sua maior parte, nos chocolates e derivados (achocolatados, bebidas achocolatadas, biscoitos de chocolate, entre outros) e sabe-se que esta, similarmente à cafeína e outros alcaloides, atua como estimulante do sistema nervoso central e do músculo cardíaco. O seu consumo moderado pode melhorar o desempenho no trabalho e nos estudos, mas a alta ingestão pode causar irritabilidade, insônia e distúrbios gastrointestinais. Por um outro lado, existe uma especulação de que dieta rica em polifenóis (presentes no cacau) poderia proteger o sistema cardiovascular devido à ação antioxidante direta ou devido à ação antitrombótica (REIN et al., 2000; YING et al., 2001; NINFALI et al., 2002).

A importância dos alimentos em pó deve-se à sua versatilidade no manuseio, armazenamento, processo de fabricação, estabilidade química e microbiológica, entre outras (VISSOTTO et al., 2006). Os alimentos em pó apresentam diferentes propriedades físicas (tamanho e distribuição das partículas, densidade aparente e de partículas, porosidade, solubilidade, molhabilidade, dispersibilidade, entre outras), sendo que a medida e a caracterização destas propriedades ajudam a definir o produto, os parâmetros do processo de produção e os fenômenos que influenciam no seu comportamento (TEUNOU; FITZPATRICK; SYNOTT, 1999).

Devido ao grande número de produtos de cacau disponíveis no mercado e ao crescimento de seu consumo, há um crescente investimento na melhoria de bebidas de cacau, destinado à mudança de seus constituintes (BENKOVIC et al., 2013). Os achocolatados representam um mercado que apresenta um crescimento de cerca de 15% ao ano e que movimentam aproximadamente 700 milhões de reais por ano, diversas empresas optaram por investir no setor, aumentando assim a concorrência e a diversificação do produto, já que as diversas marcas apresentam variações em suas propriedades nutricionais (FONTES et al., 2008).

1.2 *Spirulina* sp. LEB-18

A *Spirulina* sp. é encontrada, geralmente, em lagoas tropicais e subtropicais na África e nas Américas Central e do Sul. A *Spirulina* sp. LEB-18 têm como locais de habitação as águas tropicais e subtropicais caracterizadas por elevados níveis de carbonato e bicarbonato, sendo encontrada nos mais diferentes ambientes como águas salobras, mar, piscinas de maré, lagoas salinas, águas subárticas, lagoas tropicais, e fontes de águas termais. Ainda, estes organismos são capazes de adaptar-se a condições ambientais extremas (GADELHA, 2013; RODRIGUES, 2017).

No Brasil, a produção da microalga em nível experimental tem se tornado frequente devido à necessidade de pesquisas visando o desenvolvimento e o aperfeiçoamento dos sistemas de produção (MUÑOZ & GUIEYSSE, 2006). A produção da microalga *Spirulina* sp. LEB-18/FURG, teve o seu cultivo inicial na Planta Piloto localizada as margens da Lagoa Mangueira (33° 30' 13'' S e 53° 08' 59'' W) em Santa Vitória do Palmar, RS. A unidade consiste de 3 tanques abertos tipo *raceway* de 10.000L e 1 tanque aberto tipo *raceway* de 1.000L para propagação do inoculo. Os cultivos são protegidos por túnel de filme transparente com proteção contra raios UV e expostos a condições ambientais naturais. Quando a microalga atinge a concentração 0,50 g.L⁻¹, sua biomassa é separada através de filtração e seca em secador de bandejas a 50°C por 5h (DE MORAIS et al., 2008).

Há mais de 40 anos a *Spirulina* sp. é comercializada e considerada oficialmente um alimento seguro para consumo humano através da aprovação de diversos órgãos governamentais e agências de saúde em dezenas de países. A grande maioria desta microalga que é comercializada se destina principalmente para fins nutracêuticos no consumo humano (BELAY, 1997; VONSHAK, 2014), devido ao seu valor nutricional e presença de compostos bioativos, a *Spirulina* sp. LEB-18 pode ser utilizada como arma no combate à desnutrição (MELO, 2016).

Entre os constituintes da *Spirulina* sp. LEB-18 (Figura 3) incluem proteínas, vitaminas do complexo B, minerais, proteínas de alta qualidade, antioxidantes β-caroteno e vitamina E. A presença de ácidos graxos poli-insaturados, especialmente o ácido gama linolênico é variável para as duas espécies (*Spirulina platensis* e *Spirulina máxima*), sendo esta uma das formas de caracterização e identificação das espécies, como relatado por COLLA et al. (2004). A presença ou não destes compostos, além da presença dos antioxidantes e vitaminas,

permite que a microalga seja utilizada também para fins terapêuticos (AMBROSI et al., 2008).

Figura 3: Biomassa da *Spirulina* sp. LEB-18 em pó.



Fonte: Própria Autoria (2018).

Entre os pigmentos que compõe a *Spirulina* sp. LEB-18, verifica-se a presença dos carotenóides, da ficocianina e da clorofila. O consumo de β -caroteno tem sido indicado por reduzir os riscos de contração de câncer, devido à capacidade de desativar os radicais livres, evitando que reacionem no organismo. A ficocianina apresenta-se como estimulante ao sistema imunológico, aumentando a contagem de leucócitos, cuja função principal é manter a saúde dos órgãos do corpo, proteger contra o câncer, úlceras e hemorroidas (HENRIKSON, 1994). A atividade antioxidante de extratos obtidos na purificação da ficocianina foi demonstrada por Estrada et al. (2001). É encontrada em pequenas quantidades na microalga quando comparada às quantidades de ficocianina, sendo de apenas 1,1 %, apresentando-se principalmente como clorofila-a (HENRIKSON, 1994).

A ficocianina (pigmento proteico) tem sido estudada principalmente como biocorante de alimentos (MORAES et al., 2007) e seu uso inclui coloração de doces, sorvetes, produtos lácteos e bebidas não alcoólicas (SILVA, 2008). Além disso, esse composto é solúvel em água e possui elevada estabilidade na faixa de pH 5-7 (DENG; CHOW, 2010).

A *Spirulina* sp. LEB-18 possui vitaminas, proteínas e minerais, dentre eles um alto teor de ferro. Os polissacarídeos purificados e a ficocianina da *Spirulina* sp. LEB-18 influenciam a proliferação e diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas comprometidas e podem diminuir o grau anêmico de camundongos. Um estudo realizado com ratos alimentados com *Spirulina* sp. LEB-18 revelou que estes absorveram 60% mais ferro do que os ratos que utilizaram o suplemento sulfato ferroso. Já para humanos, foi realizado no Japão um estudo com oito mulheres jovens que haviam se tornado anêmicas por restrições

alimentares, e após ingestão de 4 g de *Spirulina* sp. LEB-18 depois de cada refeição durante 30 dias, houve aumento no conteúdo de hemoglobina de 10,9 para 13,2 g/dL. A terapia medicamentosa da anemia por via oral, frequentemente apresenta efeitos colaterais, principalmente gastrointestinais, como náuseas, vômitos, epigastralgia, diarreia e constipação. Em aproximadamente 10 a 40% dos pacientes, a intolerância é tão intensa que inviabiliza o tratamento, e com a *Spirulina* sp. LEB-18 isso não aconteceu. A *Spirulina* sp. LEB-18 é a fonte mais rica de vitamina B12 já estudada (JIANG et al., 2017; WALTER, 2011; OLIVEIRA, 2012). Desta forma, a *Spirulina* sp. LEB-18 vem sendo utilizada para diversos fins.

Em relação às propriedades nutracêuticas da microalga *Spirulina* sp. LEB-18, especialmente as antioxidantes, estas se devem ao pigmento ficocianina, que podem chegar a conter de 120 a 140 mg por g de biomassa seca (ZHENG et al., 2012; PLEONSIL et al., 2013). Vem sendo estudada sua capacidade de reagir com as substâncias reativas ao oxigênio geradas durante processos oxidativos (BERTOLIN et al., 2011). A Tabela 1 aborda estudos utilizando a *Spirulina platensis* incorporada a produtos alimentícios, como sorvete, talharim, iogurte, shake e cereal.

Tabela 1: Produtos desenvolvidos com adição da *Spirulina platensis*.

Produto desenvolvido	Objetivo	Referências
Sorvete	Avaliou-se a microencapsulação da microalga <i>Spirulina</i> e o desenvolvimento de um sorvete adicionado de <i>Spirulina</i> microencapsulada	Mortari, 2018
Massa fresca tipo talharim	Estudou-se o comportamento da microcápsula com <i>Spirulina platensis</i> para adição em massa fresca	Zen, 2018
Fortificação de iogurte	Produziu-se novo iogurte rico em compostos biativos e avaliaram-se seus efeitos físico-químicos, microbiológicos e físicos	Barkallah et al., 2017
Bebida tipo <i>shake</i>	Desenvolvimento de alimentos em pó com a adição de <i>Spirulina platensis</i> para suplementação da população idosa	Santos et al., 2016
Barra de cereal	Desenvolvimento de barra de cereal enriquecida com <i>Spirulina platensis</i> , com estabilidade microbiológica e características nutricionais e sensoriais satisfatórias	De Melo Damasceno et al., 2017

Fonte: Própria Autoria (2019).

Os compostos fenólicos, que também contribuem para o potencial antioxidante da microalga, são principalmente os ácidos caféico, clorogênicos, salicílico, sináptico e transcinâmico podem agir individualmente ou sinergicamente como compostos antioxidantes em sistemas *in vivo* e *in vitro* (AMBROSI et al., 2008).

Existem grupos científicos trabalhando com a *Spirulina* sp. LEB-18, a exemplo, temos a Rede de pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande/RS (FURG) - REDE NANOBIOTEC em parcerias com universidades nacionais, como a Universidade Federal da Bahia (UFBA), cujo objetivo é proporcionar a formação de uma massa crítica de recursos humanos bem como estimular o desenvolvimento de produtos de alta tecnologia a fim de difundir o tema nanofotobiotecnologia no país. Com esse estímulo e parcerias espera-se que o país desperte o interesse sobre o campo de inovações e invista financeiramente na geração de novas tecnologias (MENDONÇA, DRUZIAN e NUNES, 2014).

1.3 Microencapsulação

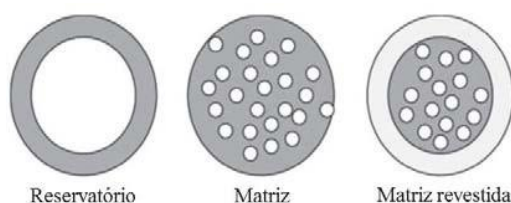
A microencapsulação surgiu ao final da década de 50 e vem sendo explorada desde então, com aplicações em diversas áreas utilizando vários métodos, pois cada um proporciona materiais com propriedades distintas (RAMOS, 2006; GHARSALLAOUI et al., 2007). A tecnologia de encapsulação aparece como uma alternativa de grande potencial de preservação nutricional de produtos naturais (NEDOVIC et al., 2011; ÇAM; IÇYER; ERDOGAN, 2014; PASRIJA et al., 2015).

Na indústria de alimentos a microencapsulação é utilizada com o objetivo de revestir um ou mais ingredientes ou aditivos por um agente encapsulante de natureza comestível, modificando e melhorando a aparência e as propriedades de algumas substâncias. Outras finalidades deste processo podem ser descritas, como a diminuição das interações da substância encapsulada em relação aos fatores ambientais, impedindo perdas sensoriais e nutricionais; mascarar substâncias com sabores indesejáveis; melhorar a solubilidade da substância encapsulada e a sua incorporação em sistemas secos; permitir que a liberação da substância encapsulada seja modificada, ocorrendo de forma lenta ou a partir de determinado estímulo; reduzir a velocidade de evaporação de substâncias voláteis e aumentar o tempo de armazenamento das substâncias a encapsular (AZEREDO, 2005; KUANG et al., 2010).

A técnica de encapsulação baseia-se na secagem de emulsão entre o composto a ser encapsulado e o agente encapsulante. Como resultado, obtém-se micropartículas compostas por polímero como material de parede e material ativo chamado de núcleo (SANTOS et al., 2005). Dessa forma, ocorre o aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, permitindo o revestimento e formação de filme protetor (CALEFFI, 2014), obtendo-se micropartículas com diâmetro que varia de 1 a 1000 μm (OBEIDAT, 2009).

As cápsulas formadas podem ser caracterizadas como reservatório, matriz e matriz revestida (Figura 6). As cápsulas do tipo reservatório apresentam uma camada ou uma cápsula em torno do material núcleo, já o tipo matriz, tem o material núcleo disperso sobre o material encapsulante e/ou sob a superfície, enquanto que a combinação da cápsula do tipo reservatório com a do tipo matriz, forma um terceiro tipo, a matriz revestida (ZUIDAM; NEDOVIC, 2010), ou seja, é uma camada adicional a cápsula já formada.

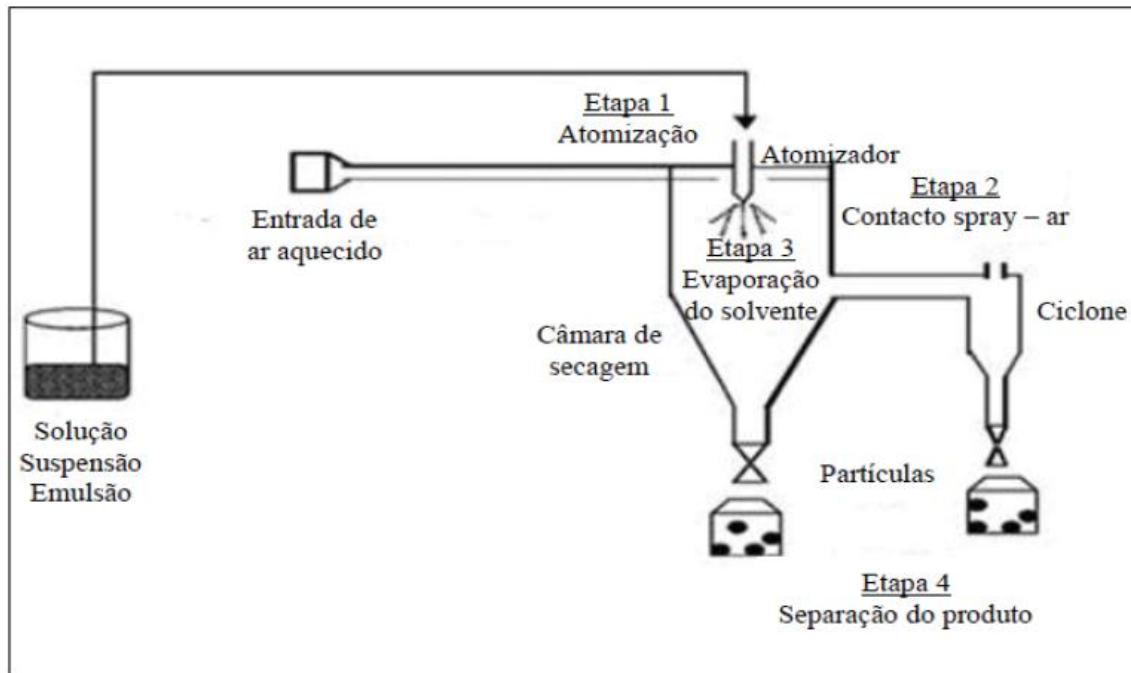
Figura 4: Tipos de cápsulas da microencapsulação.



Fonte: ZUIDAM; NEDOVIC (2010).

O procedimento para a realização da secagem por atomização compreende algumas etapas como descrito na Figura 7. Inicialmente, a substância a ser encapsulada é homogeneamente dispersa ou dissolvida em uma solução aquosa ou dispersão, contendo o agente encapsulante. Depois, o sistema é atomizado em uma corrente de ar quente que vai promover a evaporação do solvente, obtendo-se a rápida solidificação das gotículas que depois serão recolhidas no ciclone. As variáveis deste processo envolvem a temperatura de entrada e saída de ar do sistema, o fluxo de ar ou fluído de arraste, a distribuição da temperatura e umidade, o tempo de permanência e temperatura da câmara. Estes parâmetros determinarão a eficiência do processo, juntamente, com as características do agente encapsulante (tamanho de moléculas, solubilidade) e características do material ativo (polaridade, pressão de vapor, tamanho de molécula) (RÉ, 1998; BENITA, 2006).

Figura 5: Esquema representativo da secagem por *spray drying*.



Fonte: RÉ (2006).

De entre os diferentes métodos de secagem, um dos processos mais utilizados na indústria alimentar é a atomização por *spray dryer*, principalmente no processamento de transformação de líquidos em pó, por ser econômico, flexível e contínuo (FREITAS et al., 2019). Além disso, este processo pode impedir interações com outros compostos, promovendo uma maior estabilidade do produto e, conseqüentemente, aumentando a sua vida útil (DESAI; PARK, 2005). Estudos recentes têm mostrado que compostos bioativos, como os compostos fenólicos, podem ser protegidos por diferentes agentes encapsulantes no processo de microencapsulação por *spray drying* (SAÉNZ et al., 2009; BAKOWSK-BARCZAC; KOŁODZIEJCZYK, 2011; ÇAM; ICYER; ERDOGAN, 2014; MISHRA; MISHRA; MAHANTA, 2013; PANG; YUSOFF; GIMBUN, 2014).

1.3.1 Agentes encapsulantes

Para iniciar o processo de encapsulação o primeiro passo é a escolha do agente encapsulante adequado. Esta escolha depende de uma série de fatores como: apresentar propriedades emulsificantes, não apresentar reatividade com o material a ser encapsulado, ser capaz de formar filmes, ser biodegradável, apresentar resistência ao trato gastrointestinal, baixa viscosidade e ser de baixo custo, associado à escolha do processo de microencapsulação

e o mecanismo de liberação ideal (PEGG e SHAHIDDI, 2004; SOBRINHO e FARIAS, 2012; SIMEONE et al., 2014).

Na microencapsulação os agentes microencapsulantes são responsáveis pelo revestimento dos compostos bioativos, dando forma à microcápsula (AZEREDO, 2005). Os agentes encapsulantes ainda devem possuir a capacidade de formar película coesa com o material do núcleo, proporcionando compatibilidade química e física que vai conferir algumas propriedades desejadas às microcápsulas, tais como flexibilidade, resistência, impermeabilidade e estabilidade na preparação. Na prática, muitas vezes, pelo fato de um mesmo composto não englobar todas essas propriedades, usam-se misturas (VENKATESEN; MANAVALAN; VALLIAPPAN, 2009).

1.3.2 Lecitina de soja

A lecitina de soja é uma mistura de fosfolipídeos (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol) e que tem sido muito utilizada em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos (PARKS; HELLERSTEIN, 2006). Evidências de efeito sinérgico com antioxidantes tem despertado grande interesse sobre o emprego de lecitinas como carreador no desenvolvimento tecnológico de produtos naturais. Dentre os estudos reportados pode-se citar a obtenção de alimentos funcionais com alta atividade antioxidante, utilizados como conservantes naturais ou ainda como sistemas de liberação (RAMADAN, 2012; MORAES et al., 2013; TAN; RAO; PRESTIDGE, 2013; RASHIDINEJAD et al., 2014).

A principal diferença entre as lecitinas (soja e ovo) está no número de insaturações da estrutura molecular relacionada com a proporção dos ácidos graxos esterificantes. Neste sentido, a lecitina de soja (Figura 5) possui um número maior de cadeias carbônicas e por isso um maior número de insaturações (PARKS; HELLERSTEIN, 2006).

Figura 6: Lecitina de soja em pó.



Fonte: Própria Autoria (2018).

A função básica da lecitina de soja é a de revestimento físico das partículas, principalmente daquelas que contêm gordura em sua composição, de tal forma que, quando em meio aquoso, haja uma redução da tensão superficial entre as fases sólida e líquida (VISSOTTO et al., 2006).

1.3.3 Maltodextrina

A maltodextrina é um hidrolisado de amido que possui unidades de glucose unidas principalmente por ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4), e possui uma média de 5 a 10 unidades de glucose/molécula. São produzidas industrialmente por hidrólise ácida ou enzimática, ou a combinação de ambas. Provém principalmente do amido de milho, sendo que o processo utilizado e a natureza do amido a ser hidrolisado influenciam fortemente na propriedade do produto final (KENNEDY; KNILL; TAYLOR, 1995; REINECCIUS et al., 1998).

A maltodextrina é caracterizada por sua dextrose equivalente (DE) e por seu grau de polimerização (DP). Assim as propriedades das maltodextriinas estão associadas ao DE e ao DP, que variam de acordo com o grau de hidrolise durante o processamento do amido (BICUDO, 2014).

Na indústria de alimentos, as maltodextriinas são utilizadas pelo seu valor nutricional, para atribuir consistência e textura sem mascarar sabores, para controlar doçura, higroscopicidade, osmolaridade e ponto de congelamento, para prevenir cristalização e escurecimento não enzimático, para compor o material de suporte na secagem por atomização, para formar substituintes de gordura e filmes comestíveis (WANG e WANG, 2000).

1.4 Alimentos funcionais

Um alimento pode ser considerado funcional se, além de suas funções básicas nutricionais, afetar positivamente uma ou mais funções fisiológicas do organismo, favorecendo a saúde, melhorando a qualidade de vida e auxiliando na redução de riscos de enfermidades (IGLESIAS, 2010).

Os primeiros alimentos funcionais, considerados como produtos naturalmente saudáveis, surgiram com os produtos lácteos no mercado europeu como parte importante na dieta do povo. No entanto, uma mudança drástica ocorreu na década de 1980, quando estes produtos passaram a ser criticados pelos nutricionistas e profissionais da saúde devido ao seu alto teor em gordura, em particular saturada. Isso levou as empresas a tomarem duas estratégias: a primeira se refere a campanhas publicitárias, para lembrar ao público os benefícios do produto lácteo, no que diz respeito ao cálcio e vitaminas; e a segunda se refere à produção de novos produtos com baixo teor de gorduras, conhecido como desnatados e semidesnatados (HEASMAN; MELLENTIN, 2014).

Os alimentos funcionais reduzem o risco de desenvolvimento de doenças devido à presença dos mesmos compostos presentes nos nutracêuticos, mas constituintes de alimentos. As principais classes de alimentos funcionais relatadas são os antioxidantes, fibras prebióticas, probióticos e ácidos graxos poli-insaturados (GOMES, 2017). Enquanto que o consumo de antioxidantes como nutracêuticos requer acompanhamento médico, o consumo de antioxidantes através de alimentos funcionais, devido às menores doses adicionadas, tem sido indicado como um elemento que pode contribuir para a manutenção da saúde, prevenindo doenças (MORAES; COLLA, 2006).

Os alimentos funcionais tornam possível a oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como estratégia para corrigir distúrbios metabólicos (WALZEM, 2004), o que resulta na manutenção da saúde do indivíduo.

1.4.1 Compostos bioativos

Os antioxidantes agem de várias maneiras, incluindo complexação com íons metálicos, sequestro de radicais livres e decomposição de peróxidos. Muitas vezes, mecanismos sinérgicos estão envolvidos (OLIVEIRA et al., 2009). O consumo de alimentos contendo uma significativa quantidade destes compostos pode ajudar o corpo humano a reduzir os danos oxidativos relacionados ao envelhecimento e doenças como arteriosclerose, diabetes, úlcera e câncer (REPETTO e LLESUY, 2002; SACHIDANANDAM, FAGAN e ERGUL, 2005; HALLIWELL, 2007; SHAH et al., 2007).

Substâncias antioxidantes são aquelas que, quando presentes em baixas concentrações, comparativamente ao conjunto daquelas presentes em um substrato oxidável, atrasam ou previnem de forma significativa a oxidação deste substrato (DIAS et al., 2015). Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: a dos com atividade enzimática e a dos sem essa atividade. Na primeira, estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos (MOREIRA e MANCINI-FILHO, 2004).

O grande interesse no estudo dos antioxidantes é decorrente, principalmente, por serem capazes de combater os efeitos dos radicais livres no organismo (DE OLIVEIRA, 2019). Os antioxidantes são compostos fenólicos, que incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fólico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).

Nos alimentos, ocorrem reações de auto oxidação em cadeia. Nos organismos vivos, o estresse oxidativo é o maior responsável pelos danos celulares (BOROSKI et al., 2015). O estresse oxidativo *in vivo* é um fenômeno causado pela exposição e o acúmulo de toxinas geradas por fatores extrínsecos e intrínsecos. A temperatura é um fator de grande influência na degradação em proteínas, lipídeos e carboidratos. Fornece a energia de ativação necessária para que ocorra a quebra das ligações químicas. As reações químicas de oxidação podem ocorrer devido a fatores ambientais, como a temperatura, a luz, a umidade, os gases atmosféricos, e também o pH e a contaminação microbiana (BRASIL, 2005). O efeito da temperatura é importante na determinação das propriedades e da estabilidade de proteínas nas

microalgas, uma vez que algumas proteínas sofrem desnaturação ou degradação em altas temperaturas (NAKAMOTO; HONMA, 2006).

A importância desses compostos naturais para a medicina preventiva vem sendo amplamente reconhecida. Acredita-se que alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, bem como diabetes e doenças reumáticas sejam causados ou acelerados por estresse oxidativo (WEISBURGER; WILLIAMS, 2000).

A possibilidade de prevenir ou reduzir o risco de se contrair essas doenças através da dieta tem atraído à atenção tanto da comunidade científica como das indústrias alimentícias com o objetivo comum de desenvolver os atualmente conhecidos como "alimentos funcionais", ou alimentos ricos em um ou mais compostos bioativos que apresentam efeitos positivos à saúde (PINTO, 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFOAKWA, E. O. **Chocolate Science and Technology**. England: Wiley-Blackwell, p. 21. 2010.

AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A. Cocoa fermentation: Chocolate flavour quality. **Encyclopedia of Biotechnology in Agriculture and Food**. Taylor & Francis Publishing Inc. Oxford, UK, p. 457-468, 2010.

ALEXANDRE, R.; CHAGAS, K.; MARQUES, H. I. P.; COSTA, P. R.; FILHO, J. C. Caracterização de Frutos de Clones de Cacaueiro na Região Litorânea de São Matheus, ES. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 8, p. 785-790, 2015.

AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde de *Spirulina* sp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 29, n. 2, p. 109-117, 2008.

ANDRADE, B. B.; CARDOSO, L. G.; DE JESUS ASSIS, D.; COSTA, J. A. V.; DRUZIAN, J. I.; DA CUNHA LIMA, S. T. Production and characterization of *Spirulina* sp. LEB 18 cultured in reused Zarrouk's medium in a raceway-type bioreactor. **Bioresource technology**, v. 284, p. 340-348, 2019.

ANDREOLI, R.; FOLLADOR, F. A. C. Alimentação saudável: prevenção de doenças e cuidados com a saúde. **Cadernos PDE – versão online**. v. 1. 2016.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-95, 2005.

BARKALLAH, M.; DAMMAK, M.; LOUATI, I.; HENTATI, F.; HADRICH, B.; MECHICHI, T.; ABDELKAFI, S. Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 323-330, 2017.

BAKOWSKA-BARCZK, M.; KOLODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: their storage stability and microencapsulation. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 3101-3109, 2011.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Revista Química Nova**, v. 29, n 1, p. 113-123, 2006.

BELAY, A. M. H. A. Mass culture of *Spirulina* outdoors - the Earthrise Farms experience. ***Spirulina platensis***, p. 131-158, 1997.

BENITA, S. Microencapsulation: Methods and Industrial Applications. 2º edição. Boca Raton, CRC Press Taylor E Francis Group, p. 104, 2006.

BENKOVIC, M.; BELSCAK-CVITANOVIC, A.; KOMES, D.; BAUMAN, I. Physical

properties of non-agglomerated cocoa drink powder mixtures containing various types of sugar and sweetener. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 4, p. 1044-1058, 2013.

BERTOLIN, T. E.; GUARIENTI, C.; FARIAS, D.; SOUZA, F. T.; GUTKOSKI, L. C.; COLLA, L. M. Antioxidant effect of phycocyanin on dried-salted fish. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 4, p. 751-757, 2011.

BERTOLIN, T. E.; GUARIENTI, C.; FARIAS, D.; SOUZA, F. T.; GUTKOSKI, L. C.; COLLA, L. M. Efeito antioxidante da ficocianina em pescado salgado-seco. **Ciências Agrotécnicas**, v. 35, n. 4, p. 751-757, 2009.

BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de Juçara (*Euterpe edulis*): aspectos de interesse para a indústria de alimentos.** 146 f. 2014. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

BIEHL, B.; MEURSING, E. H. Cocoa - production, products and uses. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R. K.; SADLER, M. J. Encyclopedia of food science, food technology and nutrition, **Academic Press**, London, v. 2, p. 1083–1097, 1993.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos.** Curitiba: Appris, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução N° 1, de 29 de julho de 2005.** Dispõe sobre o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade. Diário Oficial da União, Poder Executivo, 08 de agosto de 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução N° 18, de 30 de abril de 1999.** Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 03 de maio de 1999.

BRITO, E. S. **Estudo de Mudanças Estruturais e Químicas Produzidas Durante Fermentação, Secagem e Torração do Cacau (*Theobroma Cacao L.*); e Propostas de Tratamento Para o Melhoramento de Sabor.** 2000. 134p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

CALEFFI, T. S. L. **Microencapsulação de Polpa de Amora-Preta por Coacervação e Spray Drying.** 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

ÇAM, M.; ÍCYER, N. C.; ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 117-123, 2014.

CÁNDIDO, L. M. B; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos:**

legislação, mercado, adoçantes e edulcorantes, substitutos de gordura, sucedâneos do sal. Livraria Varela, 1996.

COLLA, L. M.; BERTOL, C. D.; FERREIRA, D. J.; BARARESCO, J.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E. Thermal and photo-stability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. **Brazilian journal of biology**, v. 77, n. 2, p. 332-339, 2017.

COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 1-2, p. 55-59, 2004.

CROSS, E.; VILLENEUVE, F.; VINCENT, J. C. Recherche d'un índice de fermentation du cacao. **Café, Cacao Thé**, v. 16, n. 2, p. 109-113, 1982.

CRUZ, J. F. M. **Caracterização das sementes de variedades de cacau *Theobroma cacao* L. resistentes à vassoura de bruxa durante a fermentação e após a secagem.** 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

DE JESUS, C. S.; DE JESUS ASSIS, D. ; RODRIGUEZ, M. B.; FILHO, J. A. M.; COSTA, J. A. V.; FERREIRA, E. S.; DRUZIAN, J. I. Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. **International journal of biological macromolecules**, v. 124, p. 1106-1114, 2019.

D'EL REI, J.; MEDEIROS, F. Chocolate e os benefícios cardiovasculares. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 54-9, jul./ set. 2011.

DE MELO DAMASCENO, I. A.; DE LIMA, P. K. D.; CASTIGLIONI, G. L.; MONTEIRO, S.; BATISTA, H.; DE SOUZA, A. R. M. Barra de cereal enriquecida com biomassa de *Spirulina platensis*. **Agrarian**, v. 10, n. 37, p. 278-287, 2017.

DE MORAIS, M. G.; DA CRUZ REICHERT, C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 63, n. 1-2, p. 144-150, 2008.

DE OLIVEIRA, J. D. S.; DOS SANTOS, M. G. S.; LIMA, J. T. C.; COSTA FILHO, W. S.; SANTOS, K. C. B. S.; DA COSTA, J. G. Capacidade antioxidante em frutos de diferentes genótipos de pinheira (*Annona squamosa* L. X *Annona Cherimola*). **Diversitas Journal**, v. 4, n. 1, p. 272-284, 2019.

DENG, R.; CHOW, T. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae *Spirulina*. **Cardiovascular therapeutics**, v. 28, n. 4, p. e33-e45, 2010.

DESAI, K. G.H.; PARKA, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DIAS, T.; MELO, H. C. D.; ALVES, F. R. R.; CARVALHO, R. F.; CARNEIRO, K. D. S.; SOUSA, C. M. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em frutos de tomateiros mutantes fotomorfo genéticos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 5, p. 782-787, 2015.

EDUARDO, M. L.; LANNES, S. C. S. Chocolate drink powders: chemical analysis. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 405-412, 2004.

EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. 2004. 114 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas. 2004.

ELWERS, S.; ZAMBRANO, A.; ROHSIUS, C.; LIEBEREI, R. Histological features of phenolic compounds in fine and bulk cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 83, n. 2, p. 182-8, 2010.

ESTRADA, J. E. P.; BESCÓS, P. B.; DEL FRESNO, A. M. V. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **Il farmaco**, v. 56, n. 5-7, p. 497-500, 2001.

FERRÃO-GONZALES, A. D.; VITAL, A. V. D.; LIMA, J. M.; RODRIGUES, M. B. S. Desenvolvimento sustentável para o resgate da cultura do cacau baseado no aproveitamento de resíduos. **Interfaces Científicas Saúde e Ambiente**, v. 1, n. 2, p. 41-52, 2013.

FOOD ENGLAND. The Cocoa and Chocolate Products (England). **Nº 1659 Regulations 2003**.

FONTES, B.; LADEIRAS, F.; RAMALHO, M.; SANT'ANNA, T. Análise do mercado consumidor brasileiro de achocolatados baseada em pesquisa de campo e estratégias de marketing. **Rio's International Journal on Sciences of Industrial and Systems Engineering and Management, Rio de Janeiro**, v. 2, p. 1-29, 2008.

FORSYTH, W. G. C.; QUESNEL, V. C. Cocoa glycosidase and color changes during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 8, n. 9, p. 505-509, 1957.

FREITAS, E. D. F. M.; DE LIMA LOPES, L.; DE FREITAS ALVES, S. M.; DE CAMPOS, A. J. Efeito da maltodextrina no sumo da polpa de abacaxi 'Pérola' atomizado. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 1, p. 275-282, 2019.

GADELHA, R. G. F. **Eficiência da microalga *Spirulina platensis* na alimentação do camarão *Litopenaeus vannamei***. 2013, 108 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2013.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, O.; SAUREL, R. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

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.

GUIMARÃES, M. M.; FIGUEIREDO, T. V. B., MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Utilização de chocolates ricos em polifenóis e com ação antioxidante: busca em bases de patentes. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 3, p. 168-177, 2014.

HALLIWELL, B. Oxidative stress and cancer: Have we moved forward? **Biochemical Journal**, v. 401, n. 1, p. 1-11, 2007.

HEASMAN, M.; MELLENTIN, J. **The Functional Foods Revolution**. Healthy People, Healthy Profits? London: Earthscan, 2014.

HENRIKSON, R. Microalga *Spirulina*, superalimento del futuro, Ronore Enterprises. **Ediciones Urano, Barcelona, España**, p. 222, 1994.

HII, C. L.; LAW, C. L. SUZANNAH, S. CLOKE. M. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, v. 2, n. 4, p. 702-722, 2009.

ICCO - International Cocoa Organization. **Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics**, v. 44, 2018.

IGLESIAS, M. J. Presente y futuro de los alimentos funcionales. In: Inglesias MJ; Alejandro AP (Coord.). Alimentos saludables y de diseño específico. **Alimentos funcionales**. 1ª ed. Madrid: Ed. IM&C, p. 29-44, 2010.

JIANG, L.; WANG, Y.; YIN, Q.; LIU, G.; LIU, H.; HUANG, Y.; LI, B. Liangqian et al. Phycocyanin: A potential drug for cancer treatment. **Journal of Cancer**, v. 8, n. 17, p. 3416, 2017.

KATTENBERG, R.H. The application of cocoa powder in chocolate confectionery. **Manufacturing Confectioner**, v. 3, p. 73-83, 1995.

KEALEY, K. S.; SNYDER, R.; ROMANCZYK, L.; HAMMERSTONE, J.; BUCK, M.; CIPOLLA, G. **Method for producing fat and/or solids from beans and compositions containing polyphenols**. US Patent 2004/0058022, 2005.

KEALEY, K. S.; SNYDER, R.; ROMANCZYK, L.; GEYER, H. M.; MYERS, M. E.; SCHMITZ, H. H. **components, edible products having enriched polyphenol content, methods of making same and medical uses**. US Patent Application 6,312,753, 2001.

KENNEDY, J.F.; KNILL, C.J.; TAYLOR, D.W. Maltodextrins. In: KEARSLEY, M.W.; DZIEDZIC, S.Z. Cambridge: Blackie Academic & Professional, p. 65-82, 1995.

KREIBICH, H. H. **Qualidade e segurança das amêndoas de cacau (theobroma cacao L.) e seus produtos com relação aos contaminantes biológicos e a descontaminação de fungos toxigênicos com ozônio gasoso**. 2016. 168 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

- KUANG, S. S.; OLIVEIRA, J. C.; CREAN, A. M. Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 10, p. 1913-1918, 2010.
- LANNES, S. C. S. **Estudo das propriedades físico-químicas e de textura de chocolates**. São Paulo, 1997. 175 p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, 1997.
- LEITER, J.; HARDING, S. Trinidad, Brazil, and Ghana: three melting moments in the history of cocoa. **Journal of Rural Studies**, v. 20, n. 1, p. 113–130, 2004.
- LOBÃO, D. E.; PINHO, L. M.; CARVALHO, D. L.; SETENTA, W. C. Cacau-Cabruca: um modelo sustentável de agricultura tropical. **Indícios Veementes**, São Paulo, v. 3, p.10- 24, 1997.
- LOPES, U. V.; MONTEIRO, W. R.; PIRES, J. L.; CLEMENT, D.; YAMADA, M. M.; GRAMACHO, K. P. Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, p. 73-81, 2011.
- MARTINI, M. H. **Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L.** Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.
- MARTINS, R. “Processamento de Chocolate”. REDETEC, Rio de Janeiro, 2007. **[Dossiê Técnico]**.
- MEDEIROS, M. L. **Estudo e aplicação de substitutos de cacau**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- MENDONÇA, T. A.; DRUZIAN, J. I.; NUNES, I. L. Prospecção tecnológica da utilização da *Spirulina platensis*. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 1, p. 44, 2014.
- MELO, P. C. **Cinética de secagem e armazenamento de *Spirulina platensis***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Engenharia de Sistemas Agroindustriais, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2016.
- MILLER, K. B.; HURST, W. J.; PAYNE, M. J.; STUART, D. A.; APGAR, J.; SWEIGART, D. S.; OU, B. Impact of alkalization on the antioxidant and flavanol content of commercial cocoa powders. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8527-8533, 2008.
- MISHRA, P.; MISHRA, S.; MAHANTA, C. L. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, p. 252-258, 2013.
- MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. D. M.; COSTA, J. A.V.; KALIL, S. J. Extração de ficocianina a partir de diferentes biomassas de *Spirulina* sp. **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, v.13, n.4, p.529-532, 2007.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Functional foods and nutraceuticals: definition, legislation and health benefits. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 99-112, 2006.

MORAES, M.; CARVALHO, J.M.P.; SILVA, C.R.; CHO, S.; SOLA, M. R. , PINHO, S. C. Liposomes encapsulating beta-carotene produced by the proliposomes method: characterisation and shelf life of powders and phospholipid vesicles. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 274–282, 2013.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação do perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.411-424, 2004.

MORTARI, L. M. **Microencapsulação da microalga *Spirulina platensis* e utilização no desenvolvimento de sorvete**. 2018. 155 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2018.

MUNOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. **Water research**, v. 40, n. 15, p. 2799-2815, 2006.

NAKAMOTO, H.; HONMA, D. Interaction of a small heat shock protein with light-harvesting cyanobacterial phycocyanins under stress conditions. **FEBS letters**, v. 580, n. 13, p. 3029-3034, 2006.

NEDOVIC, V.; KALUSEVIC, A.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; BUGARSKI, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Precedia Food Science**, v. 1, p. 1806-1815, 2011.

NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOU, D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6, p. 612-619, 2006.

NINFALI, P.; GIORGINI, S.; BIAGO Hi, E.; FIORUCCI, C.; PALMA, P.; MANGINI, S.; TAVERNA, D. Flavonoids in milk and dark chocolate: possible strategy for the preparation of fortified chocolate. **Ingredienti Alimentari**, v. 1, n.5, p.6-10, 2002.

NOGUEIRA, B. L. **Processamento do cacau: avaliação do teor nutricional do chocolate e dos outros derivados do cacau**. 2015. 47 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Bioquímica, Universidade de São Paulo-USP, Lorena, 2015.

OBEIDAT, W. N. Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using de emulsion solvent removal methods. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, n. 3, p. 178-192, 2009.

OETTERER, M. Tecnologias de obtenção do cacau, produtos do cacau e do chocolate. In: OETTERER, M.; REGITANO, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. (Org.). **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Manole Ltda., v. 1, p 1-50, 2006.

OFORI, A.; PADI, F. K.; ANSAH, F. O.; AKPERTEY, A.; ANIM-KWAPONG, G. J. Genetic variation for vigour and yield of cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in Ghana. **Scientia Horticulturae**, v. 213, p. 287–293, 2016.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; BARROS, M. P.; MANO, C. M.; GOULART, M. O. F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469-475, 2009.

OLIVEIRA, C. A. **Caracterização da produção de pigmentos e da atividade antioxidante de *Nostoc spp.* sob diferentes intensidades luminosas**. 2012. 93f. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de Magister Scientiae. Universidade Federal de Viçosa, 2012.

PANG, S. F.; YUSOFF, M. M.; GIMBUM, J. Assessment of phenolic compounds stability and retention during spray drying of *Orthosiphon stamineus* extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 159-165, 2014.

PARKS, E. J.; HELLERSTEIN, M. K. Thematic review series: patient-oriented research. recent advances in liver triacylglycerol and fatty acid metabolism using stable isotope labeling techniques. **Journal of Lipid Research**, v. 47, p. 1651-1660, 2006.

PASRIJA, D.; EXHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 289-296, 2015.

PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. Encapsulation, Stabilization, and Controlled Release of Food Ingredients and Bioactives. **Food Science and Technology New York – Marcel Dekker**, v. 167, p. 509, 2004.

PINTO, M. S. **Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (*Fragaria x Ananassa duch*): caracterização e estudo da biodisponibilidade dos derivados de ácido elágico**. Tese (Doutorado) 2008. Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 2008.

PIRES, J. L. **Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacauero com ênfase na produtividade, qualidade de frutos e resistência a doenças**. Universidade Federal de Viçosa (Tese de doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2003.

PLAZA, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. In the search of new functional food ingredients from algae. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 1, p. 31-39, 2008.

PLEONSIL, P.; SOOGARUN, S.; SUWANWONG, Y. Anti-oxidant activity of holo-and apo-c-phycoyanin and their protective effects on human erythrocytes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 393-398, 2013.

RAMADAN, M. F. Antioxidant characteristics of phenolipids (quercetin-enriched-lecithin) in lipid matrices. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n. 1, p. 363–369, 2012.

RAMOS, M. F. de S. **Desenvolvimento de microcápsulas contendo a fração volátil de copaína por spray-drying: estudo de estabilidade e avaliação farmacológica**. 2006. 132 f. Tese (Doutorado em Farmácia, Fármacos e Medicamentos), Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2006.

RASHIDINEJAD, A.; BIRCH, E.J.; SUN-WATERHOUSE, D.; EVERETT, D.W. Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese. **Food Chemistry**, v. 156, p. 176–183, 2014.

RÉ, M. I. Formulating drug delivery systems by spray drying. **Drying Thecnology**, v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, p.1195-1236, 1998.

REDOVNIKOVIĆ, I. R.; DELONGA, K.; MAZOR, S.; DRAGOVIC-UZELAC, V.; CARIC, M.; VORKAPIC-FURAC, J. Polyphenolic content and composition and antioxidative activity of different cocoa liquors. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 27, n. 5, p. 330-337, 2009.

REIN, D.; PAGLIERONI, T. G.; PEARSON, D. A.; WUN,T.; SCHMITZ, H. H., GOSSELIN, R.; KEEN, C. L. Cocoa and wine polyphenols modulate platet activation and function. **Journal of Nutrition**, v. 130, n.8, p. 2120-2126, 2000.

REINECCIUS, G. A. The spray drying of food flavors. **Drying technology**, v. 22, n. 6, p. 1289-1324, 2004.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**; v. 35, n. 5, p. 523-534, 2002.

RIZO, D. C. Barry Callebaut confirma el poder de los polifenoles en el chocolate. **Dulcelandia**, v. 65, n. 789, p. 33-37, 2006.

ROHAN, T. A. The precursors of chocolate aroma: A comparative study of fermented and unfermented cocoa beans. **Journal of Food Science**, v. 29, n. 4, p.456-459, 1964.

ROHAN, T. A.; CONNEL, M. The precursors of chocolate aroma: A study of the flavonoids and phenolic acids. **Journal of Food Science**, v. 29, n. 4, p. 460-463, 1964.

RODRIGUES, R. D. P. **Extração e purificação de ficobiliproteínas de *Spirulina (Arthrospira) platensis* com líquidos iônicos próticos**. 2017. 150 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2017.

SACHIDANANDAM, K.; FAGAN, S. C.; ERGUL, A. Oxidative stress and cardiovascular disease: Antioxidants and unresolved issues. **Cardiovascular drug reviews**, v. 23, n. 2, p. 115-132, 2005.

SAÉNZ, C.; TAPIA, S.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Microencapsulation by *spray drying* of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficusindica*). **Food Chemistry**, v. 114, p. 616–622, 2009.

- SANTOS, A. A. C.; FLORÊNCIO, A. K. G. D.; ROCHA, É. M. F. F.; COSTA, J. M. C. Avaliação físico-química e comportamento higroscópico de goiaba em pó obtida por *spray-dryer*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 3, p. 508-514, 2014.
- SANTOS, A. B.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005.
- SANTOS, T. D.; DE FREITAS, B. C. B.; MOREIRA, J. B.; ZANFONATO, K.; COSTA, J. A. V. 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.
- SANTOS, G. B. M. dos; SANTOS, P. B. M. dos; SANTOS, A. M. dos. **Mercado de Cacau Fino no Brasil e no Mundo. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC)**. 2016. Disponível em:
<<http://www.ceplac.gov.br/radar/AS%20CARACTERISTICAS%20DO%20CACAU%20FINO%20NO%20BRASIL%20E%20OS%20REQUERIMENTOS%20DE%20MERCADO.pdf>>. Acesso em: 01 de maio de 2019.
- SÁNCHEZ, F. M.; GARCÍA, F.; CALVO, P.; BERNALTE, M. J.; GONZÁLEZ-GÓMES, D. Optimization of broccoli microencapsulation process by complex coacervation using response surface methodology. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 34, p. 243-249, 2016.
- SARALA, M.; VELU, V.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; SINGH, R. P. Spray drying of *Tinospora cordifolia* leaf and stem extract and evaluation of antioxidant activity. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 119-122, 2012.
- SHAH, S. V.; BALIGA, R.; RAJAPURKAR, M.; FONSECA, V. A. Oxidants in chronic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 1, p. 16-28, 2007.
- SHALABY, E.A.; SHANAB, S. M. M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 42, no. 5, p. 556-564, 2013.
- SILVA, E.K.; FERNANDES, R.V.B.; BORGES, S.V.; BOTREL, D.A.; QUEIROZ, F. Water adsorption in rosemary essential oil microparticles: Kinetics, thermodynamics and storage conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 140, p. 39-45, 2014.
- SILVA, L. A.; **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da *Spirulina platensis***. 91f. Dissertação (Mestrado Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M., MENEZES, C., FRIES, L., MENEZES, M., & STEFANELLO, F. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, p. 66-75, 2014.

- SOARES, M. S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através de ação enzimática durante a fermentação**. 2001. 107 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas. 2001.
- SOBRINHO, E. C. S; FARIAS, M. C. A microencapsulação na indústria alimentícia. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 24, n. 1/3, p. 84-92, 2013.
- TAN, A; RAO, S.; PRESTIDGE, C.A. Transforming lipid-based oral drug delivery systems into solid dosage forms: an overview of solid carriers, physicochemical properties, and biopharmaceutical performance. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 12, p. 2993-3017, 2013.
- TERINK, L.; BRANDON, M. J. **Alkalized cocoa powders and foodstuffs containing such powders**. U.S. Patent n. 4,435,436, 6 mar. 1984.
- TEUNOU, E., FITZPATRICK, J. J., SYNOTT, E. C. Characterisation of food powder flowability. **Journal of Food Engineering**, v. 39, n. 1, p. 31-37, 1999.
- VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J. P. Bebidas: tecnología, química y microbiología. Zaragoza: **Editora Acribia, S.A**, v.2, p. 289-294, 1997.
- VENKATESAN, P.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, n. 4, p. 26-35, 2009.
- VENTURINI FILHO, W. G. Bebidas não alcoólicas. **Ciência e Tecnologia–São Paulo: Editora Blucher**, v. 2, 2010.
- VERÍSSIMO, A. J. M. **Efeito da origem do cacau na sua qualidade comercial, funcional e sensorial. O caso do Cacau Catongo de São Tomé e príncipe e do Brasil**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Alimentar, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.
- VISSOTTO, F. Z.; MONTENEGRO, F. M.; SANTOS, J. M.; OLIVEIRA, S. J. R. Avaliação da influência dos processos de lecitinação e de aglomeração nas propriedades físicas de achocolatado em pó. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 666-671, 2006.
- VON DER WEID, D.; DILLON, J.C.; FALQUET, J. Malnutrition: a silent massacre. **Antenna Technology**, 2000.
- VONSHAK, A. Mass Culture of *Spirulina* Outdoors-The Earthrise Farms Experience. In: ***Spirulina Platensis Arthrospira***. CRC Press, p. 149-176, 2014.
- WALTER, A. **Estudo do processo biotecnológico para obtenção de ficocianina a partir da microalga *Spirulina platensis* sob diferentes condições de cultivo**. 2011. 133f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Processos Biotecnológicos. Universidade Federal do Paraná, 2011.

- WALZEM, R. L. Functional Foods. **Trends in Food Science and Technology**. v. 15, p. 518, 2004.
- WANG, Y.; WANG, L. Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches. **Starch Stärke**, v. 52, n. 89, p. 296-304, 2000.
- WEISBURGER, J. H. & WILLIAMS, G. M. The distinction between genotoxic and epigenetic carcinogens and implication for cancer risk. **Toxicology Science**; v. 49, p. 231-246, 2000.
- WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 449-459, 2000.
- YING W.; VINSON, J. A.; ETHERTON, T. D.; PROCH, J.; LAZARUS, S. A.; KRIS-ETHERTON, P. M. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentration in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 596-602, 2001.
- ZHENG, J.; INOBUCHI, T.; SASAKI, S.; MAEDA, Y.; MCCARTY, M. F.; FUJII, M.; TAKAYANAGI, R. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 2, p. 110-120, 2012.
- ZUIDAM, N. J.; NEDOVIC, V. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. New York, NY: Springer-Verlag New York, 2010.

CAPÍTULO II

ARTIGO

Desenvolvimento da Microencapsulação da Biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 e sua Incorporação em Achocolatado em Pó: propriedades e potencial funcional

Desenvolvimento da Microencapsulação da Biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 e sua Incorporação em Achocolatado em Pó: propriedades e potencial funcional

Resumo

A preocupação crescente da população com relação à saúde e bem estar, tem aumentado o consumo de alimentos funcionais. O mercado de achocolatados acompanha a tendência do mercado alimentício, e desenvolver um achocolatado em pó com adição da microalga *Spirulina* sp. LEB-18 é uma opção inovadora. Desta forma, a junção do pó de cacau e da *Spirulina* sp. LEB-18 pode favorecer a formulação de uma bebida com alegação de propriedade funcional. Utilizou-se da secagem por atomização para microencapsular a biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 e incorporando-a no pó de cacau. A *Spirulina* sp. LEB-18 foi microencapsulada com maltodextrina e lecitina de soja, e três formulações de achocolatado em pó com diferentes concentrações da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (FControle: 0%; F1: 5%; F2: 8,75%) foram desenvolvidas. A caracterização da *Spirulina* sp. LEB-18, do microencapsulado e das formulações foram realizadas por análises químicas, físicas, físico-químicas e aceitação sensorial. A incorporação da microalga microencapsulada no achocolatado apresentou um aumento no teor proteico, mantendo a umidade em torno de 4% e reduzindo os teores de lipídeos totais. Não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para carboidratos e cinzas dos achocolatados. Quanto à caracterização física, todas as amostras analisadas apresentaram boa estabilidade de suspensão devido à repulsão das partículas e baixa higroscopicidade ($< 10\%$). Houve um incremento dos compostos fenólicos aumentando 31 e 39% nas formulações de achocolatado com adição da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada. O conteúdo de DPPH apresentou variações de 0,488 a 0,909 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para a F1 e *Spirulina* sp. LEB-18. Sensorialmente, os consumidores estão começando a aceitar a incorporação de componentes na elaboração de novos produtos funcionais. Os resultados mostraram que a biomassa de *Spirulina* LEB-18 microencapsulada incorporada ao cacau em pó pode mascarar atributos indesejáveis da *Spirulina* LEB-18, com a vantagem adicional de potencializar a qualidade nutricional e funcional do achocolatado, podendo ser consumido pelo público que procura por novos alimentos com alegação de propriedades funcionais.

Palavras-chave: Achocolatado; Cacau em pó; *Spirulina platensis*; Microencapsulação; Propriedades funcionais.

Abstract

There is a growing concern of the population regarding health and well being, increasing the consumption of functional foods. The chocolate market also follows the trend of the food market. In this context, to develop a chocolate powder with addition of the microalga *Spirulina* sp. LEB-18 is an innovative option. In this way, the junction of cocoa powder and *Spirulina* sp. LEB-18 may favor the formulation of a beverage claiming functional property. Spray drying was used, microencapsulating the biomass of *Spirulina* sp. LEB-18 and incorporating it into cocoa powder. *Spirulina* sp. LEB-18 was microencapsulated with maltodextrin and soy lecithin, and three formulations of powdered chocolate with different concentrations of *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated (Control: 0%, F1: 5,0%, F2: 8,75%) were developed. The characterization of *Spirulina* sp. LEB-18, microencapsulated and formulations was performed by chemical, physical, physicochemical and sensorial acceptance analyses. *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated showed an increase in protein content, maintaining the humidity around 4% and reducing the total lipid contents. No significant difference was observed for carbohydrates and ashes of chocolates. Regarding the physical characterization, all samples analysed presented good suspension stability due to repulsion of the particles and low hygroscopicity (<10%). In relation to the chemical analyses, there was an increase of phenolic compounds (31 and 39%) in the formulations of chocolate with addition of *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulated. The content of DPPH presented variations from 0,488 to 0,909 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for F1 and *Spirulina* sp. LEB-18. Sensorially, consumers are beginning to accept the incorporation of components into the elaboration of new functional products. The main disadvantage of *Spirulina* sp. LEB-18 is that it has odor and taste that displeases consumers, however, the results have shown that microencapsulated *Spirulina* sp. LEB-18 biomass incorporated into cocoa powder can mask these attributes, with the added advantage of potentiating nutritional quality and functional of the chocolate, so it can be consumed by the public that looks for new products with the claim of functional properties.

Key words: Chocolate milk; Cocoa powder; *Spirulina platensis*; Microencapsulation; Functional properties.

1. Introdução

Devido ao conhecimento relacionado entre alimentação e saúde, a preocupação da sociedade ocidental com os alimentos tem aumentado de forma exponencial. Uma grande quantidade de novos produtos que supostamente proporcionam saúde tem sido apresentada pela indústria alimentícia (ANJO, 2004). Segundo Dias, Ferreira e Barreiro (2015) os alimentos funcionais surgem como uma fronteira entre a nutrição e saúde, proporcionando resposta fisiologia positiva em longo prazo graças à presença de componentes biativos, promovendo benefícios à saúde, além daqueles proporcionados pela nutrição básica. Esses produtos podem variar de nutrientes isolados, produtos de biotecnologia, suplementos dietéticos, alimentos geneticamente construídos até alimentos processados e derivados de plantas (ANJO, 2004).

De acordo com as legislações nacionais e internacionais (BRASIL, 2005; FOOD ENGLAND, 2003) o achocolatado é obtido pela mistura de cacau em pó solúvel, açúcar refinado, extrato de malte e/ou maltodextrina, podendo conter sal, leite em pó e/ou soro de leite, vitaminas e minerais, além de outras substâncias alimentícias aprovadas que caracterizem o produto, as quais devem ser mencionadas na rotulagem. O mercado de achocolatados também acompanha a tendência do mercado alimentício, com relação à fortificação e o apelo funcional (SANTOS, 1992). Neste contexto, desenvolver novos produtos contendo microalga, é uma opção inovadora para o mercado, visto que pode ser utilizada em uma variedade de alimentos. Extratos em pó de cacau ricos em flavonol e também de *Spirulina platensis* sp. LEB-18 já estão comercialmente disponíveis em cápsulas, e provavelmente um achocolatado contendo *Spirulina* sp. LEB-18 pode ser desenvolvido para uso como alimento, seja como bebida ou para usos diversos como em bolos, biscoitos, entre outros.

A *Spirulina* sp. LEB-18 é uma microalga que possui altos teores de proteínas (60-70%); vitaminas (pró-vitamina A, C e E); minerais, tais como ferro, cálcio, manganês, magnésio, sódio, potássio, fósforo e zinco; aminoácidos essenciais e pigmentos (ficocianina, clorofila e carotenoides). A utilização da *Spirulina* sp. LEB-18 vem sendo estudada devido aos seus múltiplos benefícios para a saúde humana (MICHALAK et al., 2017), possuindo compostos antioxidante, imunomoduladores e anti-inflamatórios (WELLS et al., 2017; KHOSRAVI-DARANI, 2011; WU et al., 2016; SOHEILI e DE JESUS et al., 2018; ANDRADE et al., 2019; BEZERRA et al., 2019).

No entanto, ao submeter a *Spirulina* sp. LEB-18 ao processo industrial, pode haver perdas nutricionais e de compostos bioativos, além da sua biomassa possuir um *flavor* intenso característico que poderá comprometer a aceitação do pelo produto consumidor. Desta forma, a secagem por atomização é uma das técnicas mais utilizadas para processos que envolvem microencapsulação de ingredientes (SILVA et al., 2014), uma vez que pode ser utilizada para secagem de componentes termossensíveis devido ao curto intervalo de tempo em que o material a ser encapsulado fica em contato ao calor (MISHRA et al., 2014; SARALA et al., 2012).

Apesar da alta relevância nutricional, existe uma desvantagem em relação ao flavor. Barkallah et al. (2017) desenvolveram um iogurte Tunisiano fortificado com *Spirulina* sp. LEB-18 e avaliaram as propriedades funcionais no armazenamento durante 28 dias, indicando que a adição da microalga melhorou consideravelmente a atividade antioxidante do iogurte formulado. Outro trabalho avaliou as características físico-química, nutricional e sensorial de biscoitos enriquecidos com a microalga *Spirulina* sp. LEB-18, destacando que a adição de biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 aumentou o conteúdo de proteínas, lipídeos e minerais (LUCAS et al., 2018). Entretanto não existe no estado da técnica achocolatados em pó com adição de microalgas. Como os dois produtos são pós a dispersão a homogeneidade deve ser facilitada.

A principal desvantagem da *Spirulina* sp. LEB-18 como alimento é que ela tem um odor desagradável, e um sabor que desagradam os consumidores. É de suma importância avaliar o efeito da administração conjunta do cacau em pó e *Spirulina* sp. LEB-18 em um achocolatado em pó, que podem potencializar consideravelmente o produto, contribuindo para a saúde do consumidor. Este produto pode apresentar um mérito particular, na medida em que o microencapsulamento pode reduzir o *flavor* característico da microalga, somado ao fato de que o cacau também pode mascarar o sabor e odor da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada.

O presente trabalho teve como objetivo utilizar a *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada para realizar uma formulação de achocolatado tornando-o um produto com alegação funcional, e avaliar as caracterizações física e físico-química, a atividade antioxidante, compostos fenólicos e bioativos, bem como a sua aceitação sensorial.

2. Material e Métodos

2.1 Obtenção da matéria-prima

Microalga *Spirulina* sp. LEB-18 em pó utilizada foi obtida em comércio nacional (Olson Nutrição, Camaquã, Rio Grande do Sul, Brasil). O pó de cacau alcalino foi doado por indústria de chocolate localizada em Ilhéus (Bahia, Brasil). Para obtenção das microcápsulas foram utilizados como agentes encapsulantes a maltodextrina 20DE (Athletica Nutrition, São Paulo, Brasil) e a lecitina de soja (Nossa Cria, São Paulo, Brasil).

2.2 Microencapsulação da *Spirulina* sp. LEB-18

Para o preparo da emulsão, o material de parede: maltodextrina 20DE, lecitina de soja e *Spirulina* sp. LEB-18 (5:1:4 m/m) foram misturados com água destilada a 25°C e agitados a 250 rpm em incubadora refrigerada com agitação (Tecnal, TE 424, Piracicaba, São Paulo, Brasil) durante 30 minutos. A mistura foi submetida a secagem por *spray drying* (LabMaq, MDS 0.5, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), nas seguintes condições: temperatura do ar de entrada a 120°C e vazão do ar de entrada 0.5 L/h, obtendo as microcápsulas pulverizadas.

2.3 Formulações dos achocolatados adicionados de *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada

As quantidades dos componentes estabelecidos (Tabela 1) foram baseadas em metodologias propostas por Medeiros e Lannes (2009) com adaptações. Diminui-se a sacarose em 40%, visando o aumento de produtos na formulação que apresentam propriedades de alegação funcional. As misturas foram homogeneizadas e armazenadas em atmosfera inerte sob refrigeração até a realização das análises.

Tabela 1

Matérias primas utilizadas nas formulações dos achocolatados.

Componente (%)	FControle (Sem <i>Spirulina</i> microencapsulada)	F com <i>Spirulina</i> microencapsulada	
		F1 (5,0%)	F2 (8,75%)
Sacarose	40,0	40,0	40,0
Cacau em pó	20,0	20,0	20,0
Maltodextrina 20DE	20,0	15,0	15,0
Soro de leite	15,0	10,0	11,25
Lecitina de soja	5,0	10,0	5,0
<i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada	-	5,0	8,75

2.4 Caracterização das microcápsulas de *Spirulina* sp. LEB-18 e dos achocolatados

A molhabilidade foi determinada seguindo o método descrito por Fuchs et al. (2006). A solubilidade foi calculada de acordo com Cano-Chauca et al. (2005). A higroscopicidade foi realizada segundo Cai e Corke (2000). A sedimentação foi efetuada com base na metodologia de Minifie (1989).

A umidade foi determinada por infravermelho (Moisture Analyzer, MX-50, Ludhiana, Punjab, Índia). A proteína bruta foi quantificada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995), utilizando o fator de correção do nitrogênio de 6.25. Os lipídios totais foram determinados por Bligh e Dyer (1959), e a sua quantificação foi realizada por gravimetria. O teor de cinzas foi determinado segundo o Instituto Adolfo Lutz (1976), incinerando a matéria orgânica em forno (Forno Mufla, Lavoisier, São Paulo, Brasil) a 550°C. A atividade de água das amostras a 25°C foi determinada utilizando-se medidor de atividade de água (Decagon, AQUALab Lite, São Paulo, Brasil).

A extração de ficocianina foi realizada segundo Silveira et al. (2007). O conteúdo total de ficocianina nas amostras foi determinado pelo método de Bennett e Bogorad (1973).

A densidade de partícula ($\rho_{partícula}$) que foi medida pelo método do picnômetro, utilizando o tolueno, sendo quantificada pela massa total de partículas dividida pelo seu volume total (BHANDARI et al., 1992).

A técnica de difração a laser foi utilizada para determinar a distribuição de tamanhos das partículas em um Nanosizer 3000 (Malvern ®, Cambridge, Reino Unido), com laser de He-Ne (4 mW, 632,8 nm). As medidas das variações angulares na intensidade da luz dispersa e os tamanhos das partículas foram calculados pelo padrão de dispersão (baseado na teoria de Mie), considerando o diâmetro de uma esfera de volume equivalente [D_{4,3}]. Para essa análise, 1,0g amostra foi dispersa em água destilada no equipamento.

A morfologia das partículas foi avaliada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As partículas foram fixadas em fita de dupla-face e montadas sobre o stub. As amostras foram então cobertas com ouro em câmara a vácuo (Denton Vacuum, Desk V, Moorestown, Nova Jersey, EUA) e examinadas em microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM-6610 LV, Peabody, Massachusetts, EUA). O MEV foi operado a 10 kV com magnitudes de 1000x a 2000x.

A densidade de carga superficial da amostra foi determinada através do medidor de potencial Zeta (ζ), utilizando uma câmara de medição de microeletroforese (Malvern Instruments ZetaSizer, Nano-ZS, Reino Unido). Todas as medidas foram feitas em triplicata e temperatura ambiente.

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em equipamento Perkin Elmer, Pyris 1 TGA (Bridgeport, Connecticut, EUA). As amostras (5 mg) foram pesadas em cadinhos de alumínio aberto e aquecido com temperatura inicial de 25 a 900°C, sob uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. As análises foram realizadas utilizando duas atmosferas dinâmicas: nitrogênio e ar atmosférico com vazão de 50 mL.min⁻¹.

2.5 Identificação e quantificação de compostos bioativos

As amostras foram desengorduradas com éter de petróleo 2:12 (amostra:solvente)(m/v), agitadas por 5 minutos e centrifugada sob refrigeração (Hettich, Mikro 220R, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) a 6000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Essa etapa foi repetida por cinco vezes, descartando o sobrenadante. Para o preparo do extrato foi utilizado 1,0 g da amostra em 10 mL de metanol 80%. A mistura foi homogeneizada em vórtex (Phoenix, AP-56, Piracicaba, São Paulo, Brasil) por 3 minutos e centrifugada a 6000 rpm por 5 minutos por três vezes. Em seguida, os extratos foram armazenados no ultrafreezer (-80°C) até a realização das análises.

2.6 Atividade antioxidante

2.6.1 Método DPPH

O método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi realizado seguindo o procedimento descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com modificações. Um volume de 0,5 mL dos extratos obtidos na concentração de 0,05 g mL⁻¹ foi submetido a reação com 3,5 mL do radical DPPH em solução metanólica de 0,004% m v⁻¹. A leitura foi realizada a 517 nm após 30 minutos, ao abrigo da luz, em espectrofotômetro UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 35, New York, EUA). A absorbância foi convertida em porcentagem da atividade antioxidante.

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_{dpph} - A_{ext}}{A_{dpph}} * 100 \quad \text{Equação 1}$$

Sendo, o A_{DPPH} a absorbância da solução de DPPH e o A_{Ext} a absorbância do extrato na solução. A capacidade antioxidante de cada amostra (IC₅₀) foi expressa como a concentração em µg/mL⁻¹ do extrato requerida para consumir (decrecer a concentração inicial) de DPPH em 50%.

2.6.2 Método FRAP

O poder de redução do ferro foi avaliado pelo método *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), de acordo com metodologia descrita por Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000). A atividade antioxidante em cada extrato foi quantificada usando curva padrão com solução de sulfato ferroso, e os resultados foram expressos em µM sulfato ferroso/g de amostra⁻¹.

2.7 Compostos fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada segundo o método de Folin-Ciocalteu, sendo usado o ácido gálico como padrão. Para isso, os compostos de interesse foram extraídos conforme Oliveira et al. (2012). Dos extratos foram retiradas alíquota de 500 µL e adicionado 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada 1:10 (v/v). A esses reagentes foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5 % (v/v). Após repouso de 2 horas em temperatura ambiente, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis (Perkin Elmer, Lambda 35) a 760 nm. A

quantificação dos compostos foi feita com ácido gálico (GAE) (100-750 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em mg GAE/100 g^{-1} de amostra (SINGLETON et al., 1999).

2.8 Quantificação de aminoácidos e aminas bioativas

Para tal, foram utilizadas amostras (1g), extraídas com 7 mL de ácido clorídrico 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, seguido de agitação em agitador orbital Tecnal® modelo TE-140 (250 rpm por 10 minutos), centrifugação (11.180 x g por 10 minutos a 4°C), e filtragem em papel de filtro e em membrana de 0,45 μm , segundo Adão e Glória (2005). Foram realizadas duas extrações sucessivas vertendo os filtrados no mesmo balão volumétrico.

2.8.1 Aminas bioativas

Nove aminas bioativas livres (espermidina, putrescina, agmatina, cadaverina, serotonina, histamina, tiramina, triptamina e feniletilamina) foram determinadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) por par iônico (Adão e Glória, 2005). Um sistema Shimadzu (Quioto, Japão) consistindo de bombas LC-10AD e injetor automático SIL-10AD VP foi utilizado, e as aminas foram separadas utilizando coluna Novapak C18 (3,9 a 300 mm, 4 μm , 60 Å, Waters, MA, EUA) e um gradiente de eluição de 0,2 mol/L de acetato de sódio e 15 mmol/L octanesulfonato de sódio com pH ajustado para 4,9 (fase móvel A) e acetonitrila (fase móvel B). A quantificação foi realizada por fluorimetria (340 e 445 nm de excitação e de emissão, respectivamente), após derivação pós-coluna com *o*-phtalaldeído, usando curvas analíticas para cada amina ($r^2 > 0,99$). Os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de amostra.

2.8.2 Aminoácidos

Vinte aminoácidos livres (ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, arginina, asparagina, cistina, fenilalanina, glicina, glutamina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina e valina), foram determinadas por cromatografia líquida de ultra performance (UPLC) (MOREIRA et al., 2017). Foi adicionado ao extrato o padrão interno L-norvalina para concentração final *in column* de 25 pmol antes de se completar o volume do balão. Para derivação, a 5 μL de extrato neutralizado foram adicionados 35 μL de tampão borato AccQ.Fluor® e 10 μL de reagente AQC. Após descanso,

o extrato foi aquecido a 55 °C/10 minutos em banho-maria e filtrado (0,22 µm, Whatman®, GE Healthcare, Reino Unido) e, analisadas. Foi usado um sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC (UPLC™) (Waters, Milford, MA, EUA), com detector ultravioleta Acquity™ a 249 nm, coluna de fase reversa BEH C18 (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm, Acquity UPLC™, e gradiente de eluição de A - tampão acetato de sódio a 0,1 mol.L⁻¹ ajustado para pH 4,80 com ácido acético, e B - acetonitrila, à uma vazão de 1 mL.min⁻¹. O volume de injeção de amostra foi 2 µL. O software Waters Empower 2 foi utilizado para controle do UPLC e aquisição dos dados. A concentração dos aminoácidos foi calculada por interpolação nas respectivas curvas analíticas ($R^2 \geq 0,971$) e expressos em mg/kg de amostra.

2.9 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada na Universidade Federal da Bahia, com 120 provadores não treinados, sob aprovação do Comitê de Ética (Processo do parecer 2.906.502). As amostras foram avaliadas por meio de testes de aceitação para os atributos de aparência, aroma, sabor, consistência e impressão global utilizando uma escala hedônica híbrida de 9 pontos, onde 0 corresponde a desgostei extremamente e 9 gostei extremamente, proposta por Villanueva, Petenate e Silva (2005).

2.10 Análise Estatística

Todas as determinações analíticas foram realizadas em triplicata e os valores foram expressos com a média ± desvio padrão. Os resultados das análises foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), Teste T ou Teste de Dunnet ($p \leq 0,05$) para variáveis que apresentaram distribuição normal. Os testes estatísticos não paramétricos de Fisher e Kruskal-Wallis ($p < 0,05$), foram usados para as respostas que não apresentaram distribuição normal, utilizando o *software* Statistica 7.0. Nos resultados do teste de aceitação foram aplicados à ANOVA e Dunnet para comparação das médias ($p < 0,05$), e identificar diferenças significativas entre as amostras quando comparado ao controle.

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização físico-química e química

Os resultados encontrados para a caracterização química, física e físico-química da *Spirulina* sp. LEB-18, e das formulações desenvolvidas do achocolatado contendo *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (5,0% e 8,75%), encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2

Valores médios obtidos nas determinações físicas, químicas e físico-químicas de *Spirulina* sp. LEB-18, *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada e formulações (controle e incorporada com *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada).

	<i>Spirulina</i> sp. LEB-18	<i>Spirulina</i> sp. LEB-18 microencapsulada	FControle	F1 (5,0%)	F2 (8,75)
Composição					
Umidade (%)	9,45 ± 0,59 ^A	5,13 ± 0,16 ^B	4,10 ± 0,27 ^a	4,02 ± 0,35 ^a	4,21 ± 0,26 ^a
Proteína bruta (%)	59,68 ± 0,63 ^{A*}	26,93 ± 1,08 ^{B*}	11,03 ± 0,46 ^b	12,00 ± 0,84 ^b	13,79 ± 0,94 ^a
Lípídeos totais (%)	8,27 ± 1,30 ^B	18,27 ± 1,60 ^A	5,63 ± 0,33 ^a	3,74 ± 0,54 ^b	3,66 ± 0,33 ^b
Cinzas (%)	9,27 ± 0,49 ^A	3,84 ± 0,75 ^B	2,50 ± 1,25 ^{a**}	3,09 ± 0,02 ^{a**}	2,76 ± 0,02 ^{**}
Carboidratos (%)	13,33 ± 0,00 ^B	45,83 ± 0,00 ^A	76,74 ± 0,00 ^a	77,15 ± 0,00 ^a	75,58 ± 0,00 ^a
Ficocianina (mg/g)	312,75 ± 0,16 ^{A*}	124,50 ± 0,32 ^{B*}	2,62 ± 0,01 ^a	46,50 ± 0,21 ^a	54,75 ± 0,14 ^b
Atividade de água	0,45 ± 0,01 ^A	0,46 ± 0,01 ^A	0,44 ± 0,00 ^b	0,47 ± 0,01 ^b	0,49 ± 0,00 ^a
Parâmetros físicos					
Molhabilidade (min)	8,66 ± 0,94 ^B	54,33 ± 0,47 ^A	5,66 ± 0,47 ^{a**}	29,66 ± 4,71 ^{a**}	27,33 ± 4,18 ^{a**}
Solubilidade (%)	51,88 ± 3,71 ^B	71,46 ± 2,20 ^A	79,13 ± 3,38 ^a	64,90 ± 1,48 ^b	73,16 ± 1,56 ^a
Higroscopicidade (%)	0,75 ± 0,12 ^B	0,82 ± 0,11 ^A	3,04 ± 0,27 ^a	1,05 ± 0,26 ^b	1,66 ± 0,32 ^b
Sedimentação (mL)	7,50 ± 0,40 ^A	3,30 ± 0,49 ^B	2,93 ± 0,09 ^a	2,00 ± 0,16 ^b	2,16 ± 0,18 ^b
Densidade da partícula (kg/m ³)	1,00 ± 0,00 ^{A*}	0,99 ± 0,00 ^{A*}	0,99 ± 0,00 ^{a**}	1,03 ± 0,00 ^{b**}	1,03 ± 0,00 ^{**}
Diâmetro das partículas (µm)	4601,33 ± 391,74 ^{A*}	543,80 ± 61,56 ^{B*}	398,63 ± 191,58 ^a	680,75 ± 231,60 ^b	616,60 ± 146,44 ^b
Potencial Zeta (mV)	-34,60 ± 0,07 ^A	-33,26 ± 1,22 ^A	-32,63 ± 0,92 ^a	-35,50 ± 1,21 ^a	-31,80 ± 1,83 ^a
PdI	1,00 ± 0,00 ^{A*}	0,50 ± 0,05 ^{B*}	0,81 ± 0,11 ^a	0,85 ± 0,03 ^a	0,96 ± 0,05 ^a
Parâmetros químicos					
Compostos fenólicos totais (mg GAE/100 g ⁻¹)	662,31 ± 0,00 ^A	652,31 ± 0,00 ^A	418,98 ± 0,00 ^b	602,31 ± 0,01 ^a	683,98 ± 0,00 ^a
Capacidade antioxidante					
DPPH (µg/mL ⁻¹)	0,909 ± 0,00 ^A	0,612 ± 0,04 ^B	0,542 ± 0,02 ^a	0,488 ± 0,01 ^b	0,579 ± 0,01 ^a
FRAP (µMFe ²⁺ /g ⁻¹)	272,05 ± 3,44 ^A	58,76 ± 1,71 ^B	182,35 ± 1,67 ^a	177,28 ± 6,02 ^a	150,82 ± 1,19 ^b

F1: A chocolateado com adição de 5% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; F2: chocolateado com adição de 8,75% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; Médias ± DP na mesma linha acompanhadas da mesma letra maiúscula não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste T entre a *Spirulina* sp. LEB-18 e S1; Médias ± DP na mesma linha acompanhadas da mesma letra minúscula não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste Dunnett entre o FControle, F1 e F2; *Médias ± DP na mesma linha acompanhadas da mesma letra maiúscula não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Fisher entre a *Spirulina* sp. LEB-18 e S1; **Mediana ± DP na mesma linha acompanhadas da mesma letra minúscula não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Kruskal-Wallis entre o FControle, F1 e F2.

A biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada com maltodextrina 20DE e lecitina de soja (5:1:4 m/m) manteve a mesma atividade de água da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 original, no entanto, como esperado sofreu redução dos teores de umidade (46%), proteínas (55%), cinzas (58%) e ficocianina (60%), diferindo estatisticamente ao nível de ($p < 0,05$). Por outro lado, no microencapsulado aumentou a quantidade de lipídeos totais (221%) e carboidratos (344%), também com diferença estatística ($p < 0,05$) comparada a biomassa original (Tabela 2). Portanto, houve um incremento proteico de 2,76% na F2 e 0,97% na F1 em relação à formulação controle. O aumento do teor proteico nas formulações F1 e F2 podem contribuir para o aumento da capacidade de retenção de água, diminuindo o teor de água livre. Pães sem glúten incorporados de 3% de *Spirulina* sp. LEB-18 apresentaram maior teor proteico em relação ao controle, sem adição da microalga (FIGUEIRA et al., 2011).

As formulações de achocolatado desenvolvidas com adição do microencapsulado (F1=5% e F2=8,75%, Tabela 2) resultaram em valores maiores de atividade de água (A_w) e proteínas nas formulações F1 e F2, e menores (F1 e F2) de lipídios totais, em relação ao Fcontrole ($p < 0,05$). Independente da Fcontrole ou F1 e F2, os valores reduzidos de A_w (0,44-0,49) indicam baixa disponibilidade de água para algumas reações químicas e crescimento microbiano, o que é favorável para produtos desidratados (QUEK et. al., 2007).

O aumento significativo ($p < 0,05$) de ficocianina na F1 (177%) e F2 (209%) é oriundo da incorporação do microencapsulado (Tabela 2). Quanto aos teores de umidade, cinzas e carboidratos, não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as três formulações.

A molhabilidade está diretamente relacionada com a dissolução do produto e, constata-se (Tabela 2), que o microencapsulado resultou em um aumento de 6 vezes deste parametro comparado a biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18, e por consequência também F1 e F2 com a Fcontrole ($p < 0,05$). A menor molhabilidade de um produto desidratado pode estar relacionada à diminuição da solubilidade da proteína desnaturada, que causa redução da capacidade de retenção de água e enfraquecimento nas propriedades reológicas (FANG, SELOMULYA e CHEN, 2007; SAKIN-YILMAZER et al., 2014).

A solubilidade em água da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 (Tabela 2) é bastante reduzida (51,88%), e o encapsulamento resultou em um aumento significativo de 28% deste parametro ($p < 0,05$), que se aproximou do achocolado da FControle (79,13%). Comparadas a

FControle, F2 não apresentou diferença estatística ($p < 0,05$), enquanto F1 sofreu redução significativa ($p < 0,05$) deste parâmetro. A formulação F2 contém maior teor do microencapsulado (8,75%), e por consequência maior teor de lecitina de soja (40%, Tabela 1), o que garantiu a manutenção da solubilidade devido as propriedades hidrófilas e lipofílicas do emulsificante.

A higroscopicidade da FControle diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) de F1 e F2, assim como a biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 diferiu do microencapsulado (Tabela 2). Nas formulações F1 e F2 que contém maltodextrina como material de parede do microencapsulado, houve uma redução da higroscopicidade de 1,99% e 1,38%, respectivamente, comparadas ao FControle. Conforme o padrão estabelecido pelo GEA Niro Research Laboratory (2010), grupos com higroscopicidade inferior a 10% são considerados não higroscópicos. Sendo assim, todas as amostras apresentaram baixa higroscopicidade, característica desejável para produtos desidratados. Segundo Tonon et al. (2009) este comportamento se deve ao fato da maltodextrina ser um material de baixa higroscopicidade e confirma a eficiência do seu uso como agente carreador no sentido de reduzir a higroscopicidade dos produtos desidratados.

A sedimentação da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 diminuiu de 7,50 para 3,30 mL (Tabela 2) do microencapsulado. A adição do encapsulado resultou em um declínio do teor desse parâmetro das formulações F1 e F2 significativo ($p < 0,05$), quando comparado ao achocolado da FControle. A adição da maltodextrina em pó nas formulações proporciona a diminuição da fluidez da bebida devido ao aumento da viscosidade do meio (O'LEARY; HANSON; SMITH, 2011; HOUGH; SANCHEZ, 1998), além de evitar a sedimentação e melhorar a consistência em bebidas achocolatadas (YANNES; DURÁN; COSTELL, 2002).

A densidade de partículas não sofreu alteração do processo de microencapsulação (0,99 e 1,00 kg/m³), e os valores foram similares aos das formulações FControle, F1 e F2 (0,99, 1,03 e 1,03 kg/m³, respectivamente).

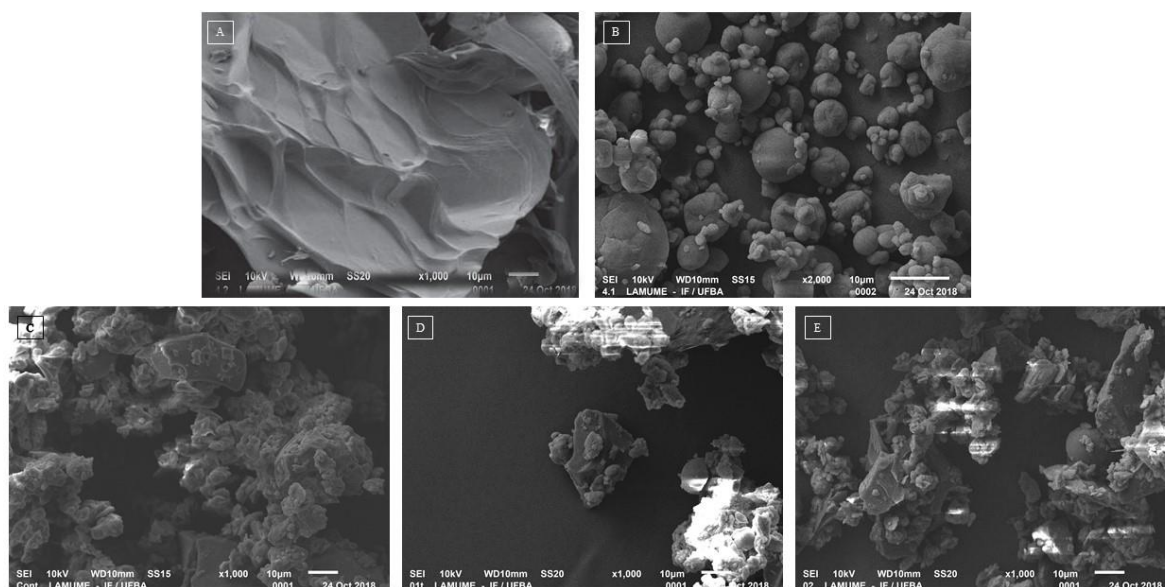
O processo de microencapsulação da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 resultou em elevada redução do diâmetro médio das partículas (Tabela 2), mas mantendo-as em um valor de $543,80 \pm 61,56 \mu\text{m}$, e isto pode ter facilitado a solubilidade. Os diâmetros médios das partículas das formulações de achocolatado desenvolvidas ($680,75 \pm 231,60 \mu\text{m}/\text{F1}$; $616,60 \pm 146,44 \mu\text{m}/\text{F2}$) foram superiores ao FControle ($398,63 \pm 191,58 \mu\text{m}$). O tamanho da partícula

influência nas propriedades físico-químicas, cinética de liberação de compostos e na biodistribuição. Desta forma, quando há um controle maior no tamanho das estruturas, em especial partículas em escala nano e de menores dimensões, estas são capazes de interagir mais facilmente com o composto de interesse durante determinada aplicação (REINECCIUS, 2004).

Nenhuma amostra diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) com relação ao potencial zeta (PZ), Tabela 2. Os valores de PZ negativos e superiores a 30 mV caracterizam todas as amostras como de boa estabilidade de suspensão devido à repulsão das partículas, e a carga superficial previne a reagregação das mesmas (MOHANRAJ; CHEN, 2006). Quanto ao índice de polidispersão (PDI), as formulações F1 e F2 não apresentaram diferença estatística comparadas a FControle ($p < 0,05$), porém, apresentaram valores de PDI próximos a 1, resultando a formação de sistemas polidispersos. A Figura 1 apresenta a microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras analisadas, sendo que a Figura 1(B), apresenta a forma esférica do microencapsulado de *Spirulina* sp. LEB-18 com maltodextrina e lecitina de soja, assim como a Figura 1(D) e 1(E) apresentam pequenas microcapsulas esféricas distribuídas nas formulações F1 e F2. Os materiais de parede da microesfera possuíram a finalidade de proteger os compostos oriundos da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18, conseqüentemente espera-se agregar alegação funcional as formulações com adição das microcapsulas.

Figura 1

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de *Spirulina* sp. LEB-18 em pó (A), *Spirulina* sp. LEB-18 *platensis* microencapsulada com maltodextrina e lecitina de soja (B), Formulação Controle (C), Achocolatado com adição de 5,0% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (D), e de Achocolatado com adição de 8,75% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (E).



Os teores de compostos fenólicos totais (Tabela 2) apresentaram resultados promissores sem alteração significativa ($p < 0,05$) devido ao processo de microencapsulação da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18, e a adição do microencapsulado ao achocolatado aumentou em 31 e 39% os teores destes bioativos (418,98/FControle, 602,31/F1, e 683,98 mg GAE/100 g⁻¹/F2). Desta forma, o aumento dos compostos fenólicos nas formulações de achocolatado com adição de *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada pode contribuir consideravelmente para aumentar as propriedades funcionais. De Marco et al. (2014), ao incorporarem biomassa de *Spirulina* em massas elaboradas com farinha de trigo constataram aumentos nos teores de proteína e compostos fenólicos totais, e na atividade antioxidante. Salvador (2011), obteve resultados inferiores de compostos fenólicos totais em amostras de achocolatados comerciais (5,91 a 3,23 mg GAE/100 g⁻¹ material úmido), utilizando diferentes solventes para extração. Genovese e Lannes (2009), realizaram comparação entre o conteúdo de fenólicos totais e a capacidade antirradical de produtos de chocolate derivados de cacau e de cupuaçu, sendo o conteúdo de fenólicos totais para o pó de cacau natural (3647 mg GAE/100g⁻¹).

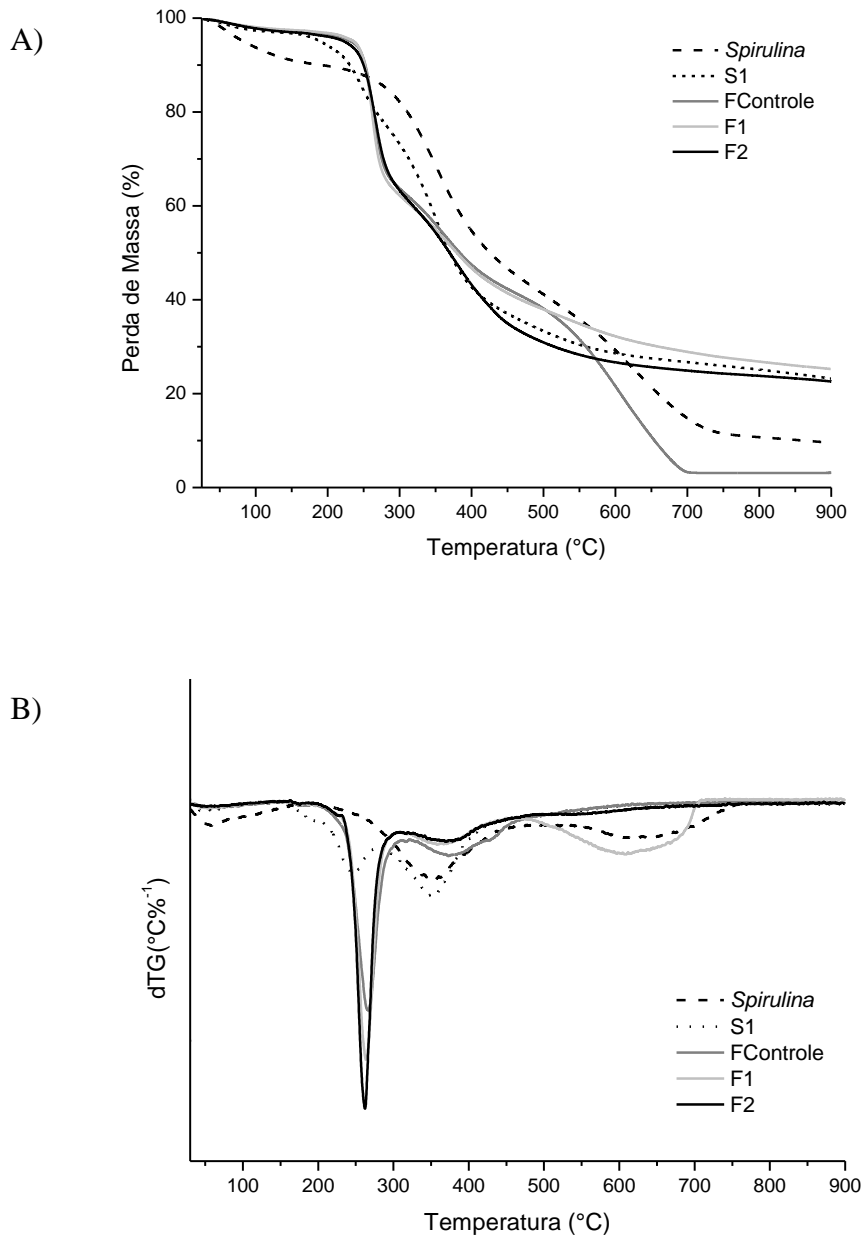
Os dados do DPPH apresentaram variações de 0.488 a 0.909 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para a F1 e *Spirulina* sp. LEB-18 (Tabela 2) sendo que, quanto menor for o valor do IC₅₀ maior a atividade antioxidante de um composto (VILLANO et al., 2007). O extrato metanólico da *Spirulina* sp. LEB-18 e do microencapsulado apresentam grande quantidade de substâncias fitoquímicas biologicamente ativas (esteróis, flavonóides, taninos e antraquinona) (SHALABY e SHANAB, 2013) que pode exibir grande atividade antirradical e antioxidante complementares àquelas exercidas por fenólicos.

A determinação da capacidade antioxidante de produtos derivados de cacau se torna cada vez mais o foco dos estudos científicos (TODOROVIC et al., 2015), porém, um método padronizado para determinação da capacidade antioxidante de alguns alimentos e bebidas não foi estabelecido, sendo recomendada, a utilização de mais de um método. Os ensaios DPPH e FRAP são os métodos mais utilizados para investigar as interações de compostos fenólicos em termos de atividade antioxidante (SKROZA et al., 2015). Salvador et al. (2019) realizaram estudos de capacidade antioxidante com o ensaio FRAP com pó de cacau alcalino e chocolates amargos, encontrando valores médios de 140,81 e 240,65 $\mu\text{M Fe}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$. Os valores encontrados para as formulações variaram de 150.82 a 182.35 $\mu\text{M Fe}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$, para a F2 e o Fcontrole, respectivamente (Tabela 2).

O processo de microencapsulação de biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18 reduziu a estabilidade térmica pois aparece evento em 250°C (20,07%), provavelmente devido a presença da maltodextrina e lecitina de soja (Tabela 1). Entretanto, o evento acontece numa temperatura alta, não afetando o processo de achocolatado que emprega temperaturas inferiores a citada. Comparando o FControle, F1 e F2, constata-se que todas apresentam um segundo evento térmico em 275°C com diferentes perdas de massa (FControle: 37,45%; F1: 35,06%; F2: 36,54%), estas perdas foram proporcionais ao teor de maltodextrina e lecitina de soja incorporadas. Um terceiro evento térmico, também foi observado para as três formulações em 375°C, devido a incorporação da microalga. Portanto, a incorporação da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada não altera a estabilidade térmica dos achocolatados.

Figura 2

Curvas TG das amostras de *Spirulina* sp. LEB-18, *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (S1) e formulações (Fcontrole e F1 e F2 incorporadas com *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada (A), e respectivas dTG (B).



Na Tabela 3 foram apresentados os teores de aminas bioativas e aminoácidos das formulações de achocolatado. Dentre as nove aminas analisadas, sete foram detectadas nas formulações de achocolatado (Tabela 3). Apenas a serotonina e a triptamina não foram encontradas possivelmente porque é removida no processo de desengorduramento. Os

compostos espermidina, feniletilamina e putrescina apresentaram valores inferiores nas formulações com adição do microencapsulado. Quanto à quantificação de agmatina e cadaverina, as formulações com microencapsulado, apresentaram valores iguais ou maiores que o Fcontrole. As formulações com adição do microencapsulado não apresentaram níveis de histamina e tiramina na sua composição. A ingestão de alimentos com elevada concentração de tiramina pode causar ação vasopressora, aumento da pressão sistólica e ritmo cardíaco, além de náuseas, vômitos, dores de cabeça e enxaquecas (ARRIETTA e PRATS-MOYA, 2012), enquanto a histamina está associada a casos de intoxicação alimentar (SHALABY, 1996; SILLA-SANTOS, 1996). Glória e Vieira (2007) reportaram que aminoácidos livres podem ocorrer naturalmente em alimentos, mas também são liberados de proteínas, como resultado da atividade proteolítica ou degradação térmica.

Quando um ou mais aminoácidos aparecem na proteína em quantidades inferiores às requeridas pelo organismo receptor ou em relação a um padrão de referência, tais aminoácidos são tidos como limitantes (LOPES et al., 2008). A qualidade protéica de um alimento está relacionada com sua composição de aminoácidos, principalmente os essenciais, e com sua digestibilidade (FERREIRA et al., 2005). Segundo Santos Lopes, Pezoa-García e Amaya-Farfán (2008), a isoleucina, tirosina e histidina são aminoácidos limitantes para as amêndoas de cacau, fato que pode ser comprovado devido baixa teor desses componentes na formulação controle e um aumento desses compostos na F1 e F2, que foram influenciados pela adição do microencapsulado.

Não foram encontrados ácido aspártico, ácido glutâmico, cistina, histidina e treonina nas diferentes formulações. O teor de arginina, leucina, lisina, metionina e valina apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). As proteínas do soro possuem elevados níveis de lisina e leucina (LIU, XIONG e BUTTERFIELD et al., 2000). No estudo, ao diminuir os teores de soro de leite nas formulações F1 e F2, os valores de lisina e leucina foram reduzidos. Além disso, a carência em aminoácidos sulfurados e lisina é característica do perfil aminoacídico de algas verdes azuis (JACOB-LOPES et al., 2006; DE JESUS et al., 2018), como a *Spirulina* sp. LEB-18. O teor de amônia diminuiu entre a formulação controle e F1 e F2, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$).

Tabela 3

Teores médios \pm desvios padrão das amins bioativas e aminoácidos livres das formulações de achocolatado controle e incorporadas com *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada.

	FControle	F1 (5,0%)	F2 (8,75%)
Aminas bioativas			
Agmatina	1,73 \pm 0,66 ^b	10,77 \pm 0,05 ^a	17,79 \pm 0,13 ^a
Cadaverina	0,60 \pm 0,02 ^a	0,60 \pm 0,02 ^a	0,65 \pm 0,02 ^a
Espermidina	2,87 \pm 0,03 ^a	1,79 \pm 0,02 ^b	2,38 \pm 0,03 ^b
Feniletilamina	1,77 \pm 0,01 ^a	1,32 \pm 0,03 ^b	1,44 \pm 0,02 ^b
Histamina	1,03 \pm 0,02 ^a	nd ^b	nd ^b
Putrescina	1,39 \pm 0,02 ^a	0,74 \pm 0,02 ^b	0,76 \pm 0,06 ^b
Serotonina	nd ^b	nd ^b	nd ^b
Tiramina	2,49 \pm 0,01 ^a	nd ^b	nd ^b
Triptamina	nd ^a	nd ^a	nd ^a
Aminoácidos			
Ácido aspártico	nd ^a	nd ^a	nd ^a
Ácido glutâmico	nd ^a	nd ^a	nd ^a
Alanina	29,07 \pm 0,01 ^a	nd ^b	nd ^b
Arginina	20,80 \pm 0,06 ^a	10,42 \pm 0,01 ^b	12,53 \pm 0,69 ^b
Cistina	nd ^a	nd ^a	nd ^a
Fenilalanina	9,55 \pm 0,04 ^a	nd ^b	nd ^a
Histidina	nd ^a	nd ^a	nd ^a
Isoleucina	0,32 \pm 0,05 ^b	5,14 \pm 0,13 ^a	8,06 \pm 0,01 ^a
Leucina	11,13 \pm 0,03 ^b	26,90 \pm 2,14 ^a	31,58 \pm 0,01 ^a
Lisina	6,06 \pm 0,01 ^a	0,22 \pm 0,01 ^b	0,48 \pm 0,08 ^b
Metionina	11,38 \pm 0,01 ^b	18,83 \pm 0,23 ^a	23,03 \pm 0,06 ^a
Prolina	9,76 \pm 0,04 ^b	10,80 \pm 0,69 ^b	13,96 \pm 0,05 ^a
Tirosina	nd ^b	15,35 \pm 0,08 ^a	18,37 \pm 0,69 ^a
Treonina	nd ^a	nd ^a	nd ^a
Valina	8,48 \pm 0,02 ^b	3,42 \pm 0,03 ^a	16,16 \pm 0,06 ^a
Amônia	17,45 \pm 0,08 ^a	3,99 \pm 0,01 ^b	13,23 \pm 0,01 ^b

F1: Achocolatado com adição de 5,0% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; F2: Achocolatado com adição de 8,75% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; Médias \pm DP na mesma linha acompanhadas da mesma letra minúscula não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste Dunnett entre o FControle, F1 e F2; nd: Não detectado; Os resultados foram expressos em mg/kg.

A Tabela 4 apresenta os valores médios de cada atributo da aceitação sensorial para as formulações desenvolvidas. Verificou-se que para todos os atributos analisados, as F1 e F2 diferiram significativamente da formulação controle. Os consumidores notaram diferença acentuada na aparência do produto com adição da microalga microencapsulada nas formulações, principalmente devido a alteração da cor, passando da tonalidade do marrom para marrom esverdeado. Segundo Lucas et al. (2018), a cor é um dos principais parâmetros a ser considerado em estudos com adição de microalgas, visto que podem modificar a tonalidade do produto afetando a aceitação pelos consumidores. Em relação a consistência, as três formulações mantiveram a mesma média, sendo aprovada pelos consumidores. Quanto ao aroma e o sabor, houve um declínio na média em relação ao controle. Para a impressão global, as médias obtidas para as formulações F1 e F2, mantiveram-se no escore “nem gostei/nem desgostei”, indicando que o produto pode ser consumido por provadores que procuram alimentos com alegação de propriedades funcionais.

Tabela 4

Valores atribuídos pelos provadores a cada atributo para as diferentes formulações de achocolatado.

	FControle	F1 (5,0%)	F2 (8,75%)
Aparência	7.32 ± 1.56 ^a	3.95 ± 2.06 ^b	3.34 ± 2.01 ^b
Aroma	6.90 ± 1.45 ^a	5.27 ± 1.84 ^b	4.92 ± 2.07 ^b
Sabor	6.95 ± 1.44 ^a	5.08 ± 2.18 ^b	4.67 ± 2.00 ^b
Consistência	6.83 ± 1.54 ^a	6.33 ± 1.82 ^b	6.01 ± 1.81 ^b
Impressão Global	7.10 ± 1.42 ^a	5.43 ± 2.00 ^b	5.03 ± 1.91 ^b

FControle: Achocolatado sem adição de *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; F1: Achocolatado com adição de 5,0% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; F2: Achocolatado com adição de 8,75% da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada; Médias ± DP na mesma linha acompanhadas da mesma letra minúscula não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

Medeiros e Lannes (2009) avaliaram quimicamente e sensorialmente os cupuaçu em pó, sob a forma de achocolatados e verificaram que os produtos analisados apresentam diferentes propriedades químicas daquelas do cacau, representando uma vantagem em relação ao teor de metilxantinas, sendo que os aromas comerciais foram preferidos nos testes sensoriais. De Marco et al. (2014) realizaram um estudo a fim de avaliar o efeito da incorporação de *Spirulina* sp. LEB-18 na qualidade tecnológica e nutricional de massas secas

(macarrão), destacando o aumento do teor proteico, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Beheshtipour et al. (2013), adicionaram microalgas no leite fermentado probiótico, visando o aumento da viabilidade dos probióticos, destacando que o produto sofreu alterações sensoriais.

Os achocolatados desenvolvidos quando misturados com leite de vaca, resulta numa bebida que mascara o sabor e aroma residual tão característico e intenso da *Spirulina* sp. LEB-18, embora alguns consumidores possam inicialmente achar sua cor esverdeada não característico da bebida. Estes achocolatados desenvolvidos também podem ser utilizados na elaboração e outros produtos como bolo, biscoitos, entre outros.

4. Considerações Finais

Este estudo obteve características físicas adequadas na microencapsulação da *Spirulina* sp. LEB-18, como a redução da sedimentação, o aumento da solubilidade e higroscopicidade inferior a 10%, apresentando grande potencial para ser incorporada em produtos alimentícios. A *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada pode ser utilizada para melhorar propriedades físico-químicas nos produtos desenvolvidos, aumentando o teor do proteico do produto, reduzindo a quantidade de lipídeos totais e mantendo a umidade adequada para alimentos em pó. E, as análises químicas apresentaram resultados promissores no desenvolvimento das formulações de achocolatado com adição da *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada, promovendo o aumento dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante. Além disso, as formulações de achocolatado com adição da *Spirulina* sp. LEB-18 apresentaram sete aminas bioativas (agmatina, cadaverina, espermidina, feniletilamina, putrescina e tiramina) presentes dentre as nove analisadas e seis aminoácidos essenciais favoráveis para a saúde humana.

Através dos resultados obtidos na análise sensorial é possível incorporar a *Spirulina* sp. LEB-18 microencapsulada no desenvolvimento do achocolatado em pó, tornando-o um produto com alegação de propriedades de funcionais como o aumento dos compostos bioativos, fenólicos e atividade antioxidante, podendo ser utilizado também na confecção de bolos, biscoitos e demais produtos alimentícios.

Referências Bibliográficas

ADÃO, R.C.; GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of 'Prata' banana (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*). **Food Chemistry**, v. 90, p. 705-711, 2005.

ANDRADE, B. B.; CARDOSO, L. G.; DE JESUS ASSIS, D.; COSTA, J. A. V.; DRUZIAN, J. I.; DA CUNHA LIMA, S. T. Production and characterization of *Spirulina* sp. LEB 18 cultured in reused Zarrouk's medium in a raceway-type bioreactor. **Bioresource technology**, v. 284, p. 340-348, 2019.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ARRIETA, M.P.; PRATS-MOYA, M.S. Free amino acids and biogenic amines in Alicante Monastrell wines. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1511-1519, 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 16 ed. Arlington: AOAC, v. 1, 1995.

BARKALLAH, M.; DAMMAK, M.; LOUATI, I.; HENTATI, F.; HADRICH, B.; MECHICHI, T.; AYADI, M. A.; FENDRI, I.; ATTIA, H.; ABDELKAFI, S. Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. **Food Science and Technology**, v. 84, p. 323-330, 2017.

BEHESHTIPOUR, H.; MORTAZAVIAN, A. M.; MOHAMMADI, R.; OHRABVANDI, S.; KHOSRAVI-DARANI, K. Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic fermented milks. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 2, p. 144-154, 2013.

BENNETT, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, v. 58, n. 2, p. 419-435, 1973.

BEZERRA, P. Q. M.; MATOS, M. F. R. de; RAMOS, I. G.; MAGALHÃES-GUEDES, K. T.; DRUZIAN, J. I.; COSTA, J. A. V.; NUNES, I. L. Innovative functional nanodispersion: Combination of carotenoid from *Spirulina* and yellow passion fruit albedo. **Food Chemistry**, v. 285, p. 397-405, 2019.

BHANDARI, B. R. et al. Flavor encapsulation by spray drying: Application to citral and linalyl acetate. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 217-221, 1992.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº. 264, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para chocolate e produtos de cacau. **DOU**, Brasília, DF, 23 de setembro de 2005.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3600, p. 1248–1252, 2000.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 6, n. 4, p. 420–428, 2005.

DE JESUS, C. S.; UEBEL, L. DA S.; COSTA, S. S.; MIRANDA, A. L.; DE MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J.I. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. **Bioresource technology**, v. 256, p. 86-94, 2018.

DE MARCO, E. R.; STEFFOLANI, M. E.; MARTINEZ, C. S.; LEÓN, A. E. Effects of *Spirulina* sp. LEB-18 biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **Food Science and Technology**, v. 58, p. 102-108, 2014.

DIAS, M. I.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARREIRO, M. F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food & Function**, v. 6, n. 4, p. 1035-1052, 2015.

FANG, Y.; ROGERS, S.; SELOMULYA, C.; CHEN, X. D. Functionality of milk protein concentrate: Effect of spray drying temperature. **Biochemical Engineering Journal**, v. 62, p. 101-105, 2011.

FERREIRA, R.R.; VARISI, V.A.; MEINHARDT, L.W.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Are high lysine cereal crops still a challenge? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 985-994, 2005.

FIGUEIRA, F. da S.; CRIZEL, T. de M.; SILVA, C. R. e SALAS-MELLADO, M. de las M. Pão sem gluten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 4, p. 308-316, 2011.

FOOD ENGLAND. The Cocoa and Chocolate Products (England). **Nº 1659 Regulations 2003**.

FUCHS, M.; TURCHIULI, C.; BOHIN, M.; CUVELIER, M. E.; ORDONNAUD, C.; PEYRAT-MAILLARD, M. N.; DUMOULIN, E. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 1, p. 27–35, 2006.

GEA Niro Research Laboratory. GEA Niro analytical methods. 2010. Disponível em: <<http://www.niro.com/methods>>. Acesso em: 28 de fevereiro de 2019.

- GENOVESE, M. I.; LANNES, S. C. da S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 4, p. 810-814, 2009.
- GLORIA, M. B. A.; VIEIRA, S. M. Technological and toxicological significance of bioactive amines in grapes and wines. **Food Science and Technology**, v. 1, p. 258-270, 2007.
- HOUGH, G.; SANCHEZ, R. Descriptive analysis and- external preference mapping of powdered chocolate milk. **Food Quality and Preference**, v. 9, n. 4, p. 197-204, 1998.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 2 ed. São Paulo, v. 1, p. 14-63, 1976.
- JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L.Q.; QUEIROZ, M.I.; NETTO, F.M. Protein characterisation of the *Aphanothece Microscopica* Nägeli cyanobacterium cultivated in parboiled rice effluent. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 482-488, 2006.
- LIU, G.; XIONG, Y. L.; BUTTERFIELD, D. A. Chemical, physical, and gel forming properties of oxidized myofibrils and whey and soy proteins isolate. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 65, n. 5, p. 811-818, 2000.
- LOPES, A. S.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; AMAYA-FARFÁN, J. Nutritional quality of cupuassu and cocoa proteins. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 263-268, 2008.
- LUCAS, B. F.; DE MORAES, M. G.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. **Food Science and Technology**, v. 90, p. 270-276, 2018.
- MEDEIROS, M. L.; LANNES, S. C. da S. Chemical evaluation of cocoa substitutes and study of formulated chocolate drink powder. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 2, p. 247-253, 2009.
- MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K.; SAEID, A. Plant growth biostimulants, dietary feed supplements and cosmetics formulated with supercritical CO₂ algal extracts. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 66, 2017.
- MINIFIE, B. W.; CHOCOLATE, Cocoa. Confectionery: Science and Technology. **Part II**, 1989.
- MISHRA, P.; MISHRA, S.; MAHANTA, C. L. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Embllica officinalis*) juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, n. 3, p. 252-258, 2014.
- MOHANANRAJ, V.J.; CHEN, Y. Nanoparticles - A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

MOREIRA, G. M. M.; SOBRAL, D.; COSTA, R. G. B.; PAULA, J. C. J.; FERNANDES, C. e GLÓRIA, M. B. A. Performance parameters of a UHPLC-UV method for quantification of free amino acids and bioactive amines in Mozzarella, Prato, Parmesan and Gorgonzola cheeses. **Journal of Candido Tostes Dairy Institute**, v. 72, n. 4, p. 192-204, 2017.

O'LEARY, M.; HANSON, B.; SMITH, C.H. Variation of the apparent viscosity of thickened drinks. **International Journal of Language & Communication Disorders**, v. 46, n. 1, p. 17-29, 2011.

OLIVEIRA, P. S.; MULLER, R.C.S.; DANTAS, K. G. F.; ALVES, C.N.; VASCONCELOS, M. A. M.; VENTURIERI, G. C. Phenolic acids, flavonoids and antioxidant activity in honey of *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) and *Apis mellifera* (Apidae, Apini) from the Amazon. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012.

PULIDO, R. BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

QUEK, S.Y; CHOK, N.K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**. v. 46, n. 5, p. 386-392, 2007.

REINECCIUS, G. A. The spray drying of food flavors. **Drying technology**, v. 22, n. 6, p. 1289-1324, 2004.

SALVADOR, I. **Atividade antioxidante e teor de resveratrol em cacau, chocolates, achocolatados em pó e bebidas lácteas achocolatadas**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SALVADOR, I.; MASSARIOLI, A. P.; SILVA, A. P.; MALAGUETTA, H.; MELO, P. S.; ALENCAR, S. M. Can we conserve trans-resveratrol content and antioxidant activity during industrial production of chocolate? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 83-89, 2019.

SAKIN-YILMAZER, M.; DIRIM, S. N.; DI PINTO, D.; KAYMAK-ERTEKIN, F.; Yoghurt with candied chestnut: freeze drying, physical, and rheological behaviour. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 3949-3955, 2014.

SANTOS LOPES, A.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; AMAYA-FARFÁN, J. Nutritional quality of cupuassu and cocoa proteins. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 263-268, 2008.

SANTOS, J. M. L. Mercado. **Economias e Ecossistemas no Alto Barroso, Montalegre, Edição da Câmara Municipal de Montalegre, Portugal**, 1992.

SARALA, M.; VELU, V.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; SINGH, R. P. Spray drying of *Tinospora cordifolia* leaf and stem extract and evaluation of antioxidant activity. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 119-122, 2012.

- SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 675–690, 1996.
- SHALABY, E. A.; SHANAB, S. M. M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*, **Indian Journal of Geo-Marine Science**, v. 42, n. 5, p. 556-654, 2013.
- SILLA-SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 29, p. 213–231, 1996.
- SILVA, E.K.; FERNANDES, R.V.B.; BORGES, S.V.; BOTREL, D.A.; QUEIROZ, F. Water adsorption in rosemary essential oil microparticles: Kinetics, thermodynamics and storage conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 140, p. 39-45, 2014.
- SILVEIRA, S. T.; BURKERT, J. F. M.; COSTA, J. A. V.; BURKERT, C. A. V.; KALIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource technology**, v. 98, p. 1629-1634, 2007.
- SINGLETON, V. L; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymology**, v. 299, p. 152-78, 1999.
- SKROZA, D.; MEKINIĆ, I.G.; SVILOVIĆ, S.; ŠIMAT, V.; KATALINIĆ V. Investigation of the potential synergistic effect of resveratrol with other phenolic compounds: A case of binary phenolic mixtures. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 38, p. 13-18, 2015.
- SOHEILI, M.; KHOSRAVI-DARANI, K. The potential health benefits of algae and micro algae in medicine: A review on *Spirulina platensis*. **Current Nutrition & Food Science**, v. 7, n. 4, p. 279-285, 2011.
- TODOROVIC, V.; REDOVNIKOVIC, I. R.; TODOROVIC, Z.; JANKOVIC, G.; DODEVSKA, M.; SOBAJIC, S. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 41, p. 137–143, 2015.
- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of drying air temperature and carrier agent concentration on the physicochemical properties of açai juice powder. **Food Science and Technology**, v. 29, p. 444-450, 2009.
- VILLANO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; MOYÁ, M. L.; TRONCOSO, A. M.; GARCÍA-PARRILLA, M. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 230-235, 2007.
- VILLANUEVA, N. D. M. ; PETENATE, A. J.; SILVA, M. A. A. P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**, v. 16, n. 8, p. 691-703, 2005.

WELLS, M. L.; POTIN, P.; CRAIGIE, J. S.; RAVEN, J. A.; MERCHANT, S. S.; HELLIWELL, K. E.; BRAWLEY, S. H. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 949-982, 2017.

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

YANES, M.; DURÁN, L.; COSTELL, E. Rheological and optical properties of commercial chocolate milk beverages. **Journal of Food Engineering**, v. 51, n. 3, p. 229-234, 2002.