

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Gabriela Gomes Minatel

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOMASSAS COMERCIAIS DE SPIRULINA PARA USO
COMO INGREDIENTE**

Florianópolis

2021

Gabriela Gomes Minatel

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOMASSAS COMERCIAIS DE SPIRULINA PARA USO
COMO INGREDIENTE**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Orientador: Prof. Dr. Giustino Tribuzi

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra

Minatel, Gabriela Gomes
CARACTERIZAÇÃO DE BIOMASSAS COMERCIAIS DE SPIRULINA
PARA USO COMO INGREDIENTE / Gabriela Gomes Minatel ;
orientador, Giustino Tribuzi, 2021.
62 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2. Proteína. 3.
Propriedades Físicas. 4. Composição. 5. Digestibilidade. I.
Tribuzi, Giustino. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
III. Título.

Gabriela Gomes Minatel

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOMASSAS COMERCIAIS DE SPIRULINA PARA USO
COMO INGREDIENTE**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Florianópolis, 16 de setembro de 2021.

Prof^a. Dr^a. Ana Carolina de Oliveira Costa
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Giustino Tribuzi
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.Dr. Juliano De Dea Lindner
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Itaciara Larroza Nunes
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus pais, a minha irmã e ao meu namorado, por todo suporte e apoio necessário para que eu chegasse até aqui, numa união de esforços sem medida.

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata, primeiramente, aos meus pais Angelo e Silvana, que desde muito cedo não mediram esforços para que eu tivesse em minhas mãos todas as ferramentas necessárias para concluir esta etapa, além do amor incondicional e afeto que sempre recebi.

Agradeço também a minha irmã Pollyana que sempre foi a minha melhor amiga e companheira, me dando muito suporte o tempo todo. Obrigada por estar ao meu lado sempre.

Agradeço a toda minha família que sempre me desejou o bem e o sucesso em todas as áreas da minha vida, sendo pessoas essenciais em toda essa caminhada.

Agradeço ao meu namorado, Carlos Caffeu, que em meio a todas as mudanças se fez presente o tempo todo e teve toda a paciência do mundo, sendo compreensivo e carinhoso a todo instante. Obrigada por confiar sempre em mim e a vibrar comigo.

Sou grata ao meu orientador Giustino Tribuzi por ter aceitado a tarefa de me orientar, disponibilizando todos os recursos necessários para a execução deste projeto e transmitindo todo o conhecimento possível para a construção dele.

Agradeço imensamente a Mariana Demarco que me ajudou muito na elaboração de todas as etapas deste trabalho, estando comigo na execução das análises e me auxiliando em cada parágrafo escrito, além da companhia que me fez durante todos esses dias e de ter tido a paciência de me socorrer sempre que eu chamasse.

Agradeço a Maria Luiza Tonetto Silva e a Prof^a. Dr^a. Maria Manuela Camino Feltes, as quais disponibilizaram os materiais necessários para algumas análises e auxiliaram na execução de algumas destas.

Também agradeço a Amanda Gomes Almeida Sá a qual disponibilizou as enzimas para a elaboração da análise de digestibilidade proteica, além de ter ficado o tempo todo auxiliando na execução da mesma.

Sou grata a toda equipe do LABCAL que me auxiliou em tantas análises, cedendo um pouco do seu tempo para me ensinar e me auxiliar sempre que possível. Obrigada especialmente a Jusci que me ajudou muito e respondeu diversos questionamentos que tive durante a execução das análises.

Sou grata as minhas amigas, em especial a Carol, que compartilhou das minhas angústias, se fez presente em muitas análises e trocou conhecimentos comigo para que o projeto fosse realizado da melhor maneira possível, e também a Rafa, que está ao meu lado há mais de 6 anos e sempre me ajudou de todas as formas que pôde, sendo sempre muito companheira.

Sou grata a todos os professores com os quais tive que contato e foram peças chave na construção de todo meu conhecimento e de todo o conhecimento aplicado aqui. Obrigada por sempre terem dado o melhor de vocês e conseguirem se adaptar a essa fase difícil de ensino híbrido.

Agradeço também a UFSC, por toda a infraestrutura disponível e por esse curso incrível que é o Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Agradeço a banca examinadora por aceitar avaliar este trabalho, fazendo as correções necessárias.

E, por fim, sou grata a todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado.

RESUMO

A Spirulina é uma microalga da classe das cianobactérias, de coloração azul-esverdeada e em forma de espiral. Em sua composição há mais de 70% de proteína, além de 15 a 20% de carboidratos, lipídios, vitaminas, minerais e antioxidantes, destacando-se a ficocianina, da classe das ficobiliproteínas. Além disso, a digestibilidade de sua fração proteica demonstra ser elevada, sendo este um parâmetro muito importante na determinação de sua qualidade. Por este motivo, a biomassa da Spirulina pode ser empregada na elaboração de formulações alimentícias e de suplementos alimentares. Frente ao aumento da demanda de produtos com fontes de ingredientes alternativos, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização físico-química e de digestibilidade de proteína de 8 diferentes amostras comerciais de Spirulina em pó, produzidas em diferentes países. Foram avaliados os teores de umidade, de cinzas, de proteína e de lipídios, assim como a atividade de água, as propriedades de cor (L^* , a^* e b^*), solubilidade e de tempo de dispersão, o teor de ficocianina e o percentual de digestibilidade de proteína in vitro de cada amostra. Os resultados de umidade, cinzas e de atividade de água variaram entre 7,001 e 15,440 g.100 g⁻¹, 8,647 e 12,361 g.100 g⁻¹, e 0,2852 e 0,6654, respectivamente, entre as amostras. Os teores de proteína e de lipídios também variaram respectivamente de 44,853 a 70,980 g.100 g⁻¹ e de 4,399 a 6,864 g.100 g⁻¹, o teor de proteína presente na Spirulina demonstrou ser elevado e todos os resultados estiveram de acordo com os encontrados em outros estudos. O parâmetro L^* entre as amostras foi menor do que 50, o que demonstra a baixa luminosidade destas e o parâmetro a^* em todas as análises foi negativo, relacionado à proximidade das amostras da cor verde. O conteúdo de ficocianina em cada amostra de Spirulina em pó apresentou grande variação, entre $94,847 \pm 8,338$ e $411,749 \pm 38,988$ mg.g⁻¹, pois trata-se de um composto extremamente instável e suscetível a perdas causadas por fatores externos como temperatura, pH, condições de cultivo, método de secagem e de extração, condições de armazenamento, entre outros. A digestibilidade proteica de todas as amostras foi superior a fontes de proteína vegetais convencionais, como feijão, trigo e aveia, sendo o maior valor obtido o da amostra B1, de 85,7%. Todos os resultados encontrados nas 8 diferentes amostras de Spirulina em pó demonstraram que estas têm potencial para serem utilizadas como ingrediente em formulações de alimentos, já que apresentaram elevado conteúdo nutricional, além de propriedades desejáveis para sua incorporação em outros alimentos.

Palavras-chave: Proteína. Ficocianina. Propriedades Físicas. Composição. Digestibilidade.

ABSTRACT

Spirulina is a microalga of the cyanobacterial class, with a blue-green color and spiral shape. It is composed of more than 70% protein, besides 15 to 20% carbohydrates, lipids, vitamins, minerals, and antioxidants, especially phycocyanin, from the phycobiliprotein class. In addition, the digestibility of its protein is high, which is an essential parameter in determining its quality. For this reason, Spirulina biomass can be used in the preparation of food formulations and food supplements. In view of the increased demand for products with alternative ingredient sources, the objective of this work was to carry out the physical-chemical, protein digestibility, and physical properties characterization of 8 different commercial Spirulina powder from different countries. Moisture, ash, protein, and lipid contents were quantified, as well as water activity, color properties (L^* , a^* and b^*), solubility, and dispersion time. The phycocyanin content and the percentage of in vitro protein digestibility of each sample were also assessed. The results of moisture, ash and water activity varied between 7.001 and 15.440 g.100 g⁻¹, 8.647 and 12.361 g.100 g⁻¹, and 0.2852 and 0.6654, respectively, among the samples. The protein and lipid contents also ranged from 44.853 to 70.980 g.100 g⁻¹ and from 4.399 to 6.864 g.100 g⁻¹, respectively, the protein content present in Spirulina proved to be high and all results were in agreement with those found in other studies. The L^* parameter between the was less than 50, which demonstrates its low luminosity, and the a^* parameter in all analyzes was negative, related to the proximity of the green color. The content of phycocyanin in each spirulina powder showed wide variation, between 94.847 ± 8.338 e 411.749 ± 38.988 mg.g⁻¹, because it is an extremely unstable compound and susceptible to losses caused by external factors such as temperature, pH, growing conditions, drying method, and storage conditions. The protein digestibility of all samples was superior to conventional vegetable protein sources such as beans, wheat, and oats, with the highest value obtained from the B1 sample, 85.7%. All the results found in the 8 different Spirulina powders showed that these are potential sources of ingredients, as they showed high nutritional and antioxidant content, in addition to desirable properties for their incorporation into other foods.

Keywords: Protein. Phycocyanin. Physical properties. Composition. Digestibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aparato para análise do tempo de dispersão de uma amostra.....	29
Figura 2 - Comparação visual das biomassas de spirulina em pó	38

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Identificação e caracterização das amostras comerciais de Spirulina	24
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Aminoácidos presentes na biomassa da Spirulina.....	17
Tabela 2 – Digestibilidade in vitro (%) de fontes de proteína vegetais sob diferentes processamentos.....	20
Tabela 3 - Usos da Spirulina como ingrediente em diversos trabalhos científicos	23
Tabela 4 – Teor de umidade das amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó	31
Tabela 5 – Atividade de água das amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó	33
Tabela 6 – Teor de cinzas das amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó	34
Tabela 7 – Teor de proteína bruta em amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó	35
Tabela 8 – Teor de extrato etéreo (lipídios) em amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó	36
Tabela 9 - Parâmetros de cor (L*, a*, b* - médias \pm desvio padrão) das amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó.....	37
Tabela 10 - Percentual de solubilidade aparente (média \pm desvio padrão) de biomassa de Spirulina em pó.....	39
Tabela 11 – Tempo de dispersão (minutos \pm desvio padrão) das amostras comerciais de Spirulina em pó.....	41
Tabela 12 – Concentração (média \pm desvio padrão) de ficocianina nas amostras em pó de Spirulina, em base seca.....	42
Tabela 13 – Percentual de digestibilidade (média \pm desvio padrão) das proteínas em amostras comerciais de Spirulina em pó	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IAL	Instituto Adolfo Lutz
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NaHCO ₃	Bicarbonato de Sódio
NaNO ₃	Nitrato de Sódio
PUFA	Ácido graxo poliinsaturado
RMF	Resíduo mineral fixo
SA	Amostra de Spirulina comercial SA
SB	Amostra de Spirulina comercial SB
SC	Amostra de Spirulina comercial SC
SD	Amostra de Spirulina comercial SD
SE	Amostra de Spirulina comercial SE
SF	Amostra de Spirulina comercial SF
SG	Amostra de Spirulina comercial SG
SH	Amostra de Spirulina comercial SH
SOL	Solubilidade

LISTA DE SÍMBOLOS

a^*	Cromaticidade de a^*	
A	Absorbância	
a_w	Atividade de água	
b^*	Cromaticidade de b^*	
f	Fator de conversão do HCl	
$IVPD \%$	Percentual de digestibilidade proteica in vitro	%
L^*	Luminosidade	
M_a	Massa de amostra para cálculo de digestibilidade	g
m_1	Massa da amostra com o filtro úmidos	g
m_2	Massa da amostra com o filtro secos	g
N	Número de gramas de umidade	g
P	Número de gramas da amostra	g
P_{y_0}	Concentração média de ficocianina	mg.mL ⁻¹
P_y	Concentração média de ficocianina	mg.g ⁻¹
$\%P_{bs}$	Percentual de proteína em base seca	%
$\%SOL$	Percentual de solubilidade	%
T	Temperatura	°C
V_a	Volume de HCL gasto na titulação da amostra	mL
V_b	Volume de HCL gasto na titulação do branco	mL
X	Número de gramas de cinzas	g
X_u	Umidade da amostra em base seca	
ω	Ômega	
ΔpH	Varição do pH	

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS DA <i>SPIRULINA</i>	17
2.1.1	Proteínas.....	17
2.1.2	Lipídios.....	21
2.2	USO DA <i>SPIRULINA</i> COMO INGREDIENTE EM FORMULAÇÕES ALIMENTÍCIAS	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1	AMOSTRAS DE <i>SPIRULINA</i>	24
3.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	25
3.2.1	Umidade	25
3.2.2	Atividade de Água.....	25
3.2.3	Cinzas	26
3.2.4	Proteínas.....	26
3.2.5	Extrato Etéreo (Lipídios).....	27
3.3	ANÁLISES DE PROPRIEDADES FÍSICAS.....	27
3.3.1	Cor.....	27
3.3.2	Solubilidade.....	28
3.3.3	Tempo de Dispersão.....	28
3.4	ANÁLISE DE FICOCIANINA.....	29
3.4.1	Extração da Ficocianina	29
3.4.2	Determinação de Ficocianina	29
3.5	DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA	30
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	31

4.1.1	Umidade	31
4.1.2	Atividade de Água.....	32
4.1.3	Cinzas	33
4.1.4	Proteínas.....	35
4.1.5	Extrato Etéreo (Lipídios).....	36
4.2	ANÁLISES DE PROPRIEDADES FÍSICAS.....	37
4.2.1	Cor.....	37
4.2.2	Solubilidade.....	39
4.2.3	Tempo de Dispersão.....	40
4.3	ANÁLISE DE FICOCIANINA.....	42
4.4	DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA.....	43
5	CONCLUSÃO.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

Uma correta alimentação não é somente fonte de energia para o desempenho das tarefas diárias, mas é também uma maneira de prevenir doenças e melhorar as capacidades mentais e físicas com alimentos que apresentem propriedades funcionais (SIRÓ *et al.*, 2008). Neste contexto, o uso de fontes alimentares alternativas e com propriedades funcionais vêm crescendo nos últimos anos. A Spirulina (*Arthrospira platensis*) é uma microalga, de cultivo e beneficiamento relativamente fácil, que apresenta em sua composição proteínas, vitaminas, minerais, carboidratos, pigmentos e compostos de elevado potencial antioxidante. Em particular, a ficocianina, uma ficobiliproteína de coloração azul que representa aproximadamente 20% do peso seco de Spirulina (SU *et al.*, 2014).

A ficocinaina possui elevada capacidade antioxidante, efeito anti-inflamatório e hepatoprotetivo (SERBAN *et al.*, 2016; BATISTA *et al.*, 2006; DOKE, 2005). É usada principalmente como corante natural na indústria de alimentos e cosméticos, devido a sua intensa coloração azul, sendo sua principal aplicação em gomas de mascar, sorvetes, refrigerantes e doces (SU *et al.*, 2014; YAN *et al.*, 2014). Por outro lado, a Ficocianina degrada-se facilmente quando exposta a elevadas temperaturas, à umidade e à luz, perdendo, ao longo do armazenamento, ou durante os processos tecnológicos de beneficiamento, boa parte de suas propriedades funcionais (CHAIKLAHAN; CHIRASUWAN; BUNNAG, 2012, NAKAGAWA *et al.*, 2016). A Spirulina também possui quantidades significativas de antioxidantes, aminoácidos e ácidos graxos essenciais (principalmente o ácido γ -linolênico ou GLA), minerais (Fe), vitaminas (B12) e compostos fenólicos (JOVENTINO *et al.*, 2012; SERBAN *et al.*, 2016; SPOLAORE *et al.*, 2006).

A produção industrial de Spirulina iniciou-se em 1969, no Lago Texcoco, pela empresa Sosa Texcoco S.A., no México, pouco tempo depois do início do cultivo e colheita da Chlorella, no Japão (SONI; SUDHAKAR; RANA, 2017; SPOLAORE *et al.*, 2006). Atualmente, sua produção constitui 30% de toda produção de biomassa microalgal no mundo (LIM *et al.*, 2021).

O cultivo das microalgas pode ser realizado tanto em sistema aberto, em lagos ou lagoas separados ainda em meio natural ou artificial, quanto em sistemas fechados formados por fotobiorreatores (SINGH; SHARMA, 2012). Para que haja um bom rendimento de biomassa, deve haver, durante o cultivo, boa aeração, agitação e luz com intensidade controlada (SONI; SUDHAKAR; RANA, 2019). A Spirulina ainda requer pH e concentração de bicarbonato de sódio elevados (BOROWITZKA, 1999).

O processo de colheita e manipulação pode contar com etapas de centrifugação, filtração, secagem e outras as quais objetivam aumentar a concentração e preservar a biomassa. A biomassa de *Spirulina* é comercializada, em sua maioria, em forma de pó, cápsulas, comprimidos ou flocos, principalmente em categorias de suplementos alimentares (LAFARGA, 2019). Por este motivo, a etapa de secagem é muito empregada, podendo ser feita ao sol, por liofilização, spray-drying, em tambor, entre outros (SONI; SUDHAKAR; RANA, 2017). Variações no cultivo, no processamento e no armazenamento da biomassa de *Spirulina* podem afetar suas propriedades físico-químicas e funcionais (BELAY, 2013; PAPALIA; SIDARI; PANUCCIO, 2019).

Apesar de considerar-se que existe uma padronização entre as *Spirulinas* presentes no mercado, a quantidade de compostos e a biodisponibilidade destes pode variar entre as diferentes marcas existentes ou até mesmo entre lotes diferentes produzidos no mesmo local (MUYS *et al.*, 2019). Os fatores interferentes no processamento, em conjunto com fatores intrínsecos à cepa e com influências do ambiente, geram produtos diferentes em composição (COSTA *et al.*, 2019; JESUS *et al.*, 2018; MANIRAFASHA *et al.*, 2018; SHI *et al.*, 2016).

A incorporação da biomassa de *Spirulina* em alimentos agrega valor nutricional a produtos já conhecidos, de maneira sustentável e prática (ALMEIDA *et al.*, 2021). Existem diversos estudos com o objetivo de enriquecer alimentos com a adição de *Spirulina*, como iogurtes, bebidas funcionais, molho de tomate enriquecido, massas, biscoitos, “maionese” *plant-based*, gelatinas, cookies, kefir, entre outros (ALMEIDA *et al.*, 2021; ATIK *et al.*, 2021; BATISTA *et al.*, 2017; SILVA; VALLE; PERRONE, 2021). Ela é capaz de promover benefícios à saúde quando utilizada como ingrediente devido ao seu alto teor de proteínas, fibras, minerais, ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, e potencial antioxidante, além de melhorar as características de cor e de textura (ALMEIDA *et al.*, 2021; BATISTA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2021). Ela também reduz a taxa de sedimentação, aumenta a solubilidade e diminui a higroscopicidade em formulações de achocolatados (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Os principais obstáculos para a incorporação da biomassa de *Spirulina* em alimentos são as suas características de odor, gosto e cor, que são percebidos pelas pessoas como desagradáveis (LAFARGA *et al.*, 2020). Uma das estratégias utilizadas para contornar esse problema foi o seu microencapsulamento para utilização como ingrediente, tornando a aparência do alimento mais homogênea (SILVA *et al.*, 2019).

Frente às possibilidades de uso da biomassa de *Spirulina*, principalmente na formulação de alimentos, agregando valor nutricional e tecnológico, o objetivo deste trabalho foi caracterizar físico-quimicamente biomassas em pó de *Spirulinas* comerciais. Para isto, foram determinados os teores de proteínas, lipídios, umidade, cinzas de 8 biomassas desidratadas de *Spirulina*, assim como a solubilidade, tempo de dispersão, cor, digestibilidade das proteínas e teor de ficocianinas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS DA *SPIRULINA*

2.1.1 Proteínas

A quantidade de proteína presente na biomassa da *Spirulina* pode variar entre 60 e 70%, em base seca (BELAY, 2013; LUCAS *et al.*, 2018; MADKOUR; KAMIL; NASR, 2012; VONSHAK, 2002). Ela possui diversos aminoácidos essenciais, dentre os quais destacam-se lisina e triptofano, os quais não estão presente em inúmeras outras fontes de proteína alimentar (CLÉMENT *et al.*, 1967; MADKOUR *et al.*, 2012; DEWI *et al.*, 2016). A tabela 1 apresenta alguns aminoácidos presentes na biomassa da *Spirulina* e suas respectivas quantidades.

Tabela 1- Aminoácidos presentes na biomassa da *Spirulina*

(continua)

Aminoácido	Abreviação	Quantidade (g.100g ⁻¹)
Alanina	Ala	9,5
Arginina	Arg	7,3
Ácido aspártico	Asp	11,8
Cisteína	Cis	0,9
Fenilalanina	Fen	5,3
Glicina	Gli	5,7
Ácido glutâmico	Glu	10,3
Histidina	His	2,2

(conclusão)

Aminoácido	Abreviação	Quantidade (g.100g⁻¹)
Isoleucina	Ile	6,7
Leucina	Leu	9,8
Lisina	Lis	4,8
Metionina	Met	2,5
Prolina	Pro	4,2
Serina	Ser	5,1
Tirosina	Tir	5,3
Treonina	Ter	6,2
Triptofano	Trp	0,3
Valina	Val	7,1

FONTE: Becker (2007).

A Spirulina, assim como a maioria das cianobactérias, possui elevados teores de ficobiliproteínas, classificadas em ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina, sendo estas duas últimas de grande interesse comercial, usadas principalmente como corantes em alimentos. As ficocianinas também podem ser empregadas como corantes em medicamentos e cosméticos, além de atuarem como marcadores bioquímicos (BEGUM et al., 2016; LEE, 2012; RICHMOND, 2004; VONSHAK, 2002).

As ficobiliproteínas são proteínas fotossinteticamente ativas presentes em algas verde-azuladas e vermelhas (SCHRAM; KROES, 1971; TROXLER; LESTER, 1967). Elas são estudadas pelos seus efeitos antioxidantes, assim como prevenção de nefropatia diabética, inibição da NADPH oxidase, efeitos anti-inflamatórios, eliminação de toxinas inorgânicas biológicas, entre outros efeitos benéficos à saúde (BHAT; MADYASTHA, 2001; MCCARTY, 2007; ZHENG *et al.*, 2013). Em sua estrutura, são ricas em resíduos de aminoácidos alifáticos e ácidos (ABO-SHADY, 1995).

Além de elevado valor biológico, as proteínas presentes na Spirulina também apresentam elevado valor de digestibilidade, correspondente a cerca de 83 a 90% em biomassa seca (DILLON; PHAN, 1993; KHANDUAL; SANCHEZ; ANDREWS; LA ROSA, 2021; SANTILLAN-C, 1974). Valores de digestibilidade elevados tornam a Spirulina uma boa alternativa para a substituição de ingredientes lácteos em alimentos, já que a digestibilidade da caseína é de 100%, demonstrando alta disponibilidade de aminoácidos (KOSE *et al.*, 2017).

A digestibilidade desempenha papel importante na avaliação da qualidade nutricional de microalgas e é, geralmente, estudada com base no consumo de nitrogênio e/ou matéria orgânica no momento anterior e após a digestão (MIŠURCOVÁ *et al.*, 2010). A maioria dos estudos está relacionada à digestibilidade de macroalgas (FLEURENCE, 1999; PAIVA *et al.*, 2014; TIBBETTS; MILLEY; LALL, 2016), sendo poucos os que focam na digestibilidade de microalgas. Mota (2018) relatou valores de digestibilidade de 68,6%, em *Chlorella*; 71,1% em *N. oceanica*; e 91,9% em *Tetraselmis sp.* Enquanto Gorgônio (2013) encontrou para as espécies *C. pyrenoidosa*, *D. tertiolecta*, *I. galbana* e *T. gracilis* os valores de digestibilidade de 73,4%; 71,9%; 73,0%; e 72,9%, respectivamente. O teor de digestibilidade da *Spirulina* varia entre 50-78% (KOSE *et al.*, 2017; VEIGA *et al.*, 2020). Os diferentes valores de digestibilidade entre as espécies podem estar relacionados à composição de sua parede celular que pode restringir a ação de enzimas digestivas e dificultar a acessibilidade das enzimas aos componentes presentes (KOSE *et al.*, 2017; NICCOLAI *et al.*, 2019b). Assim, algas que contêm celulose em sua parede celular aparentam menor digestibilidade do que cianobactérias que possuem na composição de sua parede celular peptidoglicano (TEULING *et al.*, 2017). A digestibilidade de proteínas pode aumentar com a fragmentação da parede celular das microalgas, havendo grande correlação entre a digestibilidade e a acessibilidade dos nutrientes nestes organismos (TEULING *et al.*, 2019). Tibbetts *et al.* (2016) demonstraram o aumento na digestibilidade proteica de *Chlorella sp.* com a homogeneização da amostra através de secagem e sucessivas etapas de trituração em moedor de café.

A avaliação da digestibilidade de proteínas permite quantificar aminoácidos livres que poderão ser utilizados pelo organismo. A digestibilidade da proteína é um dos fatores avaliados na definição de sua qualidade nutricional (BOYE; WIJESINHA-BETTONI; BURLINGAME, 2012). A *Spirulina* possui um valor de digestibilidade de proteína de, aproximadamente, 84% (MORAIS *et al.*, 2009). Este valor elevado deve-se principalmente à camada de peptidoglicano que envolve suas células, com a presença de uma membrana exterior constituída de proteínas e lipopolissacarídeos (LPS) (NICCOLAI *et al.*, 2019b). Como as paredes celulares das microalgas são ricas em polissacarídeos os quais podem formar complexos com as proteínas, antes do processo de digestão, é importante que seja feita a ruptura celular da microalga, influenciando no resultado final (FLEURENCE; CHENARD; LUÇCON, 1999; MABEAU; FLEURENCE, 1993; MACHŮ *et al.*, 2014; MIŠURCOVÁ *et al.*, 2010; MIŠURCOVÁ, 2011; RUPÉREZ; TOLEDANO, 2003). Diferentes teores de digestibilidade de fontes proteicas vegetais convencionais estão apresentados na Tabela 2.

Os métodos de digestibilidade *in vitro* são, geralmente, mais baratos e mais rápidos do que os métodos realizados *in vivo*, e sempre empregam enzimas proteolíticas, para que possam ter correlação com estes últimos (SWAISGOOD; CATIGNANI, 1991). Os métodos *in vitro*, ainda, apresentam a vantagem de possibilitar a avaliação dos efeitos do processamento sobre a proteína (EID; MATTY, 1989). Diversos pesquisadores empregaram as enzimas pepsina, pancreatina ou uma mistura de proteases isoladas em métodos de avaliação de digestibilidade *in vitro* (MACHÕ *et al.*, 2014). Hsu *et al.* (1977) utilizou um sistema multienzimático, contendo tripsina, quimiotripsina e peptidase, para calcular a digestibilidade aparente de proteínas, em apenas 10 minutos, o qual permitiu avaliar também alguns efeitos da tripsina, do ácido clorogênico e do tratamento térmico sobre a qualidade da proteína.

Tabela 2 – Digestibilidade *in vitro* (%) de fontes de proteína vegetais sob diferentes processamentos

Fonte	Processamento	Digestibilidade <i>in vitro</i> (%)	Referência
Soja (<i>Glycine max</i>)	Descascada e cozida (100 °C, 30 min)	89,8	Berno, Guimarães-Lopes e Canniatti-Brazaca (2007)
	Farinha desengordurada	79,8	Siddhuraju, Makkar e Becker (2002)
Feijão (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	Autoclavagem (121 °C, 10 min)	84,2-92,3	Delfino e Canniatti-Brazaca (2010); Mechi, Caniatti-Brazaca e Arthur (2005)
	Microondas (800 W, 2450 MHz, 1 min)	81,8	Shimelis e Rakshit (2005)
Ervilha (<i>Pisum sativum L.</i>)	Cozida (98 °C, 30 min)	86,8	Park, Kim e Baik (2010)
	Autoclavagem (121 °C, 15 min)	78,3	Habiba (2002)
Aveia (<i>Avena sativa</i>)	Autoclavagem (121 °C, 15 min) + liofilização	90,0	Boye, Wijesinha-Bettoni e Burlingame (2012)

Fonte	Processamento	Digestibilidade <i>in vitro</i> (%)	Referência
Grão de bico (<i>Cicer arietinum</i>)	Auto clavagem (120 °C, 50 min)	83,5	Clemente <i>et al.</i> (1998)

Fonte: Adaptado de Sá, Moreno e Carciofi (2019).

2.1.2 Lipídios

Os principais lipídios encontrados nas cianobactérias são glicerolipídios, glicolipídios e fosfolipídios, cujos conteúdos se elevam quando há limitação de fósforo ou com regulação da intensidade de luz, o que pode alterar a composição final da biomassa da Spirulina (MARKOU, 2012; ZHAI *et al.*, 2017).

O teor de lipídios encontrados na Spirulina pode variar entre 2,5 a 13%, com destaque para o ácido γ -linolênico (GLA) (GROSSHAGAUER; KRAEMER; SOMOZA, 2020; SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019; SPOLAORE *et al.*, 2006; VONSHAK, 2002). Este ácido graxo é um dos responsáveis pela atividade antioxidante atribuída à Spirulina e está associado à redução da lipoproteína de baixa densidade (LDL) em pacientes com hipercolesterolemia (CHOPRA; BISHNOI, 2008; ISHIKAWA *et al.*, 1989; JOVENTINO *et al.*, 2012; SAJILATA; SINGHAL; KAMAT, 2008). Ele também é considerado um composto intermediário na conversão de ácido linoleico em araquidônico (GUNSTONE, 1992). Em estudo realizado com a biomassa liofilizada, Sajilata, Singhal e Kamat (2008) separaram, através da técnica de cromatografia em sílica em gel, os lipídios neutros, fosfolipídios e glicolipídios presentes na amostra e determinaram que a porcentagem de GLA foi de 0,64%, estando sua maior parte (94%) localizada entre os glicolipídios.

Quantidades significativas de ácido palmítico (31,2-48,27%) e ácido linolênico (5,0-18,7%), também podem ser encontradas na biomassa de Spirulina. Também é relatada a presença do ácido graxo monoinsaturado ω -9, o ácido oleico (COHEN; VONSHAK, 1991; COLLA; BERTOLIN; COSTA, 2004).

2.2 USO DA SPIRULINA COMO INGREDIENTE EM FORMULAÇÕES ALIMENTÍCIAS

A biomassa de *Spirulina* desidratada possui diferentes propriedades tecnológicas de interesse para a indústria de alimentos. Bertsch, Böcker, Mathys e Fischer (2021), coletaram dados que demonstram o potencial das microalgas em estabilizar emulsões e espumas, podendo, inclusive, agir como substitutas de surfactantes de fontes animais e outras fontes vegetais. Barka, Amira, Francis e Blecker (2018) também estudaram as propriedades surfactantes de três frações proteicas, solúveis, coloridas, da biomassa de *Spirulina* obtidas por spray-drying, obtendo resultados semelhantes e positivos entre as amostras. Além disso, ela também apresenta boa capacidade de gelificação, o que possibilita formação de géis proteicos viscoelásticos, melhora a absorção da água, atribui efeitos espessantes e contribui para a fixação de partículas (BASHIR *et al.*, 2016).

O carboidrato de reserva da *Spirulina* é o amido cianófito, um polissacarídeo (REMPEL *et al.*, 2018; USHARANI; SARANRAJ; KANCHANA, 2012). Com a restrição de nutrientes ao meio, é possível encontrar valores próximos a 56% de carboidrato na biomassa de *Spirulina* em base seca, já que a microalga se adapta à condição e passa a produzir maior quantidade de reserva energética (REMPEL *et al.*, 2018).

Essas propriedades podem modificar de maneira positiva a textura de alimentos quando possuem a *Spirulina* como ingrediente. Em estudo realizado por Silva *et al.* (2019), a *Spirulina* foi encapsulada em maltodextrina reticulada com ácido cítrico e incorporada ao iogurte, agindo como ingrediente funcional. O uso da microalga como ingrediente resultou em um produto livre do sabor e odor característicos dela, além de apresentar textura homogênea e propriedades antioxidantes e nutricionais satisfatórias.

É crescente a quantidade de pessoas que limitam ou encerram o consumo de carne levados por questões éticas, como bem-estar animal e proteção ambiental, ou até mesmo por razões políticas (HAVERSTOCK; FORGAYS, 2012). Ao encontro desse crescimento, vem o aumento da procura por ingredientes naturais funcionais e nutritivos, no sentido de que, além de exercer o papel fundamental no organismo, apresentem compostos que agreguem benefícios à saúde, como fibras, antioxidantes e carotenoides (BIMBO *et al.*, 2017; HELKAR; SAHOO; PATIL, 2016; KADAM; PRABHASANKAR, 2010).

As microalgas são consideradas fontes naturais destes compostos e são, também, uma rica fonte de proteína não animal (SILVA *et al.*, 2019). Além disso, são cada vez mais populares como ingredientes, agentes flavorizantes e/ou aromatizantes, corantes naturais, estabilizantes, espessantes e emulsificantes (AHMED *et al.*, 2017; AK *et al.*, 2016; BOUKID; CASTELLARI,

2021; KHAN; SHIN; KIM, 2018; MINTEL, 2018; SARAVANA; CHUN, 2017; ŚCIESZKA; KLEWICKA, 2018; SUN *et al.*, 2017; QIN, 2018).

O mercado de algas, que engloba suas aplicações em alimentos e bebidas, ou demais usos (nutracêuticos, suplementos, entre outros), deve crescer 5,35% ao ano, entre 2019 e 2027, e atingir US\$ 1365,8 milhões em 2027 (BOUKID; CASTELLARI, 2021; TRANSPARENCY MARKET RESEARCH, 2020). Frente a todas as possibilidades de usos e aplicações das microalgas em alimentos e entre elas a Spirulina, a Tabela 2 traz dados de alguns exemplos de sua incorporação como ingrediente em formulações alimentícias.

Tabela 3 - Usos da Spirulina como ingrediente em diversos trabalhos científicos

(continua)

Produto	Quantidade	Benefício	Referência
Gel alimentício vegetariano	0,1-0,75% m/m	Propriedades tecnológicas, nutricionais e funcionais (atividade antioxidante, PUFAs - ω -3)	(BATISTA <i>et al.</i> , 2008; BATISTA <i>et al.</i> , 2011; GOUVEIA <i>et al.</i> , 2008)
<i>Frozen yogurt</i>	2-8% m/m	Propriedades nutricionais	(BEHESHTIPOUR <i>et al.</i> , 2013)
Leite fermentado	3 g/L	Propriedades nutricionais	(VARGA <i>et al.</i> , 2002)
Iogurte natural e probiótico	0,1-0,8% m/m	Propriedades tecnológicas, nutricionais e funcionais	(MOLNÁR; GYENIS; VARGA, 2005)
Biscoitos	0,3-8,36% m/m	Propriedades tecnológicas, nutricionais (teor de proteínas e de fibras) e funcionais (atividade antioxidante)	(BAKY, 2015; BATISTA <i>et al.</i> , 2017; SINGH <i>et al.</i> , 2013)

(conclusão)

Produto	Quantidade	Benefício	Referência
Pão	2-11% m/m na farinha	Propriedades tecnológicas e nutricionais (teor de proteínas e minerais)	(AK <i>et al.</i> , 2016; DINU <i>et al.</i> , 2012; SALEH <i>et al.</i> , 1987)
Pão sem glúten	2-5% m/m na farinha	Propriedades nutricionais (teor de proteínas)	(FIGUEIRA <i>et al.</i> , 2011)
<i>Snacks</i> extrudados	0,4-3,2% m/m	Propriedades tecnológicas, nutricionais (teor de proteínas) e funcionais	(LUCAS <i>et al.</i> , 2018)
Macarrão	0,5-20%	Propriedades tecnológicas, nutricionais e funcionais (atividade antioxidante)	(FRADIQUE <i>et al.</i> , 2010; MARCO <i>et al.</i> , 2014)

Fonte: Adaptado de Caporgno e Mathys (2018).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS DE SPIRULINA

As amostras comerciais de biomassa de Spirulina foram adquiridas no mercado nacional e internacional. Por questões éticas as marcas das Spirulinas não foram reportadas neste trabalho. As diferentes amostras foram identificadas como descrito no Quadro 1.

Quadro 1 – Identificação e caracterização das amostras comerciais de Spirulina

Identificação	B1	B2	B3	B4	C1	C2	E1	E2
Local de Origem	Brasil	Brasil	Brasil	Brasil	China	China	Havaí (EUA)	Havaí (EUA)

Identificação	B1	B2	B3	B4	C1	C2	E1	E2
Peso Unitário por Embalagem	150 g	100 g	120 g	100 g	1000 g	50 g	180 cápsulas (400 mg/cápsula)	450 g
Data de Validade	Outubro/2022	Fevereiro/2023	Dezembro/2022	Junho/2023	Mairo/2022 2	Janeiro/2022	Dezembro/2022	Agosto/2023

Fonte: A Autora.

3.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Nas oito amostras de Spirulina comerciais foram realizadas as determinações analíticas descritas a seguir.

3.2.1 Umidade

A análise de umidade foi realizada com base na metodologia IAL 012/IV: 2008. Pesou-se 3 g de cada amostra, em triplicata, em cápsula de metal e estas foram levadas à estufa (Estufa Série 400-TD, Nova Ética, Vargem Grande Paulista, Brasil) a 105 °C, por um período inicial de 3 horas. Após esse período, as cápsulas passaram a ser pesadas em intervalos de 1 hora, até que obtivessem peso constante. Para o cálculo de umidade utilizou-se a Equação 1:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{umidade ou substâncias voláteis a } 105 \text{ } ^\circ\text{C por cento m/m} \quad (1)$$

Em que N corresponde ao número de gramas de umidade (perda de massa em g) e P é igual ao número em gramas de amostra.

3.2.2 Atividade de Água

A atividade de água seguiu a metodologia ISO 21807:2004. As amostras foram lidas em triplicata no equipamento Aqualab (Series 4 TE, DecagonDevices, Inc., Pullman, EUA) a 25 °C.

3.2.3 Cinzas

A metodologia de análise de cinzas ou RMF (resíduo mineral fixo) seguiu os procedimentos estabelecidos por IAL 018/IV: 2008 e foi realizada em triplicata. 3 g de cada amostra foram pesados em cadinho previamente queimado em mufla a 550 °C e pesados em balança analítica. Em seguida, os cadinhos foram colocados em *over-night* na mufla, resfriados em dessecador e pesados. A fórmula utilizada para as cinzas está descrita na Equação 2:

$$\frac{100 \times X}{P} = \text{cinzas por cento } m/m \quad (2)$$

Em que X é o número de gramas de cinzas e P é o número de gramas de amostra.

3.2.4 Proteínas

A metodologia de análise de proteína foi adaptada de IAL 037/IV: 2008 (Protídios – Método de Kjeldahl modificado). 0,3 g de amostra, em duplicata, foram pesados em papel seda e transferidos para um tubo de ensaio para Micro-Kjeldahl contendo aproximadamente 6 g de mistura catalítica. Em seguida, adicionou-se ao tubo 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 M e a mistura foi levada ao digestor, a 160 °C, durante 30 minutos. A temperatura se elevou até 210 °C, por mais 30 minutos e, depois, até 250 °C, 330 °C e 400 °C durante 1 hora em cada.

As amostras digeridas foram levadas para o equipamento de destilação (Destilador de Nitrogênio, TE-0364, Tecnal, Piracicaba, Brasil) cuja extremidade afilada do refrigerante estava mergulhada em 50 mL de ácido bórico 0,4 N e 0,15 mL de indicador vermelho de metila, em Erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se ao tubo, solução de hidróxido de sódio a 30% m/v, até que houvesse mudança de cor, e esta foi levado à ebulição e em seguida destilada até obter-se 200 mL do destilado. A amostra presente no Erlenmeyer foi titulada com solução de ácido clorídrico 0,1 M.

O cálculo do teor de proteína está representado na Equação 3:

$$Proteína\ bruta\ (g/100g) = \frac{(Va-Vb) \times 0,14007 \times f \times fator\ de\ nitrogênio}{P} \quad (3)$$

Nesta equação, Va representa o volume de HCl utilizado na titulação da amostra, Vb representa o volume de HCl utilizado na titulação do branco, f é igual ao fator do HCl, o *fator de nitrogênio* utilizado para a Spirulina é de 6,25 (CHRONAKIS *et al.*, 2000; SAFI *et al.*, 2012) e P representa o peso da amostra em gramas.

3.2.5 Extrato Etéreo (Lipídios)

Para a quantificação da quantidade de lipídios nas amostras, seguiu-se a metodologia proposta por IAL 034/IV:2008. Inicialmente, pesou-se 5 g de cada amostra, em duplicata, e adicionou-se 80 mL de HCl 4M. Os béqueres contendo a mistura foram levados à fervura durante 30 minutos. Em seguida, a amostra de cada um foi filtrada até não testar positivo em contato com nitrato de prata e os filtros com o material retido foram extraídos em Sistema de Determinação de Gordura (TE-044, Tecnal, Piracicaba, Brasil), em Soxhlet, onde foram extraídos com éter de petróleo.

Os balões retirados do Soxhlet foram levados à estufa, a 105 °C, e secos até atingirem peso constante. O valor do balão foi anotado e o teor de lipídeos foi calculado conforme a Equação 4:

$$Lipídios\ (g/100g) = \left(((balão + extrato\ seco) - balão\ seco) \times 100 \right) \div P \quad (4)$$

Em que P corresponde à massa da amostra.

3.3 ANÁLISES DE PROPRIEDADES FÍSICAS

3.3.1 Cor

O método de medição dos parâmetros de cor foi adaptado da metodologia descrita por Cárdenas-Pérez *et al* (2017). Através de uma câmera fotográfica (Nikon D5500, Nikon Corporation, Japan), foram tiradas fotos das amostras em cabine tipo *studio* e, através do *software* ImageJ v. 1.6.0 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA), foram tratadas

pelo sistema de visão computacional. As cores foram convertidas de RGB para a escala CIELab utilizando um *plug-in*.

3.3.2 Solubilidade

Para a determinação das solubilidades das amostras (SOL), utilizou-se a metodologia adaptada de Dacanal e Menegalli (2009), em que 1 g de cada amostra em pó foi misturado em 100 mL de água destilada, a 25 °C. O material foi, então, agitado durante 1 minuto e filtrado em papel filtro com o auxílio de bomba a vácuo. Em seguida, foi levado à estufa, a 105 °C, durante 24 horas. O teste foi realizado em duplicata e a solubilidade foi determinada a partir da Equação 5:

$$\%SOL = 100 - [(m_2/m_1 \times (1 - X_u)) \times 100] \quad (5)$$

Nesta equação, m_2 corresponde ao peso final da amostra com o filtro secos; m_1 corresponde ao peso inicial da amostra com o filtro úmidos; e X_u é a umidade da amostra em base seca.

3.3.3 Tempo de Dispersão

A análise do tempo de dispersão foi realizada com o auxílio do aparato exibido na Figura 1, que possui um recipiente para o líquido e uma lâmina logo acima. Seu resultado demonstra o tempo para completa dissolução de um pó no meio líquido. Para isto, coloca-se 80 mL de água destilada, a 25 °C, no interior do recipiente destinado ao líquido e, sobre a lâmina, deposita-se 1 g da amostra. Em seguida, com o auxílio de um elástico, a lâmina é deslocada e passa a se cronometrar o tempo que as partículas levam para ficar completamente submersas na água (DACANAL; MENEGALLI, 2010).

Figura 1 – Aparato para análise do tempo de dispersão de uma amostra



Fonte: DACANAL (2005).

3.4 ANÁLISE DE FICOCIANINA

3.4.1 Extração da Ficocianina

A extração de ficocianina foi adaptada do método descrito por Doke (2005). As biomassas de *Spirulina* foram dissolvidas, em duplicata, com solução tampão fosfato 20 mM e pH 7,0 na proporção de 1:1000, e submetidas a 4 ciclos de congelamento e descongelamento, a -18 °C por 21 h e a 25 °C por 3 h, respectivamente. Ao final, as amostras foram centrifugadas (Centrífuga de Bancada, K14-4000, Kasvi, São José do Pinhais, Brasil) durante 20 minutos a 4000 rpm e o conteúdo sobrenadante foi coletado para posterior análise.

3.4.2 Determinação de Ficocianina

Para a determinação da concentração de ficocianina em cada amostra, estas foram submetidas à espectrofotometria (Espectrofotômetro, AJX3002-PC, AJ Micronal, São Paulo, Brasil) com comprimentos de onda de 615 nm e 652 nm. O resultado foi dado em mg/mL, de acordo com a Equação 6, de Bennet e Bogorad (1973):

$$[P_{y_0}] = A_{615nm} - \frac{0,474 \times A_{652nm}}{5,34} \quad (6)$$

Em que $[P_{y_0}]$ é a concentração média de ficocianina na amostra ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); A_{615nm} é a absorvância da amostra a 615nm; e A_{652nm} é a absorvância da amostra a 652 nm.

Os resultados foram expressos de acordo com a Equação 7, que representa a quantidade de miligramas de ficocianina presente em 1 grama de amostra.

$$P_y = \frac{[P_{y_0}] \times 40}{m} \quad (7)$$

Onde P_y é a concentração de ficocianina (mg.g^{-1}), $[P_{y_0}]$ é a concentração média de ficocianina na biomassa (mg.mL^{-1}) e m é a massa da amostra.

3.5 DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA

A digestibilidade *in vitro* das proteínas da Spirulina foi determinada conforme a metodologia de Hsu *et al.* (1977). Foi preparada uma solução enzimática contendo $1,6 \text{ mg.mL}^{-1}$ de tripsina (tripsina pancreática suína tipo IXS, 13.000-20.000 unidades BAEE/mg de proteína, produto nº T0303, Sigma, Chemical, St. Louis, MO, EUA); $3,1 \text{ mg.mL}^{-1}$ de α -quimiotripsina (quimiotripsina pancreática bovina tipo II, ≥ 40 unidades/mg de proteína, produto nº C4129, Sigma, Chemical, St. Louis, MO, EUA); e $1,3 \text{ mg.mL}^{-1}$ de peptidase (pepsina da mucosa gástrica suína, 3.200-4.500 unidades/mg de proteína, produto nº P6887, Sigma, Chemical, St. Louis, MO, EUA), em proporção 1:10 com água destilada. A solução enzimática teve seu pH ajustado para 8,0. Pesou-se, então, a quantidade determinada pela Equação 8 de cada amostra de biomassa de Spirulina, adicionando 10 mL de água destilada ao recipiente. Em seguida, a solução foi levada a aquecimento sob agitação magnética até atingir 37°C e teve seu pH ajustado para 8,0. Foi adicionada a esta solução, 1 mL do mix enzimático, continuando a agitação e o aquecimento durante 10 minutos. Ao final, mediu-se o pH da solução.

A digestibilidade aparente das proteínas foi calculada de acordo com a Equação 9.

$$M_a = (100 \times 0,0625) \div \%P_{bs} \quad (8)$$

M_a representa a massa de amostra a ser pesada e $\%P_{bs}$ corresponde ao percentual de proteína, em base seca, da biomassa.

$$IVPD \% = 65,66 + (18,10 \times \Delta pH) \quad (9)$$

Em que *IVPD* % é o percentual do índice de digestibilidade de proteína in vitro e ΔpH é a variação do pH inicial e final da solução.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados obtidos nesse estudo foram analisados estatisticamente com o programa *Statistica 13.5.0.17* (StatSoft, Tulsa, Estados Unidos), por análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.1.1 Umidade

O resultado das umidades das diferentes amostras comerciais de biomassa de *Spirulina* em pó estão apresentados na Tabela 4. O maior valor de umidade encontrado foi o da amostra de *Spirulina* B4 ($15,440 \pm 0,201 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), enquanto o menor valor foi o da amostra B1 ($7,001 \pm 0,066 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

Tabela 4 – Teor de umidade das amostras comerciais de biomassa de *Spirulina* em pó

Amostra	Umidade ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)
B1	$7,001 \pm 0,066^d$
B2	$7,372 \pm 0,011^{ad}$
B3	$7,876 \pm 0,038^{abc}$
B4	$15,440 \pm 0,201^f$
C1	$8,208 \pm 0,047^{bc}$
C2	$8,461 \pm 0,523^c$
E1	$9,553 \pm 0,073^e$
E2	$7,841 \pm 0,156^{ab}$

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Ramírez-Rodrigues *et al.* (2021) relataram um valor de $7,16 \pm 0,25\%$ de umidade em biomassa de *Spirulina* seca por processo de liofilização, originada do México, valor semelhante aos das amostras provenientes do Brasil, com exceção da B4, e de uma amostra dos EUA, a E2. Seghiri, Kharbach e Essamri (2019) obtiveram um valor de umidade igual a $12,66 \pm 1,7\%$ em biomassa de *Spirulina* obtida na região sul de Marrocos através da secagem em ar quente a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo este o valor mais próximo ao da amostra brasileira B4. Por fim, Aljobair *et al.* (2021) encontraram o valor de umidade de $4,93 \pm 0,89\%$ na biomassa de *Spirulina* da Arábia Saudita, seca à sombra, que é menor do que os encontrados nas amostras comerciais.

A escolha do método de secagem deve ser feita baseada na umidade inicial da amostra (SILVA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2009). Assim, os diferentes valores de umidade obtidos podem estar relacionados aos diferentes métodos de secagem aplicados nas amostras. Além disso, os produtos após a secagem, estão suscetíveis à umidade relativa do ambiente.

4.1.2 Atividade de Água

Os resultados da análise de atividade de água (a_w) estão apresentados na Tabela 5. A a_w é definida pela razão entre a pressão parcial do vapor de água no produto e pressão parcial da água pura (MATHLOUTHI, 2001). A atividade de água é muito importante para a determinação da estabilidade do produto final. O valor mínimo de a_w define o limite de crescimento microbiano, no entanto, este parâmetro deve ser analisado em conjunto com as demais propriedades do alimento, como pH e biodisponibilidade, e do ambiente, como temperatura (TROLLER, 2017).

A faixa de variação de a_w foi de $0,2852 \pm 0,002$ a $0,6654 \pm 0,001$ e, com exceção da amostra B4, todas as demais amostras estiveram com a_w inferior a 0,6, garantindo a não proliferação microbiana. O valor de a_w obtido pela amostra B4 a torna suscetível ao surgimento de microrganismos, principalmente bolores xerofílicos (*Aspergillus chevalieri*, *A. candidus*, *Wallemia sebi*) e *Saccharomyces bisporus* (TAPIA; ALZAMORA; CHIRIFE, 2020).

Tabela 5 – Atividade de água das amostras comerciais de biomassa de *Spirulina* em pó

Amostra	a_w
B1	0,3242 ± 0,003 ^c
B2	0,2852 ± 0,002 ^b
B3	0,3654 ± 0,001 ^a
B4	0,6654 ± 0,001 ^g
C1	0,3708 ± 0,000 ^a
C2	0,4611 ± 0,022 ^e
E1	0,4986 ± 0,001 ^f
E2	0,4323 ± 0,002 ^d

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A a_w representa a quantidade de água disponível para reações físico-químicas e enzimáticas, as quais podem alterar as características de textura, cor, odor e valor nutricional dos alimentos (TAPIA; ALZAMORA; CHIRIFE, 2020). Alimentos em pó são físico-quimicamente muito reativos, sendo sensíveis à presença de água e a mudanças na temperatura (CUQ; RONDET; ABECASSIS, 2011). Os valores de a_w em um alimento dependem das suas condições de processamento, como temperatura e tempo de secagem (DEMARCO, 2018). Frente a isto, a amostra SF demonstra ser instável, pois está suscetível a reações que possam prejudicar suas propriedades físicas e nutricionais, devido ao elevado valor de a_w .

4.1.3 Cinzas

Os teores de cinza de cada amostra estão dispostos na Tabela 6. O maior valor encontrado pertence à amostra E2 ($12,361 \pm 0,061 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$), com origem no Havaí, enquanto o menor teor de de cinzas está presente na amostra B3 ($8,647 \pm 0,080 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$), originada no Brasil, no entanto, não houve diferença estatística significativa entre esta e as amostras B4, C1 e C2, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), sendo estas duas últimas originadas no mesmo país, China.

Tabela 6 – Teor de cinzas das amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó

Amostra	Teor de Cinzas (g.100g⁻¹)
B1	9,984 ± 0,131 ^c
B2	11,981 ± 0,038 ^d
B3	8,647 ± 0,080 ^a
B4	8,803 ± 0,104 ^{ab}
C1	8,755 ± 0,037 ^{ab}
C2	8,818 ± 0,177 ^{ab}
E1	8,996 ± 0,081 ^b
E2	12,361 ± 0,061 ^e

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Ramírez-Rodrigues *et al.* (2021), Seghiri, Kharbach e Essamri (2019) e Aljobair *et al.* (2021) encontraram teores de cinzas de $7,68 \pm 0,04\%$, $14,56 \pm 0,74\%$ e $7,47 \pm 0,57\%$, respectivamente. Ao comparar cinco (5) diferentes amostras de biomassa de Spirulina em pó, de diferentes origens, Aouir *et al.* (2017) encontraram uma faixa de variação no teor de cinzas de 8,23–18,11%, demonstrando que o conteúdo da biomassa é impactado pelas diferentes localidades e condições de cultivo. Neste mesmo estudo, a biomassa proveniente do Havaí (EUA) apresentou $9,20 \pm 0,113 \text{ g.100g}^{-1}$ de cinzas, enquanto as amostras do presente trabalho com origem no Havaí apresentaram os valores de $8,996 \pm 0,081 \text{ g.100g}^{-1}$ (E1) e $12,361 \pm 0,061 \text{ g.100g}^{-1}$ (E2).

Os elevados valores de cinza de algumas amostras, como em B2 e E2 podem ser reflexos da presença de minerais e microelementos essenciais à nutrição e à manutenção dos processos fisiológicos humanos (SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019). O elevado teor de minerais na biomassa de Spirulina é muito importante para sua utilização como ingrediente, já que deve elevar a qualidade nutricional do alimento em que faz parte da formulação. Todavia, estes resultados também podem estar relacionados à presença de areia, sais e impurezas provenientes do método de colheita e de secagem a que cada amostra foi submetida (AOUIR *et al.*, 2017).

4.1.4 Proteínas

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados do teor de proteínas encontrado em cada amostra. A faixa do teor de proteínas foi de 44,853-70,980 g.100g⁻¹ e, ao retirar a amostra B2 a qual apresentou o menor valor de proteína, a faixa foi de 60,697-70,980 g.100g⁻¹. A amostra que apresentou o maior valor proteico foi a C2, a qual obteve um teor total de 70,980 ± 1,814 g.100g⁻¹. Quanto a amostra B2, alguns fatores podem ter influenciado no baixo conteúdo proteico. O estresse a que as células são expostas em alguns casos, como o estresse salino, por exemplo, diminui a capacidade de síntese de proteína pela Spirulina (ZENG; VONSHAK, 1998). A composição do meio de cultura também exibe impacto direto sobre a composição da biomassa de Spirulina, visto que a quantidade de nitrato está diretamente relacionada à síntese proteica de microalgas (CARVALHO *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2013).

Os resultados obtidos estão de acordo com aqueles relatados em outros estudos (ALJOB AIR *et al.*, 2021; BELAY, 2013; LUCAS *et al.*, 2018; MADKOUR; KAMIL; NASR, 2012; SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019; VONSHAK, 2002). No entanto, a amostra SB apresentou valor proteico bastante inferior às demais amostras (44,853 g.100g⁻¹). Este valor é semelhante ao encontrado por Volkmann *et al.*, (2008) e por Ramírez-Rodrigues *et al.* (2021), os quais encontraram cerca de 48% e 47% de proteínas, respectivamente.

Tabela 7 – Teor de proteína bruta em amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó

Amostra	Teor de Proteínas (g.100g ⁻¹)
B1	65,638 ± 0,671 ^d
B2	44,853 ± 0,339 ^e
B3	69,259 ± 0,153 ^{ab}
B4	61,791 ± 0,057 ^c
C1	70,116 ± 0,115 ^{ab}
C2	70,980 ± 1,814 ^b
E1	67,560 ± 0,127 ^{ad}
E2	60,697 ± 0,077 ^c

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

O elevado conteúdo de proteínas encontrado nas amostras indica que a Spirulina é uma boa fonte proteica para ser utilizada como ingrediente, melhorando o perfil nutricional do alimento. O conteúdo proteico da Spirulina demonstra ser maior do que o conteúdo de muitas microalgas (BECKER, 2013; CHRISTAKI; FLOROU-PANERI; BONOS, 2011), além de ser maior do que as algas verdes e vermelhas, e das algas comestíveis marrons (REBOLEIRA *et al.*, 2019; WONG; CHEUNG, 2000). Em adição, a quantidade de proteína encontrada nas amostras é, ainda, superior à quantidade de proteína presente em vegetais (22%), carne (25%) e peixe (20%) (AOUIR *et al.*, 2017).

4.1.5 Extrato Etéreo (Lipídios)

O teor de lipídios de cada amostra está representado na Tabela 8. Os valores de lipídios variaram entre $4,399 \pm 0,124 \text{ g.100g}^{-1}$ e $6,864 \pm 1,477 \text{ g.100g}^{-1}$.

Tabela 8 – Teor de extrato etéreo (lipídios) em amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó

Amostra	Teor de Lipídios (g.100g⁻¹)
B1	$5,872 \pm 0,097^{ab}$
B2	$4,399 \pm 0,124^c$
B3	$5,868 \pm 0,344^{ab}$
B4	$5,679 \pm 0,010^{abc}$
C1	$5,139 \pm 0,612^{ac}$
C2	$6,864 \pm 1,477^b$
E1	$5,556 \pm 0,039^{abc}$
E2	$5,958 \pm 0,573^{ab}$

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Todas as amostras apresentam teor de lipídios próximo aos relatados em outros estudos. Aljobair *et al.* (2021), ao analisar biomassa de Spirulina da Arábia Saudita, encontraram $6,93 \pm 0,41 \text{ g.100g}^{-1}$ de lipídio, assemelhando-se à amostra C2. Madkour, Kamil e Nasr (2012) encontraram a quantidade de lipídios igual a $7,16 \pm 0,68\%$, no entanto, ao modificarem os nutrientes e suas quantidades do meio de cultivo, apresentaram resultados diferentes, que variaram de $5,64 \pm 0,11\%$ a $15,39 \pm 1,32\%$. Estes resultados demonstram que

a composição do meio de cultivo impacta diretamente a composição lipídica da biomassa de Spirulina.

Em comparação entre cinco biomassas de Spirulina, Aouir *et al.* (2017) encontraram para as amostras 1, 2 3, 4 e 5, os valores de 8,08%, 2,38%, 1,5%, 2,95% e 4,79%, respectivamente. As diferenças entre as biomassas se deram através da diferença de pH, temperatura e luminosidade nas condições de cultivo da Spirulina, que pode diminuir drasticamente o acúmulo de lipídios sob altas luminosidade e temperatura, por exemplo, e pode aumentar quando submetida à restrição de nitrogênio.

4.2 ANÁLISES DE PROPRIEDADES FÍSICAS

4.2.1 Cor

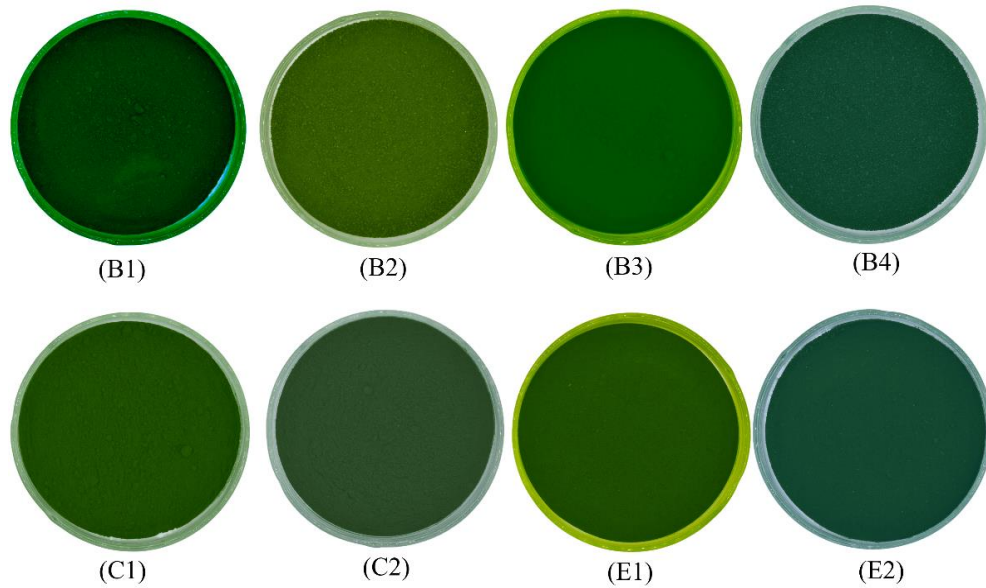
Os parâmetros de cor L*, a*, b* das amostras de pós de spirulina são apresentados na Tabela 9. Na Figura 3 estão apresentadas as imagens de comparação visual das amostras de Spirulina em pó.

Tabela 9 - Parâmetros de cor (L*, a*, b* - médias \pm desvio padrão) das amostras comerciais de biomassa de Spirulina em pó

AMOSTRA	L*	a*	b*
B1	20,08 \pm 0,63 ^c	-29,81 \pm 0,34 ^a	26,62 \pm 0,35 ^e
B2	34,66 \pm 0,04 ^d	-27,02 \pm 0,07 ^d	40,61 \pm 0,11 ^f
B3	28,91 \pm 0,04 ^a	-37,32 \pm 0,04 ^c	36,01 \pm 0,06 ^a
B4	26,99 \pm 0,05 ^b	-23,75 \pm 0,03 ^b	8,63 \pm 0,04 ^b
C1	28,75 \pm 0,11 ^a	-30,31 \pm 0,06 ^a	36,13 \pm 0,10 ^a
C2	29,35 \pm 0,05 ^a	-20,40 \pm 0,06 ^e	17,44 \pm 0,11 ^d
E1	28,87 \pm 0,08 ^a	-30,15 \pm 0,12 ^a	36,20 \pm 0,06 ^a
E2	26,93 \pm 0,09 ^b	-23,65 \pm 0,05 ^b	9,58 \pm 0,13 ^c

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 2 - Comparação visual das biomassas de spirulina em pó



FONTE: A autora (2021).

É possível observar, através da Tabela 9, que houve diferença significativa entre as amostras em todos os parâmetros de cor avaliados. Os parâmetros colorimétricos podem ser influenciados pelo meio de cultivo, pH, temperatura, quantidade de oxigênio, exposição à luz e tipo de processamento de secagem aplicado (CESA *et al.*, 2017).

O parâmetro L^* indica a luminosidade da amostra e pode variar de 0 (preto absoluto) a 100 (branco absoluto). A amostra B2 demonstrou ser levemente mais clara do que as demais amostras, enquanto a amostra mais escura foi a B1, sendo as duas provenientes do Brasil. O parâmetro a^* da escala CIELab indica a coordenada vermelho/verde e valores negativos estão relacionados aos tons verdes, os quais podem ser observados na Tabela 9 e na Figura 3. Valores positivos no parâmetro b^* indicam que as amostras são mais amarelas e valores negativos indicam proximidade com a coloração azul. Todos os valores encontrados são positivos, fazendo com que as amostras de biomassa de Spirulina aproximem-se da cor amarela. É possível observar na Tabela 8 que as amostras apresentaram diferença significativa entre os resultados de b^* .

A degradação da ficocianina pode ser uma das causas da perda da coloração característica, visto que estas proteínas estão relacionadas com a manutenção da coloração e são diretamente afetadas pelo tratamento térmico (ANTELO *et al.*, 2008; DEMARCO, 2018). Além disso, os parâmetros de cor também podem ser afetados pela degradação de outros compostos presentes na Spirulina, como clorofila e carotenóides, que também influenciam a coloração da matriz em que se encontram (DEMARCO, 2018). A diferença de coloração entre

as amostras também pode estar associada à degradação de compostos pelo calor, no processo de desidratação empregado, por exemplo, comprometendo a qualidade do produto. Maiores tempos empregados no processo de secagem e o material da embalagem em que a amostra é armazenada também podem estar relacionados com a redução dos parâmetros de a^* e de L^* nas amostras (CABRAL-MALHEIROS *et al.*, 2010; PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2012).

4.2.2 Solubilidade

Na Tabela 10 são apresentados os resultados dos percentuais de solubilidade (SOL) de cada amostra. A propriedade de dissolução dos alimentos em pó em água depende da solubilidade das partículas. Esta propriedade pode ser alterada pela composição da sua porção externa, pelo teor de gordura e pelo estado das proteínas (CHEN; ÖZKAN, 2007).

Tabela 10 - Percentual de solubilidade aparente (média \pm desvio padrão) de biomassa de *Spirulina* em pó

Amostra	% SOL
B1	67,794 \pm 22,630 ^a
B2	44,721 \pm 31,82 ^a
B3	31,185 \pm 2,454 ^a
B4	28,168 \pm 4,501 ^a
C1	50,961 \pm 15,402 ^a
C2	45,206 \pm 2,378 ^a
E1	36,969 \pm 8,783 ^a
E2	48,791 \pm 32,814 ^a

*Letras iguais na mesma coluna representam que não houve diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O maior valor obtido neste experimento foi de 67,794 \pm 22,630% cuja amostra é a B1 e o menor valor de solubilidade foi 28,168 \pm 4,501%, relacionado à amostra B4.

A solubilidade influencia diretamente a propriedade de dissolução das partículas dos alimentos em pó, determinando a qualidade da reconstituição destes alimentos. Por sua vez, ela é influenciada pela composição química e pelo estado físico dessas partículas. As propriedades de dissolução dos alimentos em pó afetam seu processo de produção e a sua formulação final

(DHANALAKSHMI; GHOSAL; BHATTACHARYA, 2011). Nestes alimentos, é extremamente importante que as partículas solúveis se dissolvam o máximo que for possível, sem que haja deposição de pós no fundo do recipiente ou acúmulo em sua superfície (SCHUBERT, 1987).

Métodos de secagem que empregam altas temperaturas podem afetar negativamente a solubilidade de alimentos ao causar a desnaturação e agregação das proteínas (CHEN; ÖZKAN, 2007). Ainda, os alimentos que possuem os maiores valores de solubilidade são aqueles que apresentaram maior grau de desorganização macromolecular durante a secagem (CAPARINO *et al.*, 2012).

Os valores elevados de solubilidade também podem estar associados à adição de agentes ou aditivos nas amostras de spirulina, adicionados muitas vezes para aumentar seu rendimento ou como agente carreador ou protetor durante o processo de secagem. A maltodextrina é um componente muito utilizado como carreador no processo de secagem por *spray-drying* e, por ser altamente solúvel em água, aumenta a solubilidade do alimento (CANO-CHAUCA *et al.*, 2005). Caparino *et al.* (2012) encontraram elevados valores de solubilidade em pó de manga submetido à secagem em *spray-dryer* e associou os resultados à aplicação de maltodextrina. Nas amostras de pó de manga submetidas à liofilização, a solubilidade foi menor.

Ebert *et al.* (2020), ao avaliar a solubilidade de proteínas de origem vegetal para sua aplicação como ingrediente, obtiveram resultados muito baixos. Neste estudo, as solubilidades de preparados de ervilha e trigo em pó variaram de 8,5% e 7,5% até 42,4% e 28,8%. Pereira, Lisboa e Costa (2018) estudaram a solubilidade de extratos proteicos de Spirulina, obtendo até $87,5 \pm 0,8\%$, em pH 11. Em pH 7, a solubilidade foi maior na proteína de Spirulina isolada (70,9%) quando comparada à concentrada (57,7%), a qual possuía mais de 80% de proteína, devido à redução do conteúdo lipídico. Larrosa *et al.* (2017) encontraram solubilidade de $28,6 \pm 0,7 \text{ g} \cdot (100\text{g}_{\text{db}})^{-1}$ em Spirulina in natura, enquanto os processos de secagem com leite de jorro e em bandeja, tanto em 90 °C quanto em 100 °C, aumentaram essas propriedades.

4.2.3 Tempo de Dispersão

Os valores de tempo de dispersão, em minutos, estão apresentados na Tabela 11. O maior tempo de dispersão é o da amostra C2 que levou aproximadamente $3\text{h}19\text{min} \pm 25\text{min}$

para dispersar-se completamente em água. Já a amostra B1 dispersou-se mais rapidamente entre as amostras de Spirulina em pó, levando aproximadamente $6\text{min}45\text{s} \pm 1\text{s}$ para a dispersão total. No entanto, as amostras B1, B2, B4, E1 e E2 não apresentaram diferença significativa entre os tempos de dispersão.

Tabela 11 – Tempo de dispersão (minutos \pm desvio padrão) das amostras comerciais de Spirulina em pó

AMOSTRA	TEMPO DE DISPERSÃO (min)
B1	$6,751 \pm 0,024^a$
B2	$14,418 \pm 2,239^a$
B3	$80,32 \pm 0,052^b$
B4	$17,625 \pm 0,506^a$
C1	$84,959 \pm 8,567^b$
C2	$187,492 \pm 25,373^c$
E1	$11,043 \pm 0,202^a$
E2	$14,359 \pm 2,157^a$

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O tempo de dispersão das partículas do alimento em pó em um líquido é, geralmente, empregado para avaliar as propriedades de instantaneização do alimento (DACANAL; MENEGALLI, 2010). Alimentos em pó instantâneos devem umedecer rapidamente e se dispersarem completamente em pouco tempo. Aqueles que não apresentam estas propriedades tendem a formar grânulos entre as partículas quando misturados em água, necessitando de forte agitação mecânica para sua homogeneização (SKANDERBY *et al.*, 2009). A propriedade de dispersão pode ser influenciada pelas condições de processamento do alimento, como temperatura e tempo de secagem, além da escolha do método (DACANAL; MENEGALLI, 2010). As condições de superfície do pó também tendem a influenciar esta propriedade, a qual pode determinar suas condições ideais de armazenagem, manipulação e posterior aplicação em alimentos. O tamanho da partícula e a distribuição do seu tamanho interferem nas propriedades de dispersão (SAKURAI *et al.*, 2017). Pós com partículas de diferentes tamanhos, possuem maior tempo de dispersão, enquanto pós com partículas muito finas promovem a formação de uma camada hidrofóbica, prejudicando o tempo de dispersão e, assim, o processo de instantaneização (COLUGNATI, 2003).

4.3 ANÁLISE DE FICOCIANINA

A concentração de ficocianina identificada em cada amostra está representada na Tabela 12. Houve grande variação nas concentrações encontradas, em que o menor valor foi $94,847 \pm 8,338 \text{ mg.g}^{-1}$, relativo à amostra B1, e a maior concentração pertenceu à amostra B3, cujo valor foi $411,749 \pm 38,988 \text{ mg.g}^{-1}$. Esta última não apresentou diferença estatística significativa entre as amostras C1 e C2.

Tabela 12 – Concentração (média \pm desvio padrão) de ficocianina nas amostras em pó de Spirulina, em base seca

Amostra	Concentração de ficocianina (mg.g ⁻¹)
B1	$94,847 \pm 8,338^a$
B2	$255,548 \pm 4,902^{bd}$
B3	$411,749 \pm 38,988^c$
B4	$139,719 \pm 1,360^a$
C1	$405,164 \pm 17,592^c$
C2	$327,935 \pm 38,516^{bc}$
E1	$173,413 \pm 5,463^{ad}$
E2	$288,904 \pm 15,930^b$

*Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A ficocianina pertence à família das ficobiliproteínas e é um dos pigmentos fotossintéticos mais importantes, podendo constituir até 20% da Spirulina, em base seca. No entanto, é extremamente instável frente ao calor e a sua diminuição está associada à desnaturação proteica (LARROSA *et al.*, 2017). Um dos métodos mais utilizados para a extração de ficocianina é o de congelamento/descongelamento, em que a amostra é submetida a sucessivas etapas de congelamento (21 horas) e descongelamento (3 horas), para que haja o rompimento da parede celular e extração da ficocianina que é uma proteína solúvel em água, sem necessidade do uso de solventes (FERREIRA-SANTOS *et al.*, 2020).

Ao empregarem o mesmo método de extração de ficocianina descrito, em amostras de Spirulina, Rodríguez-Sánchez *et al.* (2012) e Santos *et al.* (2020) obtiveram, respectivamente, 47% e 4,2% de ficocianina nas amostras, em peso seco. Aouir *et al.* (2017) encontraram, com

exceção de uma amostra, valores de ficocianina variando entre 1,80% e 8,70%. Enquanto, Kumar, Kulshreshtha e Singh (2011), ao avaliar a quantidade de ficocianina em amostras de *Spirulina* submetidas à diferentes temperaturas (20-40 °C) e intensidades de luz (500-3.500 lux) durante seu cultivo, puderam determinar que a amostra submetida a menor temperatura apresentou o menor teor de ficocianina (5,39%), sendo possível observar o mesmo quanto a amostra submetida a maior luminosidade (5,38%). Enquanto a amostra submetida à temperatura de 35 °C alcançou a maior quantidade de ficocianina (7,73%), valor próximo ao encontrado na *Spirulina* cuja luminosidade durante o cultivo foi de 2.000 lux. É possível observar que as diferentes condições de cultivo, como intensidade de luz e temperatura do ambiente, influenciam diretamente a quantidade de ficocianina em *Spirulina*.

Os variados métodos de secagem e as temperaturas empregadas neles também são capazes de interferir na quantidade de ficocianina. Demarco (2018) demonstrou, ao comparar diferentes processos de secagem em *Spirulina*, que a elevação da temperatura acarretou no aumento da degradação da ficocianina nas amostras. Além disso, foi observado que o processo de liofilização preservou a maior parte destas ficobiliproteínas (98%), quando comparado aos processos de *vacuum cast-tape drying*, *cast-tape drying* e secagem em estufa convectiva que acarretaram em perdas de 10 a 93% de ficocianina.

4.4 DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNA

Os resultados do percentual de digestibilidade em cada amostra estão apresentados na Tabela 13. A digestibilidade aparente *in vitro* das biomassas de *Spirulina* em pó variou entre $81,0 \pm 2,4$ a $85,7 \pm 1,2\%$ e não obteve diferença significativa. O percentual médio foi de $82,4 \pm 1,7\%$.

Tabela 13 – Percentual de digestibilidade (média \pm desvio padrão) das proteínas em amostras comerciais de Spirulina em pó

AMOSTRA	% DIGESTIBILIDADE
B1	85,7 \pm 1,2 ^a
B2	82,1 \pm 2,3 ^a
B3	82,0 \pm 1,0 ^a
B4	82,0 \pm 1,5 ^a
C1	81,0 \pm 2,4 ^a
C2	82,0 \pm 1,5 ^a
E1	84,9 \pm 2,2 ^a
E2	79,7 \pm 1,4 ^a

*Letras iguais na mesma coluna representam que não houve diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos estão de acordo com os observados em demais estudos. Os autores Morais *et al.* (2009), Nicolai *et al.* (2019a) e Richmond (1990) obtiveram em seus estudos teores de digestibilidade de proteína em amostras de biomassa de Spirulina entre 81 e 84%.

Kose *et al.* (2017) encontraram em Chlorella um valor de digestibilidade de 70%. Wild, Steingäß e Rodehutschord (2018) encontraram nas microalgas Nannochloropsis e Phaeodactylum 79% e 83% de digestibilidade, respectivamente.

Quando comparada a outras fontes de proteínas vegetais e a microalgas, a Spirulina apresenta valores próximos ou superiores de digestibilidade. A digestibilidade é um fator de importante quando deseja-se utilizar a Spirulina como ingrediente em alimentos ou suplementos proteicos, por exemplo, e os altos valores obtidos permite que a biomassa de Spirulina possa ser empregada pela indústria alimentícia (VEIGA *et al.*, 2020).

A digestibilidade de um alimento pode ser influenciada pela sua composição bioquímica, bem como pela estrutura de suas proteínas, pelo tipo de processamento a que é submetido e pela presença de outros compostos, como compostos fenólicos, que podem interferir no valor obtido (SÁ; MORENO; CARCIOFI, 2020). As diferentes metodologias de digestibilidade *in vitro*, assim como as diferentes misturas enzimáticas empregadas em cada método e as condições da análise também podem estar relacionados com os diferentes valores

de digestibilidade encontrados (WILD; STEINGAB; RODEHUTSCORD, 2018). Outro fator que também interfere nos resultados é a composição da parede celular das diferentes espécies de microalgas e os processos empregados para que haja a ruptura celular, impactam na acessibilidade dos nutrientes.

5 CONCLUSÃO

As amostras comerciais de Spirulina em pó demonstraram ser boas fontes de nutrientes para usos em alimentos e suplementos alimentares, devido a sua qualidade nutricional e suas propriedades físicas, como capacidade de estabilizar emulsões, agir como surfactantes ou formas géis proteicos, por exemplo. As amostras originadas na China, C1 e C2, por exemplo, por apresentarem o maior teor de proteínas, poderiam ser empregadas como suplementos proteicos alternativos aos de origem animal ou vegetal. As amostras que apresentaram menor tempo de dispersão, como a B1, são mais recomendadas para sua aplicação como ingrediente em bebidas, já que apresentam melhor característica de instantaneação em relação às demais amostras. Já as amostras B3, C1 e C2, poderiam ser utilizadas na fabricação de corantes alimentícios ou de cosméticos, pois obtiveram os maiores resultados de ficocianina, a qual apresenta propriedade colorante. Além disso, os elevados valores de digestibilidade proteica *in vitro* encontrados neste estudo demonstraram que a Spirulina possui uma grande quantidade de aminoácidos livres que, muitas vezes, pode ser maior do que de fontes proteicas vegetais convencionais. A Spirulina também demonstrou maior digestibilidade quando comparada a outras microalgas que tiveram esta propriedade avaliada em outros estudos, provavelmente devido à composição da sua parede celular, que permite a maior acessibilidade aos nutrientes. O seu conteúdo de ficocianina apresentou uma variação significativa entre as amostras, o que pode ser um indicador do método de secagem e a temperatura empregada no processo de desidratação da biomassa, já que a ficocianina é um composto facilmente degradado pelo calor e pelo processamento. As propriedades de tempo de dispersão demonstram que as diferentes amostras de Spirulina em pó avaliadas não apresentam características ideais de instantaneação devido, provavelmente, ao tamanho e à composição das suas partículas, e à distribuição destas.

REFERÊNCIAS

- ABO-SHADY, A. M. Spectroscopic study of phycocyanobilin from the cyanobacterium *Spirulina platensis*. **Biologia Plantarum**, [S.L.], v. 37, n. 4, p. 631-633, 1 dez. 1995. Institute of Experimental Botany. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02908849>.
- AHMED, Abdul Bakrudeen Ali; ADEL, Mohaddeseh; TALATI, Ali; KUMAR, Muthusamy S.; ABDULRAHIM, Kamaludeen; ABDULHAMEED, Meera M. Seaweed Polysaccharides and Their Production and Applications. **Seaweed Polysaccharides**, [S.L.], p. 369-382, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809816-5.00020-7>.
- AK, Burcu; AVŞAROĞLU, Ezgi; İŞĐK, Oya; ÖZYURT, Gülsün; KAFKAS, Ebru; ETYEMEZ, Miray; USLU, Leyla. Nutritional and Physicochemical Characteristics of Bread Enriched with Microalgae *Spirulina platensis*. **Int. Journal Of Engineering Research And Application**, [S.L.], v. 6, n. 12, p. 30-38, dez. 2016.
- ALJOB AIR, Moneera O.; ALBARIDI, Najla A.; ALKURAIIEEF, Amal N.; ALKEHAYEZ, Nora M. Physicochemical properties, nutritional value, and sensory attributes of a nectar developed using date palm puree and spirulina. **International Journal Of Food Properties**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 845-858, 1 jan. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2021.1938604>.
- ALMEIDA, Leila Magda Rodrigues; CRUZ, Larissa Farias da Silva; MACHADO, Bruna Aparecida Souza; NUNES, Itaciara Larroza; COSTA, Jorge Alberto Vieira; FERREIRA, Ederlan de Souza; LEMOS, Paulo Vitor França; DRUZIAN, Janice Izabel; SOUZA, Carolina Oliveira de. Effect of the addition of *Spirulina* sp. biomass on the development and characterization of functional food. **Algal Research**, [S.L.], v. 58, p. 102387, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2021.102387>.
- AOUIR, Amel; AMIALI, Malek; BITAM, Arezki; BENCHABANE, Ahmed; RAGHAVAN, Vijaya G. Comparison of the biochemical composition of different *Arthrospira platensis* strains from Algeria, Chad and the USA. **Journal Of Food Measurement And Characterization**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 913-923, 14 fev. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-016-9463-4>.
- ATIK, Didem Sözeri; GÜRBÜZ, Başak; BÖLÜK, Esra; PALABĐYĐK, İbrahim. Development of vegan kefir fortified with *Spirulina platensis*. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 42, p. 101050, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101050>.
- BAKY, Hanaa H. Abd El. Evaluación de las características funcionales de galletas sublimadas. **Nutricion Hospitalaria**, [S.L.], n. 1, p. 231-241, 1 jul. 2015. GRUPO AULA MEDICA. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.8804>.
- BARKA, Abakoura; AMIRA, Amal B; FRANCIS, Frédéric; BLECKER, Christophe. Physicochemical characterization of colored soluble protein fractions extracted from *Spirulina* (*Spirulina platensis*). **Food Science And Technology International**, [S.L.], v. 24, n. 8, p. 651-663, 17 jul. 2018. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1082013218786862>.
- BASHIR, Shahid; SHARIF, Mian Kamran; BUTT, Masood Sadiq; SHAHID, Muhammad. Functional Properties and Amino acid Profile of *Spirulina platensis* Protein Isolates. **Biological**

Sciences - Pjsir, [S.L.], v. 59, n. 1, p. 12-19, 26 abr. 2016. PCSIR-Scientific Information Center. <http://dx.doi.org/10.52763/pjsir.biol.sci.59.1.2016.12.19>.

BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; NUNES, M. C.; FRANCO, J. M.; RAYMUNDO, A. Microalgae Biomass as a Novel Functional Ingredient in Mixed Gel Systems. **Gums And Stabilisers For The Food Industry** 14, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 487-494, maio 2008. Royal Society of Chemistry. <http://dx.doi.org/10.1039/9781847558312-00487>.

BATISTA, A.P.; NUNES, M.C.; RAYMUNDO, A.; GOUVEIA, L.; SOUSA, I.; CORDOBÉS, F.; GUERRERO, A.; FRANCO, J.M. Microalgae biomass interaction in biopolymer gelled systems. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 817-825, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.018>.

BATISTA, Ana Paula; NICCOLAI, Alberto; FRADINHO, Patrícia; FRAGOSO, Solange; BURSIC, Ivana; RODOLFI, Liliana; BIONDI, Natascia; TREDICI, Mario R.; SOUSA, Isabel; RAYMUNDO, Anabela. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. **Algal Research**, [S.L.], v. 26, p. 161-171, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.017>.

BATISTA, Ana Paula; RAYMUNDO, Anabela; SOUSA, Isabel; EMPIS, José. Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 44-52, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.02.009>.

BECKER, E.W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 207-210, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.

BECKER, Wolfgang. Microalgae in Human and Animal Nutrition. **Handbook Of Microalgal Culture**, [S.L.], p. 312-351, 2013. Blackwell Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470995280.ch18>.

BEGUM, Hasina; YUSOFF, Fatimah Md.; BANERJEE, Sanjoy; KHATOON, Helena; SHARIFF, Mohamed. Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 56, n. 13, p. 2209-2222, 12 fev. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.764841>.

BEHESHTIPOUR, H.; MORTAZAVIAN, A. M.; MOHAMMADI, R.; SOHRABVANDI, S.; KHOSRAVI-DARANI, K. Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* Algae into Probiotic Fermented Milks. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 144-154, mar. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12004>.

BELAY, Amha. Biology and Industrial Production of *Arthrospira* (*Spirulina*). In: RICHMOND, Amos; HU, Qiang (ed.). **Handbook of Microalgal Culture: applied phycology and biotechnology**. 2. ed. [S.I.]: Blackwell Publishing, 2013. p. 339-358.

BERNO, L. I.; LOPES, T. G. G.; BRAZACA, S. G. C. Avaliação da composição centesimal, digestibilidade e atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 277-282, jul/set. 2007.

BERTSCH, Pascal; BÖCKER, Lukas; MATHYS, Alexander; FISCHER, Peter. Proteins from microalgae for the stabilization of fluid interfaces, emulsions, and foams. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 108, p. 326-342, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.014>.

BHAT, Vadiraja B.; MADYASTHA, K.M. Scavenging of Peroxynitrite by Phycocyanin and Phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to dna. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 285, n. 2, p. 262-266, jul. 2001. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.2001.5195>.

BIMBO, Francesco; BONANNO, Alessandro; NOCELLA, Giuseppe; VISCECCHIA, Rosaria; NARDONE, Gianluca; DEVITIIS, Biagia de; CARLUCCI, Domenico. Consumers' acceptance and preferences for nutrition-modified and functional dairy products: a systematic review. **Appetite**, [S.L.], v. 113, p. 141-154, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.031>.

BOROWITZKA, Michael A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. **Progress In Industrial Microbiology**, [S.L.], p. 313-321, 1999. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6352\(99\)80123-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6352(99)80123-4).

BOUKID, Fatma; CASTELLARI, Massimo. Food and Beverages Containing Algae and Derived Ingredients Launched in the Market from 2015 to 2019: a front-of-pack labeling perspective with a special focus on Spain. **Foods**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 173, 16 Jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods10010173>.

BOYE, Joyce; WIJESINHA-BETTONI, Ramani; BURLINGAME, Barbara. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. **British Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 108, n. 2, p. S183-S211, ago. 2012. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114512002309>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC n° 360**, de 23 de dezembro de 2003, que aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de dez. 2003.

CABRAL-MALHEIROS, Gisela; HECKTHEUER, Luisa Helena Rychecki; CANTO, Marta Weber do; BALSAMO, Geisi Mello. O tempo e o tipo de embalagem sobre a erva-mate tipo chimarrão durante armazenagem em condições ambientais. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 40, n. 3, p. 654-660, 5 mar. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782010005000028>.

CANO-CHAUCA, Milton; 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 & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 420-428, dez. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2005.05.003>.

CAPARINO, O.A.; TANG, J.; NINDO, C.I.; SABLANI, S.s.; POWERS, J.R.; FELLMAN, J.K. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 111, n. 1, p. 135-148, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.010>.

CAPORGNO, Martín P.; MATHYS, Alexander. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. **Frontiers In Nutrition**, [S.L.], v. 5, 31 jul. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fnut.2018.00058>.

CARVALHO, Ana P.; PONTES, Isabel; GASPAR, Hugo; MALCATA, F. Xavier. Metabolic relationships between macro- and micronutrients, and the eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid contents of *Pavlova lutheri*. **Enzyme And Microbial Technology**, [S.L.], v. 38, n. 3-4, p. 358-366, fev. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.05.014>.

CESA, Stefania; CARRADORI, Simone; BELLAGAMBA, Giuseppe; LOCATELLI, Marcello; CASADEI, Maria Antonietta; MASCI, Alessandra; PAOLICELLI, Patrizia. Evaluation of processing effects on anthocyanin content and colour modifications of blueberry (*Vaccinium* spp.) extracts: comparison between hplc-dad and cielab analyses. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 232, p. 114-123, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.153>.

CHAIKLAHAN, Ratana; CHIRASUWAN, Nattayaporn; BUNNAG, Boosya. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: influence of temperature, ph and preservatives. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 47, n. 4, p. 659-664, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.010>.

CHEN, Chun-Yen; KAO, Pei-Chun; TSAI, Chia-Jung; LEE, Duu-Jong; CHANG, Jo-Shu. Engineering strategies for simultaneous enhancement of C-phycocyanin production and CO₂ fixation with *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 145, p. 307-312, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.054>.

CHEN, Xiao Dong; ÖZKAN, Necati. Stickiness, Functionality, and Microstructure of Food Powders. **Drying Technology**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 959-969, 11 jun. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/07373930701397400>.

CHRISTAKI, Efterpi; FLOROU-PANERI, Panagiota; BONOS, Eleftherios. Microalgae: a novel ingredient in nutrition. **International Journal Of Food Sciences And Nutrition**, [S.L.], v. 62, n. 8, p. 794-799, 16 maio 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2011.582460>.

CHRONAKIS, Ioannis s; GALATANU, Anca Nicoleta; NYLANDER, Tommy; LINDMAN, Björn. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air/water interface. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 173, n. 1-3, p. 181-192, nov. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0927-7757\(00\)00548-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0927-7757(00)00548-3).

CHOPRA, Kanwaljit; BISHNOI, Mahendra. Antioxidant Profile of Spirulina: a blue-green microalga. In: GERSHWIN, M. E.; BELAY, Amha (ed.). **Spirulina in Human Nutrition and Health**. Boca Raton, Us: Crc Press, 2008. p. 101-118.

CLEMENTE, Alfonso; SÁNCHEZ-VIOQUE, Raúl; VIOQUE, Javier; BAUTISTA, Juan; MILLÁN, Francisco. Effect of cooking on protein quality of chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 62, n. 1, p. 1-6, maio 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(97\)00180-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(97)00180-5).

CLÉMENT, G.; GIDDEY, C.; MENZI, R. Amino acid composition and nutritive value of the alga *Spirulina maxima*. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 497-501, nov. 1967. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740181101>.

COHEN, Zvi; VONSHAK, Avigad. Fatty acid composition of Spirulina and spirulina-like cyanobacteria in relation to their chemotaxonomy. **Phytochemistry**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 205-206, jan. 1991. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)84125-c](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(91)84125-c).

COLLA, Luciane Maria; BERTOLIN, Telma Elita; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Fatty Acids Profile of *Spirulina platensis* Grown Under Different Temperatures and Nitrogen Concentrations. **Zeitschrift Für Naturforschung C**, [S.L.], v. 59, n. 1-2, p. 55-59, 1 fev. 2004. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2004-1-212>.

COLUGNATI, Patricia Girardi. **Propriedades físicas e funcionais de aglomerados a base de proteína de soja**. 2003. 71f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP.

COSTA, Jorge Alberto Vieira; FREITAS, Barbara Catarina Bastos; ROSA, Gabriel Martins; MORAES, Luiza; MORAIS, Michele Greque; MITCHELL, B. Greg. Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 292, p. 121946, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121946>.

CUQ, B.; RONDET, E.; ABECASSIS, J. Food powders engineering, between knowhow and science: constraints, stakes and opportunities. **Powder Technology**, [S.L.], v. 208, n. 2, p. 244-251, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2010.08.012>.

DACANAL, G.C. **Estudo da granulação de suco de acerola desidratado em leite fluidizado** (2005). Campinas, 2005. 112p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

DACANAL, G. C.; MENEGALLI, F. C. Experimental study and optimization of the agglomeration of acerola powder in a conical fluid bed. **Powder Technology**, [S.L.], v. 188, n. 3, p. 187-194, 2009.

DACANAL, G. C.; MENEGALLI, F. C. Selection of operational parameters for the production of instant soy protein isolate by pulsed bed agglomeration. **Powder Technology**, v. 203, n. 3, p. 565-573, 2010.

DELFINO, Ricardo de Araújo; CANNIATTI-BRAZACA, Solange Guidolin. Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade proteica de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Pérola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 308-312, jun. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612010000200003>.

DEMARCO, Mariana. **Produção e caracterização de pós de spirulina por diferentes métodos de secagem**. 2020. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

DEWI, Eko Nurcahya; AMALIA, Ulfah; MEL, Maizirwan. The Effect of Different Treatments to the Amino Acid Contents of Micro Algae *Spirulina* sp. **Aquatic Procedia**, [S.L.], v. 7, p. 59-65, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.008>.

DHANALAKSHMI, K.; GHOSAL, S.; BHATTACHARYA, S.. Agglomeration of Food Powder and Applications. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 51, n. 5, p. 432-441, 11 abr. 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408391003646270>.

DILLON, J. C.; PHAN, P. A. Arthrospira as a source of proteins in human nutrition Bull Inst Océano Monaco. **Special**, [S. L.], v. 12, n. 1, p. 103-107, 1993.

DINU, M.; VLASCEANU, G.; DUNE, A.; ROTARU, G. Researches concerning the growth of nutritive value of the bread products through the spirulina adding. **Journal Of Environmental Protection And Ecology**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 660-665, jan. 2012.

DOKE, Jayant Mahadev. An Improved and Efficient Method for the Extraction of Phycocyanin from *Spirulina* sp. **International Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 1, n. 5, 5 dez. 2005. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.2202/1556-3758.1037>.

EBERT, Sandra; GIBIS, Monika; TERJUNG, Nino; WEISS, Jochen. Survey of aqueous solubility, appearance, and pH of plant protein powders from carbohydrate and vegetable oil production. **Lwt**, [S.L.], v. 133, p. 110078, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110078>.

EID, A.e.; MATTY, A.J. A simple in vitro method for measuring protein digestibility. **Aquaculture**, [S.L.], v. 79, n. 1-4, p. 111-119, jul. 1989. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90451-1](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(89)90451-1).

FERREIRA-SANTOS, Pedro; NUNES, Rafaela; BIASIO, Filomena de; SPIGNO, Giorgia; GORGOGNONE, Domenico; TEIXEIRA, José A.; ROCHA, Cristina M.R. Influence of thermal and electrical effects of ohmic heating on C-phycoyanin properties and biocompounds recovery from *Spirulina platensis*. **Lwt**, [S.L.], v. 128, p. 109491, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109491>.

FIGUEIRA, Felipe da Silva; CRIZEL, Tainara de Moraes; SILVA, Camila Rubira; SALAS-MELLADO, Myriam de Las Mercedes. Pão sem glúten enriquecido com a microalga *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 14, n. 04, p. 308-316, 9 dez. 2011. Institute of Food Technology. <http://dx.doi.org/10.4260/bjft2011140400037>.

FLEURENCE, Joël; CHENARD, Estelle; LUÇCON, Michel. Determination of the nutritional value of proteins obtained from *Ulva armoricana*. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 231-239, 1999. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1008067308100>.

FRADIQUE, Mónica; BATISTA, Ana Paula; NUNES, M Cristiana; GOUVEIA, Luísa; BANDARRA, Narcisa M; RAYMUNDO, Anabela. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: preparation and evaluation. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 90, n. 10, p. 1656-1664, 13 maio 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3999>.

GORGÔNIO, Cristiane Mesquita da Silva. **Aplicação de tecnologia enzimática para a obtenção de hidrolisados protéicos de microalgas**. 2013. 151 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

GOUVEIA, Luísa; BATISTA, Ana Paula; RAYMUNDO, Anabela; BANDARRA, Narcisa. *Spirulina maxima* and *Diacronema vlkianum* microalgae in vegetable gelled desserts. **Nutrition & Food Science**, [S.L.], v. 38, n. 5, p. 492-501, 12 set. 2008. Emerald. <http://dx.doi.org/10.1108/00346650810907010>.

GROSSHAGAUER, Silke; KRAEMER, Klaus; SOMOZA, Veronika. The True Value of *Spirulina*. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 68, n. 14, p. 4109-4115, 5 mar. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08251>.

GUNSTONE, Frank D. Gammar linolenic acid—occurrence and physical and chemical properties. **Progress In Lipid Research**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 145-161, 1992. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0163-7827\(92\)90007-6](http://dx.doi.org/10.1016/0163-7827(92)90007-6).

HABIBA, R.A. Changes in anti-nutrients, protein solubility, digestibility, and HCl-extractability of ash and phosphorus in vegetable peas as affected by cooking methods. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 77, n. 2, p. 187-192, maio 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(01\)00335-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(01)00335-1).

HAI, Jun; LI, Xiaoting; LI, Wei; RAHAMAN, Md. Hasibur; ZHAO, Yuting; WEI, Bubo; WEI, Haoxuan. Optimization of biomass production and nutrients removal by *Spirulina platensis* from municipal wastewater. **Ecological Engineering**, [S.L.], v. 108, p. 83-92, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.07.023>.

HAVERSTOCK, Katie; FORGAYS, Deborah Kirby. To eat or not to eat. A comparison of current and former animal product limiters. **Appetite**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 1030-1036, jun. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2012.02.048>.

HELKAR, Prathamesh Bharat; SAHOO, A. K.; PATIL, N. J. Review: food industry by-products used as a functional food ingredients. **International Journal Of Waste Resources**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 1-6, 2016. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2252-5211.1000248>.

HSU, H. W.; VAVAK, D. L.; SATTERLEE, L. D.; MILLER, G. A. A multienzyme technique

for estimating protein digestibility. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 1269-1273, set. 1977. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb14476.x>.

ISHIKAWA, Toshitsugu; FUJIYAMA, Yoko; IGARASHI, Osamu; MORINO, Mayumi; TADA, Norio; KAGAMI, Akihiko; SAKAMOTO, Takuya; NAGANO, Makoto; NAKAMURA, Haruo. Effects of gammalinolenic acid on plasma lipoproteins and apolipoproteins. **Atherosclerosis**, [S.L.], v. 75, n. 2-3, p. 95-104, fev. 1989. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150\(89\)90165-2](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150(89)90165-2).

JAYA, S.; DAS, H. Glass Transition and Sticky Point Temperatures and Stability/Mobility Diagram of Fruit Powders. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 89-95, 25 jan. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-007-0047-5>.

JESUS, Cristiane Santos de; UEBEL, Lívia da Silva; COSTA, Samantha Serra; MIRANDA, Andréa Lobo; MORAIS, Etiele Greque de; MORAIS, Michele Greque de; COSTA, Jorge Alberto Vieira; NUNES, Itaciara Larroza; FERREIRA, Ederlan de Souza; DRUZIAN, Janice Izabel. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 256, p. 86-94, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.149>.

JOVENTINO, Ivan P.; ALVES, Henrique G.R.; NEVES, Lia C.; PINHEIRO-JOVENTINO, Francisca; LEAL, Luzia Kalyne A.M.; NEVES, Samya A.; FERREIRA, Francisco Valdeci; BRITO, Gerly Anne C.; VIANA, Glauce B. The Microalga *Spirulina platensis* Presents Anti-inflammatory Action as well as Hypoglycemic and Hypolipidemic Properties in Diabetic Rats. **Journal Of Complementary And Integrative Medicine**, [S.L.], v. 9, n. 1, 10 jan. 2012. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/1553-3840.1534>.

KADAM, S.u.; PRABHASANKAR, P. Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. **Food Research International**, [S.L.], v. 43, n. 8, p. 1975-1980, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.007>.

KHAN, Muhammad Imran; SHIN, Jin Hyuk; KIM, Jong Deog. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-21, 5 mar. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>.

KHANDUAL, Sanghamitra; SANCHEZ, Edgar Omar Lopez; ANDREWS, Hugo Espinosa; LAROSA, Jose Daniel Padilla de. Phycocyanin content and nutritional profile of *Arthrospira platensis* from Mexico: efficient extraction process and stability evaluation of phycocyanin. **Bmc Chemistry**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 24, 5 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13065-021-00746-1>.

KOSE, Ayse; OZEN, Mehmet O.; ELIBOL, Murat; ONCEL, Suphi S. Investigation of in vitro digestibility of dietary microalga *Chlorella vulgaris* and cyanobacterium *Spirulina platensis* as a nutritional supplement. **3 Biotech**, [S.L.], v. 7, n. 3, [S.I.], 29 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-017-0832-4>.

KUMAR, Manoj; KULSHRESHTHA, Jyoti; SINGH, Gajendra Pal. Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 1128-1135, set. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-83822011000300034>.

LAFARGA, Tomas; FERNÁNDEZ-SEVILLA, José María; GONZÁLEZ-LÓPEZ, Cynthia; ACIÉN-FERNÁNDEZ, Francisco Gabriel. *Spirulina* for the food and functional food industries. **Food Research International**, [S.L.], v. 137, p. 109356, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356>.

LAFARGA, Tomás. Effect of microalgal biomass incorporation into foods: nutritional and sensorial attributes of the end products. **Algal Research**, [S.L.], v. 41, p. 101566, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2019.101566>.

LARROSA, Ana Paula Quites; CAMARA, Álisson Schons; POHNDORF, Ricardo Scherer; ROCHA, Silvia Faria da; PINTO, Luiz Antonio de Almeida. Physicochemical, biochemical, and thermal properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass dried in spouted bed at different conditions. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 1019-1029, 22 set. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-017-1265-5>.

LEE, Robert Edward. **Phycology**. 4. ed. New York: Cambridge University Press, 2012.

LIM, Hooi Ren; KHOO, Kuan Shiong; CHEW, Kit Wayne; CHANG, Chih-Kai; MUNAWAROH, Heli Siti Halimatul; KUMAR, P. Senthil; HUY, Nguyen Duc; SHOW, Pau Loke. Perspective of *Spirulina* culture with wastewater into a sustainable circular bioeconomy. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 284, p. 117492, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117492>.

LUBITZ, Joseph A. The Protein Quality, Digestibility, and Composition of Algae, *Chlorella* 71105. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 28, n. 2, p. 229-232, mar. 1963. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1963.tb00189.x>.

LUCAS, Bárbara Franco; MORAIS, Michele Greque de; SANTOS, Thaisa Duarte; COSTA, Jorge Alberto Vieira. *Spirulina* for snack enrichment: nutritional, physical and sensory evaluations. **Lwt**, [S.L.], v. 90, p. 270-276, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.032>.

MABEAU, Serge; FLEURENCE, Joël. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 103-107, abr. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90091-n](http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244(93)90091-n).

MACHŮ, Ludmila; MIĽURCOVÁ, Ladislava; SAMEK, Dušan; HRABĚ, Jan; FIĽERA, Miroslav. In Vitro Digestibility of Different Commercial Edible Algae Products. **Journal Of Aquatic Food Product Technology**, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 423-435, 4 ago. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10498850.2012.721873>.

MADKOUR, Fedekar Fadel; KAMIL, Abd El-Wahab; NASR, Hoda Shafik. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. **The Egyptian Journal Of Aquatic**

Research, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 51-57, 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejar.2012.09.003>.

MANIRAFASHA, Emmanuel; MURWANASHYAKA, Theophile; NDIKUBWIMANA, Theoneste; AHMED, Nur Rashid; LIU, Jingyi; LU, Yinghua; ZENG, Xianhai; LING, Xueping; JING, Keju. Enhancement of cell growth and phycocyanin production in *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* by metabolic stress and nitrate fed-batch. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 255, p. 293-301, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.068>.

MARCO, Estefanía Rodríguez de; STEFFOLANI, M. Eugenia; MARTÍNEZ, Cristina S.; LEÓN, Alberto E. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 58, n. 1, p. 102-108, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.054>.

MARKOU, Giorgos. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under various amounts of limited phosphorus. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 116, p. 533-535, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.022>.

MATHLOUTHI, Mohamed. Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. **Food Control**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 409-417, out. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0956-7135\(01\)00032-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0956-7135(01)00032-9).

MCCARTY, Mark F. Clinical Potential of Spirulina as a Source of Phycocyanobilin. **Journal Of Medicinal Food**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 566-570, dez. 2007. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2007.621>.

MECHI, Rodrigo; CANIATTI-BRAZACA, Solange G.; ARTHUR, Valter. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 109-114, mar. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612005000100018>.

MINTEL. **Everything you need to know about seaweed**. 2018. Disponível em: <https://www.mintel.com/blog/food-market-news/everything-you-need-to-know-about-seaweed>. Acesso em: 04 ago. 2021.

MIŠURCOVÁ Ladislava. Seaweed Digestibility and Methods used for Digestibility Determination. **Handbook Of Marine Macroalgae**, [S.L.], p. 285-301, 21 nov. 2011. John Wiley & Sons, Ltd. <http://dx.doi.org/10.1002/9781119977087.ch13>.

MIŠURCOVÁ, L.; KRÁČMAR, S.; KLEJDUS, B.; VACEK, J. Nitrogen content, dietary fiber, and digestibility in algal food products. **Czech Journal Of Food Sciences**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 27-35, 18 fev. 2010. Czech Academy of Agricultural Sciences. <http://dx.doi.org/10.17221/111/2009-cjfs>.

MOLNÁR, N.; GYENIS, B.; VARGA, László. Influence of a powdered *Spirulina platensis* biomass on acid production of lactococci in milk. **Milchwissenschaft-milk Science International**, [S.L.], v. 60, n.4, p. 380-382, janeiro 2005.

MORAIS, M.G.; RADMANN, E.M.; ANDRADE, M.R.; TEIXEIRA, G.G.; BRUSCH, L.R.F.;

COSTA, J.A.V. Pilot scale semicontinuous production of Spirulina biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, [S.L.], v. 294, n. 1-2, p. 60-64, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.05.009>.

MOTA, Cátia Sofia Carvalho. **Avaliação do potencial de utilização de microalgas como alimento alternativo na alimentação de animais de produção**. 2018. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Agrônômica, Universidade do Porto, [S.L.], 2018.

MUYS, Maarten; SUI, Yixing; SCHWAIGER, Barbara; LESUEUR, Céline; VANDENHEUVEL, Dieter; VERMEIR, Pieter; VLAEMINCK, Siegfried E. High variability in nutritional value and safety of commercially available Chlorella and Spirulina biomass indicates the need for smart production strategies. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 275, p. 247-257, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.059>.

NAKAGAWA, Kyuya; RITCHAROEN, Watadta; SRI-UAM, Puchong; PAVASANT, Prasert; ADACHI, Shuji. Antioxidant properties of convective-air-dried Spirulina maxima: evaluation of phycocyanin retention by a simple mathematical model of air-drying. **Food And Bioproducts Processing**, [S.L.], v. 100, p. 292-302, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2016.07.014>.

NICCOLAI, Alberto; VENTURI, Manuel; GALLI, Viola; PINI, Niccolò; RODOLFI, Liliana; BIONDI, Natascia; D'OTTAVIO, Massimo; BATISTA, Ana Paula; RAYMUNDO, Anabela; GRANCHI, Lisa. Development of new microalgae-based sourdough “crostini”: functional effects of arthrospira platensis (spirulina) addition. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 19433, dez. 2019a. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-55840-1>.

NICCOLAI, Alberto; ZITTELLI, Graziella Chini; RODOLFI, Liliana; BIONDI, Natascia; TREDICI, Mario R. Microalgae of interest as food source: biochemical composition and digestibility. **Algal Research**, [S.L.], v. 42, p. 101617, set. 2019b. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2019.101617>.

OLIVEIRA, Thâmilla Thalline Batista de; REIS, Izabel Miranda dos; SOUZA, Mariana Bastos de; BISPO, Eliete da Silva; MACIEL, Leonardo Fonseca; DRUZIAN, Janice Izabel; TAVARES, Pedro Paulo Lordelo Guimarães; CERQUEIRA, Andressa de Oliveira; MORTE, Elba dos Santos Boa; GLÓRIA, Maria Beatriz Abreu. Microencapsulation of Spirulina sp. LEB-18 and its incorporation in chocolate milk: properties and functional potential. **Lwt**, [S.L.], v. 148, p. 111674, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111674>.

PAIVA, L; LIMA, E; NETO, AI; BAPTISTA, J. A multienzyme methodology for in vitro digestibility estimation of protein concentrates from Azorean macroalgae and its amino acid profiles. **Planta Medica**, [S.L.], v. 80, n. 16, p. 1N30, 30 out. 2014. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1394620>.

PAPALIA, Teresa; SIDARI, Rossana; PANUCCIO, Maria Rosaria. Impact of Different Storage Methods on Bioactive Compounds in Arthrospira platensis Biomass. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 15, p. 2810, 1 ago. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24152810>.

PARK, Sei Joon; KIM, Tae Wan; BAIK, Byung-Kee. Relationship between proportion and composition of albumins, and in vitro protein digestibility of raw and cooked pea seeds (*Pisum sativum* L.). **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 90, n. 10, p. 1719-1725, 13 maio 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.4007>.

PATHARE, Pankaj B.; OPARA, Umezuruike Linus; AL-SAID, Fahad Al-Julanda. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: a review. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 36-60, 11 maio 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>.

PEREIRA, Aline Massia; LISBOA, Cristiane Reinaldo; COSTA, Jorge Alberto Vieira. High protein ingredients of microalgal origin: obtainment and functional properties. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 47, p. 187-194, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.015>.

QIN, Yimin. Seaweed Hydrocolloids as Thickening, Gelling, and Emulsifying Agents in Functional Food Products. **Bioactive Seaweeds For Food Applications**, [S.L.], p. 135-152, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-813312-5.00007-8>.

RAMÍREZ-RODRIGUES, Milena M.; ESTRADA-BERISTAIN, Carolina; METRI-OJEDA, Jorge; PÉREZ-ALVA, Alexa; BAIGTS-ALLENDE, Diana K. Spirulina platensis Protein as Sustainable Ingredient for Nutritional Food Products Development. **Sustainability**, [S.L.], v. 13, n. 12, p. 6849, 17 jun. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/su13126849>.

REBOLEIRA, João; FREITAS, Rafaela; PINTEUS, Susete; SILVA, Joana; ALVES, Celso; PEDROSA, Rui; BERNARDINO, Susana. Brown Seaweeds. **Nonvitamin And Nonmineral Nutritional Supplements**, [S.L.], p. 171-176, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-812491-8.00024-2>.

REMPEL, Alan; MACHADO, Tainara; TREICHEL, Helen; COLLA, Eliane; MARGARITES, Ana Cláudia; COLLA, Luciane Maria. Saccharification of *Spirulina platensis* biomass using free and immobilized amylolytic enzymes. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 263, p. 163-171, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.114>.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Iowa – EUA: Blackwell Science, 2004.

RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, R.; ORTIZ-BUTRÓN, R.; BLAS-VALDIVIA, V.; HERNÁNDEZ-GARCÍA, A.; CANO-EUROPA, E. Phycobiliproteins or C-phycoocyanin of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* protect against HgCl₂-caused oxidative stress and renal damage. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 135, n. 4, p. 2359-2365, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.063>.

RUPÉREZ, Pilar; TOLEDANO, Gema. Indigestible fraction of edible marine seaweeds. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 83, n. 12, p. 1267-1272, 8 ago. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1536>.

SÁ, Amanda Gomes Almeida; MORENO, Yara Maria Franco; CARCIOFI, Bruno Augusto Mattar. Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. **Critical Reviews**

In Food Science And Nutrition, [S.L.], v. 60, n. 20, p. 3367-3386, 25 nov. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>.

SÁ, Amanda Gomes Almeida; MORENO, Yara Maria Franco; CARCIOFI, Bruno Augusto Mattar. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 97, p. 170-184, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011>.

SAFI, Carl; CHARTON, Michaël; PIGNOLET, Olivier; PONTALIER, Pierre-Yves; VACA-GARCIA, Carlos. Evaluation of the protein quality of *Porphyridium cruentum*. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 497-501, 31 jul. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-012-9883-4>.

SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S.; KAMAT, M.Y. Fractionation of lipids and purification of γ -linolenic acid (GLA) from *Spirulina platensis*. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 109, n. 3, p. 580-586, ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.005>.

SAKURAI, Yukiko; MISE, Ryohei; KIMURA, Shin-Ichiro; NOGUCHI, Shuji; IWAO, Yasunori; ITAI, Shigeru. Novel method for improving the water dispersibility and flowability of fine green tea powder using a fluidized bed granulator. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 206, p. 118-124, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.010>.

SALEH A.M.; EL-FOULY M.M.; SHAHEEN A.B.; EL-MALKY W.; KHORSHID A.M. Bluegreen algae in bread manufacture. (Blaugruene Algen bei der Brotherstellung). **Getreide Mehl und Brot**. [S.L.], v. 41, n. 1, p. 19-22, 1987. Deutscher Bäcker.

SARAVANA, Periaswamy Sivagnanam; CHUN, Byung Soo. Seaweed Polysaccharide Isolation Using Subcritical Water Hydrolysis. **Seaweed Polysaccharides**, [S.L.], p. 47-73, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809816-5.00004-9>.

SCHUBERT, H. Food particle technology. Part I: properties of particles and particulate food systems. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-32, jan. 1987. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0260-8774\(87\)90019-7](http://dx.doi.org/10.1016/0260-8774(87)90019-7).

SEGHIRI, Rajaa; KHARBACH, Mourad; ESSAMRI, Azzouz. Functional Composition, Nutritional Properties, and Biological Activities of Moroccan *Spirulina* Microalga. **Journal Of Food Quality**, [S.L.], v. 2019, p. 1-11, 3 jul. 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/3707219>.

SERBAN, Maria-Corina; SAHEBKAR, Amirhossein; DRAGAN, Simona; STOICHESCU-HOGEA, Gheorghe; URSONIU, Sorin; ANDRICA, Florina; BANACH, Maciej. A systematic review and meta-analysis of the impact of *Spirulina* supplementation on plasma lipid concentrations. **Clinical Nutrition**, [S.L.], v. 35, n. 4, p. 842-851, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2015.09.007>.

SHI, Wen-Qing; LI, Si-Dong; LI, Gao-Rong; WANG, Wen-Hua; CHEN, Qing-Xiang; LI, Yong-Qiang; LING, Xu-Wei. Investigation of main factors affecting the growth rate of

Spirulina. **Optik**, [S.L.], v. 127, n. 16, p. 6688-6694, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijleo.2016.04.125>.

SHIMELIS, E. A.; RAKSHIT, S. Effect of microwave heating on solubility and digestibility of proteins and reduction of antinutrients of selected common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. **Italian Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 407-418, jan. 2005.

SIDDHURAJU, P; MAKKAR, H.P.S; BECKER, K. The effect of ionising radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 78, n. 2, p. 187-205, ago. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(01\)00398-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(01)00398-3).

SILVA, Patrícia Costa da; TOLEDO, Tassiele; BRIÃO, Vandr e; BERTOLIN, Telma Elita; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Development of extruded snacks enriched by bioactive peptides from microalga *Spirulina* sp. LEB 18. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 42, p. 101031, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101031>.

SILVA, Samara C. da; FERNANDES, Isabel P.; BARROS, Lillian; FERNANDES,  ngela; ALVES, Maria Jos e; CALHELHA, Ricardo C.; PEREIRA, Carla; BARREIRA, Jo o C.M.; MANRIQUE, Yaidelin; COLLA, E. Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: testing different encapsulating solutions. **Journal Of Functional Foods**, [S.L.], v. 60, p. 103427, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2019.103427>.

SILVA, Suellen Paula da; VALLE, Anita Ferreira do; PERRONE, Daniel. Microencapsulated *Spirulina maxima* biomass as an ingredient for the production of nutritionally enriched and sensorially well-accepted vegan biscuits. **Lwt**, [S.L.], v. 142, p. 110997, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110997>.

SINGH, Parul; SINGH, Rakhi; JHA, Alok; RASANE, Prasad; GAUTAM, Anuj Kumar. Optimization of a process for high fibre and high protein biscuit. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 52, n. 3, p. 1394-1403, 15 ago. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-013-1139-z>.

SINGH, R.N.; SHARMA, Shaishav. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 2347-2353, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>.

SIR , Istv n; K POLNA, Emese; K POLNA, Be ta; LUGASI, Andrea. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. **Appetite**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 456-467, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>.

SKANDERBY, M.; WESTERGAARD, V.; PARTRIDGE, A.; MUIR, D. D. Dried Milk Products. **Dairy Powders And Concentrated Products**, [S.L.], p. 180-234, 7 dez. 2009. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/9781444322729.ch5>.

SONI, Ruma Arora; SUDHAKAR, K.; RANA, R.s. Comparative study on the growth

performance of *Spirulina platensis* on modifying culture media. **Energy Reports**, [S.L.], v. 5, p. 327-336, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.egyr.2019.02.009>.

SONI, Ruma Arora; SUDHAKAR, K.; RANA, R.S. *Spirulina* – From growth to nutritional product: a review. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 69, p. 157-171, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>.

SPOLAORE, Pauline; JOANNIS-CASSAN, Claire; DURAN, Elie; ISAMBERT, Arsène. Commercial applications of microalgae. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 101, n. 2, p. 87-96, fev. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1263/jbb.101.87>.

SU, Chia-Hung; LIU, Chang-Sung; YANG, Pei-Cheng; SYU, Kun-Siang; CHIUH, Chuang-Chun. Solid–liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: kinetic modeling of influential factors. **Separation And Purification Technology**, [S.L.], v. 123, p. 64-68, fev. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2013.12.026>.

SUN, Guohou; LIANG, Tieqiang; TAN, Wenying; WANG, Lijuan. Rheological behaviors and physical properties of plasticized hydrogel films developed from κ -carrageenan incorporating hydroxypropyl methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 85, p. 61-68, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.002>.

SWAISGOOD, Harold E.; CATIGNANI, George L. Protein Digestibility: in vitro methods of assessment. **Advances In Food And Nutrition Research**, [S.L.], p. 185-236, 1991. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s1043-4526\(08\)60065-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1043-4526(08)60065-0).

SANTILLAN-C. Cultivation of *Spirulina* for human consumption and for animal feed. In: **International Congress Of Food Science And Technology**, 1974, Madri, Espanha. Congresso [...]. [S. l.: s. n.], 1974.

TAPIA, María S.; ALZAMORA, Stella M.; CHIRIFE, Jorge. Effects of Water Activity (*aw*) on Microbial Stability as a Hurdle in Food Preservation. **Water Activity In Foods**, [S.L.], p. 323-355, 17 abr. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118765982.ch14>.

TEULING, Emma; SCHRAMA, Johan W.; GRUPPEN, Harry; WIERENGA, Peter A. Effect of cell wall characteristics on algae nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African catfish (*Clarus gariepinus*). **Aquaculture**, [S.L.], v. 479, p. 490-500, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.06.025>.

TEULING, Emma; WIERENGA, Peter A.; AGBOOLA, Jeleel O.; GRUPPEN, Harry; SCHRAMA, Johan W. Cell wall disruption increases bioavailability of *Nannochloropsis gaditana* nutrients for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, [S.L.], v. 499, p. 269-282, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.047>.

TIBBETTS, Sean M.; MACPHERSON, Terri; MCGINN, Patrick J.; FREDEEN, Alan H. In vitro digestion of microalgal biomass from freshwater species isolated in Alberta, Canada for monogastric and ruminant animal feed applications. **Algal Research**, [S.L.], v. 19, p. 324-332, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.01.016>.

TIBBETTS, Sean M.; MILLEY, Joyce E.; LALL, Santosh P. Nutritional quality of some wild and cultivated seaweeds: nutrient composition, total phenolic content and in vitro digestibility. **Journal Of Applied Phycology**, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 3575-3585, 6 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-016-0863-y>.

TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. **Algae Market**. 2020. Disponível em: <https://www.transparencymarketresearch.com/algae-market.html>. Acesso em: 04 ago. 2021.

TROLLER, J. A. Adaptation and growth of microorganism in environments with reduced water activity. In: ROCKLAND, Louis B.; BEUCHAT, Larry R. (ed.). **Water Activity: theory and applications to food**. Boca Raton: Routledge, 2017. p. 101-117.

TROXLER, Robert F.; LESTER, Roger. Biosynthesis of Phycocyanobilin*. **Biochemistry**, [S.L.], v. 6, n. 12, p. 3840-3846, 1 dez. 1967. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bi00864a030>.

USHARANI, G.; SARANRAJ, P.; KANCHANA, D. Spirulina Cultivation: a review. **International Journal Of Pharmaceutical & Biological Archives**, [S.L.], v. 3, n. 6, p. 1327-1341, 03 dez. 2012.

VARGA, L.; SZIGETI, J.; KOVÁCS, R.; FÖLDES, T.; BUTI, S. Influence of a Spirulina platensis Biomass on the Microflora of Fermented ABT Milks During Storage (R1). **Journal Of Dairy Science**, [S.L.], v. 85, n. 5, p. 1031-1038, maio 2002. American Dairy Science Association. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74163-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74163-5).

VEIGA, Mayara Copello; FONTOURA, Mariana Martins; OLIVEIRA, Mariana Gonçalves de; COSTA, Jorge Alberto Vieira; SANTOS, Lucielen Oliveira. Magnetic fields: biomass potential of spirulina sp. for food supplement. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, [S.L.], v. 43, n. 7, p. 1231-1240, 6 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-020-02318-4>.

VOLKMANN, Harriet; IMIANOVSKY, Ulisses; OLIVEIRA, Jorge L.B.; SANT'ANNA, Ernani S. Cultivation of Arthrospira (spirulina) platensis in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino-acid profile. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 39, n. 1, p. 98-101, mar. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-83822008000100022>.

VONSHAK, Avicad. Outdoor Mass Production of Spirulina: the basic concept. In: VONSHAK, Avigad (Ed.). **Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology**. Ben-Gurion University Of The Negev, Israel: Taylor & Francis, 2002. p. 79-100.

WILD, Katharina Judith; STEINGAß, Herbert; RODEHUTSCORD, Markus. Variability in nutrient composition and in vitro crude protein digestibility of 16 microalgae products. **Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition**, [S.L.], v. 102, n. 5, p. 1306-1319, 6 jul. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jpn.12953>.

WONG, K.H.; CHEUNG, Peter C.K. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 71, n. 4, p. 475-482, dez. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(00\)00175-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(00)00175-8).

YAN, Mingyan; LIU, Bing; JIAO, Xudong; QIN, Song. Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties. **Food And Bioproducts Processing**, [S.L.], v. 92, n. 1, p. 89-97, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2013.07.008>.

ZENG, Ming-Tao; VONSHAK, Avigad. Adaptation of *Spirulina platensis* to salinity-stress. **Comparative Biochemistry And Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S.L.], v. 120, n. 1, p. 113-118, maio 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1095-6433\(98\)10018-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1095-6433(98)10018-1).

ZHENG, Jing; INOBUCHI, Toyoshi; SASAKI, Shuji; MAEDA, Yasutaka; MCCARTY, Mark F.; FUJII, Masakazu; IKEDA, Noriko; KOBAYASHI, Kunihisa; SONODA, Noriyuki; TAKAYANAGI, Ryoichi. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. **American Journal Of Physiology-Regulatory, Integrative And Comparative Physiology**, [S.L.], v. 304, n. 2, p. R110-R120, 15 jan. 2013. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00648.2011>.

ŚCIESZKA, Sylwia; KLEWICKA, Elżbieta. Algae in food: a general review. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 59, n. 21, p. 3538-3547, 18 nov. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2018.1496319>.