



Propriedades físico-químicas e nutricionais de queijo Minas Frescal enriquecido com biomassa microalgal

Physicochemical and nutritional properties of Minas Frescal cheese enriched with microalgal biomass

M. L. Nörnberg¹; T. C. do Nascimento¹; P. P. Nass¹; K. L. de Aguiar²;
L. C. Schetinger³; C. R. Lugcheer¹; E. Jacob-Lopes¹; L. Q. Zepka^{1*}

¹Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos/Núcleo em Tecnologia em Alimentos - NTA, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil

²Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos/Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais - NIDAL, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Alimentos e Territórios, 570200-50, Maceió-AL, Brasil

*zepkaleila@yahoo.com.br

(Recebido em 03 de agosto de 2025; aceito em 26 de abril de 2026)

Mudanças nos hábitos alimentares têm incentivado a indústria de alimentos a desenvolver produtos com apelo funcional e nutricional, utilizando ingredientes naturais. Nesse contexto, a *Spirulina* (*Arthrospira/Limnospira platensis*), microalga rica em proteínas, minerais e pigmentos bioativos, destaca-se como aditivo com potencial tecnológico e funcional. Este estudo teve como objetivo desenvolver um queijo Minas Frescal funcional por meio da adição de biomassa comercial em pó de *Spirulina*, em diferentes níveis de concentração (0%, 2% e 4%) e avaliar os efeitos sobre suas propriedades físico-químicas, composição nutricional, perfil de cor, pH e conteúdo de pigmentos bioativos (clorofilas e carotenoides). A incorporação da microalga resultou em aumento significativo nos teores de umidade, proteínas, carboidratos e minerais, além de redução do teor de lipídeos ($p < 0,05$). O perfil pigmentar também foi impactado: treze pigmentos foram identificados por HPLC-PDA-MS/MS, com predominância de clorofilas (~91%) - contribuindo para a coloração esverdeada dos queijos; e carotenoides (~9%). Os tratamentos com *Spirulina* apresentaram maior acidez (pH mais baixo) e coloração mais intensa, especialmente no parâmetro a^* (verde). A adição da microalga após a etapa térmica evitou a degradação dos pigmentos. Os resultados indicam que a *Spirulina* atua como ingrediente funcional e corante natural, promovendo melhorias no valor nutricional do queijo Minas Frescal. Sua aplicação se mostra promissora para formulações com rotulagem *clean label* e apelo saudável, alinhando-se às tendências da indústria e à demanda dos consumidores por alimentos mais naturais e funcionais.

Palavras-chave: alimentos funcionais, pigmentos, *Spirulina*.

Changes in eating habits have encouraged the food industry to develop products with functional and nutritional appeal, using natural ingredients. In this context, *Spirulina* (*Arthrospira/Limnospira platensis*), microalgae rich in proteins, minerals, and bioactive pigments, stands out as an additive with technological and functional potential. This study aimed to develop a functional Minas Frescal cheese by adding commercial *Spirulina* biomass powder at different concentration levels (0%, 2% and 4%) and to evaluate the effects on its physicochemical properties, nutritional composition, color profile, pH, and content of bioactive pigments (chlorophylls and carotenoids). The incorporation of the microalgae resulted in a significant increase in moisture, protein, carbohydrate, and mineral contents, as well as a reduction in lipid content ($p < 0.05$). The pigment profile was also affected: thirteen pigments were identified by HPLC-PDA-MS/MS, with a predominance of chlorophylls (~91%) - contributing to the greenish coloration of the cheeses; and carotenoids (~9%). The *Spirulina* treatments showed higher acidity (lower pH) and more intense coloration, especially in the a^* parameter (green). The addition of the microalgae after the thermal processing step prevented pigment degradation. The results indicate that *Spirulina* functions as both a functional ingredient and a natural colorant, enhancing the nutritional value of Minas Frescal cheese. Its application appears promising for formulations with clean label claims and health appeal, aligning with industry trends and consumer demand for more natural and functional foods.

Keywords: functional foods, pigments, *Spirulina*.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as mudanças nos hábitos alimentares dos consumidores impulsionaram a indústria de alimentos a explorar continuamente o potencial de novos ingredientes naturais, promovendo alterações consideráveis na formulação dos produtos. Essa transformação reflete uma tendência crescente de consumo de alimentos naturais com melhores características nutricionais. Muitos desses ingredientes são classificados como funcionais e/ou nutracêuticos, uma vez que, além do seu valor nutricional, também apresentam benefícios à saúde, reduzindo o risco de doenças crônicas ou melhorando a saúde. Esse cenário tem incentivado novas pesquisas voltadas à avaliação de diferentes fontes de produção de alimentos com características mais saudáveis, funcionais e inovadoras [1-5].

Nesse contexto, as microalgas vêm se destacando como fontes promissoras de compostos bioativos. Estudos têm mostrado o impacto positivo da fortificação com biomassa de microalgas em diversos alimentos de baixa qualidade nutricional, como massas, pães e biscoitos, evidenciando seu potencial mesmo quando utilizados em baixos níveis. No caso dos laticínios, tradicionalmente reconhecidos por seu alto valor nutricional e benefícios à saúde, seu consumo tem diminuído devido ao ceticismo relacionado aos possíveis efeitos inflamatórios prejudiciais - ainda que a literatura científica não comprove uma associação consistente [6, 7, 8]. Diante desse cenário, torna-se essencial fomentar novas abordagens e incentivar tendências de consumo mais alinhadas à saúde.

Para essa finalidade, as microalgas apresentam grande potencial, pois contêm macronutrientes, micronutrientes e pigmentos com propriedades funcionais [9], dentre os quais se destacam os carotenoides, cujos metabólitos apresentam propriedades bioativas notáveis, incluindo ação antioxidante, papel como precursores de pró-vitamina A, efeitos imunomoduladores, antineurodegenerativos, anticancerígenos, anti-inflamatórios, além de benefícios à saúde óssea e proteção contra degeneração macular [10]; assim como as clorofilas, abundantes nas microalgas, com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anticancerígenas, sendo seus derivados, como feofitinas e feoforbídeos, associados a diversos efeitos biológicos, incluindo o controle do diabetes relacionado à obesidade, além de atividades antimutagênica, anti-inflamatória e antimicrobiana [11].

Dentre as espécies mais estudadas, destaca-se a *Spirulina* (nome comercial da *Arthrospira/Limnospira platensis*), reconhecida como segura para o consumo humano (GRAS) pelo FDA (*Food and Drug Administration*), além de ser uma das microalgas mais populares e uma das principais tendências atuais na indústria alimentícia [12]. Seu elevado teor de proteínas e compostos bioativos tem motivado estudos sobre suas possibilidades de aplicação na fortificação de produtos lácteos.

Embora os impactos tecnológicos da *Spirulina* em queijos frescos tenham sido analisados em diferentes contextos - como no queijo Galotyri, de origem grega [13], no queijo Karish, de origem egípcia [14], e no queijo Halloumi, de origem cipriota [15], ainda são escassos os estudos que avaliem seus efeitos sobre a qualidade nutricional do queijo Minas Frescal, de origem brasileira, especialmente no que diz respeito ao perfil de pigmentos bioativos, como clorofilas e carotenoides. A escolha pela *Spirulina platensis* neste estudo considerou suas características nutricionais, sua aprovação para consumo humano e a facilidade de obtenção comercial, inclusive em escala industrial [9, 16]. Outro fator determinante foi seu cultivo eficiente, com rápido crescimento em condições favoráveis (temperatura, pH, luz, agitação e nutrientes), além da ampla biodiversidade e da variabilidade composicional das biomassas cultivadas, que permitem produção em larga escala com processos industriais relativamente simples [17].

A aplicação da *Spirulina* foi realizada no queijo Minas Frescal por se tratar de um produto amplamente consumido no Brasil. O queijo utilizado foi obtido por coagulação enzimática do leite com coalho, com participação de bactérias lácticas. De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), esse tipo de queijo é classificado como semigordo, de muito alta umidade, consumido fresco, com massa crua, cor esbranquiçada, textura fechada e consistência mole [18].

Estudos indicam que a biomassa de microalgas costuma ser adicionada de forma integral em pequenas quantidades devido ao seu sabor e coloração marcantes. Normalmente, utiliza-se entre 0,1% e 6% de biomassa seca [19], sendo as concentrações mais comuns entre 1% e 2%, embora

também haja testes com teores inferiores a 0,1% e superiores a 3% [20]. Concentrações mais elevadas, como 6%, apresentaram menor aceitação sensorial por parte dos consumidores [21].

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi desenvolver um queijo Minas Frescal funcional por meio da adição de biomassa comercial em pó de *Spirulina platensis*, em diferentes níveis de concentração (0%, 2% e 4%), avaliando seu efeito nas propriedades físico-químicas - como composição, cor e pH, e, principalmente, no perfil de pigmentos bioativos (clorofilas e carotenoides), visando aumentar o valor nutricional e o potencial funcional do produto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produtos Químicos e Reagentes

As análises da composição proximal foram realizadas utilizando clorofórmio PA (Proquímios, Brasil), metanol PA (Proquímios, Brasil), butil-hidroxitolueno PA (Vetec, Brasil), ácido sulfúrico PA ACS (Neon, Brasil), hidróxido de potássio 85% PA (Vetec, Brasil), sulfito de sódio anidro PA ACS (Synth, Brasil), dodecil sulfato de sódio PA (grau reagente) (ACS Científica, Brasil), tetraborato de sódio PA (Proquímios, Brasil) e ácido etilenodiaminotetracético dissódico 2H₂O PA ACS (Química Fina, Brasil).

Para análises dos pigmentos, padrões de all-*trans*-zeaxantina, all-*trans*-luteína, all-*trans*- β -caroteno, all-*trans*- α -caroteno, clorofila *a* e clorofila *b* foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Missouri-MO, EUA). Os reagentes, tais como dimetilformamida (DMF), metanol (MeOH), éter dietílico, éter de petróleo, acetona, éter metil terciário butílico (MTBE), cloreto de sódio a 10% (NaCl) e hidróxido de potássio (KOH) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis-MO, EUA).

2.2 Amostras

Foram analisadas amostras da biomassa de *Spirulina platensis* na forma comercialmente disponível, em pó. O estudo consistiu na elaboração de três tipos de queijo Minas Frescal: um controle (sem adição de *Spirulina*) e dois com a incorporação da biomassa comercial em pó, nas concentrações de 2% e 4%, calculadas em relação ao peso da coalhada dessorada (210 g). Cada tratamento experimental foi realizado com quatro repetições, totalizando 12 amostras.

As amostras foram armazenadas sob congelamento e protegidas da luz até a realização das análises. Parte delas foi mantida *in natura*, enquanto outra parte foi submetida à liofilização por 72 horas, nas condições de -50 °C e 10⁻¹ mbar, seguida de moagem em micromoinho. A liofilização foi adotada como método de secagem de referência, visando à preservação das propriedades funcionais da biomassa incorporada.

2.2.1 Processo de Fabricação do Queijo Minas Frescal

Para a elaboração do queijo Minas Frescal utilizou-se para cada 1 litro de leite integral pasteurizado, 0,20 mL de cloreto de cálcio (CaCl₂), 1,5% de cultura *Starter* (15 g de iogurte natural integral) e 0,90 mL de coalho (enzima quimosina). Nos tratamentos em que a *Spirulina* fez parte, adicionou-se diferentes níveis de concentração de 2% e 4% em relação ao peso da coalhada dessorada (210 g).

Em um primeiro momento o leite foi aquecido a 35 °C e após, foram adicionados e misturados o CaCl₂, o coalho e deixado em repouso absoluto durante 35 min. A seguir, verificou-se o ponto de corte da coalhada, sendo esta cortada em tamanhos de 1 cm³. Realizou-se a mexedura e deixou-se novamente em repouso por 10 min para precipitação da coalhada. Após a dessoragem, a biomassa de *Spirulina* em pó foi diretamente adicionada à massa dos queijos, de acordo com os tratamentos em que esta fez parte, visando promover sua distribuição na matriz do produto. Para então realizar a enformagem, salga seca (2 g), viragem e salga seca (2 g), durante 24 h sob refrigeração. Os queijos foram desenformados e armazenados (resfriados ou congelados ou liofilizados e moídos) para a realização das análises físico-químicas.

2.3 Análise da Composição Proximal

A composição da biomassa de *Spirulina* foi analisada na forma comercialmente disponível, em pó. A composição dos queijos produzidos foi determinada a partir de amostras previamente liofilizadas (LS3000, Terroni, Brasil) e posteriormente moídas em multiprocessador de alimentos para obtenção de um pó parcialmente seco. A análise de lipídeos, contudo, foi realizada diretamente nos produtos *in natura*. As análises da biomassa foram conduzidas em triplicata e dos queijos em quadruplicata, todas conforme as diretrizes da AOAC (2005) [22]. O teor de umidade (U) foi determinado por secagem em estufa a 105 °C até peso constante, utilizando-se amostras dos queijos previamente liofilizadas para quantificar o resíduo de umidade remanescente após o processo de liofilização (TE-393/180L, Tecnal, Brasil). O teor de proteína (PT) foi determinado usando o método de Kjeldahl para teor de nitrogênio (TE-036/1, Tecnal, Brasil), com fator de conversão de 6,38 (Brasil, 2003). O teor de cinzas (CZ) foi avaliado por incineração em forno mufla (Q318M, Quimis, Brasil) a 550 °C por 5 h. A fração lipídica (LP) foi extraída seguindo Bligh e Dyer (1959) [23]. Os carboidratos totais foram calculados como a diferença entre 100 e a soma dos teores de U, PT, CZ e LP [24].

2.4 Análise do Perfil de Clorofilas e de Carotenoides por HPLC-PDA-MS/MS

2.4.1 Extração de Clorofilas e de Carotenoides

Os pigmentos (clorofilas e carotenoides) foram exaustivamente extraídos das amostras de *Spirulina* em pó e dos queijos previamente liofilizados, por extração sólido-líquido, em triplicata, conforme o método de Viera et al. (2021, 2022) [25, 26], com pequenas adaptações. A partir das amostras, realizou-se a adição sequencial de 15 mL de DMF e, após, 15 mL de metanol até que o sobrenadante se tornasse incolor. Em cada etapa, a mistura foi submetida a ciclos ultrassônicos de 10 min, agitada em vórtex por 15 min e centrifugada por 10 min a 5500 rpm (Hitachi, Tóquio, Japão). O sobrenadante de todas as fases foi coletado em funil de separação. Em seguida, a fase solvente do funil foi lavada com 100 mL de solução gelada de NaCl a 10% (p/v) e misturada com 75 mL de éter dietílico. A mistura foi agitada e depois deixada em repouso até ser observada a separação completa da camada orgânica. Os extratos dos pigmentos foram transferidos para um balão volumétrico de rotaevaporação e concentrados em evaporador rotativo a vácuo, a 30 °C, até a total evaporação. Os extratos clorofilados foram combinados com éter de petróleo e, depois, foram secos novamente sob corrente de nitrogênio. Os extratos destinados à análise de carotenoides foram saponificados por 16 h com KOH a 10% (p/v) à temperatura ambiente, e o álcali foi removido por lavagem com água destilada e seco novamente. Todos os extratos foram armazenados sob congelamento e abrigo de luz até a injeção na cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de massas por arranjo de fotodíodos (HPLC-PDA-MS/MS).

2.4.2 Perfil de Clorofilas e de Carotenoides

Os compostos clorofilados e os carotenoides foram analisados por HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com bombas binárias (modelo LC-20AD), um desgaseificador online e um injetor automático (modelo SIL-20A HT). A cromatografia com um PDA (modelo SPD-M20A) foi conectada a uma fonte de ionização química à pressão atmosférica (APCI) (Shimadzu America, Columbia, MD, EUA) e um espectrômetro de massas Shimadzu 8040 triplo quadrupolo. A separação dos pigmentos foi realizada em uma coluna C30 YMC (5 µm, 250 × 4,6 mm) (Waters, Wilmington-DE, EUA); a análise HPLC-PDA foi realizada de acordo com Rodrigues et al. (2015) [27]. Antes da análise por HPLC-PDA, as amostras foram solubilizadas em 0,5 mL de uma mistura de MeOH:MTBE (70:30) e filtradas através de membranas Millipore (0,22 µm). As fases móveis A (MeOH) e B (MTBE) utilizaram um programa de gradiente linear da seguinte forma: de 0 a 30 min, 5% de B; de 30 a 40 min, 5 a 30% de B; de 40 a 41 min, 30 a 50% B e de 41 a 50 min, 50 a 5% B. A vazão foi fixada em 0,9 mL min⁻¹, o volume de injeção foi de 20 µL, a temperatura da coluna foi mantida em 25 °C, os espectros UV/vis foram adquiridos entre 220 e

700 nm, e os cromatogramas foram processados a 450 nm para carotenoides e 660 nm para clorofilas. As clorofilas e os carotenoides foram quantificados individualmente por HPLC-PDA usando curvas analíticas de seis pontos ($r^2 = 0,99$) de *all-trans*-luteína (1,0–50,0 e 0,05–10 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *all-trans*- β -criptoxantina (1,0–60 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *all-trans*- β -caroteno (1,0–50 e 0,05–10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e clorofila *a* (0,5–40,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os parâmetros MS/MS foram definidos de acordo com Giuffrida et al. (2017) [28], com adaptações. A interface APCI operou no modo positivo (+); os outros parâmetros foram os seguintes: tensão do detector: 4,5 kV; temperatura da interface: 350 °C; temperatura DL: 250 °C; temperatura do bloco de calor: 200 °C; fluxo de gás de nebulização (N_2): 3,0 L min^{-1} ; fluxo de gás de secagem (N_2): 5,0 L min^{-1} ; gás de dissociação induzida por colisão (CID): 23 kPa (argônio); tempo do evento: 0,5 s. A qualidade da identificação foi melhorada usando MS/MS simultaneamente para selecionar os modos de monitoramento de íons e monitoramento de múltiplas reações. A identificação foi realizada de acordo com as seguintes informações combinadas: ordem de eluição em coluna de HPLC C30, co-cromatografia com padrões autênticos, espectro UV-Vis (estrutura fina espectral [$\lambda_{\text{máx}}$], razão da altura do pico de absorção de maior comprimento de onda [III] e do pico de absorção médio [II], razão do pico *cis* [AB] e do pico de absorção médio [II]) e características de massa (molécula protonada [$\text{M}+\text{H}$] +)) e MS/MS (fragmentos), em comparação com dados disponíveis na literatura [11, 29–31]. As clorofilas foram quantificadas por HPLC-PDA utilizando curvas de calibração externa para clorofila *a*, clorofila *b* e feofitina *a* com mínimo de cinco níveis de concentração. Hidroxiclorofila *a*, clorofila *a* e clorofila *a'* foram quantificadas utilizando a curva de clorofila *a*; a hidroxifeofitina *a*, feofitina *a* usando a curva da feofitina *a*; e clorofila *b* e clorofila *b'* foram quantificadas usando a curva de clorofila *b*. O conteúdo total de clorofila foi calculado considerando todas as áreas de pico identificadas. Os carotenoides foram quantificados por HPLC-PDA, utilizando curvas de calibração externa para *all-trans*-zeaxantina, *all-trans*-luteína, *all-trans*- β -caroteno, *all-trans*- α -caroteno de cinco níveis de concentração. Todos os outros teores de xantofila e caroteno foram estimados usando as curvas de *all-trans*-luteína e *all-trans*- β -caroteno, respectivamente. Os isômeros “*cis*” foram estimados utilizando a curva do correspondente *all-trans*-carotenoide. O conteúdo total de carotenoides foi calculado como a soma dos conteúdos de cada carotenoide individual separado na coluna C30.

2.5 Medidas de Cor e do pH

A colorimetria foi realizada de acordo com o método nº 14-22 da AACC (1999) [32], em triplicata. As medidas de cor da biomassa microalgal (em pó) e dos queijos (*in natura*) foram avaliadas através da escala CIELAB (L^* , a^* , b^*), utilizando um colorímetro portátil Konica Minolta, previamente calibrado e ajustado para operar com iluminante D65. No caso dos queijos, as leituras foram realizadas na região interna do produto, a partir da superfície de corte, a fim de garantir maior representatividade da matriz interna. Foram obtidos os valores de luminosidade (L^*), com indicativo de preto (0) a branco (100); a intensidade da cor vermelha ($+a^*$) e da cor verde ($-a^*$); e a intensidade da cor amarela ($+b^*$) e da cor azul ($-b^*$).

A diferença de cor total (ΔE) foi determinada segundo os critérios estabelecidos por McGuire (1992) [33], para quantificar as variações cromáticas entre as amostras de queijo Minas Frescal controle e com adição de *Spirulina* (2% e 4%). Os valores de L^* , a^* e b^* foram obtidos por meio de colorímetro, e o ΔE foi calculado utilizando a fórmula padrão do sistema CIELAB:

$$\Delta E = \sqrt{(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2}$$

As variáveis na fórmula são: ΔE = diferença total de cor entre as amostras (combinações: (1×2) Controle vs. 2%; (1×3) Controle vs. 4%; (2×3) 2% vs. 4%); L_1^* = luminosidade da amostra 1; L_2^* = luminosidade da amostra 2; a_1^* = coordenada de cor da amostra 1; a_2^* = coordenada de cor da amostra 2; b_1^* = coordenada de cor da amostra 1; b_2^* = coordenada de cor da amostra 2.

O valor de pH (potencial hidrogênico) foi determinado com uso de aparelho digital (Texto 205), conforme os procedimentos descritos pela AOAC (1997) [34], em triplicata, sendo

que para análise da biomassa diluiu-se 1 g de *Spirulina* em pó em 10 mL de água milli-Q (1:10) e para análise dos queijos utilizou-se as amostras *in natura*.

2.6 Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida no software *Statistica*, versão 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA). As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas por Análise de Variância Multivariada (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey, considerando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os resultados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão, acompanhados do erro padrão da média (EPM) e dos respectivos valores de significância (p – valor).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, são apresentados os resultados das análises físico-químicas da biomassa microalgal de *Spirulina* e dos queijos Minas Frescal formulados com diferentes concentrações de biomassa (0%, 2% e 4%), sendo as imagens representativas dos produtos ilustradas na Figura 1.

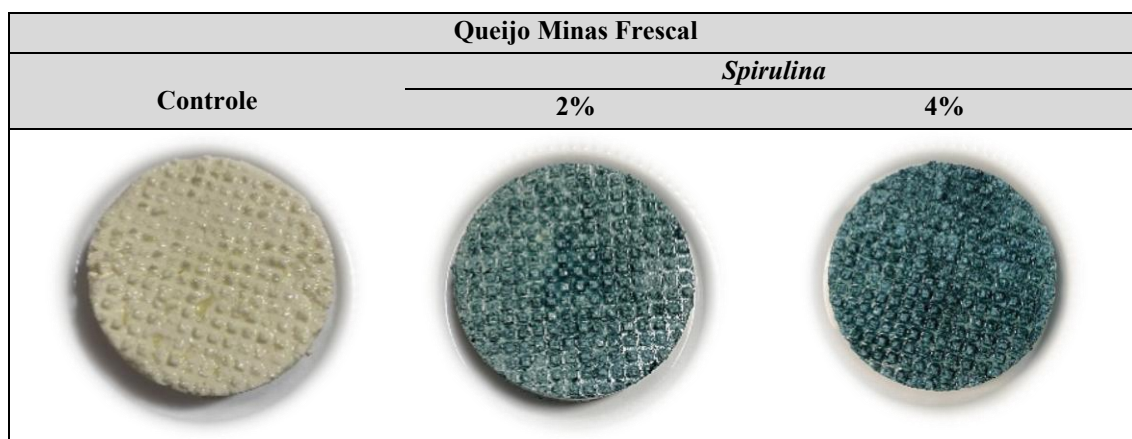


Figura 1: Amostra do queijo Minas Frescal controle e dos queijos produzidos com adição de biomassa microalgal de *Spirulina* em diferentes níveis de concentração (2% e 4%).

3.1 Análises Físico-Químicas

Os dados da composição proximal da biomassa microalgal de *Spirulina* encontram-se na Tabela 1, expressos em base natural e seca. A composição dos três tipos de queijo Minas Frescal produzidos (controle, 2% e 4%) é apresentada na Tabela 2.

Com base na Tabela 1, observa-se que a biomassa microalgal apresenta baixa umidade (9,70%), sendo constituída principalmente por proteínas (60,96%), carboidratos totais (21,20%), lipídeos (6,02%) e uma parcela significativa de cinzas/material mineral (11,82%), em base seca. Esses valores são compatíveis com os descritos por Demarco et al. (2025) [35], que relataram variações na composição de pós comerciais de *Spirulina* de diferentes origens. O teor de proteína variou de 44,0% a 70,98%, de lipídeos de 4,39% a 6,86%, de cinzas de 8,64% a 12,36%, de umidade de 7,0% a 15,44% e de 7,81% a 31,41% de carboidratos. Essas variações podem ser decorrentes das condições de cultivo [36]. Referidos resultados podem ser relevantes em aplicações alimentícias ou industriais, onde as características específicas de cada microalga possam ser aproveitadas conforme suas propriedades nutricionais e físico-químicas.

Tabela 1: Composição proximal da biomassa microalgal de *Spirulina*.

Composição (g%)	Biomassa de <i>Spirulina</i>
Base Natural	
Umidade	9,70 ± 0,01
Proteína	55,05 ± 0,53
Lipídeos	5,44 ± 0,21
Cinzas	10,67 ± 0,49
Carboidratos Totais	19,14 ± 1,18
Base Seca	
Proteína	60,96 ± 0,61
Lipídeos	6,02 ± 0,24
Cinzas	11,82 ± 0,54
Carboidratos Totais	21,20 ± 1,35

Os valores são médias ± desvio padrão de triplicatas.

No que diz respeito ao queijo Minas Frescal, o RTIQ menciona que a sua composição (em base natural) apresenta em média: pH entre 5,0 e 5,3 e 17% a 19% de lipídeos [18]. Em relação à umidade dos produtos lácteos, o RTIQ menciona que os queijos de alta umidade são caracterizados por um teor de umidade acima de 55% [37]. Ainda, a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos [38], entre outros dados, apresenta, em média, na composição do queijo Minas Frescal: 17,4 g de proteínas e 3,0 g de cinzas, com ausência de fibra alimentar. Nesse contexto, o queijo Minas Frescal controle produzido apresentou, em base natural, teores compatíveis com os valores de referência do RTIQ e da TACO (Brasil, 1997; TACO, 2011) [18, 38], destacando-se pelo teor de umidade (65,42%), lipídeos (18,52%), proteína (13,21%) e cinzas (2,65%) (Tabela 2).

Tabela 2: Composição proximal dos queijos frescais produzidos (controle e com adição de 2% e 4% de *Spirulina*).

Composição (g%)	Queijo Minas Frescal				EPM	p – valor
	Controle	Spirulina				
		2%	4%			
Base Natural						
Umidade	65,42 ^b ± 0,57	67,49 ^a ± 0,04	67,73 ^a ± 0,07	0,3314	<0,0001	
Massa Seca	34,58 ^a ± 0,08	32,51 ^b ± 0,09	32,27 ^b ± 0,07	0,0426	<0,0001	
Proteína	13,21 ^a ± 0,08	12,79 ^b ± 0,02	13,23 ^a ± 0,05	0,0371	<0,0001	
Lipídeos	18,52 ^a ± 0,03	16,39 ^b ± 0,05	15,63 ^c ± 0,04	0,0265	<0,0001	
Cinzas	2,65 ^b ± 0,02	2,86 ^a ± 0,02	2,87 ^a ± 0,05	0,0233	<0,0001	
Carboidratos Totais	0,20 ^b ± 0,02	0,47 ^a ± 0,03	0,54 ^a ± 0,08	0,0402	<0,0001	
Base Seca						
Proteína	38,14 ^c ± 0,16	39,32 ^b ± 0,30	40,38 ^a ± 0,03	0,0783	<0,0001	
Lipídeos	53,77 ^a ± 0,06	50,56 ^b ± 0,13	48,40 ^c ± 0,05	0,0399	<0,0001	
Cinzas	7,70 ^c ± 0,10	8,77 ^b ± 0,24	9,09 ^a ± 0,06	0,0828	<0,0001	
Carboidratos Totais	0,39 ^c ± 0,07	1,35 ^b ± 0,07	2,13 ^a ± 0,07	0,0606	<0,0001	

Os valores são médias ± desvio padrão de quadruplicatas; EPM (erro padrão da média); Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$); p – valor (valor de p correspondente).

A adição de *Spirulina* resultou em alterações significativas na composição dos queijos. O teor de umidade aumentou cerca de 2% com a adição da biomassa em relação ao controle (65,42%), atingindo 67,49% e 67,73% para os tratamentos com 2% e 4%, respectivamente ($p < 0,05$). Esse aumento pode estar relacionado à presença de carboidratos fibrosos nas microalgas, que favorecem a capacidade de retenção de água (WHC) dos produtos alimentares [39], justificando o maior teor de umidade nos queijos com *Spirulina*.

O teor de carboidratos totais no queijo controle foi de 0,39% em base seca, valor significativamente inferior aos observados nos queijos formulados com *Spirulina*. Verificou-se

diferença estatística entre os tratamentos contendo 2% e 4% de biomassa da microalga (base seca), cujos teores de carboidratos foram de 1,35% e 2,13%, respectivamente. A análise estatística confirmou que a incorporação de *Spirulina* promoveu um aumento significativo no conteúdo de carboidratos em relação ao controle.

Observou-se tendência semelhante no teor de cinzas, com aumento proporcional à adição de *Spirulina*: 7,70%, 8,77% e 9,09% para os tratamentos controle, 2% e 4%, respectivamente. Esse resultado indica um incremento no conteúdo mineral do produto, fornecido pela biomassa, uma vez que as cinzas refletem a presença de minerais como cálcio, fósforo, sódio e potássio – elementos essenciais durante o processamento, especialmente na coagulação do leite, influenciando a textura do queijo [40]. Além de seu papel tecnológico, esses minerais também desempenham funções importantes para a saúde humana. Segundo Karimy et al. (2024) [15], a *Spirulina* é uma fonte de fósforo (P), potássio (K), enxofre (S), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), dessa forma, adicionar 1% e 1,5% de *Spirulina* em queijo (Halloumi) aumenta significativamente o conteúdo destes minerais.

O teor de proteínas do queijo controle (base seca) foi significativamente inferior (38,14%) em comparação aos queijos suplementados com *Spirulina*, apresentando aumento proporcional ao nível de adição da biomassa. Os teores proteicos nos tratamentos com 2% e 4% de *Spirulina* foram de 39,32% e 40,38%, respectivamente ($p < 0,05$). Esse incremento é nutricionalmente relevante, visto que as proteínas da *Spirulina* possuem alto valor biológico, complementando o perfil de aminoácidos essenciais do queijo e, conseqüentemente, elevando a qualidade proteica do produto final. Achados consistentes com os reportados por Nörnberg et al. (2025) [41].

O teor de lipídeos no queijo controle foi de 18,52% (base natural). A adição de *Spirulina* promoveu redução significativa nesse parâmetro, com valores decrescendo para 16,39% e 15,63% nos tratamentos com 2% e 4%, respectivamente ($p < 0,05$). Esse comportamento indica uma tendência de diminuição lipídica proporcional ao aumento da concentração de microalga na formulação. A diminuição do teor de lipídeos pode ser atribuída a um efeito de diluição promovido pela incorporação de biomassa seca, rica em nutrientes não lipídicos, como proteínas e minerais, reduzindo a proporção relativa de gordura na matriz do produto final. Esse resultado corrobora o estudo de Nörnberg et al. (2025) [41], no qual a adição de biomassa de *Chlorella sorokiniana* em queijo frescal também resultou em redução significativa do teor lipídico.

Segundo a legislação brasileira (Brasil, 2012) [42], um alimento pode ser classificado como “light” quando apresentar redução mínima de 25% no valor energético ou em determinado nutriente, como lipídios, em relação à formulação tradicional. No presente estudo, a redução lipídica no queijo com 4% de *Spirulina* foi de aproximadamente 15,6% em relação ao controle. Portanto, embora os queijos enriquecidos apresentem menor teor de gordura, os valores observados não atendem ao critério mínimo exigido para a denominação “light”. Apesar disso, a diminuição do teor de lipídeos pode caracterizá-los como versões nutricionalmente diferenciadas, com apelo à redução calórica e potencial aplicação em dietas com controle de gorduras.

De forma geral, a análise estatística evidenciou que a adição de biomassa de *Spirulina* promove alterações significativas na composição nutricional do queijo Minas Frescal, quando comparada ao queijo controle. Tais mudanças indicam o potencial da microalga como ingrediente funcional para o desenvolvimento de queijos com perfil nutricional aprimorado.

3.2 Perfil de Clorofilas e de Carotenoides

A caracterização obtida por HPLC-PDA-MS/MS do perfil de compostos clorofilados e de carotenoides da microalga *Spirulina* está apresentada na Tabela 3 e a quantificação na Tabela 4, enquanto a composição de clorofilas e de carotenoides dos queijos produzidos está descrita na Tabela 5.

De acordo com a caracterização cromatográfica, foram identificados e quantificados treze pigmentos distintos nos extratos da biomassa de *Spirulina*, totalizando 1.320,12 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Desses compostos, oito pertencem à classe das clorofilas e cinco são carotenoides. A distribuição percentual revelou predominância de clorofilas, correspondendo a 93,80% do total de pigmentos, enquanto os carotenoides representaram 6,20%.

Tabela 3: Caracterização por HPLC-PDA-MS/MS do perfil de compostos clorofilados e de carotenoides presentes na biomassa de *Spirulina*.

Pico	Clorofila/Carotenoide	tR (min) ^a	Máx (nm) ^b	[M + H] ^c	Íons de fragmento MS/MS (m/z) ^d
1	¹ Feoforbideo <i>a</i>	5,0	405, 666	595	nd ^e
2	¹ Feoforbideo <i>a'</i>	6,0	409, 664	595	nd ^e
3	¹ Hidroxiclorofila <i>a</i>	11,0	420, 662	909	631 [M+H – 278] ⁺
4	² all- <i>trans</i> -luteína	14,0	415, 443, 474	569	551 [M+H – 18] ⁺ , 533 [M+H – 18–18] ⁺ , 495
5	¹ Clorofila <i>a</i>	16,2	431, 664	893	615 [M+H – 278] ⁺ , 583 [M+H – 278–31] ⁺ , 555 [M+H – 278–59] ⁺
6	² all- <i>trans</i> -zeaxantina	16,6	420, 450, 476	569	551 [M+H – 18] ⁺ , 533 [M+H – 18–18] ⁺ , 495, 477 [M+H – 92] ⁺ , 459
7	² all- <i>trans</i> -equinenona	24,6	460	551	533 [M+H – 18] ⁺ , 427, 203
8	¹ Hidroxifeofitina <i>a</i>	26,7	408, 666	887	869 [M+H – 18] ⁺ ; 803 [M+H – 63] ⁺ ; 609 [M+H – 278] ⁺ ; 591 [M+H – 278–18] ⁺ ; 531 [M+H – 278–18 – 60] ⁺
9	¹ Hidroxifeofitina <i>a'</i>	33,6	409, 665	887	869 [M+H – 18] ⁺ ; 803 [M+H – 63] ⁺ ; 609 [M+H – 278] ⁺ ; 591 [M+H – 278–18] ⁺ ; 531 [M+H – 278–18 – 60] ⁺
10	² all- <i>trans</i> -β-caroteno	33,6	425, 450, 479	537	444 [M+H – 92] ⁺ , 399, 355
11	¹ Feofitina <i>a</i>	35,3	408, 665	871	593 [M+H – 278] ⁺ ; 533 [M+H – 278–60] ⁺
12	² 9- <i>cis</i> -β-caroteno	35,5	420, 443, 476	537	444 [M+H – 92] ⁺ , 399, 355
13	¹ Feofitina <i>a'</i>	43,6	410, 666	871	593 [M+H – 278] ⁺ ; 533 [M+H – 278–60] ⁺

¹Clorofila. ²Carotenoide.^atR: Tempo de retenção na coluna C30.^bGradiente linear MeOH:MTBE.^cAs intensidades relativas para cada valor m/z aparecem entre parênteses e são expressas como uma porcentagem do íon fragmento mais abundante.^dDados detalhados sobre fragmentação de massa foram relatados detalhadamente na literatura [11, 29, 30].^eNão detectado.

Os dados obtidos neste estudo corroboram os resultados de pesquisas anteriores, que também relataram maiores teores de clorofilas em comparação aos carotenoides na biomassa de *Spirulina* [43, 44].

Dada a característica das espécies de microalgas pertencentes ao filo Cyanobacteria, a *Spirulina* contém apenas clorofilas da série *a* [45]. Como é característico da espécie, detectou-se a formação de reações de hidroxilação, feofitinação e descarboximetilação [30].

De acordo com a Tabela 4, o principal composto clorofilado na biomassa de *Spirulina* foi a clorofila *a* (402,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 5), o pigmento mais abundante em microalgas, corroborando a literatura como o composto majoritário [46], seguido da hidroxiclорofila *a* (164,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 3), um derivado da clorofila *a*, representando 45,71% do conteúdo total de clorofilas. Este composto pode ser uma consequência natural do metabolismo dos micro-organismos ou estar relacionado à secagem e armazenamento da biomassa e ao método de extração utilizado, o que pode causar a formação deste derivado hidroxilado [29].

Tabela 4: Caracterização quantitativa de compostos clorofilados e de carotenoides dos extratos de *Spirulina*.

Pico	Clorofila/Carotenoide ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Quantitativo
1	¹ Feoforbídeo <i>a</i>	102,40 $\pm$ 1,89
2	¹ Feoforbídeo <i>a'</i>	107,30 $\pm$ 1,13
3	¹ Hidroxiclорofila <i>a</i>	164,00 $\pm$ 0,58
4	² all- <i>trans</i> -luteína	17,76 $\pm$ 0,04
5	¹ Clorofila <i>a</i>	402,00 $\pm$ 0,40
6	² all- <i>trans</i> -zeaxantina	16,04 $\pm$ 0,01
7	² all- <i>trans</i> -equinenona	15,91 $\pm$ 0,04
8	¹ Hidroxifeofitina <i>a</i>	128,90 $\pm$ 1,53
9	¹ Hidroxifeofitina <i>a'</i>	86,48 $\pm$ 0,40
10	² all- <i>trans</i> - β -caroteno	17,08 $\pm$ 0,05
11	¹ Feofitina <i>a</i>	146,40 $\pm$ 0,76
12	² 9- <i>cis</i> - β -caroteno	15,05 $\pm$ 0,01
13	¹ Feofitina <i>a'</i>	100,80 $\pm$ 0,65
Total	¹ Clorofilas	1.238,28 $\pm$ 1,17
	² Carotenoides	81,84 $\pm$ 0,19
	^{1,2} Pigmentos	1.320,12 $\pm$ 0,96

Os valores são médias $\pm$ desvio padrão de triplicatas (base natural); ¹Clorofila; ²Carotenoide.

Outros derivados de clorofilas detectados foram feofitina *a* (146,40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 11), hidroxifeofitina *a* (128,90 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 8), feoforbídeo *a'* (107,30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 2), feoforbídeo *a* (102,40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 1), feofitina *a'* (100,80 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 13) e hidroxifeofitina *a'* (86,48 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, pico 9), totalizando 1.238,28 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de compostos clorofilados, o que representa 93,80% do total de pigmentos no extrato de *Spirulina*. Os epímeros “*a'*” podem estar relacionados a reações de degradação, embora microalgas também sejam capazes de sintetizá-los, portanto, não é possível determinar sua origem [47]. Quanto ao perfil de compostos clorofilados, Fernandes et al. (2024) [43] encontraram valores superiores (5.810,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) - através de extração ultrassônica com solventes verdes (soluções de etanol e etanólicos de líquidos iônicos).

Em relação ao perfil de carotenoides, dos cinco diferentes tipos identificados, quatro (o que exclui a all-*trans*-luteína) são estruturas derivadas de β -caroteno sintetizadas através de reações de hidroxilação, isomerização (*cis*) ou cetolação [30], sendo um hidroxicarotenoide (pico 6), um cetocarotenoide (pico 7) e um carotenoide (picos 10). Dentre estes, all-*trans*-luteína (17,76 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), all-*trans*- β -caroteno (17,08 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e all-*trans*-zeaxantina (16,04 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) foram os principais, representando 62,17% do conteúdo total de carotenoides, seguidos por all-*trans*-equinenona (15,91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), um carotenoide microalgal único, bem como o isômero 9-*cis*- β -caroteno (15,05 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), representando a fração de 37,83%. Considerando o perfil quantitativo, o

teor total de carotenoides apresentado no extrato de *Spirulina* foi de $81,84 \mu\text{g.g}^{-1}$, o que representa 6,20% do total de pigmentos, sendo majoritariamente estruturas “all-trans” - geralmente desejáveis porque apresentam, em muitos casos, maior estabilidade e, para alguns carotenoides como o β -caroteno, maior atividade pró-vitâmica A. Os isômeros “cis” formados a partir desses carotenoides tendem a apresentar menor atividade pró-vitâmica. Além disso, apresentam cores diferentes e são termodinamicamente menos estáveis do que seus “all-trans” devido a seus pontos de fusão mais baixos [47]. Corroborando os mesmos autores [47], o presente estudo também identificou valores mais baixos de 9-cis- β -caroteno no perfil de *Spirulina*. Fernandes et al. (2024) [43], por meio de extração ultrassônica e com solventes verdes, encontraram valores superiores ($764,21 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Essa variabilidade no perfil de pigmentos se deve a fatores relacionados às condições de cultivo, processamento, armazenamento e métodos de extração, bem como à variabilidade genética entre diferentes cepas [36], o que evidencia a importância da padronização dos perfis nutricionais da biomassa de microalgas e a uniformização dos sistemas de cultivo e processamentos.

No que diz respeito aos compostos presentes nos queijos frescos produzidos (Tabela 5), ao adicionar a biomassa de *Spirulina* em diferentes níveis (2% e 4%), a incorporação de pigmentos aumentou significativamente em relação ao queijo controle, uma vez que no queijo controle não foram detectados pigmentos, sendo este aumento proporcional a adição de *Spirulina*.

Referidos pigmentos identificados (treze) na biomassa de *Spirulina* também foram identificados nos queijos adicionados de biomassa, na mesma ordem de eluição, sendo um total de $192,93 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos queijos com adição de 2% e $386,25 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos queijos com adição de 4%. Dentre estes, identificou-se um total de $175,55 \mu\text{g.g}^{-1}$ de compostos clorofilados nos queijos com adição de 2% de *Spirulina* e $352,39 \mu\text{g.g}^{-1}$ com adição de 4%. Ademais, foram quantificados $17,38 \mu\text{g.g}^{-1}$ de carotenoides nos queijos com adição de 2% de *Spirulina* e $33,86 \mu\text{g.g}^{-1}$ com adição de 4%. Os resultados indicaram maior teor de clorofilas e de carotenoides totais entre todos os tratamentos em comparação ao controle ($p < 0,05$).

Tabela 5: Caracterização quantitativa de compostos de clorofilas e de carotenoides dos extratos dos queijos produzidos (controle e com adição de 2% e 4% de *Spirulina*).

Pico	Clorofila/Carotenoide ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Queijo Minas Frescal				
		Controle	Spirulina		EPM	p - valor
			2%	4%		
1	¹ Feofoorbídeo <i>a</i>	³ nd ^c	21,51 ^b ± 0,50	36,31 ^a ± 1,03	0,4674	< 0,0001
2	¹ Feofoorbídeo <i>a'</i>	³ nd ^b	18,37 ^a ± 0,22	³ nd ^b	0,1270	< 0,0001
3	¹ Hidroxiclorofila <i>a</i>	³ nd ^c	29,27 ^b ± 0,18	45,36 ^a ± 1,49	0,6127	< 0,0001
4	² all- <i>trans</i> -luteína	³ nd ^c	3,24 ^b ± 0,01	6,49 ^a ± 0,08	0,0329	< 0,0001
5	¹ Clorofila <i>a</i>	³ nd ^c	50,39 ^a ± 1,38	20,78 ^b ± 0,19	0,5687	< 0,0001
6	² all- <i>trans</i> -zeaxantina	³ nd ^c	3,55 ^b ± 0,00	6,86 ^a ± 0,14	0,0572	< 0,0001
7	² all- <i>trans</i> -equinenona	³ nd ^c	3,12 ^b ± 0,01	6,33 ^a ± 0,01	0,0058	< 0,0001
8	¹ Hidroxifeofitina <i>a</i>	³ nd ^c	16,61 ^b ± 0,19	37,44 ^a ± 1,71	0,7024	< 0,0001
9	¹ Hidroxifeofitina <i>a'</i>	³ nd ^c	9,84 ^b ± 0,11	37,44 ^a ± 1,71	0,6996	< 0,0001
10	² all- <i>trans</i> -β-caroteno	³ nd ^c	4,34 ^b ± 0,01	7,99 ^a ± 0,05	0,0208	< 0,0001
11	¹ Feofitina <i>a</i>	³ nd ^c	20,76 ^b ± 0,26	142,20 ^a ± 0,10	0,1137	< 0,0001
12	² 9- <i>cis</i> -β-caroteno	³ nd ^c	3,13 ^b ± 0,01	6,19 ^a ± 0,00	0,0041	< 0,0001
13	¹ Feofitina <i>a'</i>	³ nd ^c	8,80 ^b ± 0,06	32,86 ^a ± 0,18	0,0775	< 0,0001
Total	¹ Clorofilas	³ nd ^c	175,55 ^b ± 0,93	352,39 ^a ± 2,99	1,2800	< 0,0001
	² Carotenoides	³ nd ^c	17,38 ^b ± 0,01	33,86 ^a ± 0,18	0,0740	< 0,0001
	^{1,2} Pigmentos	³ nd ^c	192,93 ^b ± 0,94	386,25 ^a ± 1,95	0,8800	< 0,0001

Os valores são médias $\pm$ desvio padrão de triplicatas (base liofilizada); Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$); EPM (erro padrão da média); p – valor (valor de p correspondente); ¹Clorofila; ²Carotenoide; ³Não detectado.

Assim como na biomassa microalgal, o queijo produzido com adição de 2% de *Spirulina* apresentou maior fração de clorofila *a* ($50,39 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 5) e de hidroxiclорofila *a* ($29,27 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 3), representando 45,38% da fração dos compostos de clorofilas, seguido dos derivados de clorofilas ($95,84 \mu\text{g.g}^{-1}$, picos 1, 2, 8, 9, 11 e 13), o que representa 54,62%. O total de clorofilas corresponde a 90,99% e 91,23% do total de pigmentos nos queijos (2% e 4%, respectivamente).

Por outro lado, o queijo com adição de 4% de *Spirulina* não apresentou teores de feoforbídeo *a'*. Ainda, indicou que a feofitina *a* ($142,20 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 11) foi quantitativamente dominante, o que pode ser considerado um produto de degradação [47], representando 40,35% da fração dos compostos de clorofilas, seguido pela hidroxiclорofila *a* ($45,36 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 3), clorofila *a* ($20,78 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 5) e pelos derivados de clorofilas ($144,05 \mu\text{g.g}^{-1}$, picos 1, 8, 9, 13), totalizando 59,65%. O total de compostos de clorofila foi significativamente maior nos queijos com 4% de *Spirulina* ($353,30 \mu\text{g.g}^{-1}$) em comparação ao queijo com 2% ($175,50 \mu\text{g.g}^{-1}$) e ao controle (ausente para todos os compostos).

Além disso, a maior acidez observada no tratamento com 4% de *Spirulina* pode ter contribuído para a degradação de clorofilas, favorecendo a conversão desses pigmentos em derivados como feofitina, cuja concentração foi superior nesse tratamento em relação ao queijo com 2% de biomassa microalgal (Tabela 5). Durante o processamento de alimentos, as clorofilas presentes nas microalgas podem ser degradadas e convertidas em feofitinas e feoforbídeos (ou até mesmo pirofeofitinas - compostos geralmente associados à exposição a temperaturas elevadas) [48, 49]. Além das clorofilas, os carotenoides também são vulneráveis a perdas significativas em decorrência de tratamentos térmicos [26, 50]. Visando à preservação desses compostos bioativos termolábeis e à manutenção da coloração característica conferida pela microalga, a biomassa foi incorporada ao queijo somente após a etapa de aquecimento, sendo adicionada diretamente à coalhada dessorada.

Zepka et al. (2019) [51] forneceram um esboço quanto ao catabolismo das clorofilas, mostrando que derivados oxidados como hidroxiclорofilas, hidroxifeofitinas e feofitinas podem ter origem química e enzimática. A partir deste contexto, estudos indicaram que compostos derivados de clorofilas como feoforbídeo e feofitina demonstraram atividades antioxidantes superiores ao hidroxitolueno butilado (BHT), o que evidencia a importância do grupo aldeído e derivados livres de magnésio (Mg) para a funcionalidade dessas moléculas [30], com aplicação em diversas funções biológicas, como controle do diabetes associado à obesidade, atividade antimutagênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antiviral contra o vírus da hepatite C, efeitos citotóxicos em células cancerosas, efeito quimiopreventivo contra carcinogênese hepática e estomacal, produção de ATP e indução de neurodiferenciação [11].

Em relação aos carotenoides identificados nos queijos, assim como na biomassa de *Spirulina*, o all-*trans*- β -caroteno ($4,34$ e $7,99 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 10), all-*trans*-zeaxantina ($3,55$ e $6,86 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 6) e all-*trans*-luteína ($3,24$ e $6,49 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 4), foram quantitativamente dominantes, o que corresponde a 63,02% - 64,04% do conteúdo total de carotenoides, seguido por all-*trans*-equinenona ($3,12$ e $6,33 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 7) e pelo isômero 9-*cis*- β -caroteno ($3,13$ e $6,19 \mu\text{g.g}^{-1}$, pico 12), havendo diferença estatística em todos os tratamentos, sendo este aumento proporcional aos diferentes níveis de concentração de *Spirulina* (2% e 4%, respectivamente). O total de carotenoides corresponde a 9,01% e 8,77% do total de pigmentos nos queijos (2% e 4%, respectivamente).

Da análise estatística dos dados de carotenoides, assim como em relação às clorofilas identificadas nos queijos frescos, também se verificou que a adição de *Spirulina* promove concentrações maiores de carotenoides em comparação com o controle, tanto para os compostos individuais quanto para o total de carotenoides. Essas diferenças destacam o efeito da *Spirulina* na concentração de clorofilas e de carotenoides nos queijos frescos ($p < 0,05$), sugerindo que a incorporação da microalga pode influenciar fortemente o perfil nutricional e colorimétrico dos produtos lácteos devido à presença desses pigmentos bioativos.

Dentro da classe das xantofilas, os carotenoides polihidroxilados como a luteína e seu isômero estrutural zeaxantina são os mais estudados. Isso ocorre porque eles possuem inúmeras atribuições na promoção da saúde, ambos apresentam propriedade antioxidante, ação anti-inflamatória e, principalmente, estão associados à prevenção da degeneração macular [30].

Da mesma forma, a all-*trans*-equinenona encontrada, uma xantofila que constitui o perfil de carotenoides com o grupo cetônico (de origem microalgal), é considerada um antioxidante ainda mais potente que o β -caroteno, pois apresenta capacidade aumentada de eliminar radicais livres [43, 52].

Embora a fração mais significativa de carotenoides encontrada tenha sido xantofilas, carotenos importantes foram detectados neste estudo. O β -caroteno, o composto carotenogênico mais abundante nos queijos com *Spirulina*, é considerado um dos mais importantes, pois possui inúmeras funções fisiológicas relacionadas à sua estrutura, que incluem as atividades pró-vitamina A e antioxidante, atuando como um potente agente quimiopreventivo em vários distúrbios. Além disso, é um pigmento natural de primeira escolha como composto bioativo em alimentos funcionais. Da mesma forma que o β -caroteno em sua configuração “all-*trans*”, seus isômeros “*cis*” também estão associados a funções benéficas para a saúde. Estudos destacaram a importância do isômero “9-*cis*”, que desempenha um papel importante na supressão de radicais livres de oxigênio, protegendo as células do corpo humano do estresse oxidativo [30].

Portanto, a presença de uma combinação de pigmentos bioativos, como clorofilas e carotenoides, nos queijos produzidos pode contribuir para a formação de um sistema de defesa com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, atuando de forma complementar devido às suas diferentes funcionalidades biológicas [30]. Além dos efeitos protetores à saúde, esses compostos também funcionam como pigmentos naturais, proporcionando coloração atrativa e característica aos alimentos [52].

Considerando uma porção média de 30 g - equivalente a uma fatia tradicional de queijo Minas Frescal [38], o consumo do produto enriquecido com 4% de *Spirulina* proporcionaria uma ingestão de 10,57 mg de clorofilas e 1,07 mg de carotenoides. Dessa forma, os queijos enriquecidos com *Spirulina* configuram uma alternativa viável para o aumento do consumo diário de clorofilas e carotenoides, contribuindo para a oferta de alimentos funcionais acessíveis e alinhados com as recomendações de saúde pública.

Nesse cenário, a utilização da *Spirulina* como ingrediente corante tem ganhado destaque, pois concentra compostos bioativos com reconhecido potencial promotor de saúde. Ademais, por ser de origem natural, é percebida pelos consumidores como uma alternativa saudável, podendo ser rotulada como “*clean label*”, o que a torna atrativa tanto para o mercado consumidor quanto para a indústria de alimentos [49].

3.3 Análise de Cor e Medida do pH

A cor é um dos atributos sensoriais mais importantes e que pode interferir diretamente na preferência do consumidor em relação a qualquer produto. No presente estudo, os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) da biomassa microalgal de *Spirulina* e dos queijos produzidos foram avaliados por colorimetria e estão apresentados nas Tabelas 6 e 7, bem como as medidas do pH, enquanto as imagens reais dos queijos estão apresentadas na Figura 1. No que se refere ao pH dos queijos (Tabela 7), observou-se que a adição de 4% de *Spirulina* promoveu uma redução significativa no valor de pH (6,31), indicando uma leve acidificação em comparação aos demais tratamentos. Essa variação pode estar associada ao pH intrínseco da biomassa microalgal, que apresenta valor semelhante (6,32) (Tabela 6), e cuja incorporação parece influenciar diretamente as características ácido-base do produto. O queijo controle apresentou pH de 6,57, enquanto a formulação com 2% de *Spirulina* obteve pH de 6,51, sem diferença estatística significativa entre ambos ($p > 0,05$). Embora as variações numéricas sejam discretas, os dados indicam que concentrações mais elevadas da biomassa exercem maior influência na acidificação do queijo. Mohamed et al. (2020) [48] também relataram redução do pH em análogos de queijo com adição de *Spirulina*.

Tabela 6: Caracterização do perfil de cor e do pH da biomassa microalgal de *Spirulina*.

Parâmetro	Biomassa de <i>Spirulina</i>
L^*	$34,40 \pm 0,04$
a^*	$-10,13 \pm 0,39$
b^*	$1,59 \pm 0,02$
pH	$6,32 \pm 0,00$

Os valores são médias $\pm$ desvio padrão de triplicatas.

A faixa de escala L^* representa a luminosidade. Mede a quantidade de luz refletida de uma determinada cor, com indicativo de 0 (preto) a 100 (branco); o parâmetro de escala a^* se estende de um valor negativo (tonalidade verde) para um valor positivo (matriz vermelha); e a escala b^* quando negativo (azul) para positivo (amarelo) [53].

Tabela 7: Caracterização do perfil de cor (CIELAB), diferença total de cor (ΔE) e pH dos queijos Minas Frescal elaborados com diferentes concentrações de *Spirulina*.

Queijo Minas Frescal						
Parâmetro	Controle ⁽¹⁾	<i>Spirulina</i>		ΔE	EPM	p - valor
		2% ⁽²⁾	4% ⁽³⁾			
L^*	$95,68^a \pm 0,93$	$59,70^b \pm 0,62$	$54,04^c \pm 0,25$	-	0,3817	< 0,0001
a^*	$-1,98^a \pm 0,19$	$-10,99^b \pm 0,34$	$-13,36^c \pm 0,22$	-	0,1491	< 0,0001
b^*	$11,96^a \pm 0,72$	$2,83^b \pm 0,46$	$1,72^c \pm 0,37$	-	0,3103	< 0,0001
ΔE (1x2)	-	-	-	38,20	-	-
ΔE (1x3)	-	-	-	44,37	-	-
ΔE (2x3)	-	-	-	6,24	-	-
pH	$6,57^a \pm 0,22$	$6,51^a \pm 0,34$	$6,31^b \pm 0,04$	-	0,1356	< 0,0001

Os valores são médias $\pm$ desvio padrão de triplicatas; Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$); EPM (erro padrão da média); p – valor (valor de p correspondente); ΔE calculado pelo sistema CIELAB entre as seguintes combinações: (1x2) Controle vs. 2%; (1x3) Controle vs. 4%; (2x3) 2% vs. 4%; ^(1;2) Amostra referência; ^(2;3) Amostra teste para cálculo do ΔE .

A partir desses dados, da análise da *Spirulina*, obteve-se um valor de 34,40 (L^*), o que indica uma cor visivelmente escura, mas não preta - está na faixa de cinza-escuro com baixa luminosidade. O valor de intensidade da cor vermelha foi negativo, em que a *Spirulina* apresentou -10,13 ($-a^*$), indicando uma predominância de tom escuro e um leve tom esverdeado na biomassa. Ainda, a *Spirulina* apresentou um valor de 1,59 (b^*), puxando levemente para o amarelo, mas quase neutro, sendo este valor muito próximo de zero, não influenciando fortemente na percepção da cor - resultando basicamente num verde escuro acinzentado.

Em relação aos queijos produzidos, o valor de luminosidade do queijo controle foi 95,68 (L^*), o que indica um queijo mais claro. O valor do queijo com adição de 2% e 4% de *Spirulina* foi de 59,70 e 54,04 (L^*), respectivamente. A diferença de luminosidade entre os tratamentos foi significativa, com o controle apresentando a maior luminosidade em comparação aos queijos com *Spirulina*, demonstrando que a adição de biomassa microalgal reduz o brilho dos queijos. Os resultados obtidos estão de acordo com Falcão et al. (2023) [54] que demonstraram que a incorporação de microalga resulta em diminuição nos atributos de cor L^* para amostras de queijo Quark comparadas com o queijo controle ($p < 0,05$).

A faixa da escala de a^* da cor do queijo controle foi -1,98 ($-a^*$), o que significa que a cor está quase neutra, com apenas uma leve inclinação para o verde. Os queijos com 2% e 4% de *Spirulina* apresentaram valores de -10,99 e -13,36 ($-a^*$), respectivamente, indicando uma intensificação clara da tonalidade verde conforme aumento da adição de *Spirulina* ($p < 0,05$). A tendência verde é muito mais pronunciada nesses queijos do que no controle.

Em relação à escala b^* do queijo controle, o resultado foi de 11,96 (b^*) e com a inclusão de *Spirulina* (2% e 4%), os resultados foram de 2,83 e 1,72 (b^*), respectivamente. Desta forma, nota-se que a inclusão de *Spirulina* reduziu drasticamente a intensidade amarela do queijo, tornando a cor mais fria (menos amarela, sem chegar ao azul), formando uma coloração geral que tende ao verde acinzentado com tons frios, demonstrando ser proporcional ao aumento da sua concentração ($p < 0,05$).

A diferença total de cor (ΔE) evidenciou alterações cromáticas expressivas decorrentes da incorporação da biomassa. As comparações entre o controle e as formulações contendo 2% e 4% de *Spirulina* resultaram em valores de ΔE de 38,20 e 44,37, respectivamente, indicando diferenças de cor extremamente elevadas e facilmente perceptíveis aos olhos dos consumidores. Já a comparação entre as formulações com 2% e 4% apresentou ΔE de 6,24. De acordo com os critérios estabelecidos por McGuire (1992) [33], valores de ΔE superiores a 5 são considerados claramente perceptíveis ao observador. Assim, além da alteração cromática intensa promovida pela adição da microalga em relação ao queijo controle, o aumento da concentração de 2% para 4% também resultou em variação visual evidente, demonstrando que a intensidade da coloração é proporcional ao nível de biomassa incorporado.

Tais resultados podem ser atribuídos à presença dos pigmentos naturais da *Spirulina*, os quais justificam as alterações observadas nos parâmetros de cor do queijo frescal após o enriquecimento com a biomassa microalgal. Sua incorporação conferiu tonalidades inovadoras e visualmente atrativas, com predominância de tons esverdeados, corroborando os achados de Karimy et al. (2024) [15], que também relataram mudanças visuais e características únicas ao incorporarem *Spirulina* em pó durante o processamento de queijo Halloumi. O produto resultante apresenta não apenas apelo estético, mas também valor nutricional agregado, por conter compostos com propriedades funcionais e antioxidantes, além da coloração natural derivada da *Spirulina* - ingrediente amplamente aceito como “clean label”. Trata-se, portanto, de um alimento fresco e familiar ao consumidor brasileiro, com potencial para atender à demanda por produtos mais saudáveis e diferenciados, com maior valor agregado.

A *Spirulina* é uma microalga planctônica verde-azulada cuja coloração característica se deve, principalmente, ao elevado teor de clorofilas - pigmentos essenciais para a fotossíntese - além de conter quantidades expressivas de outros pigmentos bioativos, como as ficocianinas, responsáveis pela tonalidade azul-esverdeada, e os carotenoides, cuja coloração varia do amarelo ao vermelho [10, 55]. Nos queijos enriquecidos avaliados neste estudo, observou-se predominância das clorofilas (~91%) em relação aos carotenoides (~9%), o que resultou em coloração final majoritariamente esverdeada, com influência secundária dos tons amarelados oriundos dos carotenoides.

No setor alimentício, há uma crescente valorização dos corantes naturais utilizados pela indústria alimentícia, entre os quais as clorofilas e os carotenoides se destacam como alguns dos mais empregados [56]. Em nível internacional, esses corantes são aprovados para aplicação em diversos alimentos pelo comitê científico *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* [57]. Na União Europeia, o Regulamento nº 1333/2008 autoriza o uso de corantes naturais, como clorofilas e carotenoides, em alimentos como laticínios, alimentos fermentados aromatizados, queijos curados e processados, cascas de queijos comestíveis e produtos à base de queijo, entre outros [58].

Diferente de investigações realizadas com queijos típicos de outros países (como Galotyri, Karish, Halloumi), este estudo, até onde se sabe, é o pioneiro na aplicação de *Spirulina* ao queijo Minas Frescal, um dos derivados lácteos mais consumidos no Brasil. A principal inovação está na aplicação estratégica da *Spirulina* como corante natural e ingrediente funcional em matriz láctea brasileira, demonstrando potencial real de aplicação industrial.

Nesse contexto, destaca-se o uso da *Spirulina* como aditivo de cor natural, classificada como “coloring foodstuff”, com regulamentação favorável tanto na União Europeia quanto nos Estados Unidos, reforçando sua viabilidade como ingrediente funcional e tecnológico na indústria de alimentos [49].

Embora os pigmentos sintéticos ofereçam ampla variedade cromática, seu uso é cada vez mais restrito devido a preocupações relacionadas à segurança alimentar. Como alternativa, os

pigmentos naturais têm ganhado espaço, valorizados por aliarem função corante a benefícios à saúde, o que amplia significativamente suas possibilidades de aplicação industrial [19, 41, 59].

Os resultados deste estudo demonstram a viabilidade tecnológica da adição de *Spirulina* em produtos lácteos frescos, evidenciando sua capacidade de modificar significativamente a aparência dos queijos frescos - atributo sensorial fundamental para a aceitação do consumidor, frequentemente associado à ideia de alimentos mais saudáveis e com maior valor nutricional [49].

A preservação dos compostos bioativos pigmentantes mesmo após o processamento reforça o potencial da *Spirulina* não apenas como ingrediente funcional, mas também como corante natural regulamentado, capaz de substituir aditivos sintéticos. Esses achados fornecem respaldo técnico e científico para sua adoção em escala industrial, promovendo inovações compatíveis com tendências de saudabilidade e rotulagem limpa, e favorecendo o desenvolvimento de produtos isentos de corantes artificiais.

4. CONCLUSÃO

A adição da biomassa de *Spirulina* em pó ao queijo Minas Frescal demonstrou viabilidade tecnológica e funcional, promovendo melhorias significativas na composição nutricional e nos atributos visuais do produto. A incorporação da microalga elevou os teores de compostos bioativos, como clorofilas e carotenoides, responsáveis por propriedades antioxidantes e pela coloração natural esverdeada.

Esses resultados reforçam o potencial da *Spirulina* como ingrediente multifuncional - atuando simultaneamente como corante natural, agente nutricional e fonte de compostos bioativos - com aplicação estratégica e inovadora na indústria de alimentos, promovendo aumento no valor nutricional e no potencial nutracêutico do queijo. O desenvolvimento de laticínios funcionais com apelo *clean label* alinha-se à demanda crescente por alimentos mais saudáveis e diferenciados no mercado global.

5. AGRADECIMENTOS

Este estudo recebeu apoio financeiro da CAPES (001), FAPERGS (21/2551-002215-9) e FAPERGS/CNPq (07/2022-23/2551-0001879-9).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Koyande AK, Chew KW, Rambabu K, Tao Y, Chu DT, Show PL. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Sci Hum.* 2019;8(1):16-24. doi: 10.1016/j.fshw.2019.03.001
2. Nörnberg ML, Bortolotti CM, Minella E, Nörnberg JL. Utilização da farinha de cevada como fonte de biocompostos em produtos de panificação. *Braz J Dev.* 2022;8(2):10334-53. doi: 10.34117/bjdv8n2-127
3. Nörnberg ML, Bortolotti CM, Minella E, Nörnberg JL. Efeito da incorporação de farinha de cevada sobre a qualidade do pão de forma. *Braz J Dev.* 2022;8(2):10313-33. doi: 10.34117/bjdv8n2-124
4. Nörnberg ML, Iop SE, Favarin FR, Delevati MTS, Storck CR. Análise tecnológica e sensorial de biscoitos enriquecidos com farelo de aveia. *Braz J Dev.* 2022;8(2):10370-80. doi: 10.34117/bjdv8n2-127
5. Nörnberg ML, Storck CR. Potencial nutricional de farinhas de feijão branco e aplicação em produto de panificação. *Braz J Dev.* 2022;8(2):10255-69. doi: 10.34117/bjdv8n2-121
6. Hernández H, Nunes MC, Prista C, Raymundo A. Innovative and healthier dairy products through the addition of microalgae: A review. *Foods.* 2022;11:755. doi: 10.3390/foods11050755
7. Kempinski R, Arabasz D, Neubauer K. Effects of milk and dairy on the risk and course of inflammatory bowel disease versus patients' dietary beliefs and practices: A systematic review. *Nutrients.* 2024;16(15):2555. doi: 10.3390/nu16152555
8. Schetinger LC, do Nascimento TC, Nörnberg ML, Lugcheer CR, Vieira DS, Zepka LQ, et al. Designing the future of food: Challenges to innovation in microalgae-derived blue protein systems. *Sustain Food Proteins.* 2026;4(1):e70057. doi: 10.1002/sfp2.70057

9. Nörnberg ML, Nass PP, Caetano PA, Schetinger LC, Zepka LQ. Microalgae as food source. In: Jacob-Lopes E, Zepka LQ, Deprá MC, editors. Smart food industry: The blockchain for sustainable engineering. Vol. II - Current status, future foods, and global issues. Boca Raton (FL): CRC Press; 2024. p. 173-84. doi: 10.1201/9781003231172-12
10. Nörnberg ML, Nass PP, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. Microalgal carotenoids: Bioaccessibility and bioavailability for biotechnological applications. In: Sangeetha J, Thangadurai D, Islam S, Hospet R, editors. Algal Metabolites: Biotechnological, commercial, and industrial applications. Palm Bay (FL): Apple Acad. Press; 2023. p. 145-65.
11. Fernandes AS, Nascimento TC, Pinheiro PN, Rosso VV, Menezes CR, Jacob-Lopes E, et al. Insights on the intestinal absorption of chlorophyll series from microalgae. Food Res Int. 2021;140:110031. doi: 10.1016/j.foodres.2020.110031
12. Lafarga T, Fernández-Sevilla JM, González-López C, Acién-Fernández FG. *Spirulina* for the food and functional food industries. Food Res Int. 2020;137:109356. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109356
13. Bosnea L, Terpou A, Pappa E, Kondyli E, Mataragas M, Markou G, et al. Incorporation of *Spirulina platensis* on traditional greek soft cheese with respect to its nutritional and sensory perspectives. Proceedings. 2021;70:99. doi: 10.3390/foods_2020-07600
14. Al-Soudy MA, Ahmed HA, Tammam AA, EL-Desoki WI. Enhancing the nutritional value and chemical composition of functional karish cheese by adding microalgae powder (*Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*). Assiut J Agri Sci. 2024;55(3):59-77. doi: 10.21608/ajas.2024.295569.1367
15. Karimy MF, Febrisiantosa A, Sefrienda AR, Setiyawan AI, Pratiwi D, Khasanah Y, et al. The impact of adding different levels of *Spirulina* on the characteristics of halloumi cheese. Int J Gastron Food Sci. 2024;38:101050. doi: 10.1016/j.ijgfs.2024.101050
16. Deprá MC, Nörnberg ML, Schneider AT, Dias RR, Zepka LQ, Jacob-Lopes E. Microalgae: Green cell biofactories in food and feed supply chains. In: Jacob-Lopes E, Queiroz MI, Zepka LQ, editors. Advances in sustainable applications of microalgae. Elsevier [Internet]; 2025. p. 301-15. doi: 10.1016/B978-0-443-22127-9.00013-5
17. Lima RF, Formiga WAM, Freitas PVC, Araújo N, Paiva YF, Silva EV. Composição nutricional de cookies enriquecidos com *Spirulina platensis*. Res Soc Dev. 2022;11(10):e220111021120. doi: 10.33448/rsd-v11i10.21120
18. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 352, de 4 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal. Brasília, DF, 1997. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/legislacao/Port3521997RTqueijominasfrescal.pdf>>. Acesso em: abr. 2025.
19. Barkallah M, Dammak M, Louati I, Hentati F, Hadrich B, Mechichi T, et al. Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. LWT - Food Sci Technol. 2017;84:323-30. doi: 10.1016/j.lwt.2017.05.071.
20. Bernaerts TM, Van Loey AM. Microalgae as structuring ingredients in food. In: Lafarga T, Acién-Fernández FG, editors. Cultured microalgae for the food industry. Academic Press [Internet]; 2021. p. 265-86. doi: 10.1016/B978-0-12-821080-2.00012-5
21. Tohamy MM, Ali MA, Shaaban HAG, Mohamad AG, Hasanain AM. Production of functional spreadable processed cheese using *Chlorella vulgaris*. Acta Sci Pol Technol Aliment. 2018;17(4):347-358.
22. AOAC. Journal Association of Official Analytical Chemists International. 18th ed. Gaithersburg (MD): AOAC; 2005.
23. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J Biochem. Physiol. 1959;37(8):911-7. doi: 10.1139/o59-099
24. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional, conforme anexo. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 2003. Disponível em: <https://anvisa.gov.br/legis/comunicacoes/resolucoes/resolucao_rdc_360_2003.html>. Acesso em: abr. 2025.
25. Viera I, Herrera M, Roca M. *In vitro* bioaccessibility protocol for chlorophylls. J Agric Food Chem. 2021;69(31):8777-86. doi: 10.1021/acs.jafc.1c02815
26. Viera I, Herrera M, Roca M. Influence of food composition on chlorophyll bioaccessibility. Food Chem. 2022;386:132805. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132805
27. Rodrigues DB, Menezes CR, Mercadante AZ, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. Bioactive pigments from microalgae *Phormidium autumnale*. Food Res Int. 2015;77:273-9. doi: 10.1016/j.foodres.2015.04.027

28. Giuffrida D, Zoccali M, Giofre SV, Dugo P, Mondello L. Apocarotenoids determination in *Capsicum chinense* Jacq. cv. Habanero, by supercritical fluid chromatography-triple-quadrupole/mass spectrometry. Food Chem. 2017;231:316-23. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.145
29. Fernandes AS, Nogara GP, Menezes CR, Cichoski AJ, Mercadante AZ, Jacob-Lopes E, et al. Identification of chlorophyll molecules with peroxy radical scavenger capacity in microalgae *Phormidium autumnale* using ultrasound-assisted extraction. Food Res Int. 2017;99:1036-41. doi: 10.1016/j.foodres.2016.11.011
30. Fernandes AS, Petry FC, Mercadante AZ, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. HPLC-PDA-MS/MS as a strategy to characterize and quantify natural pigments from microalgae. Curr Res Food Sci. 2020;3:100-12. doi: 10.1016/j.crf.2020.03.009
31. Nass PP, Nascimento TC, Fernandes AS, Caetano PA, Rosso VV, Jacob-Lopes E, et al. Guidance for formulating ingredients/products from *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* considering carotenoid and chlorophyll bioaccessibility and cellular uptake. Food Res Int. 2022;157:111469. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111469
32. American Association of Cereal Chemists International (AACC). Method 14-22.01: Color determination by colorimetry. 11th ed. St. Paul (US): AACC; 1999.
33. McGuire RG. Reporting of objective color measurements. HortScience. 1992;27(12):1254-5.
34. AOAC. Journal Association of Official Analytical Chemists International. 16th ed. Gaithersburg (MD): AOAC; 1997.
35. Demarco M, Matos ÂP, Minatel GG, Silva MG, Moraes JO, Tribuzi G. Evaluating the biochemical composition, physical characteristics and technofunctional properties of eight commercial *Spirulina* powders for food applications. J Appl Phycol. 2025;1-16. doi: 10.1007/s10811-025-03471-7
36. Nörnberg ML, Nass PP, Nascimento TC, Fernandes AS, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. Production of microalgae biocompounds in different cultivation conditions. Braz J Dev. 2022;8(2):10226-40. doi: 10.34117/bjdv8n2-119
37. Brasil. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria n° 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de produtos lácteos em anexo. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 11 mar 1996. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/legislacao/Port1461996RTqueijomanteigacremedeitegorduralctealeitefluido.pdf>>. Acesso em: abr. 2025.
38. TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4. ed. rev. e ampl. Campinas (SP): NEPA-UNICAMP; 2011.
39. Atitallah AB, Hentati F, Dammak M, Hadrich B, Fendri I, Ayadi MA, et al. Effect of microalgae incorporation on quality characteristics and functional and antioxidant capacities of ready-to-eat fish burgers made from common carp (*Cyprinus carpio*). Appl Sci. 2019;9(9):1830. doi: 10.3390/app9091830
40. Perry KSP. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. Quím Nova. 2004;27:293-300. doi: 10.1590/S0100-40422004000200020
41. Nörnberg ML, Aguiar KL, Nascimento TC, Jacob-Lopes E, Nörnberg JL, Zepka LQ. Functional enrichment of Minas Frescal cheese with *Chlorella sorokiniana*: Integration of carotenoids and bioactive fatty acids. Obs Econ Latinoam. 2025;23(12):e12618. doi: 10.55905/oelv23n12-084
42. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n° 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento técnico sobre informação nutricional complementar. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 2012. Disponível em: <<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=NzQ5Nw%2C%2C>>. Acesso em: abr. 2025.
43. Fernandes AS, Caetano PA, Jacob-Lopes E, Zepka LQ, Rosso VV. Alternative green solvents associated with ultrasound-assisted extraction: A green chemistry approach for the extraction of carotenoids and chlorophylls from microalgae. Food Chem. 2024;455:139939. doi: 10.1016/j.foodchem.2024.139939
44. Rahim A, Çakir C, Ozturk M, Şahin B, Soulaïmani A, Sibaoueih M, et al. Chemical characterization and nutritional value of *Spirulina platensis* cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco). S Afr J Bot. 2021;141:235-42. doi: 10.1016/j.sajb.2021.05.006
45. Maroneze MM, Caballero-Guerrero B, Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Pérez-Gálvez A, Roca M. Accomplished high-resolution metabolomic and molecular studies identify new carotenoid biosynthetic reactions in Cyanobacteria. J Agric Food Chem. 2020;68(22):6212-20. doi: 10.1021/acs.jafc.0c01306
46. Maroneze MM, Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Pérez-Gálvez A, Roca M. Chlorophyll oxidative metabolism during the phototrophic and heterotrophic growth of *Scenedesmus obliquus*. Antioxidants. 2019;8(12):600. doi: 10.3390/antiox8120600

47. Vendruscolo RG, Fernandes AS, Fagundes MB, Zepka LQ, Menezes CR, Jacob-Lopes E, et al. Development of a new method for simultaneous extraction of chlorophylls and carotenoids from microalgal biomass. *J Appl Phycol.* 2021;33:1987-97. doi: 10.1007/s10811-021-02470-8
48. Mohamed AG, El-Salam BAEA, Gafour WAE. Quality characteristics of processed cheese fortified with *Spirulina* powder. *Pak J Biol Sci.* 2020;23(4):533-41. doi: 10.3923/pjbs.2020.533.541
49. Herrera M, Viera I, Roca M. Study of the authentic composition of the novel green foods: Food colorants and coloring foods. *Food Res Int.* 2023;170:112974. doi: 10.1016/j.foodres.2023.112974
50. Zepka LQ, Garruti DS, Sampaio KL, Mercadante AZ, Silva MAA. Aroma compounds derived from the thermal degradation of carotenoids in a cashew apple juice model. *Food Res Int.* 2014;56:108-14. doi: 10.1016/j.foodres.2013.12.015
51. Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Roca M. Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. *Curr Opin Food Sci.* 2019;26:94-100. doi: 10.1016/j.cofs.2019.04.004
52. Nörnberg ML, Nass P, Nascimento TC, Fernandes AS, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. Carotenoids profile of *Desertifilum* spp. in mixotrophic conditions. *Braz J Dev.* 2021;7(3):33017-29. doi: 10.34117/bjdv7n3-835
53. Golmakani MT, Soleimani-Zad S, Alavi N, Nazari E, Eskandari MH. Effect of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) powder on probiotic bacteriologically acidified feta-type cheese. *J Appl Phycol.* 2019;31:1085-94. doi: 10.1007/s10811-018-1611-2
54. Falcão RL, Pinheiro V, Ribeiro C, Sousa I, Raymundo A, Nunes MC. Nutritional improvement of fresh cheese with microalgae *Chlorella vulgaris*: impact on composition, structure and sensory acceptance. *Food Technol Biotechnol.* 2023;61(2):259-70. doi: 10.17113/ftb.61.02.23.7851
55. Takyar MBT, Khajavi SH, Safari R. Evaluation of antioxidant properties of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* and their application in order to extend the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *LWT - Food Sci Technol.* 2019;100:244-9. doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.079
56. Luzardo-Ocampo I, Ramírez-Jiménez AK, Yañez J, Mojica L, Luna-Vital DA. Technological applications of natural colorants in food systems: A review. *Foods.* 2021;10(3):634. doi: 10.3390/foods10030634
57. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *Spirulina* Extract. Specifications monograph prepared by the meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 95 Meeting. Rome (IT): FAO; 2023.
58. European Union. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European parliament and of the council of 16 december 2008 on food additives. Off. J. Eur. Union, 2008.
59. Nörnberg ML, Schetinger LC, do Nascimento TC, Pinheiro PN, Caetano PA, Jacob-Lopes E, et al. Current status of microalgae-based food products: Future trends of functional ingredients. *Recent Pat Biotechnol.* 2025;20(3):307-24. doi: 10.2174/0118722083380758250802021828