

Avaliação dos compostos fenólicos de Spirulina-LEB 18: Estabilidade, atividade antioxidante, colorimetria e infravermelho

Evaluation of the phenolic compounds of Spirulina-18: Stability, antioxidant activity, colorimetry and infrared

Evaluación de compuestos fenólicos de Spirulina-18: Estabilidad, actividad antioxidante, colorimetría e infrarrojos

Recebido: 24/10/2025 | Revisado: 25/01/2026 | Aceitado: 26/01/2026 | Publicado: 27/01/2026

Adriana Rodrigues Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2641-256X>

Universidade Federal do Rio Grande, Brasil

E-mail: adririzo85@gmail.com

Maria Inês Rodrigues Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8016-6999>

Universidade Federal do Cariri, Brasil

E-mail: inês.machado@edu.br

Leonor Almeida de Souza-Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8688-4761>

Universidade Federal do Rio Grande, Brasil

E-mail: Leonor.souzasouares@gmail.com

Resumo

Objetivo do trabalho foi avaliar a estabilidade, atividade antioxidante, colorimetria e infravermelho dos compostos fenólicos de Spirulina-LEB 18. O extrato fenólico foi obtido a partir da extração com o solvente metanol, e foram utilizadas duas amostras uma armazenada sob refrigeração a 4°C e a outra submetida a altas temperaturas durante o período de seis meses (180 dias) foram avaliadas sua estabilidade através da quantificação do teor de fenóis totais no extrato, posteriormente, foi realizada por espectrofotometria, utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu, que foi determinada por interpolação das absorbâncias das amostras, em relação a uma curva analítica construída com uma solução padrão de ácido gálico, na concentração de 10 a 100µg/ml. As absorbâncias das soluções foram medidas a 750 nm. Observou-se um aumento no conteúdo de compostos fenólicos, durante os três meses de armazenamento sob refrigeração de 4°C. Portanto, a refrigeração não afetou a quantidade de fenóis totais durante o período de armazenamento. Na calorimetria foi verificado a influência do pH no extrato. A análise do FTIR do extrato identificou os grupos funcionais existentes na estrutura dos compostos fenólicos.

Palavras-chave: Fenol; Microalga; Refrigeração; Térmica.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the stability, antioxidant, colorimetry and infrared activity of the phenolic compounds of Spirulina-18. The phenolic extract was obtained from the extraction with the solvent methanol, and two samples were used, one stored under refrigeration at 4°C and the other subjected to high temperatures during the period of six months (180 days) were evaluated by quantifying the content of total phenols in the extract, subsequently, it was performed by spectrophotometry, using the Folin-Ciocalteu reagent, which was determined by interpolation of the absorbances of the samples, in relation to an analytical curve constructed with a standard solution of gallic acid, at a concentration of 10 to 100µg/ml. The absorbances of the solutions were measured at 750 nm. An increase in the content of phenolic compounds was observed during the three months of storage under refrigeration of 4°C. Therefore, refrigeration did not affect the amount of total phenols during the storage period. In the calorimetry, the influence of pH on the extract was verified. The FTIR analysis of the extract identified the functional groups existing in the structure of the phenolic compounds.

Keywords: Phenol; Microalgae; Refrigeration; Thermal.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la estabilidad, antioxidante, colorimetría y actividad infrarroja de los compuestos fenólicos de Spirulina-18. El extracto fenólico se obtuvo a partir de la extracción con el solvente metanol, y se utilizaron dos muestras, una almacenada bajo refrigeración a 4°C y la otra sometida a altas temperaturas durante el periodo de seis meses (180 días) se evaluó cuantificando el contenido de fenoles totales en el extracto, posteriormente, se realizó por espectrofotometría, utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu, que se determinó por

interpolación de las absorbancias de las muestras, en relación con una curva analítica construida con una solución estándar de ácido gálico, a una concentración de 10 a 100 µg/ml. Las absorbancias de las soluciones se midieron a 750 nm. Se observó un aumento en el contenido de compuestos fenólicos durante los tres meses de almacenamiento bajo refrigeración de 4°C, por lo que la refrigeración no afectó la cantidad de fenoles totales durante el período de almacenamiento. En la calorimetría se verificó la influencia del pH sobre el extracto. El análisis FTIR del extracto identificó los grupos funcionales existentes en la estructura de los compuestos fenólicos.

Palabras clave: Fenol; Microalgas; Refrigeración; Térmica.

1. Introdução

O uso de antioxidantes naturais na conservação de alimentos, como os ácidos fenólicos, tem se apresentado como uma das formas de reduzir o uso dos sintéticos e, em alguns casos, pode ser utilizado para o desenvolvimento de alimentos fortificados (Machado et al., 2019). Neste contexto, destaca-se a como fonte de compostos antioxidantes oriundo de microalga.

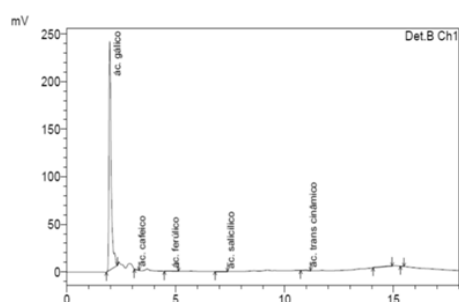
Com isso, há uma demanda crescente pela produção de suplementos alimentares e produtos aplicados à promoção da saúde que podem ser obtidos a partir de microalgas, dada a vasta gama de substâncias que estes microrganismos são capazes de sintetizar (Morcelli, 2021). A microalga *Spirulina* tem sido utilizada principalmente para consumo humano e como aditivos para ração ou ração na indústria avícola e aquícola. Seus benefícios nutricionais e de saúde têm levado a um grande interesse da indústria de saúde e alimentos para aplicações nutricionais específicas (Ghaeni & Roomiani, 2016; Machado et al., 2019). Entre os muitos compostos bioativos produzidos por microalgas estão vitaminas, lipídeos, pigmentos e polissacarídeos. Alguns desses compostos demonstraram atividades anticâncer, anti-infecciosas, antioxidantes, imunoestimulantes, anti-inflamatórias e de redução do colesterol ruim (Coêlho et al., 2019; Morcelli, 2021). A microalga *Spirulina* LEB-18 é classificada como GRAS (Generally Recognized as Safe) pelo FDA (Food and Drug Administration), o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde (Uebel et al., 2019).

As propriedades biológicas dos compostos fenólicos estão geralmente relacionadas com a atividade antioxidante que cada composto exerce sobre determinado meio (Christ-Ribeiro et al., 2021; Medina, 2009). Os compostos fenólicos existentes na *Spirulina* spp. são ácidos orgânicos como os ácidos gálico, caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico, (Figura 1) os quais agem individualmente ou sinergicamente como compostos antioxidantes em sistemas *in vivo* e *in vitro* (Ambrosi et al., 2008; Assis, 2012; Machado et al., 2017).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que atuam no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (Bianchi & Antunes, 1999; de Vasconcelos et al., 2014; Rodrigues et al., 2020)

A intensidade da ação antioxidante exibida por estes fitoquímicos é diferenciada, principalmente devido ao número e posição de hidroxilas presentes nas moléculas (Melo et al., 2008; Rodrigues et al., 2017).

Figura 1- Cromatograma do Extrato metanólico de *Spirulina* LEB-18.



Fonte: Assis (2012).

O ácido gálico foi o principal fenol encontrado em extrato metanólico de *Spirulina*, de acordo com Assis, (2012). Conforme a literatura, entre todos os ácidos benzóicos presentes nos vegetais, o ácido gálico é o que apresenta maior efetividade na inativação do radical ABTS•+ (Assis, 2012; Yeh & Yen, 2006).

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (Alves & de Abreu, 2021; Bianchi & Antunes, 1999).

O objetivo no trabalho foi avaliar a colorimetria e infravermelho dos grupos presentes nos extratos fenólicos extraídos da microalga *Spirulina* LEB-18 e submetidos a estabilidade térmica e refrigerada, bem como verificar a ação da atividade através do método FRAP.

2. Metodologia

2.1 Condução da pesquisa

A presente pesquisa caracterizou-se como uma investigação experimental, num estudo laboratorial e, quantitativo em relação ao uso de fórmulas matemáticas e estatísticas e, qualitativo em relação à interpretação por parte do pesquisador com suas opiniões sobre o fenômeno em estudo, assim como a torna-se importante a prática reflexiva de ênfase social que se investiga e do processo de investigação (Pereira, et al., 2018). Já na parte quantitativa, fez-se uso de estatística descritiva simples com emprego de gráficos de linhas, barras e, classes de dados com valores de média e desvio padrão, frequência absoluta e, frequência relativa porcentual (Shitsuka et al., 2014) e de análise estatística (Bekman & Costa Neto, 2009).

2.2 Obtenção da matéria-prima

A cepa da cianobactéria *Spirulina* isolada da Lagoa Mangueira, situada na região sul do Rio Grande do Sul foi utilizada, e a mesma foi suplementada com 20% (v/v) do meio Zarrouk (Costa et al., 2006, 2019), referido como MLW-S médio foi empregada para manutenção do inóculo e produção da biomassa. A planta piloto para produção de *Spirulina* está localizada próxima da costa da Lagoa Mangueira (33 ° 30 '13 "S, 53 ° 08' 59" W) e consiste de tanques de diferentes dimensões e volumes em função da sua finalidade. Para este experimento foi utilizado um tanque de inóculo, (4,0 m de comprimento x 1,0 m de largura x 0,50 m de altura) com uma superfície de 3,87 m² e um volume de trabalho de 1000 L e 3 tanques de produção (13,0 m comprimento × 3,0 m largura × 0,50 m altura), cada um com uma superfície de 37,10 m² e um volume de trabalho de 10.000 L. Todos os tanques foram revestidos com fibra de vidro e cobertos por uma estrutura de filme de polietileno transparente para simular efeito estufa. Todas as culturas do tanque foram agitadas por uma roda de pás girando a 18 rpm 24 h por dia. O volume de meios de cultura foi mantido pela adição periódica de MLW-S para compensar a evaporação, cerca de 12 L/dia, para o tanque de 10.000 L, adicionados ao longo do experimento (Moraes et al., 2009).

2.3 Extração dos compostos fenólicos

O extrato fenólico de *Spirulina* foi obtido a partir da extração (2g/20mL) com metanol, sob agitação, em orbital shaker TE-141 (TECNAL, Brazil), por 45 °C por 120 min, com rotação de 230 rpm, durante 2 horas a 35°C. Seguindo-se de centrifugação a 5500G por 15min., filtração, evaporação e solubilização em água. Os extratos totais obtidos das quatro frações de solventes foram clarificados com Ba(OH)₂ 0,1M e ZnSO₄ 5 % para remoção e precipitação de interferentes. The solutions were filtered and quantitatively transferred to a volumetric flask of 50 mL, and the final volume was completed with water (Souza, Recart, Rocha, Cipolatti, & Furlong, 2009).

2.3.1 Quantificação dos compostos fenólicos totais

A quantificação do teor de fenóis totais nos extratos foi realizada por espectrometria, in a UV-VIS spectrophotometer

(Jasco V560, USA), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu segundo Assis et al. (2014) and Souza et al. (2009). Foram utilizados 500µL de extrato, 500µL de água destilada e 4,5 mL de solução alcalina (carbonato de sódio 4 % (p/v), sulfato de cobre 2 % (p/v) e tartarato duplo de sódio e potássio 2 % (p/v)). Após a homogeneização, as amostras foram submetidas ao aquecimento a 40 °C por 15 min. Decorrido este tempo, foi adicionado 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu 2N diluído 1:2 com água destilada. A absorbância das amostras foi medida a 750 nm após 10 min de descanso a temperatura ambiente. O teor de fenóis totais dos extratos foi determinado por interpolação da absorbância das amostras em uma curva analítica construída com uma solução padrão de ácido gálico na concentração de 10 a 90 µg/ml, sendo os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (EAG) por g de microalgas.

2.3.2 Atividade antioxidante do composto fenólico

Para a determinação da atividade antioxidante das amostras, foi realizado o teste de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Neste método, o complexo férrico-tripiridiltriazina (FeIII-TPZ) é reduzido ao complexo ferroso (FeII-TPZ), na presença de um antioxidante e em condições ácidas. O complexo formado por esta reação possui uma coloração azul intensa, com absorção máxima a 593 nm (Serpen et al., 2012). Este método no presente estudo foi testado para os extratos fenólicos de microalgas. O método FRAP também é utilizado para medir a capacidade antioxidante de frutos.

2.3.3 Estabilidade refrigerada e térmica

Após a extração dos fenóis, esta foi estocada sob refrigeração a temperatura de 4 °C durante o período de seis meses (180 dias).

Porém a outra aliquota dos compostos fenólicos foram submetidos a diferentes temperaturas (35, 50, 65, 80, 95, 110, 125, 140 e 155 °C) em estufa em tempo de 60 minutos. A quantificação do teor de fenóis totais nos extratos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu segundo (Souza et al., 2011).

2.3.4 Colorimetria

A cor foi avaliada por meio de um colorímetro portátil Minolta, Japão, CR400. O sistema utilizado foi o CIEL* a*b*, onde foram medidas as coordenadas: L*, representando a luminosidade em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco); a* que representa uma escala de tonalidade variando de vermelho (0 + a) a verde (0 - a) e b* que representa uma escala de amarelo (0 + b) a azul (0 - b) (Rao et al., 2010). Todas as determinações foram feitas em triplicata com amostras de fenol. As medições foram feitas com base na média de pelo menos três pontos de cada amostra. Valor total da diferença de cor foi calculada como se segue:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad \text{Eq.1.}$$

2.3.5 Espectrometria na região do Infravermelho (FTIR)

Para identificar os grupamentos funcionais presentes nas estruturas dos extratos fenólicos, foi utilizada análise de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no comprimento de onda de 4000 a 500 cm⁻¹, utilizando sistema de ATR, utilizando equipamento FTIR-Shimadzu modelo IRTracer-100, em temperatura ambiente.

2.4 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos nos experimentos foram analisados

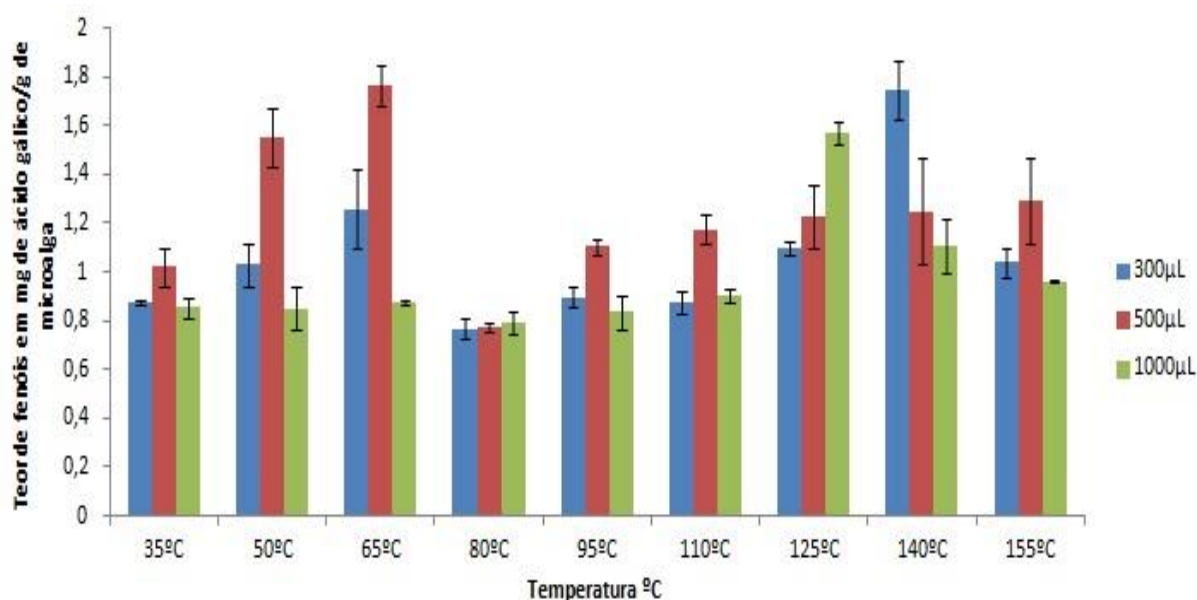
estatisticamente através de ANOVA e Teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância, com auxílio do programa STATISTIC®, versão 7.0 (STATISTICA–STATSOFT, 2004).

3. Resultados e Discussão

3.1 Estabilidades térmica e refrigerada dos compostos fenólicos

A figuras a seguir apresentam dados sobre as estabilidades térmica e refrigerada dos compostos fenólicos. Foram realizados testes de estabilidade dos compostos fenólicos, térmica (Figura 2) e refrigerada durante 180 dias a 4 °C (Figura 3), quando foram submetidos a diferentes temperaturas (35, 50, 65, 80, 95, 110, 125, 140 e 155 °C) em estufa em tempos de 60 em 60 minutos, variando a temperatura em 15 °C.

Figura 2 - Avaliação da estabilidade térmica dos extratos fenólicos entre 35 e 155 °C, com as respectivas concentrações de 300, 500 e 1000 microlitros (µL).



Fonte: Autoria própria.

Foi realizada a estabilidade térmica dos compostos fenólicos para verificar uma possível alteração. Com isso, ocorreu uma elevação da temperatura, conforme a Figura 2, onde a temperatura de 65 °C foi a qual apresentou os maiores teores de compostos fenólicos, também foi observado acréscimo na concentração dos compostos fenólicos de Spirulina LEB-18, em 140 °C.

Há diminuição do conteúdo fenólico levando a uma redução notável destes componentes, na temperatura de 80 °C, para as diferentes concentrações.

Durante avaliação da estabilidade dos extratos fenólicos nas diferentes temperaturas, pode-se observar uma pequena degradação demonstrada nos últimos picos. Segundo Ribeiro & Seravalli(2007), a temperatura é um dos fatores que influenciam na degradação destes compostos.

Os dados de quantificação de compostos fenólicos em Spirulina LEB-18 sobre estabilidade são ainda pouco explorados. De acordo com Angelo & Jorge (2007), os compostos fenólicos são instáveis podendo sofrer degradação durante as diversas etapas do processamento e armazenamento de alimentos. Fang & Bhandari (2011) estudaram o efeito da secagem

por spray drying de sucos de *Myrica* e a conservação dos fitoquímicos em umidade controlada por um período de armazenamento de 6 meses, foi possível concluir que o conteúdo total de fenois e de antocianinas foi retido durante o processo de secagem, demonstrando que esta técnica é satisfatória para manter a conservação dos fitoquímicos. Os produtos na forma de pós de bayberry com A_w entre 0,11 e 0,44, armazenados por 6 meses em temperatura de 5 °C, apresentaram um decréscimo de 6 a 8 % no conteúdo de fenois e de 7 a 27 % no conteúdo de antocianinas, respectivamente. Em temperatura de 25 °C os compostos bioativos apresentaram um decréscimo de 6 % e 9 % para compostos fenólicos e de 9 % e 37 % para compostos antocianicos; e em 40 °C ocorreu uma redução de 7 % e 37 % para fenois e de 9 % e 34 % para antocianinas, respectivamente. As antocianinas foram os fitoquímicos mais facilmente degradados em relação aos outros compostos fenólicos.

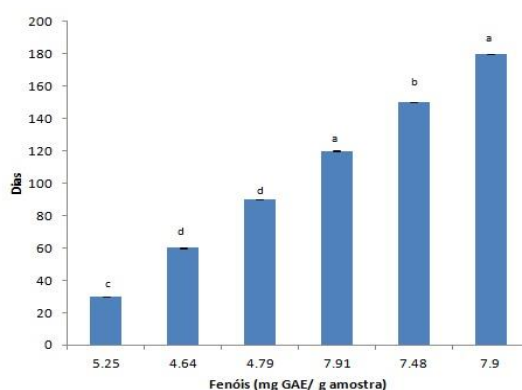
Kaur e Kapoor, (2002) concluíram que os compostos antioxidantes de ocorrência natural podem ser significativamente perdidos como consequência de processamento e armazenamento afetando, dessa forma, a capacidade antioxidante do alimento. No caso do tratamento térmico, a redução da ação antioxidante pode ocorrer quando este promove a destruição do composto bioativo e/ou a formação de novos compostos com ação pró-oxidante (Tremocoldi et al., 2014).

Os dados de quantificação de compostos fenólicos em *Spirulina* LEB-18 sobre estabilidade são ainda pouco explorados. Com isso, foram realizados testes de estabilidade dos compostos fenólicos, em condições térmica (Figura 2) e refrigerada durante 180 dias a 4°C (Figura 3), onde foram submetidos a diferentes temperaturas (35, 50, 65, 80, 95, 110, 125, 140 e 155 °C) em estufa em tempos de 60 em 60 minutos, variando a temperatura de 15 °C.

Os compostos fenólicos apresentam em sua estrutura uma variedade de grupamentos químicos capazes de agirem como antioxidantes, contribuindo para o benefício da saúde. Uma alternativa na indústria de alimentos é a substituição dos antioxidantes e corantes sintéticos por estes compostos naturais extraídos de vegetais. Porém, estes compostos podem apresentar certa instabilidade nas condições de processamento e armazenamento de alimentos (Rosa, 2012; Silva, 2018).

De acordo com os autores Castelucci (2015) e Klopotek et al., (2005) afirmam que as perdas totais de compostos fenólicos durante o armazenamento podem ser atribuídas à oxidação de polifenóis e às reações de polimerização que podem diminuir o número de grupos hidroxilas livres medidas pelo ensaio de Folin-Ciocalteu. Uma provável explicação para a redução nos teores de compostos fenólicos é a existência de enzimas de escurecimento (Castelucci, 2015).

Figura 3 - Estabilidade dos compostos fenólicos extraídos com metanol durante 180 dias de armazenamento a 4 °C. Letras distintas teve diferença estatística ($p < 0,05$).



Fonte: Autoria própria.

O extrato apresentou maior concentração no período de 120 a 180 dias (7.91 e 7.90), diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais (Figura 3). Durante o armazenamento sob refrigeração observa-se que não houve alteração no conteúdo de compostos fenólicos, durante os três meses de armazenamento. Porém, verifica-se que em todos os períodos de

armazenamento somente ocorreram perdas significativas de compostos fenólicos durante o 2º e 3º mês (60 e 90 dias) de estocagem com extrato fenólico de *Spirulina* extraído com metanol. Machado et al. (2021) e Machado et al. (2010) verificaram que as extrações com metanol e água são mais eficientes comparada aos outros solventes (etanol, acetato de etila e hexano).

Os valores encontrados neste estudo, Figura 3, para extrato fenólico de *Spirulina* extraído com metanol são semelhantes aos de Colla et al. (2007) que encontraram valores entre 2,42 e 4,99 (mg de EAG.g-1 de microalga) para teor fenólico de *Spirulina* variando a temperatura e proporção de nitrogênio do meio de cultivo, no qual concluíram que a temperatura de 35°C e altos níveis de nitrogênio promovem elevação do teor fenólico desta microalga.

Um fator importante a considerar que apesar do seu alto conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, as algas demonstram estabilidade frente à oxidação durante seu armazenamento (Cabral et al., 2011; Shirahigue, 2012).

Jacques et al. (2015) avaliaram a estabilidade ao armazenamento dos fitoquímicos, presentes em polpas de amora-preta, sob as temperaturas de -10°C, -18°C e -80°C, por 6 meses. Nesse estudo, a autora concluiu que o conteúdo de fenóis totais permaneceu inalterado em todas as temperaturas utilizadas durante 4 meses de armazenamento.

3.2 Atividade antioxidante através da redução do ferro (FRAP)

O FRAP é um dos métodos usados na avaliação da atividade antioxidante em alimentos e sistemas biológicos. No entanto, a determinação da atividade antioxidante ainda tem alguns problemas por resolver. A principal dificuldade é a comparação exata dos resultados obtidos por diferentes laboratórios, devido à variabilidade das condições experimentais usadas. O resultado do teste FRAP depende fortemente da reatividade dos vários padrões fenólicos e da reatividade dos extratos com este ensaio.

Os compostos fenólicos totais obtidos neste estudo foram 9,98 (mgGAE/mL) e FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power) com $88.79 \pm 4.09 \mu\text{Mol/g}$ amostra.

O ácido gálico foi o ácido fenólico predominante (Figura 1) dentre os compostos fenólicos analisados. Estes resultados confirmam dados da literatura que reportam o ácido gálico como sendo o ácido fenólico de maior expressão dentre os compostos fenólicos identificados em espécies de *Spirulina*.

No entanto, para a maioria dos compostos testados, o mecanismo é mais complexo, sendo a acessibilidade estérica o fator determinante da reação, moléculas pequenas que têm melhor acesso ao sítio do radical podem apresentar uma maior atividade aparente quando comparada às moléculas maiores (Assis, 2012).

Segundo Assis et al. (2014) encontraram em sua pesquisa com extrato metanólico de *Spirulina* LEB- 2.62 mg/g de microalga, sendo estes valores inferiores aos encontrados neste estudo. De acordo com a literatura, os compostos fenólicos, principalmente os ácidos fenólicos, são encontrados principalmente em extratos de mais elevada polaridade. Assim sendo, o solvente polar (metanol) utilizado neste estudo contribuiu para extrair uma concentração elevada de compostos fenólicos da microalga analisada (Barbosa et al., 2023; Gil, 2020)

A capacidade para avaliar a atividade antioxidante por parte dos diferentes métodos estudados depende, além da amostra, da natureza do solvente usado no processo de extração. O ensaio FRAP avalia o potencial dos antioxidantes para reduzirem o ferro (III) por substâncias eletro doadoras em condições ácidas, enquanto os ensaios ABTS e DPPH avaliam a capacidade dos antioxidantes para reduzirem os radicais ABTS●+ e DPPH, respectivamente (Duro, 2016; Morais et al., 2013).

Com isso após a análise dos resultados do ensaio FRAP, verificou-se que o extrato metanólico, comparado a inúmeras pesquisas, apresenta a maior habilidade para reduzir o complexo TPTZ-Fe (III) em TPTZ-Fe (II)(Sobral, 2012).

3.3 Colorimetria

A Tabela 1 apresenta os resultados da análise de cor (L, a* e b*, diferença de cor= ΔE) para as amostras de fenóis e

lipossomas avaliadas.

Tabela 1- Análise de cor (L, a* e b*, diferença de cor= ΔE) para as amostras de fenóis avaliadas.

Amostra	L	a*	b*	ΔE
Extrato fenólico pH 6,88	30,8 \pm 0.01 ^b	0.21 \pm 0.006 ^b	-0.23 \pm 0.005 ^b	6.10 ^b
Extrato fenólico pH 1,5	28,85 \pm 0.01 ^c	0.15 \pm 0.03 ^c	-0.18 \pm 0.03 ^c	5.80 ^c
Controle	31,83 \pm 0.006 ^a	0.4 \pm 0.01 ^a	-0.36 \pm 0,006 ^a	6.24 ^a

Controle= teste do Branco. Extrato fenólico submetido a pH: 6.88(da amostra pura) e 1.5 com HCL 1M. Os valores apresentam a média de 3 repetições, medias na mesma coluna apresentaram diferença significativa ($p < 0.05$), pelo teste de Tukey. Fonte: Autoria própria.

Conforme a Tabela 1 pode-se observar que ocorreu variação entre os atributos avaliados referente aos pH estudados. Esta análise foi realizada para verificar a alteração na coloração do extrato. Com isso, mesmo apresentando variações significativas ($p < 0.05$), em relação a coordenada a*, tanto extrato fenólico pH 6,88 quanto o extrato com pH 1,5, ambos comparados com o controle apresentaram valores positivos (0,21 e 0,15), indicando a tonalidade que tendem ao vermelho.

Agora para a coordenada b*, os extratos fenólicos apresentam valores negativos (-0,23 e -0, 18) indicando uma tendência ao azul. Visualmente o extrato fenolico apresenta cor amarelada. O ΔE é um parâmetro para verificação da diferença global da cor dos extratos, onde verificou-se diferença significativa entre a coloração dos extratos. Portanto, a variação total da coloração (ΔE), determinada pela Equação 1, exibida na metodologia, leva em consideração as diferenças das coordenadas cromáticas e de luminosidade.

Atributos de cor são de importância absoluta porque eles influenciam diretamente sua aceitação pelos consumidores. Assim, a cor é um dos mais importantes parâmetros que tem de ser controlado (Falguera et al., 2011).

Nessa técnica, a concentração de componente específico da amostra é determinada pela comparação da intensidade de cor da amostra com o padrão (Carvalho et al., 2005).

3.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é útil para identificar grupos funcionais (Tabela 2) de amostras biológicas, como biomassa de microalgas e metabólitos intra e extracelulares (Arif et al., 2021).

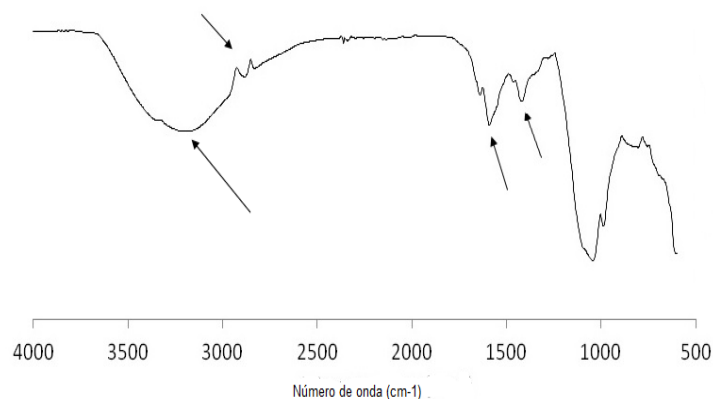
Tabela 2- Número de onda (cm^{-1}) dos espectros de extratos fenolicos por análise por FTIR.

Estiramento	Fenol(cm^{-1})
C-O	1220-896
C=C	1587
CH	2869
OH	3639-2911

Fonte: Autoria própria.

A Figura 4 apresenta a espectroscopia do infravermelho do extrato fenólico de Spirulina.

Figura 4- Infravermelho dos grupos funcionais do extrato fenólico da Spirulina LEB-18.



Fonte: Autoria própria.

Verificou-se que a amostra de extrato fenólico de Spirulina LEB - 18 apresentou os espectros no infravermelho 3639;3197; 2911, 2869;1587;1409, 1220;1035 e 896 cm^{-1} . Em função disso, a discussão que se segue é considerada válida para todas as amostras listadas na tabela 4.

Na Figura 4 o espectro no infravermelho do extrato fenólico revelou absorções em 2869 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos de ligação C-H (Silva, 2016).

A banda larga que se estende de 3639 - 2911 cm^{-1} , atribuído a banda hidroxila (OH), associada à absorção em 3176 cm^{-1} , indica a presença de composto fenólico.

Observou-se a presença de bandas de absorção em torno de 1587-1409 cm^{-1} (C=C), indica a presença de anel aromático. Logo a banda de absorção em 1220-896 cm^{-1} é função do estiramento da ligação C-O de fenol de Spirulina LEB-18. Portanto, a espectroscopia na região do infravermelho (IV) é uma técnica de preciosa importância na análise orgânica qualitativa, sendo amplamente utilizada nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas. O infravermelho é uns métodos espectroscópicos modernos que constituem hoje os principais recursos para a identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânica.

4. Conclusão

Com base nos valores obtidos neste estudo, conclui-se que a capacidade de extração de compostos bioativos e de antioxidantes naturais depende da seletividade do solvente usado na extração. Com isso, conteúdo dos compostos fenólicos totais extraídos com solvente metanol, durante os seis meses de armazenamento verificou-se que a grande maioria dos extratos manteve sua estabilidade quanto conteúdo de fenóis totais neste período. Sendo, assim a refrigeração não afetou negativamente os compostos fenólicos da Spirulina LEB-18. Com a espectroscopia do infravermelho foi possível identificar os grupos existentes na estrutura da substância orgânica.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, CNPQ, FAPERGS e FURG.

Referências

- Alves, G. G., & de Abreu, T. P. (2021). Estresse oxidativo e sua influência na patogênese da doença de alzheimer | Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação. <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/2294>
- Ambrosi, M. A., Reinehr, C. O., Bertolin, T. E., Costa, J. a. V., & Colla, L. M. (2008). Propriedades de saúde de Spirulina spp. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 29(2), Artigo 2. <http://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/477>
- Angelo, P. M., & Jorge, N. (2007). Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 66(1), Artigo 1. <https://doi.org/10.53393/rial.2007.v66.32841>
- Arif, M., Li, Y., El-Dalatony, M. M., Zhang, C., Li, X., & Salama, E.-S. (2021). A complete characterization of microalgal biomass through FTIR/TGA/CHNS analysis: An approach for biofuel generation and nutrients removal. Renewable Energy, 163, 1973–1982. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.10.066>
- Assis, L. M. de, Machado, A. R., Motta, A. de S. da, Costa, J. A. V., & Soares, L. A. de S. (2014a). Development and Characterization of Nanovesicles Containing Phenolic Compounds of Microalgae Spirulina Strain LEB-18 and Chlorella pyrenoidosa. <https://doi.org/10.4236/ampc.2014.41002>
- Assis, L. M. de, Machado, A. R., Motta, A. de S. da, Costa, J. A. V., & Soares, L. A. de S. (2014b). Development and Characterization of Nanovesicles Containing Phenolic Compounds of Microalgae Spirulina Strain LEB-18 and Chlorella pyrenoidosa. <https://doi.org/10.4236/ampc.2014.41002>
- Assis, L. M. (2012). Atividade antioxidante de extratos de microalgas Spirulina LEB-18 e Chlorella pyrenoidosa e estudo da sua nanoencapsulação em lipossomas . Universidade Federal do Rio Grande.
- Barbosa, A. C. S., Mendes, P. S., Mattos, G., Fuchs, R. H. B., Marques, L. L. M., Beneti, S. C., Heck, S. C., Droval, A. A., & Cardoso, F. a. R. (2023). Comparative analysis of the use of natural and synthetic antioxidants in chicken meat: An update review. Brazilian Journal of Biology, 83, e275539. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.275539>
- Bekman, O. R. & Costa Neto, P. L. O. (2009). Análise estatística da decisão. Editora Edgard Blucher.
- Bianchi, M. de L. P., & Antunes, L. M. G. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. Revista de Nutrição, 12, 123–130. <https://doi.org/10.1590/S1415-52731999000200001>
- Cabral, I. S. R., Shirahigue, L. D., De Arruda, L. F., Carpes, S. T., & Oetterer, M. (2011). Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, 29(2). <https://doi.org/10.5380/cep.v29i2.25481>
- Carvalho, W., Fonseca, M. E. D. N., Silva, H. R. D., Boiteux, L. S., & Giordano, L. D. B. (2005). Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. Horticultura Brasileira, 23(3), 819–825. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362005000300026>
- Castelucci, A. C. L. (2015). Avaliação da estabilidade dos compostos bioativos de polpas de frutas nativas submetidas ao processo de irradiação [Text, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/T.64.2015.tde-06102015-144037>
- Christ-Ribeiro, A., Graça, C. S., Chiattoni, L. M., Machado, A. R., & Souza-Soares, L. A. D. (2021). Capacidade antioxidante de compostos fenólicos extraídos de spirulina. Em S. Verruck, Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos—Volume 3 (1o ed, p. 367–376). Editora Científica Digital. <https://doi.org/10.37885/210203189>
- Coelho, D. de F., Tundisi, L. L., Cerqueira, K. S., Rodrigues, J. R. da S., Mazzola, P. G., Tambourgi, E. B., & Souza, R. R. de. (2019). Microalgae: Cultivation Aspects and Bioactive Compounds. Brazilian Archives of Biology and Technology, 62, e19180343. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180343>
- Colla, L. M., Oliveira Reinehr, C., Reichert, C., & Costa, J. A. V. (2007). Production of biomass and nutraceutical compounds by Spirulina platensis under different temperature and nitrogen regimes. Bioresource Technology, 98(7), 1489–1493. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.09.030>
- Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Rosa, G. M., Moraes, L., Morais, M. G., & Mitchell, B. G. (2019). Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery. Bioresource Technology, 292, 121946. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121946>
- Costa, J. A. V., Radmann, E. M., Cerqueira, V. S., Santos, G. C. dos, & Calheiros, M. N. (2006). Perfil de ácidos graxos das microalgas Chlorella vulgaris e Chlorella minutissima cultivadas em diferentes condições. <http://127.0.0.1:8080/handle/1/4517>
- de Vasconcelos, T. B., Macena, R. H. M., & Bastos, V. P. D. (2014). Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?
- Duro, L. S. L. S. (2016). Métodos para a determinação do potencial antioxidante dos frutos [masterThesis]. <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/34615>
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. Trends in Food Science & Technology, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. Food Chemistry, 129(3), 1139–1147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.093>
- Ghaeni, M., & Roomiani, L. (2016). Review for Application and Medicine Effects of Spirulina, Spirulina platensis Microalgae. Journal of Advanced Agricultural Technologies, 3(2), 114–117. <https://doi.org/10.18178/joaat.3.2.114-117>
- Gil, S. M. (2020). Extração e caracterização de componentes bioativos de.
- Jacques, A. C., Oliveira, F. M., Hernandez, J. V., & Silva, E. F. (2015). Elaboração de farinha de uva utilizando bagaço da indústria vitivinícola: efeito sob os compostos fenólicos. Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 4283–4287. <https://doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-1092-21059-163106>

- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 153–161. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x>
- Klopotek, Y., Otto, K., & Böhm, V. (2005). Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5640–5646. <https://doi.org/10.1021/jf047947v>
- Machado, A. R., Assis, L. M., Silva, P. P., Badiale-Furlong, E., & Souza-Soares, L. A. (2010). Influência do solvente na extração de fenóis totais em microalga *Spirulina platensis*. *Escola de Química e Alimentos, IX Mostra da Produção Universitária-9o MPU-FURG*.
- Machado, A. R., Graça, C. da S., Machado, M. I. R., & Sotabela ares, L. A. de S. (2021). Antioxidant capacity of phenolic acids extracted from the biomass from *Spirulina* sp.LEB-18 / Capacidade antioxidante de ácidos fenólicos extraídos da biomassa de *Spirulina* sp.LEB-18. *Brazilian Journal of Development*, 7(3), 25956–25970. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-345>
- Machado, A. R., Graça, C. S., Assis, L. M. de, & Souza-Soares, L. A. de. (2017). Uma abordagem sobre caracterização e avaliação do potencial antioxidante de extratos fenólicos de microalgas *Spirulina* sp. LEB-18 e *Chlorella pyrenoidosa*. *Revista de Ciências Agrárias*, 40(1), Artigo 1. <https://doi.org/10.19084/RCA16011>
- Machado, A. R., Pinheiro, A. C., Vicente, A. A., Souza-Soares, L. A., & Cerqueira, M. A. (2019). Liposomes loaded with phenolic extracts of *Spirulina* LEB-18: Physicochemical characterization and behavior under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 120, 656–667. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.023>
- Medina, A. L. (2009). Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de arará.
- Melo, D. S. de, Corrêa, A. D., Marcos, F. C. A., Sousa, R. V. de, Abreu, C. M. P. de, & Santos, C. D. dos. (2008). Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a atividade das enzimas AST, ALT, FA e lipídios hepáticos de ratos Wistar. *Food Science and Technology*, 28, 32–37. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500006>
- Morais, M. G., Radmann, E. M., Andrade, M. R., Teixeira, G. G., Brusch, L. R. F., & Costa, J. A. V. (2009). Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. *Aquaculture*, 294(1), 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.05.009>
- Morais, M. L., Silva, A. C. R., Araújo, C. R. R., Esteves, E. A., & Dessimoni-Pinto, N. A. V. (2013). Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(2), 355–360. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000200004>
- Morcelli, A. V. (2021). Aplicação de tecnologias de extração de clorofilas e carotenoides de microalgas e uso da biomassa microalgal na adsorção de metais pesados. <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/231595>
- Pereira, A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free ebook]. Santa Maria. Editora da UFSM.
- Rao, M. S., Kanatt, S., Chawla, S., & Sharma, A. (2010). Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. *Carbohydrate Polymers*, 82, 1243–1247. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.058>
- Ribeiro, E. P., & Seravalli, E. A. G. (2007). Química de alimentos. 2.ed. São Paulo: Blucher.
- Rodrigues, L. L., Sousa, M. M. D. de, Silva, J. do N., Viana, L. T. M., Gomes, F. de O., Sousa, C. R. N., Andrade, F. S., & Lima, A. de. (2020). Vinagreira (HIBISCUS SABIDARIFFA, L.): Determinação do teor dos polifenóis totais e atividade antioxidante / Vinagreira (HIBISCUS SABIDARIFFA, L.): determination of the total polyphenols content and antioxidant activity. *Brazilian Journal of Development*, 6(11), 89305–89312. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-377>
- Rodrigues, O. G., Angélico, E. C., Costa, J. G. Ma. da, Lucena, M. de F. A., Neto, V. Q., & Silva, W. W. (2017). Avaliação da atividade antioxidante dos extratos botânicos de *Croton Heliotropifolius* Kunth. *E Croton blanchetianus* Baill. *Agropecuária Científica No Semiárido*, 12(3), Artigo 3. <https://doi.org/10.30969/acs.v12i3.700>
- Rosa, C. G. da. (2012). Microencapsulação de extratos metanólicos de amora-preta (*rubus fruticosus*) e ácido gálico. [masterThesis, Universidade Federal de Pelotas]. <http://guaiaca.ufpel.edu.br/xmlui/handle/prefix/5921>
- Serpen, A., Gökmen, V., & Fogliano, V. (2012). Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. *Meat Science*, 90(1), 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.05.027>
- Shirahigue, L. (2012). Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*.
- Shitsuka, R. et al. (2014). Matemática fundamental para a tecnologia. (2ed). Editora Érica. https://www.academia.edu/14536171/PRODUTOS_NATURAIS_DE_ALGAS_MARINHAS_E_SEU_POTENCIAL_ANTIOXIDANTE_E_ANTIMICROBIANO
- Silva, C. A. G. (2016). Contribuição ao estudo químico e de atividade biológica de *Eugenia dysenterica* Mart. Ex. DC. Berg (Myrtaceae). <https://doi.org/10.26512/2016.03.D.21109>
- Silva, J. A. D. (2018). Identificação de compostos fenólicos, macroantioxidantes e avaliação da atividade antioxidante do bagaço de uva proveniente da indústria de sucos no vale do são francisco.
- Sobral, A. I. B. (2012). Efeito do solvente nas propriedades antioxidantes e no conteúdo em compostos fenólicos de extratos de frutos e folhas de *Rubus* [masterThesis]. <https://sapientia.ualg.pt/handle/10400.1/3124>
- Souza, M. M. de, Prietto, L., Ribeiro, A. C., Souza, T. D. de, & Badiale-Furlong, E. (2011). Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 1050–1058. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600003>

Souza, M. M. de, Recart, V. M., Rocha, M. da, Cipolatti, E. P., & Badiale-Furlong, E. (2009). Study on the extracting conditions of phenolic compounds from onion (*Allium cepa* L.). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68(2), 192–200. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103198854>

Souza, M. M. de, Recart, V. M., Rocha, M. da, Cipolatti, E. P., & Furlong, E. B. (2009). Estudo das condições de extração de compostos fenólicos de cebola (*Allium cepa* L.). <http://127.0.0.1:8080/handle/1/4447>

STATISTICA–STATSOFT. (2004). Inc. STATISTICA (software de análise de dados do sistema), versão 7. www.statsoft.com. 2004.

Tremocoldi, M. A., Daiuto, É. R., Alencar, S. M. D., & Vieites, R. L. (2014). Efeito da hidrotermica em abacate ‘Hass’ sobre a capacidade antioxidante, compostos fenólicos e coloração. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(3), 1279. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n3p1279>

Uebel, L. da S., Costa, J. A. V., Olson, A. C., & Morais, M. G. de. (2019). Industrial plant for production of *Spirulina* sp. LEB 18. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 36, 51–63. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180361s20170284>

Yeh, C. T., & Yen, G. C. (2006). Effects of phenolics acids on human phenolsulfotransferases in relation to their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1474–1479.