Politécnico
Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Desenvolvimento de misturas de farinhas sem glúten com incorporação de *Chlorella* sp. para aplicações em receitas doces e salgadas

Carolina Alexandra Pinto da Paixão

Orientador interno

Prof. Nuno Pedro

Orientadores externos

Drª Camilly Fratelli

Drª Kricelle Deamici

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária de Castelo Branco do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciado em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da categoria profissional do orientador Doutor Nuno Pedro, do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

Outubro 2025

Dedicatória

Ao meu pai e à minha irmã, nunca terei palavras para agradecer por tudo, independentemente da distância, tinham sempre um conforto para me dar, por serem a minha força no meio da tempestade, por moverem mundos e fundos por mim! Principalmente por me mostrarem e ensinarem, que o amor da família cura qualquer ferida.

Ao meu cunhado Daniel, por ser um irmão para mim, por estar sempre disponível para me ouvir e me dar os melhores conselhos, por me puxar os pezinhos para a realidade quando mais preciso!

Ao meu afilhado Vicente, espero poder dar-lhe o melhor ensinamento da vida, e puder recompensá-lo nos momentos que não estive tão presente. Por preencher o meu coração com um amor inexplicável!

À minha mãe, a minha estrela mais brilhante, a pessoa que todos os dias ocupa um lugar indeterminável no meu coração. Por ser a pessoa mais forte que conheci e por me ensinar a nunca desistir dos meus sonhos, a minha maior saudade! Sei certamente que estarás muito orgulhosa do meu percurso!

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar aos meus orientadores, prof. Nuno Pedro do Instituto Politécnico de Castelo Branco, por me ajudar em qualquer dúvida e por estar sempre à disposição quando precisei de ajuda; à Camilly, a minha orientadora externa deste estágio, por todos os ensinamentos, por todas as oportunidades de crescer profissionalmente, pela paciência, por sempre ter uma palavra amiga e positiva, e por fim, à minha co-orientadora, Kricelle Deamici, pela oportunidade de estar rodeada de pessoas que contribuíram todos os dias para o meu crescimento profissional, por todo o conhecimento adquirido e pela mão amiga de estar sempre disponível para mim.

Gostaria de expressar o meu sincero agradecimento ao Instituto Politécnico de Castelo Branco, em especial à Escola Superior Agrária de Castelo Branco, pelo apoio, acompanhamento e formação que me proporcionaram ao longo do meu percurso académico. Agradeço igualmente a todos os docentes e colaboradores que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a minha aprendizagem e crescimento profissional.

De uma forma muito especial e carinhosa, agradecer à Engenheira Cecília Gouveia, e à Engenheira Inês Pitacas, por todo o apoio na realização das análises bioquímicas e nutricionais e por estarem sempre ao meu lado a auxiliar-me, o meu mais profundo e sincero obrigada!

Queria também expressar a minha sincera gratidão à empresa **Necton-Companhia de Culturas Marinhas Portuguesas S.A.**, pela oportunidade de realizar o meu estágio, bem como pela forma calorosa e profissional que me receberam desde o primeiro dia. Uma experiência que sem dúvida me permitiu aplicar e aprofundar conhecimentos na área.

Agradecer também ao **Green CoLab- Associação Oceano Verde**, pela colaboração e apoio fundamental durante o estágio. A orientação e partilha de conhecimento foram determinantes para o desenvolvimento do meu trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradecer de coração cheio, às minhas amigas Catarina e Filipa, que mesmo longe, tiveram mais presentes que nunca, por me ouvirem todos os dias e por nunca me abandonarem! Por me mostrarem que na amizade, não há distâncias, mas sim um coração que faz questão de estar presente! O mais sincero obrigada por nos termos cruzado!

De uma forma muito calorosa, agradecer a todas as pessoas que cruzaram o meu caminho no Algarve, por me terem recebido como se estivesse em “casa”, por nunca faltar tempo para uma conversa ou gargalhada, por de alguma forma me inspirarem neste caminho e a nunca desistir! Que cada um saiba que tem um espaço enorme no meu coração!

Resumo

Este trabalho teve como objetivo desenvolver misturas de farinhas isentas de glúten, incorporando a microalga *Chlorella* sp. nas variantes *White* (coloração branca) e *Honey Chlorella* (coloração amarela), avaliando a sua aplicação em produtos de panificação e pastelaria. A formulação base foi constituída por farinha de arroz integral, farinha de arroz, fécula de batata, tapioca e goma xantana.

Foram realizados ensaios experimentais com diferentes proporções de microalgas, avaliando a composição centesimal, a partir das análises de humidade, proteína bruta, cinzas, fibra, polifenóis e hidratos de carbono; a viabilidade tecnológica e sensorial da sua incorporação em massas tipo *tagliatelli,* panquecas e bolos.

A incorporação de *White* e *Honey Chorella,* nos produtos desenvolvidos, confirmaram o enriquecimento nutricional, com aumentos de proteína, fibra e compostos fenólicos, sobretudo nas formulações com *Honey Chlorella*. Esta biomassa permitiu uma incorporação de 20% sem comprometer as propriedades organoléticas, enquanto a *White Chlorella* foi limitada a 1,5% devido ao seu sabor e aroma mais intensos semelhantes à fermentação.

Na análise sensorial, o *tagliatelli* com 20% de *Honey Chlorella* apresentou aceitação global média de 6,4/9, destacando-se a aparência (6,7) e o sabor (6,4). Já o bolo com 1,5% de *White Chlorella* obteve melhor desempenho, com aceitação global média de 6,9/9, sobretudo pela aparência (7,3) e sabor (7,0). O painel de 23 provadores não treinados demonstrou aceitação global entre os parâmetros de "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente" para ambos os produtos.

Estes resultados confirmam o potencial inovador das microalgas como ingredientes funcionais e sustentáveis, reforçando a sua aplicabilidade na indústria alimentar e na diversificação do mercado de produtos sem glúten, como por exemplo, de massas *tagliatelli* e bolo.

Palavras-chave

Alimentos funcionais, Desenvolvimento de produtos, Enriquecimento proteico, Microalgas, Formulações sem glúten.

Abstract

This work aimed to develop gluten-free flour blends incorporating the microalga Chlorella sp. in its White (white-colored) and Honey (yellow-colored) variants, assessing their application in bakery and pastry products. The base formulation consisted of whole rice flour, rice flour, potato starch, tapioca, and xanthan gum.

Experimental trials were carried out with different proportions of microalgae, evaluating the proximate composition through moisture, crude protein, ash, fiber, polyphenols, and carbohydrate analyses; as well as the technological and sensory feasibility of their incorporation into tagliatelle-type pasta, pancakes, and cakes.

The incorporation of White and Honey Chlorella into the developed products confirmed nutritional enrichment, with increases in protein, fiber, and phenolic compounds, particularly in the formulations with Honey Chlorella. This biomass allowed incorporation levels of up to 20% without compromising organoleptic properties, whereas White Chlorella was limited to 1.5% due to its more intense fermentation-like flavor and aroma.

In the sensory evaluation, tagliatelle with 20% Honey Chlorella achieved an average overall acceptance score of 6.4/9, with appearance (6.7) and flavor (6.4) being the most valued attributes. The cake with 1.5% White Chlorella showed better performance, with an average overall acceptance of 6.9/9, particularly for appearance (7.3) and flavor (7.0). The panel of 23 untrained assessors demonstrated overall acceptance within the range of “slightly liked” to “moderately liked” for both products.

These results confirm the innovative potential of microalgae as functional and sustainable ingredients, reinforcing their applicability in the food industry and in the diversification of the gluten-free product market, such as tagliatelle pasta and cake.

Keywords

Funtional food products, Food product development, Protein enrichment, Microalgae, Gluten-free formulations

Índice

I. Introdução ... 1
1.1. Importância da alimentação sem glúten ... 1
1.2. Limitações nutricionais das farinhas sem glúten ... 1
1.3. Definição de mistura de farinhas ... 2
1.4. Análise de mercado de produtos sem glúten ... 2
1.5. Introdução à *Chlorella* sp. ... 3
II. Revisão Bibliográfica ... 7
2.1. Aplicação das microalgas na alimentação humana ... 7
2.2. Produção e cultivo das microalgas ... 8
III. Material e métodos ... 10
3.1. Testes preliminares da mistura de farinhas ... 10
3.2. Desenvolvimento das misturas de farinhas sem glúten ... 10
3.3. Protótipos alimentares com as misturas de farinhas ... 11
3.4. Análises da composição centesimal ... 12
3.4.1. Determinação do teor de humidade e matéria seca ... 12
3.4.2. Determinação do teor de cinzas e de matéria orgânica ... 13
3.4.3. Determinação de Fibra Bruta – Método Weende ... 13
3.4.4. Determinação do Teor de Azoto (NT) e de Proteína Bruta (PB) - Método Kjeldahl ... 15
... 16
3.4.5. Determinação dos Hidratos de Carbono ... 16
3.4.6. Polifenóis totais ... 17
Metodologia de extração ... 17
Quantificação dos polifenóis totais ... 17
3.5. Análise Sensorial ... 18
3.6. Análise estatística ... 19
IV. Resultados e discussão ... 20
4.1. Testes preliminares (TP) ... 20
Desenvolvimento das misturas de farinhas sem glúten ... 22
4.2 Aplicação das misturas de farinhas ... 24
4.2.1. Formulação base com 20 % *Honey Chlorella (*FB HC4) ... 24
Massa tagliatelli e bolo ... 24
... 26
4.2.2. Formulação base com 1,5 % *White Chlorella (*FB WC1) ... 26
Bolo ... 26
4.3. Composição centensimal ... 29

Teores de Humidade (H) e Matéria Seca (MS) 29
Cinzas e Matéria Orgânica (MO) 29
Proteína Bruta (PB) e Azoto (NB) 30
Fibra Bruta (FB) 30
Hidratos de Carbono (HC) 30
Quantidade de polifenóis totais 30
4.4. Análise Sensorial 31
4.4.1 Caracterização sociodemográfica da amostra 31
4.4.2. Caracterização do padrão de consumo de microalgas e interesse na compra dos produtos 33
4.4.3. Aceitabilidade dos produtos resultantes da aplicação das misturas de farinhas 34
V. Considerações finais 37
VI. Referências Bibliográficas 38

Índice de figuras

Figura 1 - Representação gráfica do aumento da taxa composta anual entre 2024 a 2030 2
Figura 2 - Imagens microscópica da Chlorella sp. 3
Figura 3 - Exemplos de produtos desenvolvidos pela Allmicroalgae em parceria com a Necton S.A. 8
Figura 4 - Fotobiorreator presente na Necton S.A., ... 9
Figura 5 Representação esquemática da utilização das misturas de farinhas desenvolvidas 11
Figura 6 - Estufa utilizada para determinação da humidade das amostras 12
Figura 7 - Amostras após incineração em mufla 13
Figura 8 - Unidade de extração Fibertec para determinação da fibra bruta de Weende 14
Figura 9 - Equipamento de digestão 16
Figura 10 - Equipamento de destilação 16
Figura 11 - Cuvetes após 1 hora ao abrigo de luz 18
Figura 12 - Registo da análise sensorial 19
Figura 13 - Aplicação de FB HC4 na massa fresca tagliatelli e bolo 26
Figura 14 - Aspeto final do bolo elaborado com 1,5% de White Chlorella 28
Figura 15 - Média de polifenóis presentes na amostra em mg/Kg e desvio padrão 31
Figura 16 – Frequência do consumo de microalgas (n=23) 33
Figura 17 - Interesse na compra dos produtos caso soubessem que continham algas (n=23) 33

Lista de tabelas

Tabela 1 - Composição nutricional da microalga Chlorella sp.. (Adaptado de, Wang et al., 2024) 4
Tabela 2 - Composição TP1: diferentes proporções de psyllium, com ajuste proporcional das farinhas 20
Tabela 3 - Proporções de farinhas na composição da TP2 com 2,5% de psyllium 21
Tabela 4 - TP3: ajuste das farinhas para a composição do produto 21
Tabela 5 - Formulação base (FB) para o desenvolvimento das misturas de farinhas 22
Tabela 6 - Formulação base (FB) com % de incorporação de Honey Chlorella (HC) 23
Tabela 7 - Formulação base (FB) com % de incorporação de White Chlorella (WC) 24
Tabela 8 - Reajuste de FB WC1 para o desenvolvimento do bolo 27
Tabela 9 – Composição centensimal das misturas de farinhas 29
Tabela 10 - Caracterização sociodemográfica da amostra 32
Tabela 11 - Pontuações obtidas na avaliação dos parâmetros de cada amostra de Tagliatelli (n=23) IIQ- Intervalo Interquartil 34
Tabela 12 - Pontuações obtidas na avaliação dos parâmetros de cada amostra de bolo (n=23) 35

I. Introdução

1.1. Importância da alimentação sem glúten

A alimentação constitui um fator determinante para a saúde e o bem-estar, desempenhando um papel central na prevenção e controlo de diversas patologias. Entre os componentes dietéticos mais relevantes encontra-se o glúten, proteína de armazenamento insolúvel presente principalmente em cereais, como o trigo, centeio e cevada, podendo ser encontrado também em outros cereais e farinhas por contaminação nos processos de colheita, transporte e armazenamento (Oliveira *et al.,* 2022).

Em Portugal, estima-se que 1 a 3% da população seja celíaca, embora a maioria permaneça sem diagnóstico (Reis, 2015). A doença celíaca, de natureza autoimune, exige como único tratamento eficaz uma dieta rigorosamente isenta de glúten. Paralelamente, verifica-se o aumento de casos de sensibilidade ao glúten não celíaca e intolerância ao trigo, condições que, embora menos graves, afetam de forma significativa a qualidade de vida (Associação Portuguesa de Celíacos. (s.d.).

O crescimento do consumo de produtos *"gluten free"* ultrapassa, contudo, o âmbito clínico, refletindo uma tendência social e de mercado em expansão. Apesar da procura crescente, este setor ainda enfrenta limitações relacionadas com diversidade, qualidade e preço (Duarte, 2018).

Neste contexto, a alimentação sem glúten assume uma dimensão clínica, social e económica, sendo fundamental investigar o seu impacto na saúde, no quotidiano dos indivíduos e na indústria alimentar. Desta forma, o objetivo da elaboração deste trabalho foi desenvolver uma mistura de farinhas sem glúten, para aplicação em receitas doces e salgadas, apresentando uma elevada praticidade de confeção.

1.2. Limitações nutricionais das farinhas sem glúten

O desenvolvimento de produtos sem glúten constitui um desafio tecnológico, particularmente na panificação, dado que o glúten desempenha um papel estrutural essencial, assegurando a extensibilidade da massa, a retenção de gases e a formação do miolo do pão. A sua ausência conduz a massas menos coesas e a produtos finais com defeitos de textura, cor e qualidade global (Reis, 2015).

No pão, por exemplo, a substituição da farinha de trigo por farinhas sem glúten como milho, mandioca, arroz, fécula de batata ou polvilho doce, embora reduza o potencial alergénico, provoca alterações sensoriais significativas e diminui o valor nutricional, por se tratar de farinhas altamente refinadas e pobres em micronutrientes, fibra e proteína (Melo *et al.,* 2024). Esta deficiência proteica é particularmente preocupante, uma vez que compromete a ingestão de aminoácidos essenciais e pode contribuir para desequilíbrios nutricionais em indivíduos com doença celíaca, sobretudo quando a dieta não é devidamente compensada com

alimentos ricos em proteína de elevada qualidade (Saturni, Ferretti & Bacchetti, 2010; Foschia *et al.,* 2016).

Adicionalmente, a falta de glúten resulta em massas mais líquidas e frágeis, com reduzida capacidade de retenção de humidade, o que acelera o envelhecimento do produto e conduz à desintegração durante o fatiamento (Melo *et al.,* 2024). Estas limitações tecnológicas e nutricionais evidenciam a necessidade de explorar ingredientes alternativos que, para além de melhorarem a estrutura, possam também enriquecer o perfil proteico e micronutricional dos produtos sem glúten. Nesse contexto, as microalgas, como *Chlorella vulgaris* emerge como candidata promissora, devido ao seu elevado teor em proteínas de boa qualidade biológica, à presença de todos os aminoácidos essenciais e ao aporte adicional de vitaminas, minerais e pigmentos bioativos (Koyande *et al.,* 2019; Williamson *et al.,* 2023).

1.3. Definição de mistura de farinhas

Segundo a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), uma mistura de farinhas ou farinha composta é a "farinha resultante da sua mistura com outros ingredientes, aditivos e auxiliares tecnológicos, incluindo os aditivos permitidos para os produtos finais a cujo fabrico se destina a farinha". De acordo com a Portaria n.º 254/2003, as farinhas devem cumprir requisitos de qualidade, segurança e conservação, assegurando a sua adequação ao consumo humano.

As misturas de farinhas desenvolvidas ao longo do trabalho, apresentam como vantagem a possibilidade de doentes celíacos, poderem desenvolver receitas em casa, tais como, bolo e massa *tagliatelli* fresca, com uma qualidade muito similar à dos produtos com glúten.

1.4. Análise de mercado de produtos sem glúten

O mercado global de misturas para panificação sem glúten está a crescer rapidamente, como se observa na figura 1. Neste cenário estima-se uma taxa de crescimento anual de aproximadamente 7,8 % entre 2024 e 2030 (Grand View Research, 2024).

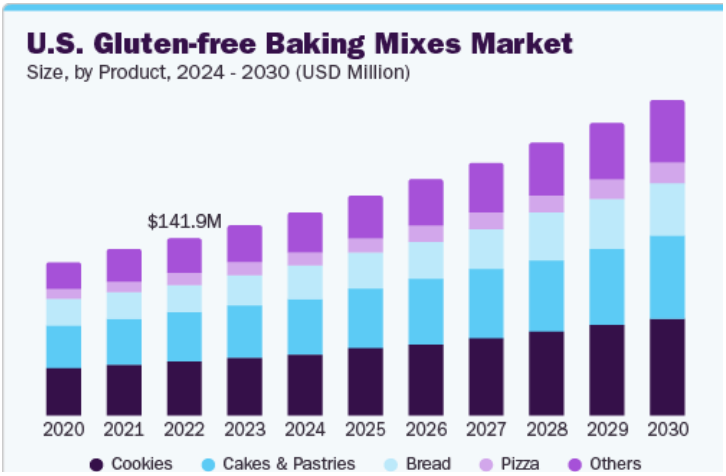


Figura 1 - Representação gráfica do aumento da taxa composta anual entre 2024 a 2030

Esse crescimento é estimulado não apenas pela necessidade alimentar de indivíduos com doença celíaca ou sensibilidades ao glúten, mas também por uma procura crescente por alimentos mais saudáveis, funcionais e com ingredientes mais naturais (Markets & Markets, 2023; Singh *et al.,* 2018). Em Portugal e na Europa, encontram-se já disponíveis diversas misturas comerciais que procuram oferecer soluções tecnológicas e sensoriais adequadas. A marca Schär, por exemplo, apresenta o *Mix B Pan* e o *Brot Mix*, dirigidos especificamente à panificação sem glúten (Schär, 2025). A Proceli comercializa o *Basic Mix*, indicado como mistura universal para diferentes preparações (Proceli, 2025). A marca *Gallo* introduziu no mercado nacional a linha *Sin Gluten*, com farinhas e preparados multiuso (Gallo, 2025). Paralelamente, marcas portuguesas como a Cem Porcento oferecem misturas para pão e bolos sem glúten, com enfoque em ingredientes naturais (Cem Porcento, 2025). A nível europeu, destaca-se ainda a Novalim, com o *Promix UNI*, uma mistura "all-purpose" isenta de lactose e proteína do leite, concebida para consumidores com múltiplas intolerâncias alimentares (Novalim, 2025). Estas misturas baseiam-se, na sua maioria, em combinações de farinhas de arroz, féculas (batata, mandioca, tapioca) e hidrocolóides (como goma xantana ou goma guar), garantindo maior estabilidade estrutural e aceitabilidade sensorial nos produtos finais. Além disso, estudos académicos reforçam o uso de farinhas alternativas e hidrocolóides para colmatar limitações de textura, aroma e valor nutricional, permitindo o desenvolvimento de produtos sem glúten tecnologicamente viáveis e com melhor aceitação pelo consumidor (Ferradji *et al.,* 2024; Foschia *et al*., 2016).

1.5. Introdução à *Chlorella* sp.

A *Chlorella* sp, descoberta pela primeira vez em 1890 por Martinus Willem Beijerinck existe desde o período Pré-Cambriano, atraindo a atenção por ser uma fonte de alimento não convencional devido ao seu elevado teor de proteína (Silva, 2019).

Caracteriza-se por ser uma microalga verde unicelular da ordem *Chlorocaccales*, família *Occytaceae* e género *Chlorella*, ter uma morfologia esférica (Fig. 2) e diâmetro entre 2 e 10 µm. Apresenta vários elementos estruturais semelhantes às plantas, como por exemplo, cloroplastos que lhe conferem a sua cor esverdeada.

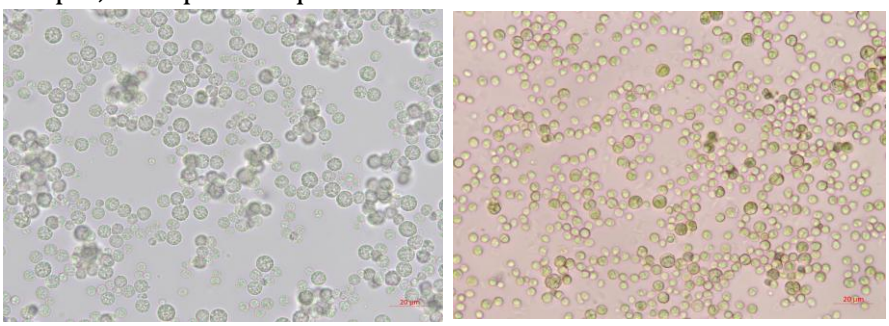


Figura 2 - Imagens microscópica da *Chlorella* sp.

A sua capacidade de crescimento em habitats de água doce, marinhos ou terrestres confere-lhe uma maior eficiência fotossintética e uma maior competência de crescimento, em condições autotróficas, heterotróficas e mixotróficas. Os valores ótimos de pH situam-se entre 7 e 8 (neutro a ligeiramente alcalino), já a temperatura ótima oscila entre 25ºC a 27ºC (Silva, 2019).

Com um teor proteico elevado (entre 43 % e 58 % do peso seco) e uma composição nutricional notavelmente rica em aminoácidos essenciais, vitaminas (A, B1, B2, B3, B6, B9, B12, C e E), minerais, pigmentos bioativos como a clorofila e os carotenoides, bem como polissacáridos funcionalmente relevantes, esta biomassa tem vindo a ser amplamente utilizada na formulação de alimentos funcionais, suplementos dietéticos e produtos nutracêuticos. Esta ampla aplicabilidade evidencia o seu valor e consolida a sua importância estratégica no panorama emergente da indústria alimentar (Wang *et al.,* 2024).

Tabela 1 - Composição nutricional da microalga *Chlorella* sp.. (Adaptado de, Wang *et al*., 2024)

Categoria de Nutriente	Nutriente	Intervalo de conteúdo (% do peso seco)	Função	Fonte
Proteínas	Proteína total	43%–58%	Crescimento, reparação e manutenção celular	Safi et al. (2014)
Lípidos	Lípidos totais	5%–58%	Reserva de energia e carbono	Safi et al. (2014)
	Lípidos neutros (mono-, di- e triacilgliceróis)	Variável	Armazenados em organelos celulares	Garcia (2012)
	Lípidos polares (fosfolípidos e glicolípidos)	Variável	Predominantes na membrana celular e nas membranas dos organelos	Garcia (2012)
Hidratos de carbono	Hidratos de carbono totais	12%–55%	Reservas de energia e carbono	Choix et al. (2012)
	Amido	Principal componente	Reserva de energia (amilose e amilopectina)	Choix et al. (2012)
	Celulose	Presente	Componente estrutural da parede celular	Choix et al. (2012)
Vitaminas	Vitamina A	Presente	Visão, função imunitária	Maruyama et al. (1997), Safi et al. (2014), Yeh e Chang (2012)
	Vitamina B	Presente	Metabolismo energético	Maruyama et al. (1997), Safi et al.

				(2014), Yeh e Chang (2012)
	Vitamina C	Presente	Antioxidante, suporte imunitário	Maruyama et al. (1997), Safi et al. (2014), Yeh e Chang (2012)
	Vitamina E	Presente	Antioxidante, saúde da pele	Maruyama et al. (1997), Safi et al. (2014), Yeh e Chang (2012)
Minerais	Cálcio	Presente	Saúde óssea, função muscular	Yusof et al. (2011)
	Potássio	Presente	Equilíbrio eletrolítico, função nervosa	Yusof et al. (2011)
	Magnésio	Presente	Função muscular, função nervosa	Yusof et al. (2011)
	Zinco	Presente	Função imunitária, cicatrização	Yusof et al. (2011)

A análise da composição nutricional deste recurso evidencia um perfil diversificado e de elevado valor biológico (Tabela 1). Em termos de macronutrientes, destaca-se o teor proteico, que se situa entre 43 % e 58 % da matéria seca, o que confere a esta biomassa relevância como fonte de aminoácidos essenciais para processos de crescimento, reparação tecidular e manutenção celular (Safi *et al.,* 2014). Os lípidos apresentam uma variação considerável, entre 5 % e 58% da massa seca, englobando lípidos neutros (mono-, di- e triacilgliceróis), cuja principal função é o armazenamento energético em organelos, e lípidos polares (fosfolípidos e glicolípidos), que desempenham funções estruturais cruciais na organização das membranas celulares e organelares (Garcia, 2012; *Safi et al.,* 2014).

Relativamente aos hidratos de carbono, estes podem corresponder a 12%–55% do peso seco. O amido constitui o principal polissacarídeo de reserva, armazenado sob a forma de amilose e amilopectina, enquanto a celulose assume um papel estrutural na composição da parede celular (Choix *et al.,* 2012).

No que se refere aos micronutrientes, esta matriz nutricional inclui vitaminas com funções fisiológicas relevantes. A vitamina A encontra-se associada à manutenção da visão e à regulação da resposta imunitária, enquanto as vitaminas do complexo B intervêm em processos de metabolismo energético. A vitamina C atua como antioxidante e no suporte da função imunitária, ao passo que a vitamina E apresenta um papel protetor contra o stress oxidativo, com impacto direto na integridade celular e na saúde cutânea (Maruyama *et al.,* 1997; Safi *et al.,* 2014; Yeh & Chang, 2012).

O perfil mineral é igualmente relevante, evidenciando a presença de cálcio, essencial para a homeostase óssea e muscular; potássio, determinante no equilíbrio eletrolítico e na transmissão nervosa; magnésio, envolvido em múltiplas funções enzimáticas e neuromusculares; e zinco, indispensável à competência imunitária e aos processos de cicatrização (Yusof *et al.,* 2011).

A microalga *Chlorella* sp*.,* revela-se uma fonte alimentar de elevada qualidade nutricional, caracterizada pelo expressivo conteúdo proteico, pela diversidade de lípidos estruturais e de reserva, bem como pela presença de polissacarídeos com funções energéticas e estruturais. A sua composição é ainda enriquecida por vitaminas e minerais essenciais, que desempenham papéis fundamentais na manutenção da saúde humana. Este perfil nutricional confere-lhe características particularmente atrativas, posicionando-a como uma fonte promissora para o desenvolvimento de alimentos funcionais e sustentáveis, com potencial para responder às atuais necessidades de segurança alimentar e às exigências de dietas mais equilibradas e ambientalmente responsáveis (Wang *et al.,* 2024).

Apesar do seu elevado valor nutricional, a sua comercialização em larga escala, é ainda limitada por custos de produção elevados, e por algumas características organoléticas pouco atrativas nomeadamente, a sua cor verde intensa, e o sabor e odor associados à presença de clorofila (Trovão *et al.,* 2025). Neste sentido, a criação de mutações com perfis cromáticos diferenciados, como a *Honey* e a *White Chlorella*, têm como objetivo o aumento da aceitação do consumidor e diversificar as aplicações alimentares e nutracêuticas desta microalga (Trovão *et al.,* 2025).

No primeiro caso, a *Honey Chlorella* resulta da exposição da estirpe selvagem "7" a ethyl methanesulfonate (EMS, 125 mM), seguida de seleção com nicotina (2,5 mM), processo que origina uma biomassa de coloração amarela devido à redução da concentração de clorofila. Já a *White Chlorella* foi obtida a partir da estirpe "31", submetida a duas rondas sequenciais de mutagénese com EMS (125 mM), sendo posteriormente aplicada a seleção com norflurazon (15 µM), um inibidor da síntese de carotenoides, o que conduz a uma redução acentuada dos pigmentos fotossintéticos e, consequentemente, a uma biomassa esbranquiçada (Trovão *et al.,* 2025).

Um estudo realizado por Trovão em 2025, demonstra que a manipulação dirigida das condições de cultivo pode maximizar não só a produtividade nutricional (biomassa e proteína), mas também as características sensoriais das diferentes biomassas de *Chlorella vulgaris*. Desta forma, estas variantes consolidam-se pelo seu elevado valor nutricional a propriedades visuais mais apelativas, o que constitui um passo relevante para a aceitação do consumidor e a competitividade da indústria das microalgas (Trovão *et al.,* 2025).

II. Revisão Bibliográfica

2.1. Aplicação das microalgas na alimentação humana

A utilização de microalgas como alimento por povos nativos já ocorria desde há muitos séculos. A sua produção comercial teve início na década de 60, com espécies como *Chlorella* sp. e *Limnospira* sp. (*Spirulina*), sendo utilizadas como suplementos dietéticos (Bertoldi *et al.,* 2008).

Nos últimos anos, muito interesse tem sido focado no potencial biotecnológico das microalgas, principalmente pela sua possibilidade de aplicação comercial em distintas áreas, como, nutrição, saúde humana e animal, tratamento de águas residuais, produção de energia e obtenção de compostos de interesse para a indústria alimentar, química e farmacêutica (Derner *et al.,* 2006). No contexto da alimentação humana, as microalgas têm sido aplicadas em formulações de massas, pães, iogurtes e bebidas, sob a forma de pó, tablets, cápsulas ou extratos, ou mais recentemente em massas, snacks, chocolates, gomas ou bebidas (Roman, 2016). Este mercado de alimentos funcionais tem revelado um elevado crescimento em países tais como a França, Estados Unidos, China e Tailândia. (Roman, 2016).

Em Portugal, o desenvolvimento de produtos alimentares à base de microalgas tem sido promovido por um conjunto de empresas e instituições de investigação, como a **Necton - Companhia Portuguesa de Culturas Marinhas S.A.,** em colaboração com o **GreenCoLAB- Associação Oceano Verde** e **CCMAR.** Estas entidades integram um cluster empresarial e científico focado na valorização da biomassa de microalgas, com objetivos centrados no desenvolvimento tecnológico de cultivo e processamento, transferência de conhecimento para o setor agroalimentar e criação de produtos inovadores com elevado valor acrescentado. Neste âmbito, destacam-se projetos como o AlgaeVertical, coordenado pela Necton S.A., bem como o Algaelicious, o Profuture e o AlgaeNet4AV, coordenados pela subsidiária da Necton, a Allmicroalgae, incluindo outras instituições nacionais e internacionais.

Este esforço coletivo visa posicionar Portugal como referência europeia no domínio da biotecnologia azul, alinhando princípios como a bioeconomia e a sustentabilidade.



Figura 3 - Exemplos de produtos desenvolvidos pela Allmicroalgae em parceria com a Necton S.A.

2.2. Produção e cultivo das microalgas

As microalgas são cultivadas em diferentes países, sendo aplicadas como já referido em variados ramos da indústria devido às suas propriedades biotecnológicas. A sua produção pode ser realizada em lagoas abertas ou fotobiorreatores (Figura 4). Nos fotobiorretores, é possível controlar variáveis ambientais, o que reduz o risco de contaminações e permite uma produção mais consistente e de qualidade elevada. Estes são normalmente reatores de plástico, policarbonato ou de vidro, para aumentar o rendimento de cultivo e de produção de biomassa algal (Ansilago, 2021). No entanto, apresentam altos custos de implementação, operação e manutenção, os quais podem ser otimizados para atingir maiores taxas de produção.

Os fotobiorreatores podem variar o seu formato para atender a necessidades como, diferentes locais de cultura, espécie de microalgas e propósitos económicos (Ansilago, 2021).



Figura 4 - Fotobiorreator presente na Necton S.A.,

Os meios de cultivo de microalgas são constituídos por macronutrientes e micronutrientes. Nos macronutrientes, destacamos o carbono, oxigénio, hidrogénio, fósforo, cálcio, nitrogénio, silicato, enxofre e potássio, responsáveis por constituir as estruturas das biomoléculas, das membranas e do meio intracelular. Nos micronutrientes, é importante a presença de ferro, cobre, molibdénio, zinco e manganês, uma vez que participam em diversas vias metabólicas e organelos celulares. A quantidade de nitrogénio, é um parâmetro importante a controlar, a sua limitação pode reduzir o crescimento e a produtividade da biomassa, pelo que em contrário podem aumentar a produção de carboidratos e lípidos (Varandas, 2022). O cultivo heterotrófico de mutantes de *Chlorella* sp., como *Honey* ou *White Chlorella,* deficientes em clorofila, permite produzir biomassa com alto teor de proteína e com cor reduzida, o que é vantajoso para aplicações alimentares e cosméticas (Cabrol *et al.,* 2023).

Estas estirpes são cultivadas em meio rico em carbono orgânico, sem necessidade de luz ou com luz mínima, e requerem ajustes finos de nutrientes, especialmente fontes de carbono, razão C:N, nitrogênio e fósforo, para maximizar crescimento e qualidade da biomassa em níveis de proteína, perfil lipídico, pigmentos remanescentes (Je *et al.,* 2022).

Para *Honey Chlorella*, por exemplo, relata-se mais de 35 % de proteína em peso seco, com todos os aminoácidos essenciais, perfil lipídico moderado, e presença de minerais e pigmentos valiosos como a luteína. A *White Chlorella* geralmente tem ~40 % de proteína, conteúdo lipídico baixo e pigmento mais neutro ou reduzido (Allmicroalgae, 2020).

III. Material e métodos

3.1. Testes preliminares da mistura de farinhas

Foram realizados ensaios preliminares com os seguintes objetivos: (i) selecionar os ingredientes alimentares para compor as misturas de farinhas, (ii) definir as quantidades de cada ingrediente e (iii) reajustar as formulações, de modo a identificar as combinações mais adequadas para o desenvolvimento de misturas isentas de glúten. Para esta etapa inicial, definiu-se a utilização da panqueca como produto piloto, uma vez que a sua simplicidade de execução, rapidez de confeção e versatilidade de aplicação permitiram uma avaliação qualitativa imediata da performance das formulações. Nesses primeiros testes foram utilizadas farinhas de quinoa, aveia, arroz, amêndoa, grão-de-bico, fécula de mandioca e *psyllium*. A escolha por iniciar a definição das formulações a partir da quantidade de *psyllium* deveu-se ao seu papel determinante na estrutura da massa, dada a sua elevada capacidade de absorção de água e formação de géis. Assim, diferentes percentagens deste ingrediente foram testadas, de modo a identificar a concentração mais adequada antes do reajuste das restantes farinhas.

A elaboração das panquecas foi realizada pela mistura das farinhas com água destilada até formação de uma massa homogénea. Este produto foi confecionado numa frigideira antiaderente previamente untada com uma fina camada de azeite e aquecida a ~160–180 °C. Porções de cerca de 30–40 g de massa foram colocadas na superfície aquecida e cozinhadas até apresentarem firmeza e ligeiro dourado em ambos os lados. Posteriormente, foi conduzida uma análise sensorial informal por três avaliadores, considerando atributos de textura, aroma e sabor, utilizados como critérios decisivos para determinar a adequação das formulações. Com base nos resultados destes ensaios preliminares, foi possível avançar para o desenvolvimento das formulações finais, designadas, formulação base com *Honey Chorella* (FB HC) e formulação base com White *Chlorella* (FB WC), aplicadas na produção de bolo e massa tipo *tagliatelli.* O percurso experimental adotado encontra-se representado de forma sintética no fluxograma da Figura 5.

3.2. Desenvolvimento das misturas de farinhas sem glúten

Após os resultados dos testes preliminares, foi realizado um reajuste na composição da mistura de farinhas, sendo a composição final constituída pelas farinhas de arroz integral, de arroz, fécula de batata, tapioca e goma xantana. Estas misturas de farinhas foram selecionadas pelo seu perfil nutricional e funcional. A farinha de arroz integral foi incluída pelo seu conteúdo em fibras, proteínas e minerais, contribuindo para enriquecer o valor nutricional da mistura (Juliano, 1993; Frei *et al.,* 2003). Em complemento, a farinha de arroz, de sabor neutro e textura leve, conferiu versatilidade e facilitou a aceitação sensorial das formulações (Marti & Pagani, 2013). A fécula de batata foi utilizada pela sua capacidade de favorecer a maciez da massa e melhorar a retenção de humidade, propriedades

valorizadas em produtos de panificação sem glúten (Singh *et al.,* 2003). A tapioca, fonte de amido de fácil digestibilidade, contribuiu para a elasticidade e coesão, reduzindo a tendência à fragmentação característica das formulações sem glúten (Onyango *et al*., 2011). Por fim, a goma xantana foi incorporada como agente estruturante, desempenhando um papel fundamental na simulação parcial da função do glúten, ao conferir viscosidade, estabilidade e consistência à massa (Rosell et al., 2007; Lazaridou *et al.,* 2007).No entanto, dada a complexidade da sua incorporação na matriz alimentar, resultante da sua natureza e comportamento gelificante foi necessário testar diferentes percentagens de adição, a fim de identificar a concentração mais adequada que garantisse a estabilidade, maneabilidade e aceitabilidade sensorial das formulações.

3.3. Protótipos alimentares com as misturas de farinhas

Foram realizados protótipos alimentares com as misturas de farinhas desenvolvidas, para avaliar a função tecno-funcional destas noutros produtos, neste caso, massa fresca *tagliatelli* e bolo. O protótipo de massa fresca *taglietelli* foi selecionado, pelo facto de a empresa Allmicroalgae® já ter formulado uma massa fresca *tagliatelli* com glúten, onde se conseguiu uma incorporação de 10% de *Honey Chlorella.* Assim, testou-se a viabilidade de se desenvolver uma massa *tagliatelli* sem glúten com o objetivo de se conseguir a melhor % de incorporação desta microalga com as mesmas características da massa obtida com glúten. A escolha do bolo como protótipo para a aplicação da mistura de farinhas sem glúten foi fundamentada na sua versatilidade, simplicidade de confeção e elevada aceitação por parte do consumidor. Para além disso, trata-se de uma preparação frequentemente consumida em contexto doméstico, o que facilita a sua reprodução pelos doentes celíacos, promovendo assim uma alimentação equilibrada e segura, sem comprometer o sabor ou a qualidade nutricional.

Desta forma, o bolo constitui um modelo adequado para testar a funcionalidade e aplicabilidade da mistura de farinhas formulado, validando a sua eficácia enquanto alternativa às farinhas com glúten.

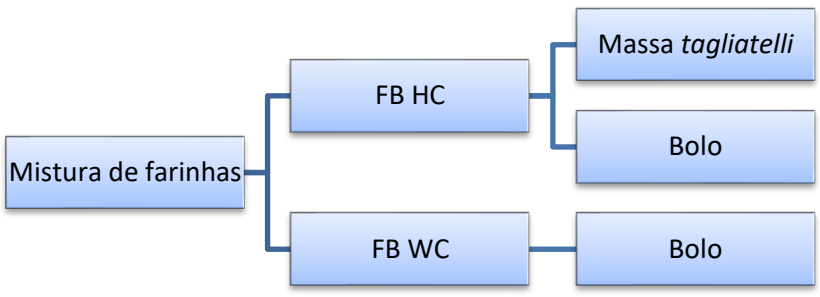


Figura 5 Representação esquemática da utilização das misturas de farinhas desenvolvidas

3.4. Análises da composição centesimal

Nos Laboratórios de Química (LQ) e de Nutrição e Alimentação animal (LNAA) da ESA-IPCB, foram realizadas análises composicionais, em duplicado, às amostras de farinha desenvolvidas. A determinação do teor de humidade (%H) e matéria seca (%MS), de cinzas (%C) e matéria orgânica (%MO), de fibra bruta de Weende (%FB) e de azoto (%N) e proteína bruta (%PB) foi realizada de acordo com os métodos da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC, 2000).

3.4.1. Determinação do teor de humidade e matéria seca

Este método tem como objetivo a determinação da quantidade de substâncias voláteis de qualquer natureza, por dessecação em estufa (Araújo *et al.,* 2006).

Neste procedimento, são pesadas cerca de 2,5 g (±0,0001 g) de cada uma das amostras, amostra 1, mistura de farinhas sem *White Chlorella* (M s/ WC) amostra 2, mistura de farinhas sem *Honey Chlorella* (M s/HC), amostra 3, mistura com *Honey Chlorella* (M c/ HC), amostra 4, mistura de farinhas com incorporação de *White Chlorella* (M c/WC). Cada uma das amostras foi pesada em cápsulas de porcelana previamente taradas, as quais foram submetidos à secagem em estufa ventilada a 103 ± 2 °C, durante 24 horas, até atingir peso constante (Figura 6).

Após o arrefecimento das cápsulas com a amostra seca em exsicador, procedeu-se a uma nova pesagem, permitindo a determinação do teor de humidade da amostra, expressa em percentagem (%), bem como da respetiva percentagem de matéria seca MS.



Figura 6 - Estufa utilizada para determinação da humidade das amostras

3.4.2. Determinação do teor de cinzas e de matéria orgânica

As cinzas são os resíduos inorgânicos que permanecem após o processo de incineração da matéria orgânica de uma amostra, ou seja, é a quantidade total de minerais presentes na amostra (Cosmo & Galeriani, 2021).

Para a determinação das cinzas (Figura 7) via seca, consideram-se temperaturas desde os 550°C até aos 600°C em mufla, de acordo com a norma NP 518:1986. Após o desligar da mufla e decorridas algumas horas para arrefecimento, as cápsulas de porcelana foram transferidas para a estufa ventilada (103±2°C), para estabilização da temperatura. Posteriormente, retiraram-se para o exsicador até estabilizarem à temperatura ambiente e realizou-se pesagem na balança analítica. O teor de cinzas, foi determinado por análise gravimétrico e expresso em percentagem.



Figura 7 - Amostras após incineração em mufla

3.4.3. Determinação de Fibra Bruta – Método Weende

O conceito de fibra bruta (FB) abrange as frações de celulose e lenhina insolúvel. Do ponto de vista químico, a FB corresponde à porção dos hidratos de carbono que se mantém resistente ao tratamento sucessivo com soluções diluídas de ácido e base (Van Soest *et al.,* 1991; Paiva, 2014).

A determinação do teor de FB nas amostras de farinhas com adição de microalgas foi realizada com recurso à unidade de extração *FT 122 FIBERTEC ™, FOSS* (Figura 8).



Figura 8 - Unidade de extração Fibertec para determinação da fibra bruta de Weende

Foram pesados aproximadamente 1 g (±0,0001 g) de celite e 1 g de amostra, previamente acondicionados em cadinhos tarados, os quais foram introduzidos na unidade de extração a quente, acoplada às colunas de ebulição.

As amostras foram submetidas a hidrólise sucessiva com 150 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4 0,26 N) e, em seguida, com solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,32 N), cada uma durante 30 minutos após o início da ebulição, de modo a remover os constituintes que não integram a FB.

Após a hidrólise ácida, as amostras foram lavadas três vezes com água destilada em ebulição, através de sistema de vácuo, de forma a permitir a hidrólise básica. Concluída esta etapa, realizaram-se novamente três lavagens sucessivas com água destilada. Por fim, efetuou-se uma lavagem final com acetona, utilizando um sistema de filtração a vácuo com bomba de kitassatos, conforme descrito na norma NP 2029/1983.

Os cadinhos foram posteriormente colocados em estufa ventilada a 103 ± 2 °C durante 1 hora. Após arrefecimento em exsicador, determinou-se a massa de cada cadinho com o resíduo (P). Seguidamente, recorreu-se à mufla para determinação da massa final (P').

O teor de (FB) foi então calculado de acordo com a seguinte expressão:

- P= peso do cadinho com resíduo após estufa (g)
- P'= peso do cadinho com resíduo após mufla (g)
- Ta = toma da amostra (g)

$$\%Fb = \frac{(P - P')}{Ta} \times 100$$

Para a determinação dos resultados da fibra bruta das amostras na matéria seca, utiliza-se a seguinte equação:

$$\%FbMS = \frac{(\%FB)}{(\%MS)} \times 100$$

3.4.4. Determinação do Teor de Azoto (NT) e de Proteína Bruta (PB) - Método Kjeldahl

Para a determinação do teor de Proteína Bruta (PB) de cada uma das amostras, foi utilizado o método Kjeldahl. Para tal, foram utilizados os equipamentos Tecator Digestion System 6 – 1015 Digester e o destilador *FOSS, Kjeltec™ 9 Distillator.*

Para a determinação do azoto pelo método de Kjeldahl, aproximadamente 0,5 g (±0,0001 g) de cada amostra (Ta) foi cuidadosamente introduzido nos tubos de Kjeldahl, com recurso a papel vegetal, de forma a evitar perdas por retenção de resíduos nas paredes dos tubos. Em seguida, foram adicionadas duas pastilhas catalisadoras Kjeltabs (sulfato de cobre e sulfato de potássio), com o objetivo de acelerar o processo de digestão e elevar o ponto de ebulição, respetivamente.

Posteriormente, adicionaram-se 12 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a cada tubo, que foram então colocados na unidade de digestão, no interior da *hotte,* e submetidos a uma temperatura de 420 °C durante 60 minutos. Nesta etapa, o ácido sulfúrico desempenhou a função de converter o azoto orgânico em ião amónio (NH_4^+). O processo de digestão foi considerado concluído quando apresentaram coloração verde translúcida e consistência xaroposa. Os tubos foram retirados da unidade digestora para arrefecimento dos mesmos.

Na etapa seguinte, procedeu-se à destilação automática, durante a qual o equipamento dispensou água destilada e, de seguida, hidróxido de sódio (NaOH) a 50%. A adição da solução alcalina promoveu a libertação de amoníaco (NH_3), que foi destilado e convertido em azoto amoniacal. Este, por sua vez, foi recolhido numa solução de ácido bórico (H_3BO_3) a 4%, em frascos de Erlenmeyer, para posterior titulação manual. A etapa final do procedimento correspondeu à titulação do destilado com solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol/L. O teor de azoto total (%NT) foi calculado através da seguinte equação, em que *Va* representa o volume de HCl (mL) gasto na titulação da amostra, *Vb* o volume de HCl (mL) para titulação do ensaio em branco, 0,1, correspondente à molaridade da solução titulante, 14,008 o peso atómico do azoto e *Ta* a massa da amostra (g):

$$\%NT = \frac{(Va - Vb) \times 0{,}1 \times 14{,}008}{10 \times Ta}$$

Considerando que as proteínas apresentam um teor relativamente constante de azoto (N), aproximadamente 16%, a sua quantificação pode ser realizada de forma

indireta a partir da determinação da concentração de N no material analisado, aplicando-se o fator de conversão de 6,25 para expressar o resultado em equivalente proteico (Souza *et al.,* 2016).

Para determinar a proteína bruta das amostras na matéria seca (PB_{MS}) utilizou-se a seguinte equação:

$$\%(\text{PBMS}) = \frac{(\%PB)}{(\%MS)} \times 100$$



Figura 9 - Equipamento de digestão



Figura 10 - Equipamento de destilação

3.4.5. Determinação dos Hidratos de Carbono

Os hidratos de carbono, ou glícidos, constituem uma classe fundamental de biomoléculas, abrangendo monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (Lehninger, Nelson, & Cox, 2017). Para além de serem a principal fonte de energia celular através da oxidação da glicose, desempenham funções estruturais, como na celulose e quitina, de armazenamento, como no amido e glicogénio, e de sinalização celular, como nas glicoproteínas e glicolípidos (Berg, Tymoczko, Gatto, & Stryer, 2019). A sua caracterização em matrizes biológicas e alimentares assume elevada relevância analítica e nutricional, dado o impacto na biodisponibilidade energética e nas interações metabólicas (Gibson & Roberfroid, 1995). O teor de hidratos de carbono (HC), é determinado pela seguinte equação:

$$\%HC = 100 - (\%H + \%PB + \%GB + \%FB + \%TC)$$

Onde: %H representa a percentagem de humidade; %PB corresponde à percentagem de proteína bruta; %GB indica a gordura bruta; %FB refere-se à fibra bruta; e %TC representa o teor de cinzas.

3.4.6. Polifenóis totais

Para a determinação do teor de fenólicos totais, é utilizado o método colorimétrico do reagente Folin-Ciocalteu (FCR), modificado por Singleton e Rossi, que atua sobre os fenóis devido às suas propriedades redutoras. Expresso em miligramas de ácido gálico por grama de extrato (mg GAE/$g_{extrato}$), o objetivo desta extração, é a recuperação máxima de compostos e na sua elevada qualidade (Peixoto, 2017).

Metodologia de extração

Para a extração dos polifenóis totais nas quatro amostras em estudo, foram pesados 0,25 g de cada farinha e transferidos para microtubos do tipo Eppendorf com capacidade de 2 mL. A cada amostra foram adicionados 1 mL de solução metanólica a 80% (v/v), procedendo-se de seguida à agitação em vortex durante 1 minuto. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 13 400 rpm durante 5 minutos. Este procedimento foi repetido três vezes para assegurar a eficiência da extração.

Após a última centrifugação, o sobrenadante obtido foi cuidadosamente recolhido e transferido para um balão volumétrico de 5 mL, completando-se o volume até ao traço com água destilada.

Quantificação dos polifenóis totais

Para a determinação dos compostos fenólicos totais, foram preparadas as cuvetes para leitura em espectrofotómetro. Procedeu-se à preparação de dois brancos e de doze cuvetes de ensaio. Nos brancos, adicionaram-se 1500 µL de água destilada, 100 µL de água destilada (em substituição da amostra) e 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu.

Nas cuvetes de ensaio foram adicionados 1500 µL de água destilada, 100 µL das amostras previamente preparadas e 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após homogeneização, todas as cuvetes permaneceram em repouso durante 5 minutos, sendo posteriormente adicionados 300 µL de solução de carbonato de cálcio a 20%.

Seguidamente, as cuvetes foram agitadas em vortex e mantidas em ambiente escuro durante 1 hora (Figura 11), realizando-se de seguida a leitura da absorvância no espectrofotómetro a 765 ηm.

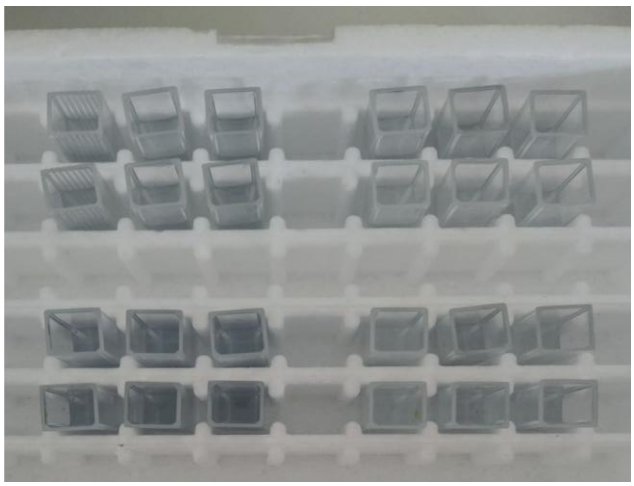


Figura 11 - Cuvetes após 1 hora ao abrigo de luz

3.5. Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada em função das respostas transmitidas pelos indivíduos às várias sensações que se originam de reações fisiológicas e são resultantes de certos estímulos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. (Torre, 4º edição). No presente estudo, a análise sensorial foi realizada com um painel de 23 provadores não treinados, composto por indivíduos representativos do público-alvo consumidor. A seleção deste tipo de painel teve como principal objetivo avaliar a aceitabilidade global e identificar a perceção dos atributos sensoriais mais relevantes, como cor, aparência, aroma, sabor, textura e aceitabilidade global.

Os provadores foram previamente informados sobre os objetivos do teste e sobre o procedimento a seguir, garantindo o cumprimento das normas éticas de participação voluntária e confidencialidade.

Cada participante recebeu as amostras devidamente codificadas com números aleatórios de três dígitos, de forma a eliminar possíveis erros associados à identificação do produto. Foram avaliadas cinco amostras distintas (347, 582, 896, 731 e 415) em relação aos atributos sensoriais de cor, aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global. A ordem de apresentação das amostras decorreu de forma aleatória entre os provadores, reduzindo o efeito da sequência de degustação. A avaliação foi realizada individualmente, em condições controladas de iluminação, temperatura e ausência de odores externos, de modo a assegurar que a perceção sensorial se centrava exclusivamente nos atributos intrínsecos das amostras.

O método de avaliação utilizado baseou-se numa escala hedónica de 9 pontos, onde 1 correspondia a "não gostei absolutamente" e 9 a "gostei extremamente". Para

além da aceitação global, foram ainda avaliados parâmetros específicos, nomeadamente: aroma, sabor, textura e aparência, considerados determinantes na perceção da qualidade sensorial de massas e bolos. Os atributos sensoriais foram considerados aceites, com uma nota sensorial ≥7.

Os resultados obtidos a partir deste painel permitiram identificar a percentagem de incorporação ótima das biomassas de *Honey Chlorella* e *White Chlorella* nas formulações desenvolvidas, fornecendo indicadores relevantes para a viabilidade de aplicação das microalgas em diferentes matrizes alimentares.

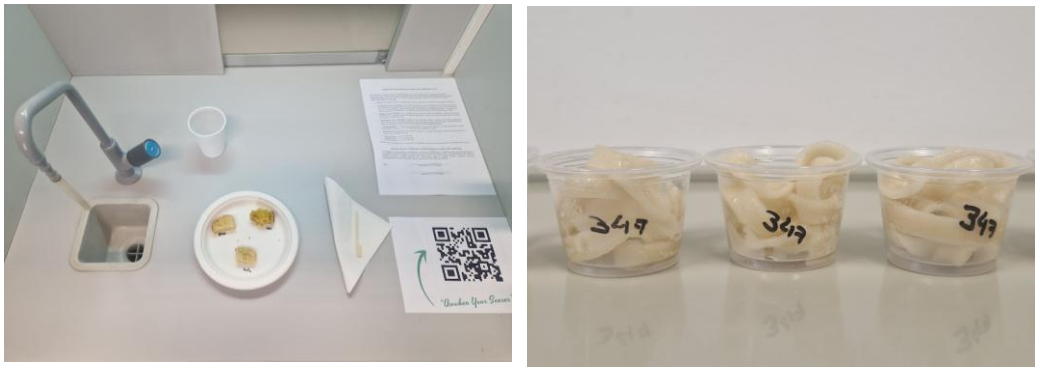


Figura 12 - Registo da análise sensorial

3.6. Análise estatística

Foram utilizadas estatísticas descritivas para descrever a amostra. As variáveis contínuas foram apresentadas como mediana [intervalo interquartil], de acordo com a sua distribuição (confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk), e as variáveis categóricas como frequências (percentagens).

As diferenças entre as duas amostras de *tagliatelli* (controlo e com 20% de *Honey Chlorella*) foram exploradas através do teste de Wilcoxon. As diferenças entre as três amostras de bolo (controlo, com 1,5% de *White Chlorella* e com 20% de *Honey Clorella*) foram exploradas através do teste de Friedman. Quando foram verificadas diferenças estatisticamente significativas, foram-se realizadas comparações múltiplas recorrendo ao Método Pairwaise com correção de Bonferroni.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software IBM SPSS Statistics (version 30.0; IBM Corp., Armonk, NY). Os gráficos foram criados utilizando o Microsoft Excel para Microsoft 365 MSO (versão 2508 Build 16. 0. 19127. 20192). Todos resultados foram considerados estatisticamente significativos ao nível de significância de 0,05 (ou seja, sempre que p-value<0,05).

IV. Resultados e discussão

4.1. Testes preliminares (TP)

Nesta primeira etapa (TP1), variaram-se os teores de *psyllium* (0,0%, 2,5%, 5,0% e 7,5%), mantendo-se constantes as restantes farinhas (Tabela 2), com o objetivo de determinar a percentagem mais adequada para incorporação de *psyllium* na mistura.

Tabela 2 - Composição TP1: diferentes proporções de psyllium, com ajuste proporcional das farinhas

Ingredientes	**TP1.1**	**TP1.2**	**TP1.3**	**TP1.4**
Farinha de quinoa (%)	45,0	43,9	42,8	41,6
Farinha de aveia (%)	30,0	29,3	28,5	27,8
Farinha de amêndoa (%)	25,0	24,4	23,8	23,1
***Psyllium* (%)**	0,0	2,5	5,0	7,5

Apesar do perfil nutricional interessante, a análise sensorial das panquecas piloto com TP1 revelou limitações. O produto apresentou cocção incompleta e um perfil sensorial intenso e desequilibrado, sobretudo devido ao sabor e aroma marcados das farinhas de quinoa e de amêndoa. Resultados semelhantes foram reportados por (Alvarez-Jubete *et al.* 2010), que descreveram a dificuldade de mascarar o sabor característico da quinoa em produtos de panificação. Assim, tornou-se necessário ajustar a formulação, substituindo a farinha de aveia pela farinha de arroz, visando reduzir a intensidade sensorial negativa e melhorar as propriedades tecnológicas, como apresentado na Tabela 3.

Neste teste (TP2), a proporção de *psyllium* foi fixada em 2,5%, com base nos resultados do teste anterior (TP1), onde esta percentagem demonstrou melhor desempenho.

Assim, apenas as proporções das restantes farinhas foram ajustadas, mantendo-se os procedimentos padronizados utilizados na etapa anterior.

Tabela 3 - Proporções de farinhas na composição da TP2 com 2,5% de *psyllium*

Ingredientes	TP2.1	TP2.2	TP2.3	TP2.4
Farinha de quinoa (%)	43,9	29,3	43,9	24,4
Farinha de arroz (%)	29,3	43,9	24,4	43,9
Farinha de amêndoa (%)	24,4	24,4	29,3	29,3
Psyllium (%)	2,5	2,5	2,5	2,5

A introdução da farinha de arroz, caracterizada pelo sabor neutro, cor clara e elevada digestibilidade (Kadan *et al*., 2001; Juliano, 2016), resultou em melhorias na aceitação sensorial. O uso combinado com *psyllium* permitiu maior coesão estrutural, originando panquecas mais macias e elásticas. Estes resultados estão de acordo com (Ronda *et al*. 2015), que demonstraram a relevância da fibra solúvel na melhoria da elasticidade e retenção de água em massas sem glúten. Contudo, persistiram limitações na cocção, provavelmente associadas à elevada absorção de água pelo *psyllium* e aveia, que pode prolongar o tempo de cocção e comprometer a uniformidade do produto (Ronda *et al.,* 2015).

Para superar estas limitações, foi testada TP3, onde teve de se experimentar uma nova formulação de farinhas, contendo farinha de grão-de-bico, arroz, fécula de batata e *psyllium* (Tabela 4).

Tabela 4 - TP3: ajuste das farinhas para a composição do produto

Ingrediente	TP3.1	TP3.2	TP3.3	TP3.4
Farinha de grão-de-bico (%)	10,0	25,0	20,0	15,0
Farinha de arroz (%)	45,0	35,0	40,0	45,0
Fécula de mandioca (%)	42,5	37,0	37,0	37,0
***Psyllium* (%)**	2,5	2,5	2,5	2,5

A adição de grão-de-bico visou aumentar o valor proteico e o teor de fibras (Sreerama *et al.,* 2012), mas a análise sensorial demonstrou sabor e aroma demasiado intensos, sobrepondo-se aos restantes ingredientes. Este resultado

encontra suporte em (Demirkesen *et al.* 2010), que observaram impacto negativo do uso de leguminosas em formulações sensoriais, quando não equilibradas por outros componentes. A textura mostrou-se igualmente inconsistente, possivelmente devido ao excesso de amidos de rápida gelatinização.

Desenvolvimento das misturas de farinhas sem glúten

Os testes preliminares revelaram-se fundamentais para compreender o contributo individual de cada farinha na estrutura e nas propriedades desejadas do produto final. Embora não tenham resultado diretamente numa formulação ideal, permitiram identificar as combinações mais promissoras, orientando a seleção de ingredientes para a mistura final. Assim, foi definida uma formulação base (FB) para o desenvolvimento das misturas de farinhas (Tabela 5), com base em evidência científica e fontes práticas (Minimalist Baker, 2025). Esta versão incluiu farinha de arroz integral, farinha de arroz, fécula de batata, tapioca e goma xantana, seguindo o mesmo protocolo padronizado de preparação. A farinha de arroz integral adiciona fibra e micronutrientes, enquanto a farinha de arroz confere leveza e um sabor neutro. A fécula de batata e a tapioca contribuem para a maciez e elasticidade, conforme descrito por Cereda (2002) no contexto da panificação sem glúten. A goma xantana atua como agente estrutural, reduzindo a friabilidade e aumentando a coesão da matriz, resultado também verificado por Ferradji *et al.* (2024) em sistemas semelhantes.

Tabela 5 - Formulação base (FB) para o desenvolvimento das misturas de farinhas

Ingredientes	**%**
Farinha de arroz integral	58,5
Farinha de arroz	9,8
Fécula de batata	23,4
Tapioca	7,3
Goma Xantana	1,02

A FB foi utilizada para os ensaios de incorporação das microalgas, com o objetivo de avaliar a sua viabilidade tecnológica e funcional nos produtos finais. Concluída esta formulação, definida a partir do desenvolvimento do produto piloto (panqueca), procedeu-se à incorporação das microalgas *Honey Chlorella* (HC) e *White Chlorella* (WC).

Numa primeira etapa, testou-se a incorporação de HC, nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 25% (Tabela 6).

Tabela 6 - Formulação base (FB) com % de incorporação de Honey Chlorella (HC)

Ingrediente	FB HC1	FB HC2	FB HC3	FB HC4	FB HC5
Farinha de arroz integral (%)	55,6	52,7	49,7	46,8	43,9
Farinha de arroz (%)	9,3	8,8	8,3	7,8	7,3
Fécula de batata (%)	22,2	21,1	19,9	18,7	17,6
Goma xantana (%)	0,97	0,92	0,9	0,8	0,8
Tapioca (%)	6,9	6,6	5,9	5,9	5,5
***Honey Chlorella* (%)**	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0

A partir da utilização da mistura de farinhas com *Honey Chlorella*, foi desenvolvido o protótipo de massa fresca do tipo *tagliatelli*, conforme descrito no capítulo 3.3. Constatou-se que a percentagem ótima de incorporação de HC corresponde a 20%. Esta conclusão baseou-se numa apreciação sensorial preliminar e informal, realizada por três elementos presentes no laboratório, incluindo o próprio investigador. Embora sem carácter estatístico ou validação por painel treinado, esta avaliação permitiu identificar um perfil sensorial equilibrado, com destaque para o sabor agradável, textura adequada e cor atrativa, indicando um elevado potencial de aplicação futura da formulação.

Após a realização do ensaio com a *Honey Chlorella*, procedeu-se à repetição do protocolo experimental com a *White Chlorella*, variando-se a sua incorporação nas concentrações de 1,5%, 5% e 10% (Tabela 7).

Tabela 7 - Formulação base (FB) com % de incorporação de *White Chlorella* (WC)

Ingrediente	FB WC 1	FB WC 2	FB WC 3
Farinha de arroz integral (%)	58,6	56,5	54,0
Farinha de arroz (%)	9,83	9,50	9,05
Fécula de batata (%)	22,2	21,4	20,5
Goma xantana (%)	0,97	0,94	0,89
Tapioca (%)	6,9	6,6	6,4
White Chlorella (%)	1,5	5,0	10,0

No caso da microalga, *White Chlorella*, a avaliação sensorial informal, foi efetuada da mesma forma, concluindo-se que a intensidade sensorial do sabor associado à biomassa limitou a preparação de uma massa fresca *tagliatelli.* Dessa forma, apenas se conseguiu a preparação de um bolo, com uma incorporação de 1,5% de WC, como descrito no capítulo 3.3..

4.2 Aplicação das misturas de farinhas

4.2.1. Formulação base com 20 % *Honey Chlorella (*FB HC4)

Massa tagliatelli e bolo

Para a preparação da massa fresca com uma percentagem de 20% de *Honey Chlorella* , iniciou-se o processo com a pesagem das farinhas previamente formuladas. Posteriormente, estas foram misturadas com 45 g de água, sendo a sua homogenização realizada numa Bimby®, no modo "Dough", durante 360 segundos.

No final do processo, obteve-se uma massa fragmentada em pequenas porções, que foi retirada do equipamento e homogeneizada manualmente numa taça. Em seguida, a massa foi processada em pequenas quantidades através de uma máquina de pasta, até se obter a sua conformação em tiras características de *tagliatelli*.

Após a preparação, a massa foi submetida a cozedura em 550 mL de água em ebulição durante 8 minutos. Decorrido este tempo, procedeu-se à escorrência da

água, obtendo-se assim a massa fresca pronta para consumo para as subsequentes análises sensoriais e tecnológicas.

A formulação do bolo com adição de *Honey Chlorella*, permitiu simultaneamente, demonstrar a versatilidade desta mistura de farinhas desenvolvido, o qual se revelou aplicável tanto na confeção de massa fresca tipo *tagliatelli* como em produtos de pastelaria.

O produto final apresentou boa consistência estrutural, cor uniforme e aroma característico, evidenciando características adequadas para consumo imediato. A incorporação de *Honey Chlorella* conferiu ainda um perfil sensorial diferenciado, contribuindo para o enriquecimento nutricional e reforçando a aplicabilidade tecnológica desta biomassa em diferentes categorias alimentares.

Para a preparação do bolo, com incorporação de 20% de *Honey Chlorella*, foi utlizado a mesma mistura de farinhas, em que com a adição dos outros ingredientes, foi necessário um reajuste, como apresentado na tabela 8, para que toda a quantidade de ingredientes desse um total de 100%: 29,68g de farinha de arroz integral, 4,95g de farinha de arroz, 11,86g de fécula de batata, 0,51g de goma xantana, 3,74g de tapioca, 12,68g de *Honey Chlorella,* 12,43g de açúcar, 8,88g de óleo de coco, 14,21g de bebida de soja e 1,06g de fermento químico.

Tabela 8 Reajuste de FB HC4 para o desenvolvimento do bolo

Ingrediente	FB HC4	Reajuste para o bolo
Farinha de arroz integral (%)	46,8	29,68
Farinha de arroz (%)	7,8	4,95
Fécula de batata (%)	18,7	11,86
Goma xantana (%)	0,8	0,51
Tapioca (%)	5,9	3,74
***Honey Chlorella* (%)**	20,0	12,68
Açúcar (%)	-------	12,43
Óleo de coco	-------	8,88
Bebida de soja	--------	14,21
Fermento Químico	-------	1,06

Após a pesagem e preparação dos ingredientes, todos foram misturados numa taça até se obter uma massa homogénea. As formas destinadas à cozedura foram previamente untadas, de modo a evitar a aderência, e posteriormente preenchidas com a massa preparada. A cozedura foi realizada numa Air Fryer®, a 180 °C, durante 18 minutos.

Concluída esta etapa, o bolo foi deixado a arrefecer à temperatura ambiente antes de ser retirado da forma.



Figura 13 - Aplicação de FB HC4 na massa fresca tagliatelli e bolo

4.2.2. Formulação base com 1,5 % *White Chlorella (*FB WC1)

Bolo

A incorporação de *White Chlorella* em produtos de panificação revelou-se mais desafiante devido ao seu perfil sensorial mais intenso, associado a notas de sabor fermentado. Nos ensaios sensoriais preliminares, constatou-se que concentrações superiores a 1,5%, comprometiam a aceitabilidade do produto, motivo pelo qual esta percentagem foi definida como a mais adequada para aplicação na confeção de bolo. Tal facto, comprovou-se na utilização da mistura de farinhas desenvolvida, em que o bolo apresentou características de cor e sabor não aceitáveis, comprometendo a sua aceitação sensorial. Assim, não foi possível o desenvolvimento do bolo, com essa formulação.

Foi então necessário ajustar FB, tal como referenciado na tabela 9, composta por 14 g de farinha de arroz integral, 14 g de farinha de arroz, 6,72 g de amido de tapioca e 6,72 g de fécula de batata, à qual se incorporou 0,84% de *White Chlorella*.

Para garantir a consistência e funcionalidade da massa, foram ainda adicionados um ovo, 19,6 g de açúcar, 14 g de óleo de coco, 22,4 g de bebida de soja e 1,68 g de fermento químico em pó.

Tabela 8 - Reajuste de FB WC1 para o desenvolvimento do bolo

Ingrediente	FB WC 1
Farinha de arroz integral (%)	14,0
Farinha de arroz (%)	14,0
Fécula de batata (%)	6,72
Açúcar (%)	19,6
Tapioca (%)	6,72
Óleo de coco (%)	14,0
Bebida de soja (%)	22,4
Fermento químico (%)	1,68
White Chlorella (%)	0,84

Posteriormente ao ajuste dos ingredientes, todos foram misturados numa taça até se obter uma massa uniforme. As formas de cozedura foram previamente untadas e preenchidas com a massa preparada. A cozedura foi realizada numa Air Fryer®, a 180 °C, durante 18 minutos, seguindo-se o arrefecimento à temperatura ambiente antes da remoção dos bolos das formas.

O produto final apresentou uma estrutura estável e adequada para consumo, embora com aroma e sabor característicos da biomassa incorporada, que se revelaram mais pronunciados do que no caso da *Honey Chlorella*.

Estes resultados confirmam a possibilidade de aplicação da *White Chlorella* em produtos de panificação, ainda que com necessidade de otimização adicional para minimizar os impactos sensoriais indesejáveis associados ao seu perfil organolético.



Figura 14 - Aspeto final do bolo elaborado com 1,5% de *White Chlorella*

4.3. Composição centensimal

A Tabela 9 indica a análise química das 4 amostras em estudo (em duplicado) dos mixes de farinhas: Mistura 1, sem incorporação da microalga *White Chlorella* (M s/WC), mistura 2, sem incorporação da microalga *Honey Chlorella* (M s/HC), mistura 3, com incorporação de *Honey Chlorella* a 20% de incorporação (M c/HC) e a mistura 4, com incorporação de *White Chlorella* com 1,5% de incorporação (M c/WC). Os parâmetros avaliados foram, humidade (H, g/100 g), matéria seca parcial (MSp), cinzas (C), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), azoto (NB), fibra bruta (FB) e teor de Hidratos de Carbono (HC), sendo os resultados apresentados em % de matéria seca (%MS).

Tabela 9 – Composição centensimal das misturas de farinhas

	Amostras			
	1 (Ms/WC)	2(Ms/HC)	3(Mc/HC)	4(Mc/WC)
H (g/100g) MS	11,53 ±2,17	14,55±2,17	9,84±2,17	13,89±2,17
Total MSp (%)	88,47±2,17	85,45±2,17	90,16±2,17	86,11±2,17
Cinzas (%MS)	1,02±0,44	0,75±0,44	1,75±0,44	0,95±0,44
MO (%MS)	98,98±0,44	99,25±0,44	98,25±0,44	99,05±0,44
PB (%MS)	1,21±0,40	1,22±0,40	2,06±0,40	1,41±0,40
NB (%MS)	7,57±2,51	7,62±2,51	12,89±2,51	8,8±2,51
FB (%MS)	1,14±0,55	1,19±0,55	2,2±0,55	1,02±0,55
HC (%MS)	98,39±5,26	95,48±5,26	107,31±5,26	97,34±5,26

Teores de Humidade (H) e Matéria Seca (MS)

Os valores de humidade variaram entre 9,83 e 14,55%, situando-se dentro da faixa aceitável para farinhas sem glúten. Segundo Santos, Silva e Almeida (2017), valores inferiores a 14% são adequados para prevenir o desenvolvimento microbiano e garantir a estabilidade durante o armazenamento. Assim, apenas a amostra 2 apresenta valor próximo do limite, exigindo maior controlo das condições de conservação.

A matéria seca total apresentou variação entre 85,45 e 90,16%, refletindo o equilíbrio da matriz farinácea. Ingredientes ricos em amido, como a fécula de batata e a tapioca, contribuíram para estes valores, favorecendo a estruturação das massas sem glúten, conforme descrito por Demirkesen et al. (2010).

Cinzas e Matéria Orgânica (MO)

O teor de cinzas, indicador do conteúdo mineral, oscilou entre 0,75 e 1,75%. O valor mais elevado foi observado na amostra 3, sugerindo contribuição da incorporação de *Honey Chlorella,* uma vez que esta microalga é reconhecida pela sua riqueza em minerais como cálcio, magnésio, ferro e zinco (Koyande *et al.,* 2019).

Consequentemente, a matéria orgânica manteve-se elevada (≥ 98%), confirmando o predomínio de compostos orgânicos.

Proteína Bruta (PB) e Azoto (NB)

Os valores de proteína bruta variaram entre 1,21 e 2,06%, com destaque para a amostra 3, onde a incorporação de *Honey Chlorella* se refletiu no maior teor proteico. Este resultado está de acordo com (Safi *et al.* 2014), que descrevem a *Chlorella sp.,* como uma fonte proteica de elevada qualidade, com 43–58% do peso seco. Embora os valores sejam inferiores aos de leguminosas ou pseudocereais, estas misturas demonstram potencial de enriquecimento nutricional, em linha com estudos que apontam para a utilização de microalgas como fortificantes em produtos panificados (Batista *et al.,* 2013).

Fibra Bruta (FB)

A fibra bruta variou entre 1,02 e 2,20%, sendo novamente a amostra 3 a mais destacada. Esta tendência sugere que a incorporação de microalgas, aliada ao contributo da farinha de arroz integral, aumentou o teor de fibra. Raghavendran *et al.* (2021) referem que a inclusão de microalgas pode incrementar a fração fibrosa das formulações, promovendo benefícios funcionais relacionados com a saúde intestinal e a regulação glicémica.

Hidratos de Carbono (HC)

Os hidratos de carbono constituíram a fração predominante em todas as formulações (95,47 em base de MS). O valor elevado que se apresenta na mistura de farinhas com *Honey Chlorella* (Mistura 3- Mc/HC), deve-se sobretudo à fécula de batata e à tapioca, fontes ricas em amido. Esta presença favorece a gelatinização e a formação de estrutura nas massas, aspetos fundamentais para compensar a ausência de glúten (Cereda, 2002).

Quantidade de polifenóis totais

A quantificação dos polifenóis totais foi realizada utilizando o método de Folin-Ciocalteu, com leitura a 765 ηm. Os resultados indicaram diferenças significativas entre as formulações testadas. A amostra 3 (Mc/HC), correspondente à mistura com 20% de *Honey Chlorella,* que apresentou o valor mais elevado de compostos fenólicos, com média próxima de 500 mg GAE/kg, o que evidencia a forte contribuição desta biomassa para o perfil antioxidante do produto.

Estudos como os de Wang *et al.* (2024) e Batista *et al*. (2013) referem que a *Chlorella* sp. contém elevados teores de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos e flavonoides, com reconhecida atividade antioxidante. Os resultados obtidos corroboram esta evidência, sugerindo que a *Honey Chlorella* é eficaz no enriquecimento funcional das formulações.

A amostra 2(M s/HC), correspondente à formulação controlo sem incorporação de microalgas, apresentou o teor mais reduzido de polifenóis, o que valida a

ausência de compostos bioativos adicionais nesta matriz. As amostras 1 (Ms/WC) e 4 (Mc/WC) apresentaram valores intermédios, sendo que a amostra 4(Mc/WC), com 1,5% de *White Chlorella*, apresentou um ligeiro aumento nos teores fenólicos, embora inferior ao observado com a *Honey Chlorella.*

O desvio padrão associado às médias revelou variabilidade moderada, mas aceitável, o que reforça a consistência experimental e a robustez metodológica da análise. De forma geral, os dados obtidos apontam para um potencial promissor da *Honey Chlorella* no desenvolvimento de produtos alimentares com propriedades antioxidantes acrescidas, em consonância com as exigências atuais do mercado por alimentos funcionais.

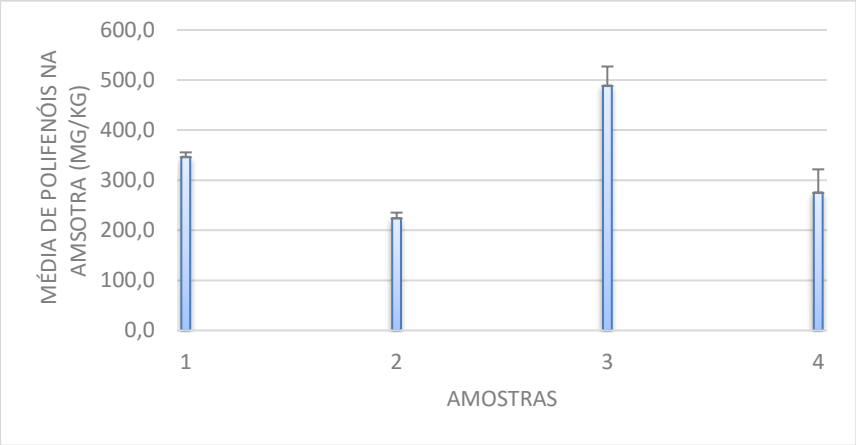


Figura 15 - Média de polifenóis presentes na amostra em mg/Kg e desvio padrão

4.4. Análise Sensorial

4.4.1 Caracterização sociodemográfica da amostra

A amostra de participantes deste estudo foi composta por 23 provadores, com uma idade mediana de 31 anos [IIQ (Intervalo Interquartil) 25,5-36 anos]. Do total de participantes, 69,6% (n=16) pertenciam ao sexo feminino e 30,4% (n=7) ao sexo masculino, refletindo uma predominância feminina. Esta caracterização sociodemográfica assegura diversidade na perceção sensorial, fator relevante para a robustez da análise. A amostra apresentava diversidade na nacionalidade, sendo a maioria dos participantes de nacionalidade portuguesa (n=14; 60,9%).

Os resultados obtidos para as características sociodemográficas da amostra são apresentados na tabela 10.

Tabela 10 - Caracterização sociodemográfica da amostra

Características	Participantes (n=23)
Idade, mediana [IIQ]	31 [25,5-26]
Sexo, n (%)	
Feminino	16 (69,6)
Masculino	7 (30,4)
Nacionalidade, n (%)	
Portuguesa	14 (60,9)
Francesa	2 (8,8)
Brasileira	2 (8,8)
Italiana	1 (4,3)
Espanhola	1 (4,3)
Argentina	1 (4,3)
Belga	1 (4,3)
Marroquina	1 (4,3)

Os valores são apresentados como mediana [IIQ-intervalo interquartil] ou n.º (%).

4.4.2. Caracterização do padrão de consumo de microalgas e interesse na compra dos produtos

No que respeita ao padrão de consumo de microalgas, a maioria dos participantes (n=9; 39%) referiu consumir microalgas ocasionalmente ou não ter consumindo ainda, mas conhece (n=9; 39%) (Figura 16).

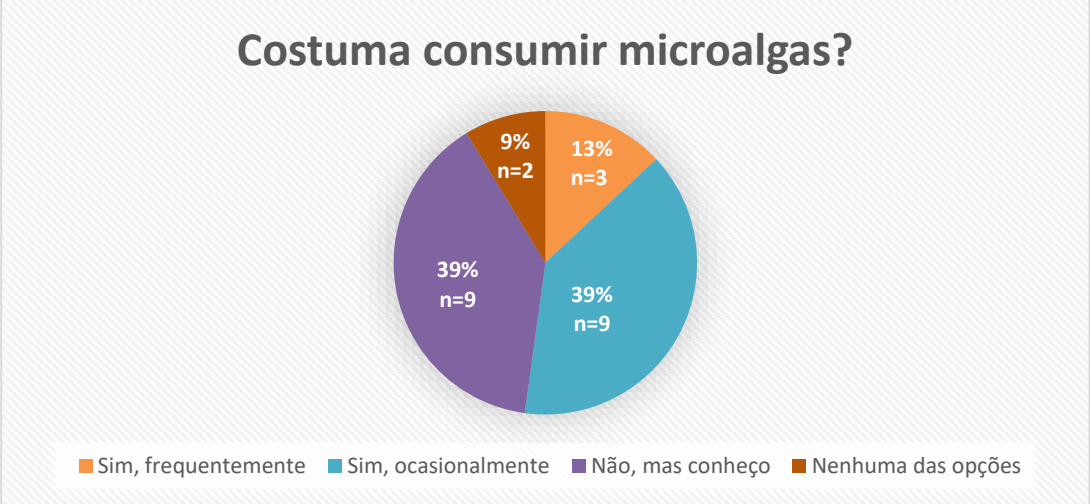


Figura 16 – Frequência do consumo de microalgas (n=23)

No que respeita ao interesse na compra dos produtos, caso os participantes soubessem que estes continham algas, 11 (48%) referiu que não, 8 (35%) sim e 4 (17%) talvez comprariam estes produtos (Figura 17).

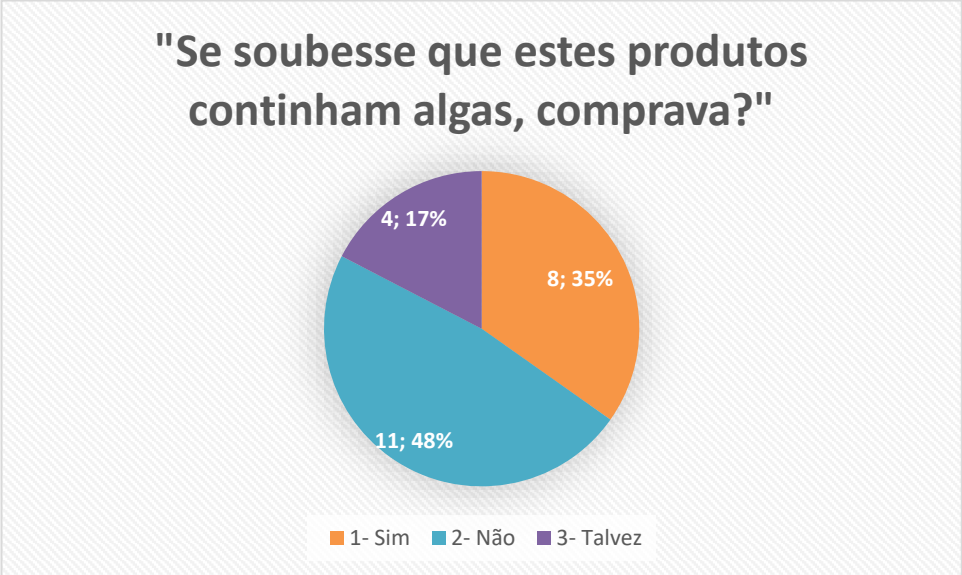


Figura 17 - Interesse na compra dos produtos caso soubessem que continham algas (n=23)

4.4.3. Aceitabilidade dos produtos resultantes da aplicação das misturas de farinhas

Relativamente às amostras de *tagliatelli* (*TCo* – controlo e *TFB HC4* – com 20% de *Honey Chlorella),* os resultados obtidos, tabela 11, revelaram medianas semelhantes entre as amostras, situando-se em valores elevados da escala de análise (0–9), o que traduz uma perceção globalmente positiva.

Tabela 11 - Pontuações obtidas na avaliação dos parâmetros de cada amostra de Tagliatelli (n=23)
IIQ- Intervalo Interquartil

	Amostra		
Característica	*Tagliatelli* controlo (sem microalga)	*Tagliatelli* com 20% de *Honey Chlorella (THC)*	*p-value*
Cor	7 [5-8]	8 [6-9]	0,160
Aparência	8 [6-8]	8 [5-8]	0,690
Aroma	6 [5-8]	6 [3-8]	0,091
Sabor	7 [5-8]	6 [4-8]	0,057
Textura	7 [5-8]	7 [5-8]	1,000
Aceitação Global	7 [6-8]	7 [5-8]	0,627

*p<0.05

No parâmetro cor, ambas as amostras apresentaram valores próximos, com medianas de 7 [5–8] para o controlo e 8 [6–9] para o *TFB HC4*, refletindo uma avaliação consistente e favorável do aspeto visual inicial, sem diferenças estatisticamente significativas (p=0,160). De forma semelhante, a aparência registou medianas de 8 [6–8] (TCo) e 8 [5–8] (*TFB HC4*), evidenciando elevada aceitação visual e ausência de diferenças significativas (p=0,690). O atributo aroma apresentou uma mediana de 6 em ambas as formulações, embora com maior variabilidade na amostra com *Honey Chlorella* (6 [3–8] vs. 6 [5–8]), mas sem atingir significância estatística (p=0,091). O sabor, considerado determinante na decisão de consumo, apresentou valores medianos de 7 [5–8] (*TCo*) e 6 [4–8] (*TFB HC4*), também sem diferenças significativas (p=0,057), embora este último valor de p se aproxime do limiar de significância, sugerindo uma possível tendência de menor aceitação gustativa na formulação com microalga.

Em relação à textura, ambas as amostras registaram medianas de 7 [5–8], demonstrando uniformidade na perceção tátil e mastigatória, sem diferenças entre os grupos (p=1,000). Por fim, na aceitação global, verificaram-se medianas idênticas de 7 [6–8] (*TCo)* e 7 [5–8] (*TFB HC4*), sem diferenças estatísticas (p=0,627), consolidando a tendência de aprovação generalizada das amostras.

Em síntese, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos parâmetros avaliados (p<0,05), indicando uniformidade na formulação e perceção sensorial das amostras de *Tagliatelli*. No entanto, o valor de p próximo da significância no parâmetro sabor sugere a necessidade de estudos adicionais, com um maior número de provadores, para confirmar possíveis efeitos subtis da incorporação de *Honey Chlorella*.

A Tabela 12 apresenta os resultados da análise sensorial das três formulações de bolo: controlo (sem microalga), com *1,5% de White Chlorella* (BWC) e com *20% de Honey Chlorella* (BHC). Os resultados são expressos como valores medianos e respetivos intervalos interquartis (IIQ). As diferenças entre amostras foram avaliadas considerando-se significativas quando p<0,05.

Tabela 12 - Pontuações obtidas na avaliação dos parâmetros de cada amostra de bolo (n=23)

	Amostra			
Característica	Bolo controlo (sem microalga)	Bolo com 1,5% *White Chlorella (BHC)*	Bolo com 20% de *Honey Chlorella (BHC)*	p-value
Cor	8 [7-9]	7 [6-9]	7 [6-9]	0,740
Aparência	8 [7-8]	7 [6-8]	8 [7-9]	0,422
Aroma	7 [6-9] [a]	6 [5-7] [b]	7 [6-8] [a,b]	**<0,001***
Sabor	7 [6-9] [a]	6 [4-8] [b]	7 [6-8] [a]	**0,044***
Textura	7 [6-8]	7 [5-8]	7 [6-8]	0,174
Aceitação Global	7 [7-8]	7 [4-8]	7 [6-8]	0,085

*p<0.05; a, comparação entre bolo controlo e bolo com 1,5% *White Chlorella*; b, comparação entre bolo com 1,5% *White Chlorella* e bolo com 20% de *Honey Chlorella*.

No parâmetro cor, as medianas situaram-se em valores elevados (8 [7–9] no controlo, 7 [6–9] no BWC e 7 [6–9] no BHC), não se registando diferenças estatisticamente significativas (p=0,740), o que indica uma perceção visual homogénea entre as amostras. Resultados semelhantes foram observados na aparência, onde os valores medianos foram de 8 [7–8] (controlo), 7 [6–8] (BWC) e 8 [7–9] (BHC), também sem diferenças significativas (p=0,422), sugerindo elevada aceitação visual de todas as formulações.

Em contraste, o atributo aroma revelou diferenças estatisticamente significativas (p<0,001). A amostra com 1,5% de *White Chlorella* obteve uma mediana inferior (6 [5–7]) em comparação com o bolo controlo (7 [6–9]) e o bolo com 20% de *Honey Chlorella* (7 [6–8]), indicando uma menor aceitação olfativa nesta formulação.

O atributo sabor também apresentou diferenças significativas (p=0,044). O bolo com 1,5% de *White Chlorella* registou uma mediana inferior (6 [4–8]) relativamente ao controlo (7 [6–9]) e ao bolo com *Honey Chlorella* (7 [6–8]), sugerindo uma menor aceitação gustativa quando a incorporação de microalga foi realizada em baixa percentagem com *White Chlorella.*

Para a textura, todas as formulações apresentaram medianas idênticas (7), sem diferenças estatísticas (p=0,174), o que reflete consistência tátil e mastigatória entre as amostras. Por fim, a aceitação global registou medianas de 7 em todas as formulações, também sem diferenças significativas (p=0,085), indicando uma perceção positiva generalizada.

Em síntese, as diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas nos atributos aroma e sabor, com a formulação contendo 1,5% de *White Chlorella* a apresentar menor aceitação sensorial nestes parâmetros. Nos restantes atributos (cor, aparência, textura e aceitação global), não se verificaram diferenças significativas (p<0,05), sugerindo uma aceitação homogénea entre as amostras.

Estes resultados apontam para uma maior viabilidade da incorporação de *Honey Chlorella* em comparação com *White Chlorella* em baixas concentrações. A incorporação de *Honey Chlorella* revela-se pertinente, evidenciando forte potencial para o desenvolvimento de novos produtos alimentares.

V. Considerações finais

O presente trabalho permitiu o desenvolvimento e a avaliação de misturas de farinhas sem glúten enriquecidas com microalgas do género *Chlorella* sp., mais concretamente as variantes *Honey Chlorella* e *White Chlorella*, para aplicação em produtos de panificação e pastelaria. A formulação base, constituída por farinha de arroz integral, farinha de arroz, fécula de batata, tapioca e goma xantana, demonstrou viabilidade tecnológica e sensorial, assegurando propriedades estruturais e organoléticas adequadas à substituição do glúten.

Durante o processo de incorporação das biomassas, surgiram diversas dificuldades, nomeadamente na uniformização da cor e sabor dos produtos, bem como na manutenção da coesão da massa, especialmente em concentrações superiores a 20%. Foram necessárias várias reformulações, com ajustes nas proporções das farinhas e dos agentes estruturantes, de forma a garantir uma textura aceitável e uma boa manipulação da massa. A dispersão adequada das microalgas e a sua integração na matriz alimentar exigiram também testes preliminares que permitissem minimizar o impacto sensorial negativo.

Apesar desses desafios, os resultados confirmaram o papel crucial do *psyllium* na estrutura e coesão das massas sem glúten, justificando o seu uso como ponto de partida para a definição das formulações. A *Honey Chlorella* destacou-se pela possibilidade de incorporação até 20%, sem comprometer a aceitabilidade global, enriquecendo significativamente o teor de proteína, fibra e compostos fenólicos. Já *a White Chlorella* apresentou limitações organoléticas, permitindo apenas 1,5% de incorporação em bolo, com impacto menos positivo em atributos de aroma e sabor.

A análise centesimal demonstrou que a incorporação de microalgas contribuiu para o aumento do valor nutricional, especialmente em proteína, fibra e minerais, enquanto os ensaios sensoriais revelaram que a aceitação global dos produtos com microalgas se manteve entre os parâmetros de “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, sem diferenças estatisticamente significativas face aos controlos em grande parte dos atributos avaliados. Adicionalmente, demonstrou-se que a combinação equilibrada de farinhas, féculas e hidrocolóides é essencial para compensar a ausência de glúten e garantir produtos tecnologicamente estáveis e sensorialmente aceitáveis. Do ponto de vista prático, este estudo contribui para o avanço da inovação alimentar no setor dos produtos sem glúten, oferecendo soluções mais nutritivas, diversificadas e alinhadas com as atuais exigências de consumidores que procuram dietas funcionais e sustentáveis.

Em síntese, o trabalho evidencia que a utilização estratégica de misturas de farinhas sem glúten enriquecidas com microalgas constitui uma via promissora para o desenvolvimento de produtos tecnologicamente viáveis, nutricionalmente superiores e sustentáveis, reforçando o potencial das microalgas como ingredientes inovadores no futuro da alimentação.

VI. Referências Bibliográficas

Regulamentação e instituições

Direção Geral de Alimentação e Veterinária. (2003). *Portaria n.º 254/2003*. Diário da República, I Série-B, nº 198.

Associação Portuguesa de Celíacos. (s.d.). *O que é a doença celíaca?* Recuperado de https://www.celiacos.org.pt/o-que-e/

Doença celíaca, nutrição e alimentação sem glúten

Foschia, M., Horstmann, S. W., Arendt, E. K., & Zannini, E. (2016). Nutritional therapy: Gluten-free diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition, 67*(5), 1–13.

Melo, R., Silva, T., & Almeida, J. (2024). Limitações nutricionais das farinhas sem glúten. *Revista Portuguesa de Alimentação e Nutrição, 29*(1), 33–42.

Oliveira, A., et al. (2022). Gluten and health: Impact on celiac disease and beyond. *Nutrients, 14*(15), 3015.

Reis, M. (2015). Doença celíaca em Portugal: diagnóstico e desafios. *Revista Portuguesa de Gastroenterologia, 22*(3), 110–117.

Saturni, L., Ferretti, G., & Bacchetti, T. (2010). The gluten-free diet: Safety and nutritional quality. *Nutrition, 26*(6), 479–491.

Singh, P., Arora, A., Strand, T. A., Leffler, D. A., Catassi, C., Green, P. H., Kelly, C. P., & Makharia, G. K. (2018). Global prevalence of celiac disease: Systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology, 16*(6), 823–836.

Farinhas e ingredientes sem glúten

Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition, 61*(3), 240–257.

Cereda, M. P. (2002). Propriedades tecnológicas de amidos tuberosos na panificação. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, 22*(1), 131–139.

Demirkesen, I., Mert, B., Sumnu, G., & Sahin, S. (2010). Rheological properties of gluten-free bread formulations containing different gums. *Food Hydrocolloids, 24*(6–7), 755–762.

Frei, M., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Studies on the in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. *Food Chemistry, 83*(3), 395–402.

Juliano, B. O. (1993). *Rice in human nutrition*. FAO.

Juliano, B. O. (2016). *Rice chemistry and technology*. AACC International.

Kadan, R. S., Robinson, M. G., Thibodeaux, D. P., & Pepperman, A. B. (2001). Texture and other quality parameters of rice bread made from combinations of rice flour and starches. *Cereal Chemistry, 78*(4), 442–446.

Mandak, E., et al. (2018). Nutritional value of almond flour: Bioactive compounds and applications. *LWT – Food Science and Technology, 97*, 92–99.

Marti, A., & Pagani, M. A. (2013). What can play the role of gluten in gluten-free pasta? *Trends in Food Science & Technology, 31*(1), 63–71.

Mancebo, C. M., Rodriguez, P., & Gómez, M. (2015). Effect of psyllium fibre on gluten-free batter and bread quality. *European Food Research and Technology, 240*, 1195–1202.

Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., & Lindhauer, M. G. (2011). Rheological and baking characteristics of batter and bread prepared from pregelatinised cassava starch and sorghum or millet flours. *Journal of Food Engineering, 105*(2), 131–138.

Ronda, F., Perez-Quirce, S., Villanueva, M., & Collar, C. (2015). Impact of dietary fibre addition on gluten-free dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids, 48*, 197–207.

Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry, 81*(2), 219–231.

Microalgas e alimentos funcionais

Allmicroalgae. (2020). *Honey and White Chlorella – Product profile*. Allmicroalgae Natural Products S.A.

Batista, A. P., Niccolai, A., Fradinho, P., Fragoso, S., Bursic, I., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M. R., Sousa, I., & Gouveia, L. (2013). Microalgae biomass incorporation in bread: Effects on chemical, technological and sensory properties. *Food Science and Technology International, 19*(2), 135–142.

Cabrol, L., et al. (2023). Cultivation of chlorophyll-deficient microalgae mutants for improved food applications. *Algal Research, 70*, 102–125.

Garcia, M. C. (2012). Lipid composition of microalgae. *Progress in Lipid Research, 51*(1), 85–102.

Koyande, A. K., Chew, K. W., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D. T., & Show, P. L. (2019). Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness, 8*(1), 16–24.

Roman, B. (2016). The role of microalgae in functional foods. *Food Research International, 89*, 177–183.

Raghavendran, S., et al. (2021). Microalgae in food applications: Nutritional and functional roles. *Food Reviews International, 37*(6), 623–647.

Safi, C., Zebib, B., Morin, C., Laroche, C., & Badia, E. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella. *Journal of Applied Phycology, 26*, 507–520.

Silva, P. (2019). *Estudo da biomassa de Chlorella vulgaris para aplicação alimentar*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra.

Trovão, M., et al. (2025). Development of color mutants of Chlorella vulgaris for food applications. *Algal Research, 75*, 103–115.

Wang, S., et al. (2024). Nutritional composition and functional properties of Chlorella vulgaris. *Trends in Food Science & Technology, 139*, 580–592.

Williamson, C., et al. (2023). Microalgae as future sustainable food sources. *Food Chemistry Advances, 2*, 100–125.

Métodos laboratoriais e análises

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis* (17th ed.). AOAC International.

Araújo, J. M. A., et al. (2006). *Química de alimentos: Teoria e prática*. UFV.

Paiva, P. (2014). *Fibra alimentar: métodos de análise*. Escolar Editora.

Peixoto, C. M. (2017). *Determinação de compostos fenólicos em alimentos* (Dissertação de Mestrado, Universidade de Lisboa).

Souza, A. L., et al. (2016). Métodos para determinação de proteínas em alimentos. *Revista de Ciências Agrárias, 39*(1), 105–114.

Torre, C. (2017). *Análise sensorial de alimentos* (4ª ed.). Escolar Editora.

Mercado e tendências

Cem Porcento. (2025). *Misturas sem glúten*. Recuperado de https://www.cemporcento.pt

Gallo. (2025). *Linha Sin Gluten*. Recuperado de https://www.gallo.pt

Grand View Research. (2024). *Gluten-free baking mixes market size report*.zGrand View Research.

Markets & Markets. (2023). *Gluten-free products market by ingredient, type, distribution channel – Global forecast to 2028*. MarketsandMarkets Research.

Minimalist Baker. (2025). *Gluten-free flour blends*. Recuperado de https://minimalistbaker.com

Novalim. (2025). *Promix UNI – Gluten-free flour blends*. Recuperado de https://www.novalim.sk

Proceli. (2025). *Basic Mix – Gluten free flour*. Recuperado de https://www.proceli.com

Schär. (2025). *Gluten free mixes*. Recuperado de https://www.schaer.com