



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

INGRID KAUANA IAGLA SALGADO

**AVALIAÇÃO DA BIOACCESSIBILIDADE *in vitro* DE MINERAIS EM
SUPLEMENTOS ALIMENTARES DE CAMU-CAMU E ESPIRULINA**

Londrina

2024

INGRID KAUANA IAGLA SALGADO

**AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *in vitro* DE MINERAIS EM
SUPLEMENTOS ALIMENTARES DE CAMU-CAMU E ESPIRULINA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a. Marcela Zanetti Corazza

Londrina

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Salgado, Ingrid Kauana Iagla .

Avaliação da bioacessibilidade in vitro de minerais em suplementos alimentares de camu-camu e espirulina / Ingrid Kauana Iagla Salgado. - Londrina, 2024. 93 f. : il.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley.

Coorientador: Marcela Zanetti Corazza.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Minerais. - Tese. 2. Digestão in vitro. - Tese. 3. Composição centesimal. - Tese. 4. Correlação estatística. - Tese. I. Teixeira Tarley, César Ricardo. II. Zanetti Corazza, Marcela . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 54

INGRID KAUANA IAGLA SALGADO

AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE *in vitro* DE MINERAIS EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES DE CAMU-CAMU E ESPIRULINA

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos Júnior
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof.^a Dra. Maria Luiza Zeraik
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 9 de fevereiro de 2024

Dedico esse trabalho ao meu esposo Allan Vinícius, por sempre acreditar em mim e me apoiar em toda essa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força nesses anos, sendo presente em todos os momentos, sem Ele eu não teria chegado até aqui.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley pela orientação, pela paciência que teve comigo e por tudo que me ensinou nesse período. Também à minha coorientadora Prof.^a Dra. Marcela Zanetti Corazza por ter contribuído com a orientação desse trabalho.

Agradeço imensamente ao meu esposo Allan, que esteve ao meu lado sendo um incentivador, me apoiando em todos os momentos. Não me deixou desistir, sempre me incentivou em tudo, comemorou comigo a cada novo aprendizado e a cada etapa vencida.

Aos meus pais, minha eterna gratidão por tudo que fizeram por mim, devo tudo a eles e os amo demais. Aos meus irmãos, sogros e cunhados que mesmo à distância, me apoiaram e oraram por mim.

Por Deus ter colocado a Milena nessa minha trajetória e por tudo que ela me ensinou desde o primeiro dia de laboratório, pela paciência que teve comigo, por ser uma amiga que me encorajou e alegrou os meus dias.

A todos os amigos que fiz pela UEL, no nosso grupo de pesquisa LADEMA e no Depto. De Ciência e Tecnologia de Alimentos. A Viviane e ao Vinicius do laboratório de Análise de Alimentos, por toda ajuda prestada. A professora Wilma, por ter cedido o laboratório para que eu pudesse fazer as análises.

Assim como, a infraestrutura da Universidade de Londrina que possibilitou a realização dos experimentos.

“Seja forte e corajoso! Não se apavore e nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”

Josué 1:9

SALGADO, Ingrid Kauana Iagla. **Avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de minerais em suplementos alimentares de camu-camu e espirulina.** 2024. 94 p. Exame de Defesa– Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

RESUMO

Nos últimos anos, o consumo de suplementos alimentares combinados com uma alimentação saudável e balanceada tem sido incentivado. Nesse contexto, destaca-se o uso de suplementos naturais, como camu-camu e espirulina, que são ricos em minerais e componentes bioativos que auxiliam na manutenção e no bom funcionamento do organismo. No entanto, conhecer o conteúdo total de minerais e outros nutrientes não é suficiente para fornecer o verdadeiro valor nutricional de um alimento. A simulação gastrointestinal *in vitro* permite estimar a fração bioacessível dos nutrientes que fica disponível para ser absorvida pelo organismo. Existem estudos da bioacessibilidade de compostos com propriedades antioxidantes em camu-camu, porém a bioacessibilidade de minerais ainda não foi relatada na literatura. A bioacessibilidade de minerais em espirulina é relatada na literatura, mas a correlação entre alguns parâmetros da composição centesimal com a bioacessibilidade de minerais ainda não foi reportada. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar a concentração total de minerais (Ca, Mg, Zn, Fe, Mn e Cu) nesses suplementos de diferentes marcas, avaliar a bioacessibilidade empregando um método de digestão *in vitro* padronizado pela BARGE (Grupo de Pesquisa em Bioacessibilidade da Europa) e avaliar a correlação entre proteínas, cinzas, lipídios e fibras (insolúveis, solúveis e totais) com a fração bioacessível dos minerais. O conteúdo total dos minerais foi determinado por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), após digestão ácida assistida por micro-ondas, assim como as frações bioacessíveis e residuais após ensaios *in vitro*. Determinou-se ainda o teor de vitamina C do camu-camu. Com base nos resultados obtidos para proteínas (53,3 - 67,2%) e fibras totais (13,3-20,8%), observou-se que a espirulina pode ser classificada como produto com alto teor de proteínas e fibras, apresentando valores superiores a 12,0 % e 6,0 % respectivamente. O camu-camu apresentou teores de vitamina C variando de 0,4 a 18,0 g 100 g⁻¹. As concentrações totais de minerais (mg kg⁻¹) para espirulina seguiram a ordem: Mg (2406,7 – 3155,8), Fe (664,4 – 2065,1), Ca (636,9 - 976,3), Mn (37,5 - 61,4), Zn (7,9 -19,8) e Cu (1,2-9,1), e em camu-camu destacaram-se em Mg (57,2 – 9361,1), Ca (637,9 - 2414,8), seguidos de Fe (4,4 – 46,3), Mn (2,8 – 26,4), Zn (9,1 – 20,5) e Cu (0,4). A espirulina apresentou maiores frações bioacessíveis na fase gastrointestinal (%) para Mg (82 - 91), Zn (82 – 90), Mn(64 - 81) seguidas de Cu (59-100), Ca (50 - 76) e Fe (37 - 45). Suplementos de camu-camu apresentaram frações bioacessíveis (%) para Cu (100), Fe(32-104) e Ca (64-89), seguidas de Mn(7-93), Mg (4-99) e Zn (31-51), na fase gastrointestinal. A bioacessibilidade mineral apresentou correlações negativas com a matriz, principalmente com fibras alimentares que podem se ligar aos minerais e influenciar na solubilidade do mineral no trato gastrointestinal. A bioacessibilidade de Fe contribuiu com 6,6% da ingestão diária de Fe recomendada no consumo de 1g de espirulina. Para o camu-camu a contribuição foi de 3,6 % para a ingestão de Mg em 1g de camu-camu, e 1,1% para Mn. Assim, com base nesse estudo, foi possível avaliar o valor nutricional dos suplementos de camu-camu e espirulina em termos de minerais, a partir das frações bioacessíveis dos minerais em estudo.

Palavras-chave: camu-camu, espirulina, Método UBM; digestão *in vitro*;

SALGADO, Ingrid Kauana Iagla. **In vitro bioaccessibility evaluation of minerals in camu-camu and spirulina dietary supplements.** 2024. 94 p. Exame de Defesa – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

ABSTRACT

In recent years, the consumption of dietary supplements combined with a healthy and balanced diet has been encouraged. In this context, the use of natural supplements stands out, such as camu-camu and spirulina, which are rich in minerals and bioactive components that help in the maintenance and proper functioning of the body. However, knowing the total content of minerals and other nutrients is not enough to provide the true nutritional value of a food. In vitro gastrointestinal simulation allows estimating the bioaccessible fraction of nutrients that is available to be absorbed by the body. There are studies on the bioaccessibility of compounds with antioxidant properties in camu-camu, but the bioaccessibility of minerals has not yet been reported in the literature. The bioaccessibility of minerals in spirulina is reported in the literature, but the correlation between some parameters of the proximate composition with the bioaccessibility of minerals has not yet been reported. In this sense, the objective of this work was to determine the total concentration of minerals (Ca, Mg, Zn, Fe, Mn and Cu) in these supplements from different brands, evaluate bioaccessibility using an in vitro digestion method standardized by BARGE (Research Group in Bioaccessibility of Europe) and evaluate the correlation between proteins, ash, lipids and fibers (insoluble, soluble and total) with the bioaccessible fraction of minerals. The total mineral content was determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS), after microwave-assisted acid digestion, as well as the bioaccessible and residual fractions after in vitro tests. The vitamin C content of camu-camu was also determined. Based on the results obtained for proteins (53.3 - 67.2%) and total fibers (13.3-20.8%), it was observed that spirulina can be classified as a product with a high protein and fiber content, presenting values greater than 12.0 % and 6.0 % respectively. Camu-camu presented vitamin C levels ranging from 0.4 to 18.0 g 100 g⁻¹. Total mineral concentrations (mg kg⁻¹) for spirulina followed the order: Mg (2406.7 – 3155.8), Fe (664.4 – 2065.1), Ca (636.9 - 976.3), Mn (37.5 - 61.4), Zn (7.9 -19.8) and Cu (1.2-9.1), and in camu-camu they stood out in Mg (57.2 - 9361, 1), Ca (637.9 - 2414.8), followed by Fe (4.4 - 46.3), Mn (2.8 - 26.4), Zn (9.1 - 20.5) and Cu (0.4). Spirulina presented higher bioaccessible fractions in the gastrointestinal phase (%) for Mg (82 - 91), Zn (82 - 90), Mn (64 - 81) followed by Cu (59-100), Ca (50 - 76) and Fe (37 - 45). Camu-camu supplements presented bioaccessible fractions (%) for Cu (100), Fe (32-104) and Ca (64-89), followed by Mn (7-93), Mg (4-99) and Zn (31 -51), in the gastrointestinal phase. Mineral bioaccessibility showed negative correlations with the matrix, mainly with dietary fibers that can bind to minerals and influence the mineral's solubility in the gastrointestinal tract. The bioaccessibility of Fe contributed 6.6% of the recommended daily Fe intake when consuming 1g of spirulina. For camu-camu the contribution was 3.6% for Mg intake in 1g of camu-camu, and 1.1% for Mn. Thus, based on this study, it was possible to evaluate the nutritional value of camu-camu and spirulina supplements in terms of minerals, based on the bioaccessible fractions of the minerals under study.

Keywords: camu-camu, spirulina, UBM method; FAAS; *in vitro* digestion.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Esquema representativo para a obtenção das frações bioacessível e biodisponível dos componentes ingeridos por meio dos alimentos24
- Figura 2 -** Suplementos alimentares de espirulina.....28
- Figura 3 -** Suplementos alimentares de camu-camu28
- Figura 4-** Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal (b) da amostra SP1 na fase gastrointestinal50
- Figura 5-** Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal (b) da amostra SP2 na fase gastrointestinal52
- Figura 6-** Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal (b) da amostra SP3 na fase gastrointestinal54
- Figura 7-** Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal e vitamina C (b) da amostra CC1 na fase gastrointestinal58
- Figura 8-** Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal e vitamina C (b) da amostra CC2 na fase gastrointestinal60
- Figura 9-** Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu, B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn,

Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal e vitamina C (b) da amostra CC3 na fase gastrointestinal61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Teores de IDR e UL de minerais para adultos de 19 a 50 anos.....	13
Quadro 2- Cultivo de espirulina em sistema fechado (a) e em sistema aberto (b) e estrutura microscópica da espirulina <i>Arthrospira platensis</i> (c)	17
Quadro 3- Fruto do camu-camu(<i>Myrciaria dubia</i>).....	19
Quadro 4- Concentração total (mg kg^{-1}) e frações bioacessíveis (%) de minerais (Mg, Fe, Mn, Zn e Cu) quantificados em dez suplementos nutricionais diferentes	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Programa de aquecimento de micro-ondas para tratamento das amostras de espirulina e camu-camu	33
Tabela 2 - Programa de aquecimento de micro-ondas para tratamento da amostra CC2	33
Tabela 3 - Composição química dos fluidos corporais simulados da metodologia UBM	34
Tabela 4 - Teores (%) da composição centesimal de camu-camu (CC) (média ± desvio padrão).....	36
Tabela 5 - Teores (%) da composição centesimal de espirulina (SP) (média ± desvio padrão).....	36
Tabela 6 - Valores (g 100 g ⁻¹) de vitamina C quantificados em camu-camu (CC) (média ± desvio padrão).....	41
Tabela 7 - Concentrações totais mg kg ⁻¹ (média ± desvio padrão) de Cu, Zn, Mn, Fe, Ca, Mg nos suplementos de espirulina (SP)	42
Tabela 8 - Concentrações totais mg kg ⁻¹ (média ± desvio padrão) de Cu Zn, Mn, Fe, Ca, Mg nos suplementos de camu-camu (CC).....	44
Tabela 9 - Granulometria da amostra de espirulina (SP1) macerada e não macerada	47
Tabela 10 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais na amostra de espirulina (SP1) macerada (mac.) e não macerada (não mac.) após digestão gástrica e gastrointestinal.....	47
Tabela 11 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de espirulina (SP) após a digestão gástrica	48

Tabela 12 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de espirulina (SP) após a digestão gastrointestinal.....	49
Tabela 13 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de camu-camu (CC) após a digestão gástrica	56
Tabela 14 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de camu-camu (CC) após a digestão gastrointestinal.....	57
Tabela 15 - Contribuição (%) do consumo de espirulina (SP) e camu-camu (CC) para o IDR dos elementos para uma porção de 1g (2 cápsulas) dia ⁻¹ , considerando o conteúdo total (CT) e bioacessibilidade gastrointestinal (BG).....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BARGE – Grupo de Pesquisa em Bioacessibilidade da Europa (*Bioaccessibility Research Group of Europe*)
- CC – Camu-camu
- FB- Fração bioacessível
- F AAS – Espectrometria de absorção atômica em chama (*flame atomic absorption spectrometry*)
- FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos (*Food and Drug Administration*)
- IDR – Ingestão Diária Recomendada
- LQ – Limite de quantificação
- min - Minutos
- NAS - Academia Nacional de Ciências– (National Academy of Sciences)
- PBET - Teste de Extração Fisiológica (*Physiologically Extraction Test*)
- RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
- rpm – Rotação por minuto
- SHIME - Simulador do Ecosistema Microbiano Intestinal Humano (*Human Intestinal Microbial Ecosystem Simulator*)
- SP – Espirulina
- UBM – Método Unificado de Bioacessibilidade (*Unified Bioaccessibility Method*)
- UL – Limite tolerável de ingestão (*Tolerable Upper Intake Levels*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1 DEFICIÊNCIA DE NUTRIENTE.....	12
2.2 MINERAIS.....	13
2.3 SUPLEMENTOS ALIMENTARES.....	13
2.3.1 Espirulina.....	15
2.3.2 Camu-camu.....	19
2.4 BIOACESSIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	20
3. OBJETIVO GERAL.....	24
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	25
4.2 INSTRUMENTAÇÃO.....	26
4.3 AMOSTRAS.....	27
4.4 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	28
4.5 MINERALIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	32
4.6 SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i>	34
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	36
5.2 VITAMINA C EM CAMU-CAMU.....	40
5.3 MINERAIS TOTAIS.....	42
5.4 BIOACESSIBILIDADE DOS MINERAIS NA ESPIRULINA.....	46
5.5 BIOACESSIBILIDADE DOS MINERAIS NO CAMU-CAMU.....	55
5.6 CONTRIBUIÇÃO NUTRICIONAL.....	63
6. CONCLUSÕES.....	65
7. REFERÊNCIAS.....	67

1. INTRODUÇÃO

Os consumidores de hoje estão cada vez mais atentos à segurança alimentar, qualidade dos alimentos e questões relacionadas com a saúde visando evitar o surgimento de doenças crônicas como a obesidade, osteoporose e diabetes (CENCIC; CHINGWARU, 2010; GULDAS et al., 2022). A deficiência nutricional ainda representa uma grande ameaça à saúde e ao desenvolvimento das populações em todo o mundo, especialmente em países de baixa renda (WHO, 2021). A melhor forma de melhorar a nutrição e a saúde humana, ainda é diversificar a dieta alimentar, incluindo suplementos que apresentem quantidades razoáveis de nutrientes essenciais como: minerais, vitaminas, antioxidantes e compostos bioativos (BALDERMANN et al., 2016). Nesse contexto, e seguindo uma tendência mundial por produtos alimentícios inovadores, os suplementos alimentares vem se tornando cada vez mais populares, apresentando-se como opções viáveis na suplementação nutricional da população em geral (LAFARGA, 2019).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os suplementos alimentares são caracterizados como produtos para ingestão oral, apresentado como fórmulas farmacêuticas, destinado a suplementar a alimentação de indivíduos saudáveis com nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos, isolados ou combinados (ANVISA, 2018a). É comprovado que o consumo de suplementos alimentares enriquece nutricionalmente a dieta (FULGONI et al., 2011), e diminui a deficiência de minerais quando comparado a dieta de não-consumidores de suplementos (BAILEY et al., 2011).

A demanda global por suplementos alimentares à base de microalgas está crescendo, sendo cada vez mais consumidas devido aos benefícios funcionais que elas oferecem, além das contribuições à nutrição e à saúde (WELLS et al., 2017). Elas podem ser consideradas como um ingrediente alimentar alternativo e promissor, devido à sua composição nutricional, riqueza em compostos bioativos e por serem consideradas uma fonte proteica sustentável para o futuro (BATISTA et al., 2017). A maior parte da biomassa das microalgas comercializada para fins alimentícios é de espirulina, vendida principalmente como suplemento alimentar em comprimido, cápsula ou em pó (LAFARGA, 2019). Sua excelente composição nutricional e bioativa possui propriedades imunoestimulantes, antioxidantes, antitumorais, neuro

protetoras, anti-inflamatórias, hipoglicemiantes e prebióticas (BORTOLINI et al., 2022). Os vários compostos bioativos da espirulina incluem ficocianina, polissacarídeos, ácidos graxos poliinsaturados, em especial o ácido γ -linolênico, compostos fenólicos, vitaminas, carotenóides, oligoelementos e minerais (HAN et al., 2021).

Similarmente aos suplementos à base de microalgas, alguns frutos de espécies nativas brasileiras, embora apresentem composição nutricional benéfica à saúde humana, ainda são negligenciados e subutilizados na rotina alimentar da população brasileira (PEREIRA et al., 2013). O aumento do conhecimento sobre a composição e atividades biológicas das frutas brasileiras subutilizadas, como as do gênero *Myrciaria*, pode estimular seu consumo, o uso comercial na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, criando oportunidades de lucro financeiro para as populações locais, bem como a restauração ambiental pelo aumento do cultivo dessas espécies (SCHULZ et al., 2020). O camu-camu é um exemplo disso e possui vários compostos nutricionais, como aminoácidos e ácidos graxos essenciais, vitaminas, minerais, bem como fitoquímicos, antioxidantes e substâncias anti-inflamatórias (CASTRO; MADDOX; IMÁN, 2018). No Brasil, o camu-camu ainda é pouco consumido, principalmente *in natura*, devido à elevada acidez da polpa, sendo necessário promover o desenvolvimento de derivados mais favoráveis ao paladar (MATTIETTO; CARVALHO; RIBEIRO, 2019).

Embora os suplementos alimentares apresentem elevado valor nutricional com base em alguns nutrientes, deve-se destacar que nem sempre o conteúdo nutricional presente no suplemento, sendo ele mineral ou qualquer outro nutriente, é disponibilizado totalmente no trato gastrointestinal para ser absorvido. Este fato está relacionado ao conceito conhecido como bioacessibilidade, que diz respeito a fração de uma substância, seja ela essencial ou contaminante, que é liberada a partir da matriz alimentar no sistema digestório e fica disponível para absorção intestinal. O estudo da bioacessibilidade pode ser realizado por meio de digestões *in vitro* do alimento, simulando as condições gastrointestinais do corpo humano (TOKALIOĞLU et al., 2014). Métodos *in vitro* são amplamente utilizados para estudar o comportamento gastrointestinal de nutrientes como: minerais, vitaminas e antioxidantes. Estes métodos têm a vantagem de serem mais rápidos, menos

onerosos financeiramente, menos trabalhosos e sem restrições éticas comparados aos métodos *in vivo* (MINEKUS et al., 2014).

Diferentes matrizes foram investigadas em ensaios *in vitro* como por exemplo: farinhas funcionais (FERREIRA; TARLEY, 2021), carne de cordeiro (DE HIGUERA et al., 2021), suplementos nutricionais (TOKALIOĞLU et al., 2014), frutas (DE LIMA et al., 2014; KHOUZAM; POHL; LOBINSKI, 2011), pães e biscoitos (URIBE-WANDURRAGA et al., 2020; VITALI; VEDRINA DRAGOJEVIĆ; ŠEBEČIĆ, 2008), frutos do mar e peixes (MOREDA-PIÑEIRO et al., 2012), café solúvel (STELMACH; SZYMCZYCHA-MADEJA; POHL, 2016) e mel (BILUCA et al., 2017). Contudo, não é relatado na literatura estudo de bioacessibilidade de minerais essenciais em espirulina e camu-camu, correlacionando a composição centesimal e sua influência na disponibilidade desses nutrientes.

Buscando estabelecer um procedimento padronizado e validado de bioacessibilidade *in vitro*, para estudar a bioacessibilidade humana, via trato gastrointestinal, o Grupo de Pesquisa em Bioacessibilidade da Europa (BARGE) desenvolveu um método unificado de bioacessibilidade (UBM). Este método, é capaz de fornecer dados reprodutíveis e robustos, com um protocolo detalhado de orientações e recomendações. Além disso, simula os processos químicos que ocorrem na boca, estômago e no intestino, usando soluções sintéticas que mimetizam a composição dos sucos gastrointestinais, sendo amplamente empregado em diferentes amostras alimentícias (ANDRADE et al., 2020; COSTA et al., 2022; FERREIRA; TARLEY, 2021; INTAWONGSE; KONGCHOUY; DEAN, 2018; TOKALIOĞLU, 2022; TOKALIOĞLU et al., 2014; XU et al., 2023; ZHUANG et al., 2020). Diante disso, permite avaliar o comportamento dos componentes da matriz alimentar durante a digestão gastrointestinal.

Assim, dado a importância em conhecer o valor nutricional de um suplemento, no que diz respeito aos minerais, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a bioacessibilidade de Ca, Mg, Fe, Zn, Cu e Mn, empregando o método UBM, em amostras de suplementos alimentares de espirulina e camu-camu. As concentrações totais, bioacessíveis e residuais de Ca, Mg, Fe, Zn e Mn foram quantificadas por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e Cu foi quantificado por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas (MP-AES). Juntamente, foi determinada a composição centesimal (cinzas, lipídios, proteínas e

fibras solúveis e insolúveis) da espirulina e camu-camu, bem como a vitamina C de camu-camu, buscando uma correlação com valores de bioacessibilidade através da correlação de *Spearman*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DEFICIÊNCIA DE NUTRIENTES

Atualmente a busca por alimentos nutritivos e funcionais tem sido crescente, muito em razão da maior conscientização do consumidor a respeito desses alimentos e também em razão da estreita relação entre nutrição e muitas doenças (GULDAS et al., 2022). A má-nutrição é responsável não somente pela desnutrição e a falta de vitaminas ou minerais adequados, mas também pela maioria dos casos de obesidade e doenças resultantes da dieta, como: colesterol, diabetes, triglicérides, entre outras. As consequências dessas situações de desnutrição e insegurança alimentar são muitas e afetam negativamente a função de todos os órgãos do sistema humano, sendo a causa de muitas mortes (WHO, 2021).

Buscando superar a desnutrição e alcançar o suprimento ideal dos nutrientes para o corpo humano, várias regulamentações que indicam a quantidade ideal de minerais, por exemplo, a ser ingerida na dieta alimentar diária (IDR – Ingestão Diária Recomendada) em vários países (FAO, 2004; FDA, 2016) e também no Brasil (ANVISA, 2012) foram publicadas. Assim como a IDR, os valores máximos de ingestão diária recomendados (UL - *Tolerable Upper Intake Levels*) também foram regulamentados no país (ANVISA, 2018b).

De acordo com a Resolução Anvisa nº 243/2018, a substância bioativa ou composto bioativo é todo nutriente (vitaminas ou minerais) ou não nutriente (licopeno, ômega-3, fenólicos) consumido normalmente como componente de um alimento, que possui ação metabólica ou fisiológica específica no organismo humano (ANVISA, 2018a, 2021). Considerando a necessidade de complementação nutricional na alimentação humana, através da introdução de suplementos alimentares ricos em vitaminas, minerais e compostos bioativos, se faz necessário pesquisas em suplementos com maior teor destes nutrientes.

2.2 MINERAIS

Os alimentos são compostos por macronutrientes: carboidratos, proteínas e gorduras e também por micronutrientes: vitaminas e minerais (ANVISA; UNB, 2001). Os macronutrientes além de fornecer energia, desempenham papel fundamental para o crescimento, metabolismo, produção de enzimas e hormônios e demais funções do corpo (NORTON et al., 2015). Quantidades adequadas de micronutrientes são essenciais para a manutenção das diversas funções metabólicas, assim, a ingestão inadequada de vitaminas e minerais pode acarretar estados de carência nutricional, bem como várias manifestações patológicas (VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ et al., 1997). A falta de minerais essenciais pode ocasionar alterações metabólicas e colocar em risco a saúde humana (LOUZADA et al., 2022). A partir das quantidades necessárias ao organismo estabelecidas no IDR (Quadro 1), os minerais podem ser divididos em macrominerais, que são elementos requeridos em quantidades acima de 100 mg dia⁻¹ (Ca, K, Mg e Na), e microminerais (Al, Ba, Cu, Fe, Cr, Mn, Mo, Ni, Sr e Zn), onde o IDR é inferior a 100 mg dia⁻¹ (BARROSO et al., 2009; MORAES et al., 2021; SPADA et al., 2010).

Quadro 1- Teores de IDR e UL de minerais para adultos de 19 a 50 anos

Minerais	IDR (mg dia ⁻¹)		UL (mg dia ⁻¹)
	ANVISA	FDA	ANVISA e NAS
Mg	260	420	350
Ca	1000	1300	2000 e 2500
Fe	14	18	45
Mn	2,3	2,3	11
Zn	7	11	40
Cu	0,9	0,9	10

Fonte: (ANVISA, 2005, 2018b; FDA, 2016; NAS, 2019)

No âmbito global, a deficiência nutricional de vitaminas e minerais afeta um número significativo de pessoas. O progresso na diminuição dessas deficiências ocorre de forma lenta e incipiente, de forma que os níveis de desnutrição ainda são expressivamente altos (FANZO et al., 2019).

Entre os cinco micronutrientes menos consumidos, sem dietas diversificadas, estão o Zn e o Fe. Esses minerais são considerados de relevância para a saúde pública, sendo escassos em dietas à base de cereais e tubérculos, como arroz, milho, trigo, batata ou mandioca (WHO; FAO, 2004). O Zn é o segundo elemento traço mais abundante no corpo humano depois do Fe, desempenhando importante papel na regulação da atividade enzimática e expressão gênica, no metabolismo de substâncias e no sistema imunológico, sendo assim, de grande relevância as suas ingestões para o bom funcionamento do organismo (GE et al., 2023; ZALEWSKI et al., 2005). O Mg é um elemento essencial e necessário em quantidades relativamente grandes ao nosso organismo. Várias funções fisiológicas cruciais, como ritmo cardíaco, tônus vascular, função nervosa, contração e relaxamento muscular dependem fortemente de magnésio (JAHNEN-DECHENT; KETTELER, 2012). Ca e Mg, desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e manutenção do osso e outros tecidos calcificados. No corpo humano, 99% do cálcio e 50 a 60% do magnésio são encontrados nos ossos ou em outros tecidos calcificados. O restante do cálcio está presente no sangue, fluido extracelular, músculo e outros tecidos, onde desempenha um papel na mediação da contração vascular e vasodilatação, contração muscular, transmissão nervosa e secreção glandular (IOM, 1997). O Mn é um elemento essencial exigido pelos organismos, desde bactérias simples até plantas, animais e seres humanos (HEENA; MALIK, 2020), sendo um metal de transição que tem funções bioquímicas essenciais metabolismo de aminoácidos, carboidratos, colesterol e a formação de tecido conjuntivo e ósseo. Também atua como cofator para várias enzimas, mas em níveis altos podem causar danos neurológicos graves como distúrbios psiquiátricos, distúrbios do movimento, semelhantes aos observados na doença de Parkinson, como tremores, rigidez e lentidão dos movimentos (MICHALKE, 2016).

O cobre é um cofator de várias enzimas, é importante para o transporte e absorção de ferro, metabolismo energético, além de auxiliar no funcionamento do sistema imune e ter função antioxidante (ANVISA, 2018c; BARROSO et al., 2009). Frutas e vegetais contêm quantidades relativamente baixas de cobre, contudo podem contribuir para a IDR do micromineral. A baixa ingestão de cobre pode gerar problemas como anemia, neutropenia, anomalias ósseas, câncer de mama e doenças cardiovasculares (BARROSO et al., 2009; TOGNON, 2012).

2.3 SUPLEMENTOS ALIMENTARES

A ANVISA através da Portaria nº 243/2018 define suplemento alimentar como um “produto para ingestão oral, apresentado em formas farmacêuticas, destinado a suplementar a alimentação de indivíduos saudáveis com nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos, isolados ou combinados” (ANVISA, 2018a). A mesma Agência através da Portaria nº 32/1998, estabelece também que os suplementos vitamínicos e/ou de minerais são alimentos que servem para complementar com estes nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, em casos em que sua ingestão, a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requerer suplementação (ANVISA, 1998). Com a publicação da RDC nº 242/2018 e da RDC nº 243/2018, os valores de IDR não são mais balizadores para definir se determinado suplemento é um alimento ou medicamento. A nova normatização estabeleceu que são considerados medicamentos somente os produtos à base macro e micronutrientes, para uso oral, com indicações terapêuticas bem estabelecidas e distinta das alegações aprovadas para suplementos alimentares (ANVISA, 2020b).

Os minerais em suplementos nutricionais são substâncias essenciais para o metabolismo normal, crescimento e desenvolvimento, estrutura corporal, regulação da função celular e equilíbrio eletrolítico nos fluidos corporais (TOKALIOĞLU et al., 2014). É comprovado que o consumo de suplementos alimentares diminui a deficiência de minerais quando comparado a dieta de não-consumidores de suplementos (BAILEY et al., 2011). Suplementos alimentares derivados de microalgas como a espirulina, ou frutos nativos como camu-camu, possuem quantidades consideráveis de minerais (BORTOLINI et al., 2022; HAN et al., 2021; MATTIETTO; CARVALHO; RIBEIRO, 2019; MONTERO et al., 2020).

2.3.1 Espirulina

Há várias décadas esforços intensos vem sendo feitos para explorar novas fontes alternativas de proteína como suplementos alimentares, considerando uma oferta insuficiente de proteína no futuro. A biomassa de microalgas mostra qualidades promissoras como uma nova fonte de proteína, e a qualidade média da maioria das algas examinadas é igual, ou até superior em comparação com proteínas vegetais

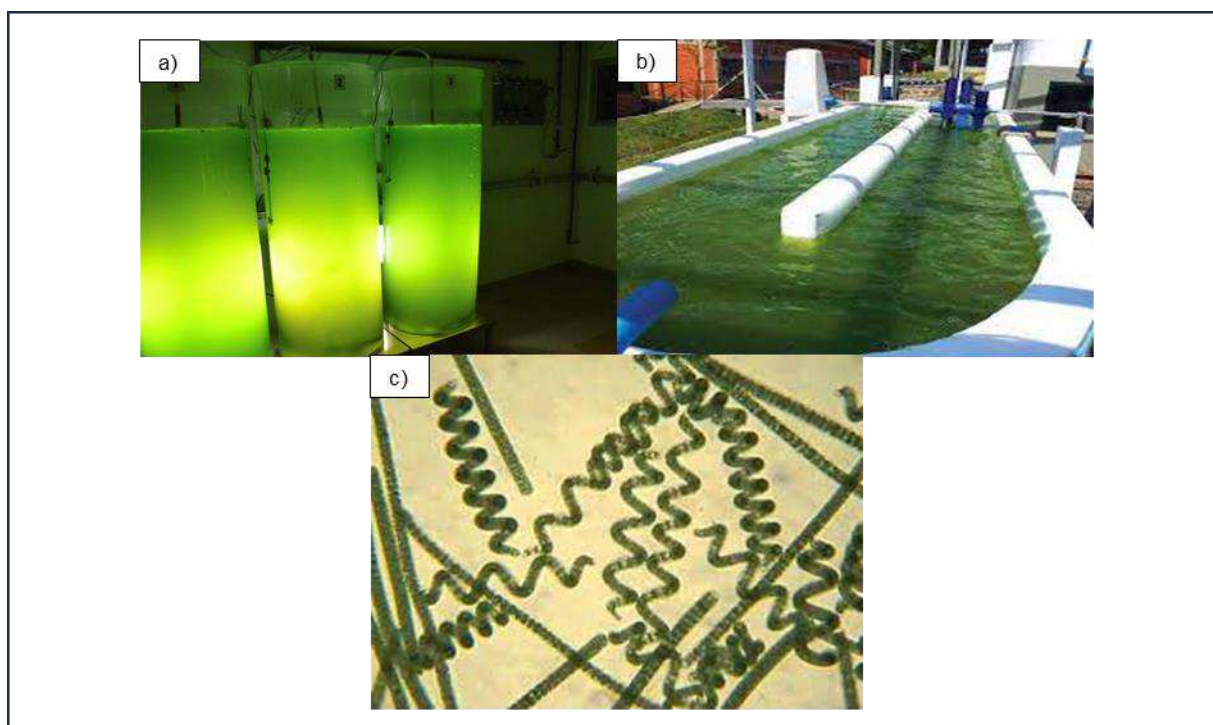
convencionais (BECKER, 2007). As microalgas têm o potencial de ser uma solução sustentável de alimentos e rações, com características atraentes para a produção sustentável em larga escala, como os altos rendimentos de biomassa por unidade de área e a capacidade de serem cultivadas em terras não aráveis usando água não potável ou salgada (TORRES-TIJI; FIELDS; MAYFIELD, 2020). As cianobactérias, também conhecidas como algas verde azuladas, são um filo de microrganismos que estão relacionados com as bactérias, mas são capazes de realizar a fotossíntese. Por esse motivo, as cianobactérias são geralmente incluídas no grupo das microalgas (BELAY; GERSHWIN, 2007). O gênero mais conhecido é *Spirulina*, um nome comercial utilizado para designar principalmente duas espécies de cianobactérias: *Arthrospira platensis* e *Arthrospira maxima*.

A espirulina é a microalga mais cultivada no mundo, representando mais de 30% da produção mundial de biomassa de microalgas. É também a cianobactéria mais consumida por humanos e animais (COSTA et al., 2019). Sua estrutura é filamentosa, em forma de espiral, multicelular, atingindo tamanhos de 0,5 mm de comprimento (BECKER, 2007). A espirulina desenvolve-se naturalmente em lagos alcalinos salinos, lagos subtropicais e tropicais característicos da América Central, América do Sul, África e Ásia, sendo encontrada também em fontes quentes, pântanos e água doces (ALAGAWANY et al., 2021; ANDRADE et al., 2019). Devido a boa adaptabilidade dessa microalga em ambientes extremos, seu cultivo e consumo foram disseminados em outras áreas do mundo (COSTA et al., 2019). No cultivo comercial, normalmente utiliza-se sistemas de lagoas abertas, essa tecnologia de cultivo permite a produção em larga escala, e com menor custo (MA et al., 2019) Esses sistemas abertos são de diferentes dimensões podem ser construídos com concreto escavado ou revestimentos poliméricos. Também pode ser cultivada, de forma menos comum, em sistemas fechados ou híbridos (THEVARAJAH et al., 2022). A maior parte da biomassa da espirulina produzida hoje é consumida como suplemento nutricional promovido como “superalimento” e vendido como pó seco, flocos ou cápsulas (LAFARGA, 2019). A América do Sul representa 8% da participação no mercado de espirulina em pó, que também é segmentado na América do Norte (38%), Europa (27%), Ásia-Pacífico (21%) e resto do mundo (6%) (BORTOLINI et al., 2022).

A espirulina também possui uma enorme variedade e concentração de macro e micronutrientes, bem como compostos bioativos, como ácidos graxos insaturados,

aminoácidos, carotenóides e compostos fenólicos, sendo comercializada mundialmente como suplemento alimentar ou ingrediente ativo de bebidas e alimentos funcionais (HAN et al., 2021; SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019). Além disso, é um suplemento com alto teor proteico, e se destaca quando comparado às concentrações de proteínas e digestibilidade de outras microalgas (NICCOLAI et al., 2019). Sua variedade em compostos bioativos, a tornam um sistema antioxidante único, com fortes efeitos terapêuticos em muitas doenças causadas por danos oxidativos, além de ser uma fonte de ácido linoleico, extensamente utilizado em tratamentos de saúde (HAN et al., 2021; WANG et al., 2015).

Quadro 2- Cultivo de espirulina em sistema fechado (a) e em sistema aberto (b) e estrutura microscópica da espirulina *Arthrospira platensis* (c)



Fonte: a) Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR); b) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA); c) (GRATON, 2019)

A espirulina também é rica em minerais, quando comparada a outras fontes alimentares. Além de P e K, são encontrados em maior abundância, em ordem decrescente, Na, Mg, Ca e Fe, além de outros minerais em menores quantidades, como Mn, Zn, Cr, Cu, I e Se (CAPELLI; CYSEWSKI, 2010). A espirulina também tem sido aplicada no setor alimentício para enriquecimento de biscoitos (URIBE-WANDURRAGA et al., 2020), alimentação de peixes e frutos do mar (PAKRAVAN et

al., 2017; RAJI et al., 2018), e em massa de pão (RODRÍGUEZ DE MARCO et al., 2014).

Em estudo sobre o combate à desnutrição em crianças na África Central, a administração de espirulina na dose de 10 g dia⁻¹, indicou melhoria significativa e rápida no estado nutricional das crianças desnutridas. Observou-se que após 30 dias de consumo, a anemia grave diminuiu de 20% para 6% do total da população amostral. Essa diminuição do quadro anêmico foi atrelada à presença de vitaminas, micronutrientes e ao teor de ferro da espirulina (MATONDO et al., 2016). Há evidências substanciais dos benefícios para a saúde de produtos alimentícios derivados de algas, mas ainda há desafios consideráveis na quantificação desses benefícios (WELLS et al., 2017). Avançar no conhecimento sobre a composição bioquímica e a digestibilidade das microalgas é o primeiro requisito fundamental para obtenção de produtos e coprodutos alimentares à base de algas. Vale ressaltar que, para avaliar completamente a qualidade nutricional das microalgas, deve-se determinar também o teor de vitaminas, minerais e bioativos, e a sua bioacessibilidade e biodisponibilidade (NICCOLAI et al., 2019). A escassez de estudos na literatura sobre os compostos bioativos, como vitaminas, oligoelementos e metabólitos secundários, e com foco nas diferenças de potência e funcionalidade dos principais compostos bioativos, são obstáculos para as aplicações comerciais da espirulina (HAN et al., 2021). O crescente interesse por alimentos saudáveis impulsiona o desenvolvimento de pesquisas voltadas para a descoberta de alimentos funcionais uma vez que refere-se à uma categoria de alimentos relativamente nova de nutrientes e não-nutrientes, cujo consumo deve produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde que vão além da nutrição básica (ANVISA, 1999; LAFARGA; HAYES, 2017).

Nesse sentido, suplementos alimentares derivados de uma microalga com rica composição nutricional e fitoquímica, como a espirulina, são utilizados como produto com finalidades funcionais apreciáveis (BENELHADJ et al., 2023; BORTOLINI et al., 2022; HAMZALIOĞLU; GÖKMEN, 2016), e o conhecimento de suas propriedades, permite o desenvolvimento de novos produtos à base dessa microalga (ALMEIDA et al., 2021; LAFARGA et al., 2020). Logo, estudos de bioacessibilidade de minerais da espirulina contribuem para o estabelecimento de uma melhor avaliação nutricional do suplemento alimentar promovendo maior ou menor valor agregado ao produto.

2.3.2 Camu-camu

A Floresta Amazônica é conhecida mundialmente por sua rica biodiversidade, principalmente por sua grande variedade de alimentos ricos em compostos que produzem benefícios à saúde humana (COMAPA et al., 2019). Contudo, muitos desses alimentos ainda são pouco conhecidos e tem recebido estudo limitado (CURIMBABA et al., 2020). O camu-camuzeiro (*Myrciaria dubia*) é uma das opções agrícolas mais adequadas ao bioma amazônico, visto a sua extraordinária adaptabilidade às características edafoclimáticas, e uma das frutíferas mais promissoras, dada a sua importância econômica, social e nutricional (YUYAMA et al., 2003). O seu fruto, camu-camu, possui vários compostos nutricionais essenciais, entre eles: aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais, bem como fitoquímicos com poderosas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, devido a presença dos compostos fenólicos, vitaminas A e C, e ácido betulínico (CASTRO; MADDOX; IMÁN, 2018; GARCÍA-CHACÓN; MARÍN-LOAIZA; OSORIO, 2023), os quais assumem papel relevante na diminuição do risco de doenças como o mal de Alzheimer, hiperglicemia, hipertensão e obesidade (AKTER et al., 2011; BUTTERFIELD et al., 2002; FUJITA et al., 2015; SANTOS et al., 2022). Contudo, no Brasil, o camu-camu ainda é pouco consumido, principalmente *in natura*, por causa da elevada acidez da polpa. Nesse sentido, a inserção desse alimento na forma de suplemento em pó torna-se viável, por ser uma opção mais favorável ao paladar sem perder as propriedades nutricionais (MATTIETTO; CARVALHO; RIBEIRO, 2019).

Quadro 3- Fruto do camu-camu(*Myrciaria dubia*)



Fonte: EMBRAPA

Como mencionado, este fruto também é reconhecido pelo seu alto teor de vitamina C (ácido ascórbico) (MATTIETTO; CARVALHO; RIBEIRO, 2019), sendo relatado concentrações significativamente altas quando comparado a outras frutas (GENOVESE et al., 2008) como açaí, caju, jabuticaba, laranja, limão, lima, maçã, mangaba e mamão (BUNGĂU et al., 2011; CRUZ REINA et al., 2022; DI MATTEO et al., 2021; FANG et al., 2017; NAJWA; AZRINA, 2017; RUFINO et al., 2010), superando inclusive frutas com alto teor de vitamina C, como a acerola (CUNHA-SANTOS et al., 2019). Ainda, quantidades apreciáveis de potenciais antioxidantes, como as antocianinas, os polifenóis (RUFINO et al., 2010) e os carotenóides (AKTER et al., 2011), tem sido encontradas em camu-camu. Em estudos de quantificação de minerais em camu-camu foi possível encontrar, em maior concentração, K, N, Ca, S, P, Mg e Mn (MONTERO et al., 2020; RIBEIRO, et al., 2016).

O monitoramento da concentração de elementos essenciais e potencialmente tóxicos nos frutos de camu-camu também é fundamental para preservação da saúde humana, visto que quando em excesso podem causar diversos distúrbios fisiológicos (LOUZADA et al., 2022). A manutenção do equilíbrio mineral não depende somente da ingestão do mineral, mas majoritariamente da quantidade que está disponível para ser absorvida (FRONTELA; ROS; MARTÍNEZ, 2011). De maneira similar aos estudos concernentes a espirulina, não há relatos na literatura sobre bioacessibilidade de minerais de camu-camu comercializado na forma de pó e, portanto, os resultados desse trabalho permitirão uma melhor avaliação do conteúdo nutricional dessa fruta em relação ao conteúdo de minerais bioacessíveis.

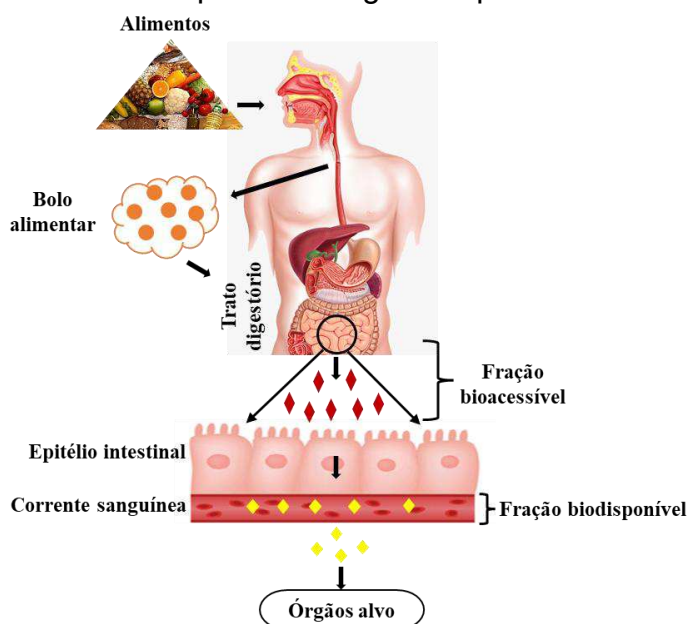
2.4 BIOACESSIBILIDADE *IN VITRO*

Os alimentos são digeridos no trato gastrointestinal por meio da quebra das moléculas em produtos de baixo peso molecular, que podem ser absorvidos pelo organismo. A digestão inicia-se na boca, onde o alimento sofre degradação mecânica via mastigação e quebra enzimática pela α -amilase salivar. O bolo alimentar é deglutido e ao chegar ao estômago sofre ação do fluido gástrico e das enzimas digestivas. O alimento é misturado pela contração muscular e movimentos peristálticos da parede do estômago. Do estômago este quimo é transportado para o intestino delgado onde ocorre a maior parte da digestão. Nesta etapa os macronutrientes são emulsionados pelos sais biliares e hidrolisados pelas enzimas

pancreáticas, sendo então absorvidos através das vilosidades da parede intestinal para a corrente sanguínea (MARZE, 2022; NORTON et al., 2015).

A informação do conteúdo total de uma substância em um alimento indica, de maneira geral, o caráter nutritivo do alimento. No entanto deve-se destacar que nem todo conteúdo nutricional presente no alimento é disponibilizado no trato gastrointestinal para ser absorvido. Assim, a fração de uma substância, seja ela essencial ou contaminante, que é liberada a partir da matriz alimentar no trato gastrointestinal, e fica disponível para absorção intestinal é conhecida como fração bioacessível, enquanto a fração biodisponível refere-se à quantidade de substância disponível para ser utilizada para as funções fisiológicas (TOKALIOĞLU et al., 2014), conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1- Esquema representativo para a obtenção das frações bioacessível e biodisponível dos componentes ingeridos por meio dos alimentos



Fonte: Adaptado de Guerra et al. (2012).

Neste contexto o estudo da bioacessibilidade e biodisponibilidade dos nutrientes se faz importante, de forma a avaliar seu potencial de absorção pelo organismo (MINEKUS et al., 2014; SOUZA et al., 2018a). A bioacessibilidade pode ser quantificada por meio de testes *in vivo* ou *in vitro* (MARZE, 2022). A estimativa da bioacessibilidade *in vivo* caracteriza-se na dosagem de substâncias em seres humanos ou animais, em variadas concentrações (MOREDA-PIÑEIRO et al., 2011) entretanto, necessita de uma infraestrutura específica, alto custo, maior quantidade

de tempo exigido, além de restrições éticas (CARDOSO et al., 2015; INTAWONGSE; DEAN, 2006).

Métodos *in vitro* simulam as condições gastrointestinais do corpo humano, dentre elas: temperatura, movimentos peristálticos, pH, tempo de digestão e presença de enzimas digestivas, sendo amplamente utilizados para estudar o comportamento gastrointestinal de alimentos em seres humanos. Estes métodos têm a vantagem de serem mais rápidos, menos onerosos financeiramente, menos trabalhosos e não apresentarem restrições éticas, comparado ao método *in vivo*. Isso proporciona um número relativamente grande de amostras a serem medidas de forma paralela para fins de triagem, além de outras vantagens características como: reprodutibilidade, escolha de condições controladas e fácil amostragem no local de interesse, o que torna os modelos *in vitro* muito adequados para estudos de triagem e construção de hipóteses (MINEKUS et al., 2014; MOREDA-PIÑEIRO et al., 2011).

Alguns trabalhos reportados na literatura relatam estudos de bioacessibilidade de macro e microminerais em diferentes amostras de origem vegetal, tais como farinhas funcionais (FERREIRA; TARLEY, 2021), frutas (DE LIMA et al., 2014; KHOUZAM; POHL; LOBINSKI, 2011), café solúvel (STELMACH; SZYMCZYCHA-MADEJA; POHL, 2016). De origem animal, como carne de cordeiro (DE HIGUERA et al., 2021) frutos do mar e peixes (MOREDA-PIÑEIRO et al., 2012), e mel (BILUCA et al., 2017) e processados, como pães e biscoitos (URIBE-WANDURRAGA et al., 2020; VITALI; VEDRINA DRAGOJEVIĆ; ŠEBEČIĆ, 2008). Foram relatados também estudos de bioacessibilidade de minerais em suplementos nutricionais (TOKALIOĞLU et al., 2014). No entanto, o conhecimento sobre a bioacessibilidade de elementos metálicos essenciais ou potencialmente tóxicos em alguns alimentos de elevado valor agregado ainda é desconhecido (TOKALIOĞLU et al., 2014). Atualmente, os métodos *in vitro* são os mais utilizados na bioacessibilidade de minerais, método de triagem de alto rendimento que pode prever a bioacessibilidade de minerais e de outros nutrientes (ROUSSEAU et al., 2019). Os métodos de digestão *in vitro* para determinação da bioacessibilidade podem ser divididos em estáticos e dinâmicos. Em modelos estáticos, a simulação das condições fisiológicas do trato gastrointestinal considera a digestão que ocorre na boca, estômago e intestino, e parâmetros como temperatura, pH, tempo de digestão, velocidade de agitação, composição química dos fluidos salivar, gástrico, duodenal e biliar. Contudo, nesse modelo os produtos da digestão

não imitam processos físicos como cisalhamento, mistura, hidratação e, portanto, permanecem principalmente imóveis. Em modelos dinâmicos, modificações graduais no pH e na concentração de enzimas também podem ser feitas, proporcionando melhor simulação do ambiente em relação à situação real *in vivo*. Em contrapartida são relativamente complexos, onerosos na montagem e manutenção, e por permitir somente a digestão de uma amostra de cada vez, a aplicação deste modelo exige muito tempo. Sendo os modelos estáticos mais utilizados por seu custo-benefício (CARDOSO et al., 2015; SOUZA et al., 2018a; WITTSIEPE et al., 2001).

Diversos métodos de digestão *in vitro* são descritos na literatura, alguns exemplos de modelos gastrointestinais estáticos são: os testes PBET (Teste de Extração Fisiológica) (RUBY et al., 1996), solubilidade, dialisabilidade (LUTEN et al., 1996; MILLER et al., 1981), o modelo da rede INFOGEST (MINEKUS et al., 2014) e o método padronizado UBM (Método Unificado de Bioacessibilidade) (WRAGG et al., 2009; OOMEN et al., 2003). Dos métodos dinâmicos, o mais empregado é o modelo gastrointestinal TNO (TIM) (OOMEN et al., 2002; MINEKUS et al., 1995) e o SHIME (Simulador do Ecosistema Microbiano Intestinal Humano) (MOLLY et al., 1994).

O método UBM, desenvolvido pelo BARGE é realizado à 37 °C (temperatura corporal), em função das atividades enzimáticas e de características químicas, como a solubilidade, que são afetadas pela temperatura. A simulação leva em consideração as condições fisiológicas em jejum, consistindo em duas fases: gástrica e gastrointestinal. A amostra na fase gástrica consiste em uma solução de extração removida do sistema após simulação da saliva bucal seguida do fluido gástrico do estômago (pH 1,2), enquanto a amostra na fase gastrointestinal consiste em uma solução de extração removida após a simulação da boca, estômago e intestino delgado (fluido duodenal e sais biliares; pH 6,3) (PELFRÊNE et al., 2012; TOKALIOĞLU et al., 2014; WRAGG et al., 2011).

O método de digestão *in vitro* UBM reflete muitos aspectos fisiológicos fundamentais na bioacessibilidade de metais e tem como principal vantagem ser relativamente fácil de aplicar, de modo que várias dezenas de amostras podem ser manipuladas dentro de um tempo limitado (OOMEN et al., 2003). Diferente de alguns métodos disponíveis que replicam apenas a digestão no estômago e intestino, que não consideram os reagentes envolvidos em cada compartimento digestivo, o método UBM permite a simulação de uma digestão gastrointestinal completa (SOUZA et al.,

2018a). Alguns trabalhos reportados na literatura relatam estudos de bioacessibilidade de minerais utilizando o método UBM em hortaliças (WANG et al., 2015), frutas e legumes (TOKALIOĞLU, 2022), frutos do mar (CHI et al., 2018; FU et al., 2021), farinhas (DE CARVALHO et al., 2022), oleaginosas (HERRERA-AGUDELO; MIRÓ; ARRUDA, 2017; SOUZA et al., 2018a, 2018b), cereais (ZHUANG et al., 2020), algas (INTAWONGSE; KONGCHOUY; DEAN, 2018) e suplementos alimentares (TOKALIOĞLU et al., 2014).

3. OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo determinar a concentração total e a fração bioacessível de minerais (Ca, Mg, Zn, Fe, Mn e Cu), após a simulação gastrointestinal *in vitro* de camu-camu e espirulina comercialmente vendidas como suplementos alimentares naturais.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração total dos minerais por FAAS e MP-AES.
- Determinar a bioacessibilidade dos minerais por meio do método *in vitro* UBM.
- Determinar a composição centesimal da espirulina e camu-camu.
- Determinar o teor de vitamina C em camu-camu.
- Estabelecer correlações, por meio da correlação de *Spearman*, sobre a composição das amostras (minerais e composição centesimal) com as porcentagens de bioacessibilidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Todas as vidrarias e frascos utilizados neste trabalho foram anteriormente descontaminados em banho de HNO₃ 10% (v v⁻¹) durante 24h. Água deionizada ultrapura, com resistividade de 18,2 MΩ cm obtida por meio de um sistema de purificação ELGA PURELAB® Máxima (High Wycombe, Bucks, Reino Unido), foi empregada no preparo de soluções e diluições.

As enzimas e reagentes utilizados nas análises de fibras foram adquiridos da Sigma-Aldrich®, sendo: α-amilase termoestável (A3306), amilogucosidase (A9913), protease (P3910), (MES) Ácido 2-morfolinoetanossulfônico (69892) e TRIS (hidroximetil)aminometano (T1503). Para as demais análises centesimais foram utilizados ácido sulfúrico concentrado (95-99%), sulfato de sódio anidro (99%) e hidróxido de sódio (98%) adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil), sulfato de cobre pentahidratado (98%) adquirido da Biotec (Brasil), vermelho de metila P.A e verde de bromocresol P.A adquiridos da Nuclear (Brasil), ácido bórico (99,0%) adquirido da Chemco (Brasil), éter de petróleo (30-70%), acetona (99,5%), dióxido de titânio anidro, álcool metílico, adquiridos da Synth (São Paulo, SP, Brasil), clorofórmio (Sigma-Aldrich®), e para determinação de vitamina C foram utilizados iodato de potássio (Nuclear, Brasil), iodeto de potássio (Merck, Darmstadt, Germany) e amido solúvel (Sigma-Aldrich®).

Para digestão ácida das amostras foram utilizados ácido nítrico (≥65% v v⁻¹, Sigma-Aldrich®) e peróxido de hidrogênio (50% v v⁻¹, Dinâmica). Foi empregado soluções mono elementares de referência (Specsol®, Jacareí, SP, Brasil) para construção das curvas analíticas, através de diluições sucessivas das soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ de Ca, Zn, Fe, Mg e Mn nas seguintes concentrações 0,1 a 2,0 mg L⁻¹ (Ca), 0,1 a 1,5 mg L⁻¹ (Zn), 0,1 a 3,0 mg L⁻¹ (Fe), 0,05 a 0,5 mg L⁻¹ (Mg), 0,1 a 3,0 mg L⁻¹ (Mn) e 10 a 60 µg L⁻¹ (Cu).

As enzimas e reagentes utilizados nos ensaios de bioacessibilidade foram adquiridos da Sigma-Aldrich®, sendo: α-amilase (espécie bacilo – A6814),

mucina tipo II suína (M1778), pepsina, da mucosa gástrica suína (P7000), lipase do pâncreas de suíno (L3126), pancreatina do pâncreas de suíno (P7545), bile bovina (B3883), albumina bovina (A7906), ácido D-glucurônico, cloridrato de glucosamina, ácido úrico, tiocianato de potássio ($\geq 99\%$) e cloreto de sódio (99,5%). Os demais sais usados foram cloreto de potássio (99%, Química Moderna), fosfato monobásico de potássio (98%) e cloreto de cálcio anidro (99-107%) adquiridos da Nuclear, bicarbonato de sódio (99,7-100,3%), cloreto de amônio (99,5%), sulfato de sódio (99%) e D (+) glucose adquiridos da Synth, cloreto de magnésio hexahidratado (99-102%, Merck, Darmstadt, Germany), fosfato monobásico de sódio (J.T. Baker) e uréia (CAAL). Soluções de NaOH 1,0 mol L⁻¹ e HCl 1,0 mol L⁻¹ foram usadas para ajuste de pH.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

Para a digestão ácida das amostras foi utilizado um forno de micro-ondas de laboratório de alta pressão (Milestone ETHOS one, Sorisole, Itália) equipado com 10 recipientes de Teflon® com capacidade de 100 mL. Após a mineralização das amostras, elas foram levadas quase à secura em uma chapa de aquecimento (Marconi MA 239, Piracicaba, SP, Brasil). A quantificação dos minerais foi realizada utilizando um espectrômetro de absorção atômica de chama (FAAS, Shimadzu AA-7000, Tóquio, Japão) com uma lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo. Foi utilizado como fonte de radiação lâmpadas de cátodo oco (Hamamatsu Photonics, K.K) para a quantificação da concentração de cálcio, magnésio, zinco, ferro e manganês. O comprimento de onda (nm) usado foi: Zn – 212,9, Fe – 248,3, Mn – 279,5, Mg – 285,2 e Ca – 422,7. A chama foi composta por uma mistura de ar-acetileno com vazões de 15,0 L min⁻¹ e 2,0 L min⁻¹, respectivamente. Para a quantificação de cobre foi utilizado um espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas (MP-AES, Agilent Technologies 4200, Santa Clara, EUA). O MPAES 4200 utiliza um gerador de nitrogênio (4107). O fluxo de gás plasma foi fixado em 20 L min⁻¹ e o fluxo de gás auxiliar foi fixado em 1,5 L min⁻¹. O comprimento de onda utilizado para a quantificação de cobre foi 324,754 nm. Para determinação de cobre, foram aplicadas configurações: vazão do nebulizador foi de 0,7 mL/min⁻¹, tempo de captação 15 s, tempo de estabilização

do plasma com aspiração da amostra 15 s, tempo de leitura 3 s (lido em triplicata) e tempo de lavagem 20 s. Correção automática de fundo foi usada.

Os equipamentos utilizados visando a determinação da composição centesimal foram: estufa de secagem à vácuo 105° C (Nova Ética, Labstore), forno mufla (Quimis, Diadema, SP), bloco digestor (FOSS Tecator Digestor Auto, São Paulo, SP), extrator de solvente (VELP SCIENTIFICA® SER 148, Usmate Velate, Itália), mesa agitadora e sistema de destilação Kjeldahl (FOSS Kjeltex™ 8100 Distillation Unit, Dinamarca).

Para as análises de bioacessibilidade utilizou-se uma centrífuga (Eppendorf 5804 R, Alemanha), um medidor de pH (Metrohm® 826) e um banho metabólico tipo Dubnoff com agitação (Marconi 093/1). Para a pesagem dos reagentes e amostras foi utilizado uma balança analítica (Shimadzu AUX 220, Tóquio, Japão).

4.3 AMOSTRAS

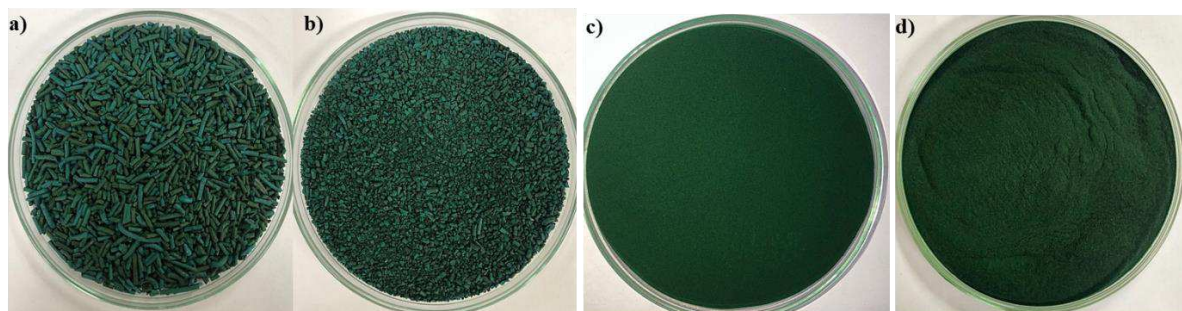
Todas as amostras de espirulina e camu-camu foram adquiridas em lojas de produtos naturais da cidade de Londrina. No total foram estudadas 3 marcas de espirulina e 3 marcas de camu-camu, sendo cada marca de mesmo lote. As amostras foram abreviadas da seguinte forma: espirulina (SP1, SP2 e SP3) e camu-camu (CC1, CC2, CC3). Todas as amostras avaliadas estavam na forma de pó, com exceção da espirulina SP1 (originária do Amazonas), comercializada na forma granulada conforme a Figura 2. A amostra SP1 foi macerada em almofariz para efeito de comparação com as outras marcas de espirulina na forma de pó.

Foram adquiridas 3 embalagens de SP1 (30g cada) e de SP2 (120 cápsulas de 500 mg) e 2 frascos de SP3 (100g cada, em pó) e CC1 (150g cada, em pó), 3 frascos de CC2 (60 cápsulas, 400mg) e CC3 (60 cápsulas, 500mg).

As imagens das amostras de camu-camu utilizadas nesse estudo estão apresentadas na Figura 3. Segundo os fornecedores, o pó de camu-camu da marca CC1 foi obtido somente da polpa sem incluir casca e sementes, possui 21% do fruto e 78% de polidextrose, informa-se também no rótulo a adição de stevia e dióxido de silício (antiumectante). A amostra CC2 também foi produzida a partir da polpa da fruta e ainda, especifica em seu rótulo a presença de silicato

de magnésio (excipiente) e dióxido de silício. Por fim, a amostra CC3, originária do Amazonas, foi obtida a partir da polpa, casca e sementes, conferindo uma cor marrom para a amostra, sem excipientes. Os lotes de suplementos foram homogeneizados por agitação suave e armazenados em sacos plásticos em dessecador com sílica.

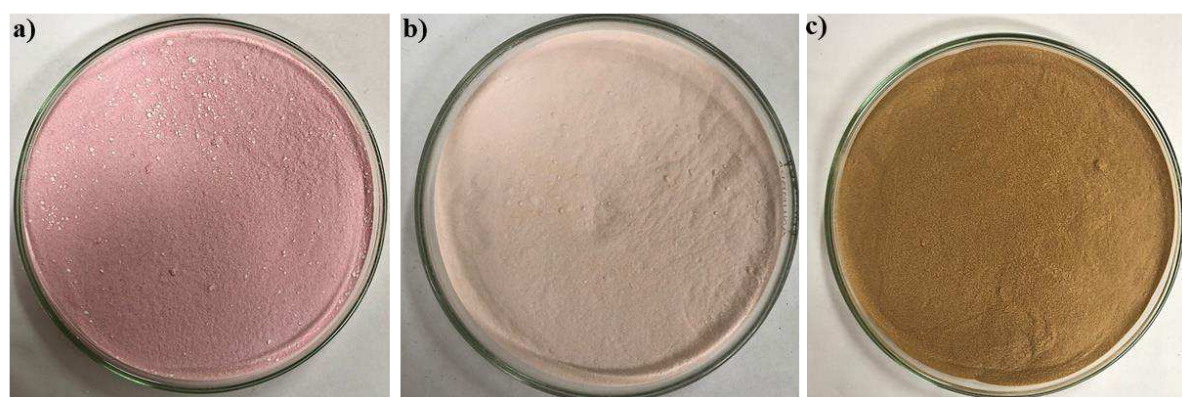
Figura 2 - Suplementos alimentares de espirulina



Fonte: o autor

a) SP1 (não macerada); b) SP1 (macerada); c) SP2; d) SP3.

Figura 3 - Suplementos alimentares de camu-camu



Fonte: o autor

a) CC1; b) CC2; c) CC3.

4.4 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

As amostras comercializadas são liofilizadas, porém, como a umidade é um parâmetro variável na composição centesimal, fez-se necessário determinar a umidade residual nas amostras, após sua determinação foi executado as análises restantes da composição centesimal. Para isso pesou-se 2,0 g de amostra e a umidade foi determinada baseada na perda de massa por secagem até peso constante em estufa convencional a 105 °C por 5h (AOAC, 2012)

O conteúdo total da matéria mineral de um alimento é medido através do teor de cinzas, sendo o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica. As cinzas foram determinadas a partir da incineração de 5 g de amostra em cadinho de porcelana, em mufla a 550 °C até peso constante. A concentração é obtida pelo método gravimétrico, após o resfriamento do resíduo em dessecador (AOAC, 2012).

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de digestão Kjeldahl (IAL, 2008). Foram pesados 0,2 g da amostra em papel manteiga, e em seguida, transferido para o tubo Kjeldahl. Em seguida, foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico e cerca de 1 g da mistura catalítica (dióxido de titânio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio anidro - 0,3:0,3:6,0). A mistura foi levada ao aquecimento em bloco digestor, em capela, até a solução se tornar azul-esverdeada. Na quantificação das proteínas a matéria orgânica é digerida e o nitrogênio existente é transformado em sal amoniacal. Após a digestão, a amostra foi levada ao destilador, processo em que a amônia é liberada do sal amoniacal pela reação com hidróxido de sódio 50% (m v⁻¹) adicionado. A amostra destilada foi coletada em um erlenmeyer contendo uma solução de ácido bórico 2 % (m v⁻¹). O destilado obtido foi titulado com solução de ácido sulfúrico 0,05 mol L⁻¹ padronizado até a viragem usando indicador misto (vermelho de metila e fenolftaleína). O volume gasto na titulação foi utilizado para calcular o teor de nitrogênio total. O fator de conversão 6,25 foi usado para calcular o teor de nitrogênio ligado organicamente ao teor de proteína.

$$\text{Proteínas (\%)} = \frac{V \times M \times Fc \times 0,014 \times 100 \times f}{P} \quad \text{Equação (1)}$$

V= volume de H₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹ gasto na titulação

M= concentração de H₂SO₄

Fc= fator de correção do H₂SO₄

f= fator de conversão 6,25

Para determinar o teor de lipídios no camu-camu inicialmente foi utilizado o método de extração por Soxhlet (IAL, 2008). Foram pesados 3,0 g da amostra em cartucho, acoplado aos copos previamente secos a 105°C. Para a extração foi utilizado o solvente éter de petróleo, em extrator automático. Ao final

da extração, transferiu-se os copos com o resíduo para uma estufa a 105°C, mantendo-os por 1 h. Após esse período, os copos foram resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e então pesados até peso constante. Calculou-se de acordo com a equação:

$$\text{Lipídios (\%)} = \frac{100 \times N}{P} \quad \text{Equação (2)}$$

N= n° de g de lipídios

P= n° de g da amostra

A extração por Soxhlet, entretanto, não se mostrou eficiente na extração dos lipídios da espirulina, por esse motivo, optou-se pela metodologia Bligh-Dyer com modificações e correção da umidade (BLIGH; DYER, 1959) que é conhecida por fornecer altos rendimentos de extração (PINTO et al., 2022). O método Soxhlet é uma metodologia deficiente na extração de lipídios polares, além de degradar lipídios poliinsaturados na etapa de aquecimento do processo de extração (DA CRUZ et al., 2021). Contudo na espirulina são encontrados maior teor de lipídios polares (glicolipídios e fosfolipídios) do que lipídios neutros, bem como quantidades relevantes de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA's) (RAMADAN; ASKER; IBRAHIM, 2008; SHIELS et al., 2022). O método Bligh-Dyer por sua vez, utiliza solventes com diferentes polaridades, extraíndo lipídios neutros e polares, além de não utilizar aquecimento no processo (BIONDO et al., 2015).

Para extração a frio transferiu-se 3 g de amostra para um béquer de 100 mL e adicionou-se 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. Os béqueres tampados hermeticamente foram colocados em agitador rotativo por 30 min. Em seguida, adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5% (m v⁻¹). A mistura foi agitada por mais 2 minutos. Separou-se as camadas de forma natural em funil de decantação. Descartou-se a camada superior e cerca de 15 mL da camada inferior (clorofórmio) é retirada em um tubo Falcon. Foram adicionados 1 g de sulfato de sódio anidro, e a mistura foi agitada para remover traços de água, e em seguida foi filtrada. Do filtrado, 5 mL foram coletados e transferidos para um béquer

previamente tarado, e levado para secar em estufa até evaporar o solvente. O resíduo foi resfriado em dessecador e pesado posteriormente, até peso constante. A porcentagem de lipídios foi calculada gravimetricamente.

As fibras totais (solúveis e insolúveis) da espirulina e camu-camu foram quantificadas pelo método enzimático-gravimétrico AOAC 991.43 (LEE; PROSKY; VRIES, 1992). Foi pesado em erlenmeyer, em triplicata, cerca de 1 g de amostra, adicionou-se 40 mL de solução-tampão MES-TRIS (pH 8,2) e 50 μ L de α -amilase termoestável, agitando levemente. A mistura foi tampada com papel alumínio e levada ao banho-maria a 95 - 100°C, durante 35 min com agitação contínua. Em seguida, o banho foi resfriado até $60 \pm 1^\circ\text{C}$. Adicionou-se 100 μ L de solução de protease preparada no momento do uso (50 mg/mL em tampão MES-TRIS) e a mistura foi levada ao banho-maria à $60 \pm 1^\circ\text{C}$ com agitação durante 30 min. Após esse tempo, adicionou-se 5 mL de HCl 0,561 mol L^{-1} , com agitação. Mantendo a temperatura a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ e o pH foi ajustado entre 4,0 e 4,7. Em seguida, adicionou-se 300 μ L de solução de amiloglucosidase e a mistura foi levado ao banho-maria a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 min, com agitação contínua. Concluída a etapa da hidrólise, a mistura foi filtrada em cadinho de vidro sinterizado com celite, previamente preparados e tarados. Lavou-se o erlenmeyer e o resíduo com 20 mL de água a 70°C, recolhendo a água de lavagem junto com o filtrado da hidrólise e reservando em béquer de 250 mL. A fração de fibra insolúvel fica retida no cadinho e a fibra solúvel no filtrado. O resíduo do cadinho contendo a fibra insolúvel foi lavado com 20 mL de álcool a 78%, e 20 mL de álcool a 95% e 20 mL de acetona. Os cadinhos foram secos em estufa a 105°C, durante uma noite e depois foram resfriados em dessecador e em seguida pesados. Para cada réplica utilizou-se dois cadinhos, um para determinar o teor de proteína e outro para determinar o teor de cinzas do resíduo insolúvel. Calculou-se a fração de fibra insolúvel. Ao béquer contendo o filtrado após a hidrólise, adicionou-se álcool 95% a 60°C (medido após aquecimento) na proporção de 4:1 do volume do filtrado. A mistura foi tampada e mantida em repouso por 1 hora a temperatura ambiente, para a precipitação da fração de fibra solúvel. Após 1h, filtrou-se a solução alcóolica em cadinhos previamente tarados. A lavagem, secagem e pesagem, determinação dos teores de proteína e cinza e o cálculo procedeu da mesma forma na fração de fibra insolúvel.

Somando os teores de fibra solúvel e fibra insolúvel, obtém-se o teor de fibra total de cada amostra.

$$\text{Fibras (\%)} = \frac{(P2 - P1) - P - C \times 100}{m} \quad \text{Equação (3)}$$

RT = resíduo total da amostra = (P2- P1)

P2= cadinho tarado; P1 = cadinho seco após digestão enzimática

C = teor de cinzas

P = teor de proteína

m = massa da amostra (1,0 g)

O teor de vitamina C foi determinado apenas nas amostras de camu-camu. Foi pesado 1,0 g da amostra e adicionado 50 mL de água e 10 mL de ácido sulfúrico 20% (v v⁻¹). Após a homogeneização, a mistura foi filtrada. No erlenmeyer foi adicionado 1,0 mL de iodeto de potássio 10% (m v⁻¹) e 1,0 mL de solução de amido 1% (m v⁻¹). Em sequência, a solução foi titulada com iodato de potássio 0,02 mol L⁻¹ conforme método descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.5 MINERALIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para determinação da concentração total de minerais, as amostras foram primeiramente secas a 105 °C por 5 h, até peso constante. Foram pesadas em balança analítica aproximadamente 500 mg de amostra seca e transferidas para frascos de Teflon® do forno de micro-ondas. Em seguida foram adicionados 10,0 mL de HNO₃ concentrado e a mistura foi mantida em pré-digestão (*overnight*) por 12 h. A digestão ácida (mineralização) foi realizada utilizando o programa de aquecimento descrito na Tabela 1, de acordo com alguns autores (DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2010; ZHOU et al., 2018; ZIVKOVIC et al., 2017) com algumas modificações.

Após a mineralização, foram adicionados 2,0 mL de H₂O₂ 50% (v v⁻¹) nas amostras digeridas para auxiliar na oxidação completa da matéria orgânica e levadas a evaporação a quase *secura* em chapa de aquecimento.

Tabela 1 - Programa de aquecimento de micro-ondas para tratamento das amostras de espirulina e camu-camu

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Potência (W)
1	7	20 - 90	750
2	5	90 - 140	750
3	5	140 - 190	1000
4	20	190	1000

Fonte: o autor

Para a digestão da amostra CC2, um outro procedimento foi avaliado devido a presença de excipientes, silicato de magnésio e dióxido de silício. Para tanto, foram pesadas cerca de 500 mg de amostra seca em balança analítica e transferidas para frascos de Teflon® do forno de micro-ondas, em seguida foram adicionados 10,0 mL de água régia, 1 mL de HF e 1 mL de H₂O₂ e deixado em pré-digestão (*overnight*) por 12h. (ASHOKA et al., 2009; DE ALMEIDA et al., 2021; MARIN et al., 2008; MIERZWA et al., 1998; SOMERA et al., 2012). Após a digestão, as amostras foram transferidas para balões volumétricos e completadas até 10,0 mL com água ultrapura. O procedimento foi realizado em triplicata tanto para amostras como para brancos analíticos. O programa de aquecimento é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2- Programa de aquecimento de micro-ondas para tratamento da amostra CC2

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Potência (W)
1	10	0 – 80	700
2	5	80	700
3	5	80 – 120	700
4	5	120	700
5	10	120-190	1000
6	20	190	1000

Fonte: o autor

4.6 SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

O método seguido para os ensaios de bioacessibilidade foi o UBM, que se baseia nas etapas de: digestão salivar, gástrica e gastrointestinal (WRAGG et al., 2011). Todas as determinações foram feitas em triplicata (n = 3), acompanhadas de brancos analíticos para corrigir possíveis interferências e/ou contaminações. Para garantir um controle analítico nos ensaios de bioacessibilidade foi realizado o balanço de massa (total = fração bioacessível + resíduo).

Os fluidos (salivar, gástrico, duodenal e biliar) foram preparados no dia anterior a realização dos ensaios de bioacessibilidade. O pH de cada fluido foi verificado e ajustado para os limites exigidos (com NaOH 1,0 mol L⁻¹ ou HCl a 1,0 mol L⁻¹): salivar 6,5 ± 0,5, gástrico de 0,9 – 1,0, duodenal 7,4 ± 0,2 e biliar 8,0 ± 0,2. A Tabela 3 apresenta a composição química dos fluidos salivar, gástrico, duodenal e biliar (WRAGG et al., 2011).

Tabela 3- Composição química dos fluidos corporais simulados da metodologia UBM

Fluido Salivar (pH 6,5±0,5)	Fluido Gástrico (pH 1,1±0,1)	Fluido Duodenal (pH 7,4±0,2)	Fluido Biliar (pH 8,0 ±0,2)
Constituintes Inorgânicos (500 mL)			
896 mg KCl	824 mg KCl	564 mg KCl	376 mg KCl
888 mg NaH ₂ PO ₄	266 mg NaH ₂ PO ₄	80 mg KH ₂ PO ₄	5.785 mg NaHCO ₃
200 mg KSCN	400 mg CaCl ₂	50 mg MgCl ₂	5.259 mg NaCl
570 mg Na ₂ SO ₄	306 mg NH ₄ Cl	5.607 mg NaHCO ₃	0,18 mL HCl 37%
298 mg NaCl	2.752 mg NaCl	7.012 mg NaCl	
1,8 mL NaOH 1,0 M	8,3 mL HCl 37%	0,18 mL HCl 37%	
Constituintes Orgânicos (500 mL)			
200 mg Ureia	85 mg Ureia	100 mg Ureia	250 mg Ureia
	20 mg Ácido glucurônico		
	650 mg Glicose		
	330 mg Cloridrato de glucosamina		
Adicional (1000 mL)			
145 mg α-amilase	1000 mg Pepsina	200 mg CaCl ₂	222 mg CaCl ₂
50 mg Mucina	3000 mg Mucina	500 mg Lipase	6000 mg Bile

15 mg Ácido úrico	1000 mg Albumina bovina	1000 mg Albumina bovina 3000 mg Pancreatina	1800 mg Albumina bovina
-------------------	-------------------------	--	-------------------------

Fonte: o autor

Para simular a fase gástrica foram pesadas 300 mg de amostra seca e adicionados 4,5 mL de fluido salivar, agitado manualmente por 10 s e, em seguida, adicionado 6,75 mL do fluido gástrico. O pH foi ajustado para $1,2 \pm 0,05$ com HCl 37% e submetido a um banho à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ sob agitação por 1 h. Após 1h, o pH foi medido. As amostras foram submetidas à um banho de gelo para interromper a ação enzimática e centrifugadas a 6000 rpm por 20 min, em temperatura de 4°C . Por fim, os sobrenadantes da fase gástrica foram coletados e armazenados a 4°C para posterior análise.

Para a fase gastrointestinal, o mesmo procedimento inicial da fase gástrica é repetido, com banho à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 1 h e ajuste de pH ($1,2 < \text{pH} < 1,5$). Em seguida foram adicionados 13,5 mL de fluido duodenal e 4,5 mL de fluido biliar e o pH foi ajustado (6,2-6,5) quando necessário, com NaOH 1 mol L^{-1} . As amostras foram submetidas a agitação em banho a 37°C durante 4 h. Ao final desse tempo, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm por 20 min, em temperatura de 4°C . Os sobrenadantes foram coletados e armazenados a 4°C .

Os minerais totais e os presentes nas frações bioacessíveis (sobrenadantes) da fase gástrica e gastrointestinal foram quantificados por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS).

A fração bioacessível (FB) expressa em porcentagem (%) foi calculada usando a Equação 4:

$$\text{FB (\%)} = \frac{\text{CB}}{\text{CT}} \times 100 \quad \text{Equação (4)}$$

Onde CB é a concentração do elemento bioacessível (mg kg^{-1}) nos extratos gástrico ou gastrointestinal, e CT é a concentração total do elemento (mg kg^{-1}) nas amostras dos suplementos alimentares analisados após digestão por micro-ondas.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As diferenças entre as amostras foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) unidirecional, com base no teste de Tukey no nível de significância de 95%, utilizando o pacote de software StatSoft STATISTICA versão 7.0 (Tulsa, EUA, 1984-2004). Foram realizadas correlações entre a bioacessibilidade de minerais e a composição centesimal das amostras através do coeficiente de correlação de *Spearman*, obtido por meio dos gráficos de correlação entre as variáveis, utilizando o software R.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os valores obtidos nas análises físico-químicas (proteínas, cinzas, umidade, lipídios, fibras solúveis, insolúveis e fibras totais) da espirulina e camu-camu estão apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 - Teores (%) da composição centesimal de espirulina (SP) (média \pm desvio padrão)

Análises	SP 1	SP 2	SP 3
Proteínas	53,3 \pm 0,6 ^b	64,8 \pm 2,9 ^a	67,2 \pm 0,5 ^a
Cinzas	10,5 \pm 4,0x10 ⁻¹ ^a	7,8 \pm 0,2 ^b	9,7 \pm 0,6 ^a
Umidade	4,1 \pm 0,1 ^b	2,9 \pm 0,2 ^c	5,6 \pm 0,2 ^a
Lipídios	7,2 \pm 0,2 ^a	7,3 \pm 0,3 ^a	7,1 \pm 0,2 ^a
Fibra insolúvel	19,6 \pm 0,2 ^a	16,3 \pm 0,3 ^b	11,2 \pm 0,6 ^c
Fibra solúvel	1,2 \pm 0,1 ^c	2,8 \pm 0,3 ^a	2,1 \pm 0,1 ^b
Fibra total	20,8 \pm 0,2 ^a	19,1 \pm 0,6 ^b	13,3 \pm 0,6 ^c

Fonte: o autor

Letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança. As análises de proteínas, cinzas, lipídios e fibras foram realizadas utilizando amostras previamente secas.

Tabela 5 - Teores (%) da composição centesimal de camu-camu (CC) (média \pm desvio padrão)

Análises	CC 1	CC 2	CC 3
Proteínas	0,8 \pm 5,7x10 ⁻³ ^b	1,3 \pm 0,2 ^a	1,6 \pm 0,2 ^a

Cinzas	1,8 ± 0,1 ^b	29,8 ± 0,5 ^a	2,4 ± 1,5x10 ^{-2 b}
Umidade	2,2 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,2 ^a	2,2 ± 0,3 ^a
Lipídios	0,6 ± 0,1 ^a	0,5 ± 1,7x10 ^{-2 a}	0,5 ± 4,6x10 ^{-2 a}
Fibra insolúvel	0,8 ± 0,1 ^{ab}	1,0 ± 0,2 ^a	0,6 ± 0,1 ^b
Fibra solúvel	1,1 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,3 ^a	1,2 ± 4,9x10 ^{-2 a}
Fibra total	1,9 ± 0,1 ^b	2,4 ± 0,2 ^a	1,7 ± 2,0x10 ^{-2 b}

Fonte: o autor

Letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança. As análises de proteínas, cinzas, lipídios e fibras foram realizadas utilizando amostras previamente secas

As proteínas são as substâncias orgânicas responsáveis pelo crescimento e pela reparação de tecidos, atividade enzimática e transporte de substâncias, sendo essenciais para o organismo (BLANCO; BLANCO, 2017). Os valores obtidos de proteínas para as amostras de espirulina, variaram de 53,3 a 67,2% (Tabela 4). Teores similares ao obtido no presente trabalho foram reportados na literatura para espirulina (BECKER, 2007; NICCOLAI et al., 2019; PAKRAVAN et al., 2017; RAHIM et al., 2021; SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019; TOKUŞOGLU; UNAL, 2003).

De acordo com a Resolução nº 54/2012 para um alimento ser considerado como fonte de proteínas deve ter concentração mínima de 6g 100g⁻¹ e como alto teor de proteína, deve ter concentração mínima de 12 g 100g⁻¹ (ANVISA, 2012). Logo, a espirulina pode ser classificada como alimento com alto teor de proteínas. Ressalta-se que essa microalga se destaca pela variedade de aminoácidos presentes em sua composição, contendo todos os aminoácidos essenciais (THEVARAJAH et al., 2022). As proteínas derivadas desta microalga têm sido consideradas benéficas à saúde, pois são fonte promissora de peptídeos bioativos, uma sequência curta de aminoácidos conhecida por sua função antioxidante, antimicrobiana e anti-hipertensiva.(EJIKE et al., 2017; LAFARGA et al., 2021; SOTO-SIERRA; STOYKOVA; NIKOLOV, 2018; ZHANG et al., 2023).

Para camu-camu os teores de proteínas variaram de 0,8 a 1,6% (Tabela 5). Valores próximos a esses foram encontrados em camu-camu (FREITAS et al., 2016; JUSTI et al., 2000; MONTERO et al., 2020). Assim, os baixos teores proteicos característico desta fruta (EMBRAPA, 2012), estão de acordo com as concentrações de proteínas quantificadas neste estudo.

Os teores de cinzas variaram de 7,8 a 10,5 % para espirulina. Valores concordantes foram encontrados na literatura (NICCOLAI et al., 2019; PAKRAVAN et al., 2017; PINTO et al., 2022; RAJI et al., 2018; TOKUŞOĞLU; UNAL, 2003). Um estudo caracterizou a composição centesimal de seis microalgas (*Chlorella sp.*, *C. vulgaris*, *Desmodesmus sp.*, *D. brasiliensis*, *Botryococcus braunii* e *B. terribilis*) e obteve valores de cinzas de 3,0 a 8,1% (FERREIRA et al., 2021).

Na quantificação do teor de cinzas em camu-camu, as amostras CC1 e CC3 apresentaram valores mais baixos (1,8 e 2,4%), próximos aos encontrados na literatura (AGUIAR; SOUZA, 2015). A amostra CC2 (29,8 %) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de camu-camu. Essa diferença pode ser justificada pela presença de silicato de magnésio e dióxido de silício (excipiente) na amostra, relatado no rótulo do produto, visto que o teor de cinzas de um alimento corresponde a quantidade de matéria inorgânica presente.

Em alimentos processados na forma seca, como os suplementos alimentares (comprimidos e cápsulas), o teor de água dos componentes deve ser mínimo. Em alguns casos, se faz necessário selecionar lotes de ingredientes com menor umidade, ou realizar a secagem adicional do mesmo (ANVISA, 2018b). Os teores de umidade variaram de 2,9 a 5,6 % para espirulina apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras. Para camu-camu a umidade variou de 2,2 a 2,5% e não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$).

Os lipídios são um ingrediente essencial na dieta humana, atuando no fornecimento de energia, produção de hormônios e sais biliares, além de serem os principais blocos de construção do sistema nervoso (OLSEN, 2009). Os teores obtidos para lipídios variaram de 0,5 a 0,6% para camu-camu, não apresentando diferença significativa entre as amostras ($p > 0,05$). Resultados publicados estão de acordo com valores encontrados neste trabalho (AGUIAR; SOUZA, 2015; JUSTI et al., 2000). Contudo, a quantidade total de lipídios quantificada é baixa, valor característico do camu-camu (EMBRAPA, 2012).

Para espirulina os teores de lipídios são expressivamente maiores do que no camu-camu e não diferiram estatisticamente variando de 7,1 a 7,3%. Valores próximos aos encontrados neste estudo também foram relatados na literatura (EL-MOATAAZ; ISMAEL; ABORHYEM, 2019; MATOS et al., 2016; NICCOLAI et

al., 2019; TOKUŞOĞLU; UNAL, 2003). Entre os lipídios mais encontrados nesta microalga, estão os ácidos palmítico, esteárico, e os PUFAs, especialmente o ácido γ -linolênico, com teor relevantes, e com potencial bioativo em dietas na correção de distúrbios do metabolismo lipídico e doenças coronárias, diminuindo o nível de colesterol (CHRISTODOULOU et al., 2022; LI et al., 2019; PAKRAVAN et al., 2017). Além disso, sua fração lipídica desperta interesse pelo conteúdo de ácidos graxos essenciais (GOHARA-BEIRIGO et al., 2022). Nesse contexto, é possível afirmar que os resultados encontrados nesse estudo corroboram com o fato de que a espirulina contém concentrações lipídicas relevantes.

Por definição, a fibra alimentar é um polímero de carboidrato com três ou mais unidades monoméricas que não são hidrolisadas pelas enzimas endógenas do trato digestivo humano (ANVISA, 2020a). As fibras alimentares são classificadas como solúveis ou insolúveis, de acordo com seu comportamento quando em contato com água, formando dispersão (fibra solúvel), ou não (fibra insolúvel). Além da solubilidade, sua viscosidade e fermentabilidade também afetam a forma como as fibras são processadas no corpo humano. Ambas as formas de fibra possuem a capacidade de ligação com cátions minerais (DEMARCO et al., 2022; JIMÉNEZ-ESCRIG; SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000). Embora não seja hidrolisado e absorvido no trato gastrointestinal superior, a fibra solúvel pode ser fermentada no trato gastrointestinal inferior, proporcionando benefícios à saúde (LATULIPPE et al., 2013). Os valores obtidos para fibras insolúveis (0,6-1,0%) foram menores que para fibras solúveis (1,1-1,4%) de camu-camu, como observado na literatura (NASCIMENTO et al., 2013). As fibras totais apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) variando de 1,7 a 2,4%. Valores próximos foram reportados na literatura para camu-camu (PEREIRA, 2019; YUYAMA et al., 2002).

Para espirulina os teores obtidos de fibras insolúveis variaram de 11,2 a 19,6% sendo maiores que as fibras solúveis (1,2-2,8%) e apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$) para ambas as amostras. As fibras totais da espirulina variaram de 13,3 a 20,8%. Uma ampla faixa de resultados para fibras totais em espirulina foram reportados na literatura, sendo: 6,50 % (CHEONG et al., 2010), 8,5 % (MATOS et al., 2016) e 42,8% (MOLINO et al., 2018). Há estudos que determinaram fibras solúveis e insolúveis em espirulina, sendo 6,46% para fibras insolúveis, 1,99 para fibras solúveis e 8,45% fibras totais

(RACZYK et al., 2022). Caso ocorra alteração na quantidade de nutrientes fornecidas no meio de cultivo, a composição centesimal da espirulina pode ser alterada consideravelmente. Quando há diminuição de nitrogênio no meio de cultivo, a proporção de carboidratos aumenta e a de proteína é reduzida, por exemplo (BRAGA et al., 2018). Isso poderia justificar as porcentagens diferentes encontradas neste estudo para fibras, que também são um tipo de carboidratos.

Para ser considerado como fonte de fibra alimentar o alimento deve ter concentração mínima de 3 g 100g⁻¹ e como alto teor de fibra alimentar, deve ter concentração mínima de 6 g 100g⁻¹ (ANVISA, 2012). Com isso, a espirulina pode ser classificada como alimento com alto teor de fibra alimentar, considerando a fibra total.

5.2 VITAMINA C EM CAMU-CAMU

A vitamina C, também conhecida como ácido ascórbico, é um nutriente essencial para o ser humano, está associada a uma série de funções fisiológicas, em função do elevado potencial antioxidante. Dentre elas, destaca-se sua atuação como cofator para enzimas que estão envolvidas na síntese de colágeno, carnitina e certos neurotransmissores (LI; SCHELLHORN, 2007). De acordo com a legislação brasileira vigente, a IDR de vitamina C para um adulto é de 45,0 mg dia⁻¹ (ANVISA, 2005), dose similar à recomendada pela Organização Mundial da Saúde (WHO; FAO, 2004), enquanto nos Estados Unidos a recomendação diária preconizada pela FDA (Agência de Administração de Alimentos e Medicamentos) é de 90,0 mg (FDA, 2016). Com base nisso, a vitamina C deve ser ingerida por meio de alimentos e/ou suplementos alimentares, pois o ser humano não consegue sintetizá-la de forma a alcançar os níveis mínimos exigidos necessário à saúde humana (LI; ZHOU; DU, 2022).

Os valores obtidos para vitamina C em camu-camu apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) e estão dispostos na Tabela 6. Valores próximos a esses são reportados na literatura (CUNHA-SANTOS et al., 2019; FREITAS et al., 2016; SOLIS et al., 2009). O baixo teor de vitamina C da amostra CC1 pode ser justificado pela informação dada pelo fornecedor, que a amostra contém cerca de 20 % de polpa do fruto, sendo o restante constituído de polidextrose e stévia.

Tabela 6 - Valores (g 100 g⁻¹) de vitamina C quantificados em camu-camu (CC) (média ± desvio padrão)

	CC 1	CC 2	CC 3
Vitamina C	0,4 ± 2,3x10 ^{-2c}	11,3 ± 0,2 ^b	18,0 ± 0,1 ^a

Fonte: o autor

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

As diferentes condições de cultivo e colheita do camu-camu podem influenciar o teor de vitamina C final (GARCÍA-CHACÓN; MARÍN-LOAIZA; OSORIO, 2023). Valores concordantes aos encontrados nas amostras CC2 e CC3 foram reportados na literatura. Um estudo sobre essa influência, avaliou que o fruto cultivado em ambiente seco apresentou maior teor de vitamina C (13,7 g 100g⁻¹), que o cultivado em ambiente alagado (11,8 g 100g⁻¹) (RIBEIRO, et al., 2016). Cunha-Santos e colaboradores (2019), determinaram vitamina C em polpas comerciais de camu-camu, e encontraram valores entre 15,5 e 18,9 g 100g⁻¹. A variação nos teores de vitamina C, ainda pode estar relacionada a fatores de manejo produtivo ou edafoclimáticos, como a irradiação solar, época de colheita, irrigação e pós-colheita. Esses fatores podem afetar o teor de ácido ascórbico, pois ele é sintetizado a partir dos carboidratos produzidos durante a fotossíntese (CHIRINOS et al., 2010; CUNHA-SANTOS et al., 2019).

As amostras CC2 e CC3 podem ser consideradas com alto teor de vitamina C, superando o mínimo de 30 % (13,5 mg dia⁻¹) da IDR (ANVISA, 2005, 2012), quando consideramos a ingestão recomendada pelo fabricante. Quando consideramos a ingestão de 30g do suplemento através da formulação de um shake, todas as amostras apresentam alto teor de vitamina C. É sabido que para constatar se o organismo absorve o mínimo da IDR seria necessário realizar a bioacessibilidade/biodisponibilidade da vitamina C. Nesse sentido, foram encontrados valores de bioacessibilidade de vitamina C em suco de camu-camu de 11 a 27%, sem e com processamento térmico, respectivamente (CASTRO et al., 2020). Ao investigar a bioacessibilidade *in vitro* da vitamina C de 14 frutas e 8 hortaliças (ANDAÇ ÖZTÜRK; YAMAN, 2022), foi observado que hortaliças e frutas com alto teor de vitamina C apresentaram altos valores de bioacessibilidade, variando de 53 a 86%. Ao determinar a bioacessibilidade de vitamina C em frutos com alto teor de vitamina C como a acerola e mirindiba foi encontrado valores próximos a 25% (FONTELES et al., 2021) e 3,9 a 8,1%,

respectivamente (FERREIRA et al., 2022). Por fim, mesmo que considerássemos uma bioacessibilidade muito baixa, de 1% para o camu-camu, teríamos ainda um valor de vitamina C bioacessível, que superaria o IDR para esse nutriente para as amostras CC1 e CC2, na dose recomendada pelo fabricante.

O limite mínimo de vitamina C a serem fornecidos por suplementos alimentares é de 13,5 mg dia⁻¹, e o limite máximo estabelecido é de 1916,0 mg dia⁻¹ (ANVISA, 2018b), valor próximo ao estabelecido como Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL) para crianças, adolescentes e adultos nos EUA, que é de 1.200,0; 1.800,0 e 2.000,0 mg dia⁻¹, respectivamente (NAS et al., 2016). Diante disso podemos afirmar que os valores quantificados de vitamina C nos suplementos de camu-camu analisados, nas doses diárias recomendadas pelos fabricantes, não ultrapassam o limite máximo estabelecido pelas agências reguladoras para jovens, adultos e crianças.

5.3 MINERAIS TOTAIS

As curvas analíticas foram preparadas usando soluções padrão aquosas em HNO₃ 2% (v v⁻¹). Os coeficientes de determinação para as curvas de todos os analitos foram satisfatórios (R² > 0,99). Os limites de quantificação (LQ) foram calculados como a concentração de cada analito que corresponde a dez vezes o desvio padrão de dez valores da solução em branco, medidas independentemente, divididas pela inclinação da curva analítica (IUPAC, 1997).

Os limites de quantificação obtidos (mg L⁻¹) foram: 0,1 mg L⁻¹ (Ca), 1,3x10⁻¹ mg L⁻¹ (Mg), 0,1 mg L⁻¹ (Mn), 1,4x10⁻¹ mg L⁻¹ (Zn), 0,1 mg L⁻¹ (Fe) e 2,0x10⁻² mg L⁻¹ (Cu). O conteúdo total dos minerais nas amostras de espirulina e camu-camu foi determinada e os resultados obtidos estão reunidos nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

Tabela 7 - Concentrações totais mg kg⁻¹ (média ± desvio padrão) de Zn, Mn, Fe, Ca, Mg nos suplementos de espirulina (SP)

Amostras (base seca)	Elementos (mg kg ⁻¹)					
	Cu	Zn	Mn	Fe	Ca	Mg
SP1	9,1±0,6 ^a	19,8±0,1 ^a	61,4±0,5 ^a	2065,1±0,8 ^a	976,3±0,3 ^a	2406,7±0,7 ^c
SP2	1,2±0,1 ^b	9,3±0,1 ^b	26,2±0,2 ^c	664,4±1,1 ^c	758,8±0,5 ^b	3129,2±4,1 ^b

SP3	2,2±0,3 ^b	7,9±0,1 ^c	37,5±0,8 ^b	684,2±0,5 ^b	636,9±0,1 ^c	3155,8±6,7 ^a
------------	----------------------	----------------------	-----------------------	------------------------	------------------------	-------------------------

Fonte: o autor

Letras diferentes em colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

Os resultados apresentados na Tabela 7 indicam que a amostra SP1 apresenta maiores quantidades de Cu, Zn, Mn, Fe e Ca quando comparadas com as demais. A diferença nas concentrações de minerais encontradas, pode estar associada às condições do meio aquático de cultivo, visto que, a variação dessas condições pode alterar a composição química da espirulina (PUYFOULHOX et al., 2001). A concentração de Zn em espirulina variou de 7,9 a 19,8 mg kg⁻¹ entre as amostras apresentando diferenças significativas. Valores concordantes a esses foram reportados na literatura (NEHER et al., 2018; RAHIM et al., 2021; ZIVKOVIC et al., 2017). O Zn participa de reações de síntese e degradação de metabólitos primários e ácidos nucleicos além de desempenhar papel estrutural importante como constituinte das proteínas (TOGNON, 2012).

A concentração de Mn variou de 26,2 a 61,4 mg kg⁻¹ entre as amostras apresentando diferenças significativas (p<0,05). Outros trabalhos reportados na literatura apresentaram valores similares (DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2010; NEHER et al., 2018; RAHIM et al., 2021; SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019; TOKUŞOGLU; UNAL, 2003; ZIVKOVIC et al., 2017). O Mn é um elemento essencial necessário para muitas funções biológicas no organismo, como o desenvolvimento e crescimento do corpo humano, pois atua no metabolismo de aminoácidos, lipídios e carboidratos, bem como componente de metaloenzimas (JOMOVA et al., 2022). As concentrações de Cu para espirulina, variaram de 1,2 a 9,2 mg kg⁻¹, sendo relatado na literatura, concentrações variando de 0,9 a 11,9 mg kg⁻¹ de cobre nesse suplemento RAHIM et al., 2021, NEHER et al., 2018).

Em geral, o ferro é um mineral encontrado em concentrações relevantes na espirulina (KOUZIA et al., 2023; PUYFOULHOX et al., 2001). Neste trabalho as concentrações obtidas de Fe (664,4 a 2065,1 mg kg⁻¹) também foram elevadas, superando concentrações encontradas em feijão (OLIVEIRA et al., 2018) e carne (VIEIRA et al., 2018) e são próximas as quantificadas anteriormente (ISANI et al., 2022; NEHER et al., 2018; RAHIM et al., 2021;

SEGHIRI; KHARBACH; ESSAMRI, 2019; ZIVKOVIC et al., 2017). O Fe possui papel importante na respiração, pois está intimamente ligado às hemácias, mioglobina e enzimas heme e participa das reações de oxidação e redução no corpo (TOGNON, 2012).

Os resultados obtidos no conteúdo de Ca variaram de 636,9 a 976,3 mg kg⁻¹. Cheong *et al.*, (2010) encontraram valores próximos (988,0 mg kg⁻¹). Neher *et al.* (2018), Rahim *et al.* (2021) e Zivkovic *et al.* (2017) apresentaram concentrações superiores aos dados reportados neste trabalho. O cálcio desempenha papel fundamental no desenvolvimento e manutenção dos ossos e outros tecidos calcificados, onde encontra-se quase a totalidade deste mineral. O restante do cálcio presente no corpo, desempenha um papel na mediação da contração muscular, vascular e vasodilatação, transmissão nervosa e secreção glandular (IOM, 1997).

Dentre os elementos analisados, o Mg foi o mineral mais abundante encontrado nas três marcas de espirulina, variando a concentração de 2406,7 a 3155,8 mg kg⁻¹. Valores semelhantes foram obtidos e reportados na literatura, 3200,0 mg kg⁻¹ (RAHIM et al., 2021) e 2271,0 mg kg⁻¹ (NEHER et al., 2018). O magnésio é um elemento essencial e necessário em quantidades relativamente grandes ao nosso organismo. Várias funções fisiológicas cruciais, como ritmo cardíaco, tônus vascular, função nervosa, contração e relaxamento muscular, dependem grandemente do magnésio (JAHNEN-DECHENT; KETTELER, 2012).

Tabela 8 - Concentrações totais mg kg⁻¹ (média ± desvio padrão) de Zn, Mn, Fe, Ca, Mg nos suplementos de camu-camu (CC)

Amostras (base seca)	Elementos (mg kg ⁻¹)					
	Cu	Zn	Mn	Fe	Ca	Mg
CC1	<LOQ	20,5±0,1 ^a	2,8±0,1 ^c	4,8±6,1x10 ^{-3b}	2414,8±21,8 ^a	57,2±0,3 ^c
CC2	0,4±2,5x10 ^{-1a}	9,1±0,1 ^c	9,3±0,2 ^b	46,3±0,1 ^a	781,3±0,9 ^b	9361,5±22,0 ^a
CC3	0,4±1,3x10 ^{-1a}	17,6±0,1 ^b	26,4±0,1 ^a	4,4±0,1 ^c	637,9±1,9 ^c	1049,2±21,5 ^b

Letras diferentes em colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança. * <LOQ: abaixo do limite de quantificação.

Fonte: o autor

As maiores concentrações de minerais encontradas em camu-camu (Tabela 8) foram de Ca e Mg, corroborando com estudos que apontam o Ca e o Mg os elementos mais encontrados em camu-camu depois do K (CHIOCCHETTI

et al., 2013; YUYAMA et al., 2003; ZAPATA; DUFOUR, 1993). Quantidades relativamente baixas de Mg foram encontradas na amostra CC1, podendo ser justificada pela menor porcentagem de polpa de camu-camu em sua composição, como mencionado anteriormente. Contudo, concentrações menores de Mg (47,2 e 123,8 mg kg⁻¹) também foram encontradas por Freitas et al. (2016) e Justi et al. (2000), respectivamente.

Uma variação na concentração entre as amostras de camu-camu foi observada para Ca (637,9 a 2414,8 mg kg⁻¹). As diferenças nas concentrações dos elementos nas amostras também podem ser atribuídas ao solo onde a matéria-prima foi cultivada e à época de cultivo. A acidez, a quantidade de matéria orgânica e a composição mineral do solo podem influenciar na disponibilidade de elementos para as culturas (FERREIRA; TARLEY, 2020b). Ribeiro e colaboradores (2016) quantificaram alguns minerais de camu-camu cultivado em diferentes ambientes, obtendo concentração de 2200,0 mg kg⁻¹ de cálcio, em cultivo alagado e, em cultivo seco, uma maior concentração (3480,0 mg kg⁻¹) foi encontrada.

Dentre os microminerais analisados em camu-camu, observou-se variação na concentração de Fe (4,4 a 46,3 mg kg⁻¹), seguido de Mn (2,8 a 26,4 mg kg⁻¹) e Zn (9,1 a 20,5 mg kg⁻¹), apresentando diferenças significativas (p<0,05) entre as amostras. Resultados similares foram relatados por outros autores na literatura (CHIOCCHETTI et al., 2013; FREITAS et al., 2016; JUSTI et al., 2000; MONTERO et al., 2020; YUYAMA et al., 2003). Valores similares para Cu foram encontrados nas amostras CC2 e CC3 (0,4 mg kg⁻¹) e na amostra CC1 esse mineral não foi quantificado ficando abaixo do limite de quantificação (LQ).

Em estudos que determinaram conteúdo total de minerais em 29 suplementos nutricionais vitamínicos e minerais (comprimidos e efervescentes), comumente disponíveis em farmácias, foi encontrada uma ampla faixa de concentrações de Zn (2,1 – 26000,0 mg kg⁻¹), Ca (560 – 200000,0 mg kg⁻¹), Mg (310,0-70000,0 mg kg⁻¹), Mn (23,0 – 2000 mg kg⁻¹), Cu (28- 1500 mg kg⁻¹) entre outros (KREJČOVÁ et al., 2012).

Nesse sentido, a espirulina e camu-camu tem potencial capacidade de suprir as demandas nutricionais de alguns elementos quantificados neste

estudo, ressaltando-se o fato de serem suplementos alimentares naturais que possuem outros componentes benéficos à saúde.

5.4 BIOACESSIBILIDADE DOS MINERAIS NA ESPIRULINA

O conhecimento da bioacessibilidade na fase gástrica e gastrointestinal permite visualizar o comportamento desses elementos, como sua solubilidade, durante sua passagem pelo trato digestório.

O ensaio de bioacessibilidade da amostra SP1 foi realizado duas vezes, para avaliar a diferença na fração bioacessível dos elementos em amostra macerada e não macerada, pois essa marca de espirulina encontrava-se na forma de grânulos. A análise de granulometria dessa amostra também foi realizada, os dados estão dispostos na Tabela 9.

Os resultados obtidos no segundo ensaio *in vitro* estão apresentados na Tabela 10. O teste Tukey foi realizado para avaliar diferenças significativas na bioacessibilidade entre a amostra macerada e não macerada. Na fase gástrica somente a fração bioacessível de Mn apresentou diferenças significativas. Na fase gastrointestinal, as frações bioacessíveis de Mn e Ca apresentaram diferenças significativas. Diante disso, constatou-se que se o consumidor utilizar essa amostra na forma de grânulos ou triturá-la em uma receita de biscoito, bolo, bebidas (suco ou shake) a porcentagem bioacessível dos minerais presentes na espirulina é pouco afetada. Neste estudo, a forma macerada foi mantida como amostra para a discussão, ou experimentos futuros.

Os resultados das frações bioacessíveis (%) para os minerais presentes nas três amostras de espirulina, analisadas na fase gástrica e gastrointestinal, são apresentados nas Tabelas 11 e 12, respectivamente. As maiores frações bioacessíveis foram observadas na fase gastrointestinal para o Mg, Mn, Zn, Cu e Ca, já o Fe apresentou as menores frações bioacessíveis. Conforme observado no balanço de massa das fases gástrica e gastrointestinal os resultados variaram de 87 a 104%, demonstrando a confiabilidade das análises de bioacessibilidade.

Tabela 9- Granulometria da amostra de espirulina (SP1) macerada e não macerada.

(SP1) não macerada		(SP1) macerada	
Granulometria	Retenção na peneira (%)	Granulometria	Retenção na peneira (%)
>2,0 mm	9	>1,2 mm	26
2,0 < Ø > 1,2 mm	82	1,2 < Ø > 1,0 mm	16
1,2 < Ø > 1,0 mm	5	1,0 < Ø > 0,8 mm	19
1,0 < Ø > 0,8 mm	2	0,8 < Ø > 0,6 mm	15
0,8 < Ø > 0,6 mm	1	0,6 < Ø > 0,4 mm	12
0,6 < Ø > 0,4 mm	1	0,4 < Ø > 0,3 mm	4
< 0,4 mm	0	< 0,3 mm	8

Fonte: o autor

Tabela 10- Concentrações de minerais (média \pm desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais na amostra de espirulina (SP1) macerada (mac.) e não macerada (não mac.) após digestão gástrica e gastrointestinal

Metais	Total (mg kg ⁻¹)	Forma	Fase gástrica				Fase gastrointestinal			
			FB (mg kg ⁻¹)	Resíduo (mg kg ⁻¹)	FB (%)	Balanco de massa (%)	FB (mg kg ⁻¹)	Resíduo (mg kg ⁻¹)	FB (%)	Balanco de massa (%)
Cu	9,1 \pm 0,6	mac.	5,2 \pm 2,1 x10 ^{-1b}	3,7 \pm 0,1	57	98	7,4 \pm 0,3 ^a	1,3 \pm 0,04	81	96
		não mac.	5,7 \pm 0,1 ^a	3,6 \pm 0,3	63	102	7,6 \pm 0,5 ^a	1,9 \pm 0,1	83	104
Zn	19,8 \pm 0,1	mac.	12,4 \pm 0,1 ^a	6,1 \pm 2,6x10 ⁻¹	63	93	17,8 \pm 1,2 ^a	2,5 \pm 0,4	90	102
		não mac.	12,4 \pm 0,1 ^a	5,9 \pm 3,0x10 ⁻¹	62	92	17,3 \pm 0,3 ^a	2,1 \pm 0,1	87	98
Mn	61,4 \pm 0,5	mac.	32,3 \pm 0,4 ^a	24,7 \pm 0,1	53	93	47,1 \pm 0,2 ^b	6,6 \pm 0,2	77	87
		não mac.	31,5 \pm 4,3 x10 ^{-1b}	25,3 \pm 0,2	51	92	47,9 \pm 0,1 ^a	6,5 \pm 0,5	78	89
Fe	2065,1 \pm 0,8	mac.	779,9 \pm 1,1 ^a	1250,4 \pm 22,8	38	98	926,2 \pm 9,6 ^a	1023,2 \pm 13,8	45	94
		não mac.	761,6 \pm 12,8 ^a	1262,1 \pm 19,0	37	98	938,4 \pm 2,6 ^a	1035,5 \pm 1,3	45	96
Ca	976,3 \pm 0,3	mac.	691,5 \pm 13,8 ^a	283,4 \pm 2,0	71	100	746,2 \pm 3,0 ^a	180,3 \pm 2,4	76	95
		não mac.	688,6 \pm 0,9 ^a	290,4 \pm 6,2	70	100	731,3 \pm 7,5 ^b	182,2 \pm 10,3	75	93
Mg	2406,7 \pm 0,7	mac.	1599,7 \pm 7,2 ^a	810,8 \pm 3,1	66	100	2088,3 \pm 8,8 ^a	249,0 \pm 14,9	87	97
		não mac.	1590,4 \pm 9,1 ^a	806,2 \pm 5,8	66	100	2079,9 \pm 14,6 ^a	278,1 \pm 9,6	86	98

Fonte: o autor

Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

Tabela 11 - Concentrações de minerais (média \pm desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de espirulina (SP) após a digestão gástrica

Metais	Amostra	Concentração em mg kg ⁻¹			(%)	
		Total	FB*	Resíduo	FB	Balanco de massa
Cu	SP1	9,1 \pm 0,6	5,2 \pm 2,1x10 ^{-1a}	3,6 \pm 0,3	63	102
	SP2	1,2 \pm 0,1	0,2 \pm 4,4x10 ^{-1c}	1,1 \pm 0,1	17	108
	SP3	2,2 \pm 0,3	0,4 \pm 0,1 ^b	1,7 \pm 0,4	18	95
Zn	SP1	19,8 \pm 0,1	12,4 \pm 0,1 ^a	6,1 \pm 2,6x10 ⁻¹	63	93
	SP2	9,3 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1 ^b	3,2 \pm 0,1	55	90
	SP3	7,9 \pm 0,1	4,9 \pm 2,0x10 ^{-1c}	2,9 \pm 0,2	62	99
Mn	SP1	61,4 \pm 0,5	31,5 \pm 4,3x10 ^{-1a}	25,3 \pm 0,2	51	92
	SP2	26,2 \pm 0,2	18,2 \pm 0,1 ^c	6,2 \pm 0,2	69	93
	SP3	37,5 \pm 0,8	19,6 \pm 0,1 ^b	15,2 \pm 0,2	52	93
Fe	SP1	2065,1 \pm 0,8	761,6 \pm 12,8 ^a	1262,1 \pm 19,0	34	98
	SP2	664,4 \pm 1,1	215,6 \pm 1,1 ^b	459,1 \pm 10,8	32	101
	SP3	684,2 \pm 0,5	146,2 \pm 1,5 ^c	528,9 \pm 7,1	21	99
Ca	SP1	976,3 \pm 0,3	688,7 \pm 0,9 ^a	290,4 \pm 6,2	70	100
	SP2	758,8 \pm 0,5	438,0 \pm 1,7 ^c	312,8 \pm 3,9	58	99
	SP3	636,9 \pm 0,09	444,8 \pm 1,9 ^b	189,3 \pm 8,5	70	100
Mg	SP1	2406,7 \pm 0,7	1590,4 \pm 9,1 ^c	806,2 \pm 5,8	66	100
	SP2	3129,2 \pm 4,1	2386,7 \pm 9,5 ^a	725,8 \pm 6,6	76	99
	SP3	3155,8 \pm 6,7	2038,4 \pm 9,2 ^b	1108,6 \pm 32,3	65	100

Fonte: o autor

*FB: Fração Bioacessível. Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança.

O intestino é um ambiente químico/bioquímico complexo no qual os íons metálicos podem interagir com enzimas e estão sujeitos a complexação, absorção e precipitação (LEUFROY et al., 2012; PELFRÊNE et al., 2012). Conforme observado na Tabela 12, a bioacessibilidade de Mg, Zn, Mn e Fe foi maior na fase gastrointestinal comparado com a fase gástrica (Tabela 11), comportamento semelhante foi observado na literatura para, Zn, Mn e Fe (KULKARNI et al., 2007) e Zn, Cu e Fe em espirulina (PRINCIPE et al., 2020). De fato, Mg e Mn tendem a ser mais solúveis em pH intestinal (HERRERA-AGUDELO; MIRÓ; ARRUDA, 2017; SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; POHL, 2015). Maiores frações bioacessíveis de metais na fase gastrointestinal podem ocorrer devido à enzimas digestivas presentes nessa fase que estão envolvidas na quebra de polissacarídeos em monossacarídeos e na degradação de

proteínas desnaturadas, liberando frações ligadas à proteína (ZHENG et al., 2022).

Tabela 12 - Concentrações de minerais (média \pm desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de espirulina (SP) após a digestão gastrointestinal

Metais	Amostra	Concentração em mg kg ⁻¹			(%)	
		Total	FB*	Resíduo	FB	Balanco de massa
Cu	SP1	9,1 \pm 0,6	7,4 \pm 0,3 ^a	1,3 \pm 0,04	81	96
	SP2	1,2 \pm 0,1	1,2 \pm 1,6 x10 ^{-1b}	0	100	100
	SP3	2,2 \pm 0,3	1,3 \pm 3,5x10 ^{-1b}	0,7 \pm 2,6x10 ⁻¹	59	91
Zn	SP1	19,8 \pm 0,1	17,8 \pm 1,2 ^a	2,4 \pm 0,4	90	102
	SP2	9,3 \pm 0,1	7,6 \pm 0,2 ^b	1,3 \pm 0,2	82	97
	SP3	7,9 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1 ^b	1,3 \pm 0,1	87	104
Mn	SP1	61,4 \pm 0,5	47,1 \pm 0,2 ^a	6,6 \pm 0,2	77	87
	SP2	26,2 \pm 0,2	21,2 \pm 0,5 ^c	5,0 \pm 2,8 x10 ⁻¹	81	100
	SP3	37,5 \pm 0,8	24,4 \pm 0,5 ^b	8,1 \pm 0,3	64	87
Fe	SP1	2065,1 \pm 0,8	926,2 \pm 9,6 ^a	1023,1 \pm 13,8	45	94
	SP2	664,4 \pm 1,1	283,8 \pm 3,9 ^b	394,7 \pm 2,2	43	102
	SP3	684,2 \pm 0,5	252,3 \pm 4,8 ^c	404,3 \pm 9,0	37	96
Ca	SP1	976,3 \pm 0,3	746,2 \pm 3,0 ^a	180,3 \pm 2,4	76	95
	SP2	758,8 \pm 0,5	381,5 \pm 1,3 ^b	398,8 \pm 2,8	50	103
	SP3	636,9 \pm 0,1	373,2 \pm 1,5 ^c	231,9 \pm 10,1	59	95
Mg	SP1	2406,7 \pm 0,7	2088,3 \pm 8,8 ^c	249,0 \pm 15,0	87	97
	SP2	3129,2 \pm 4,1	2843,0 \pm 9,6 ^a	348,5 \pm 6,3	91	102
	SP3	3155,8 \pm 6,7	2574,9 \pm 9,1 ^b	388,4 \pm 10,4	82	94

Fonte: o autor

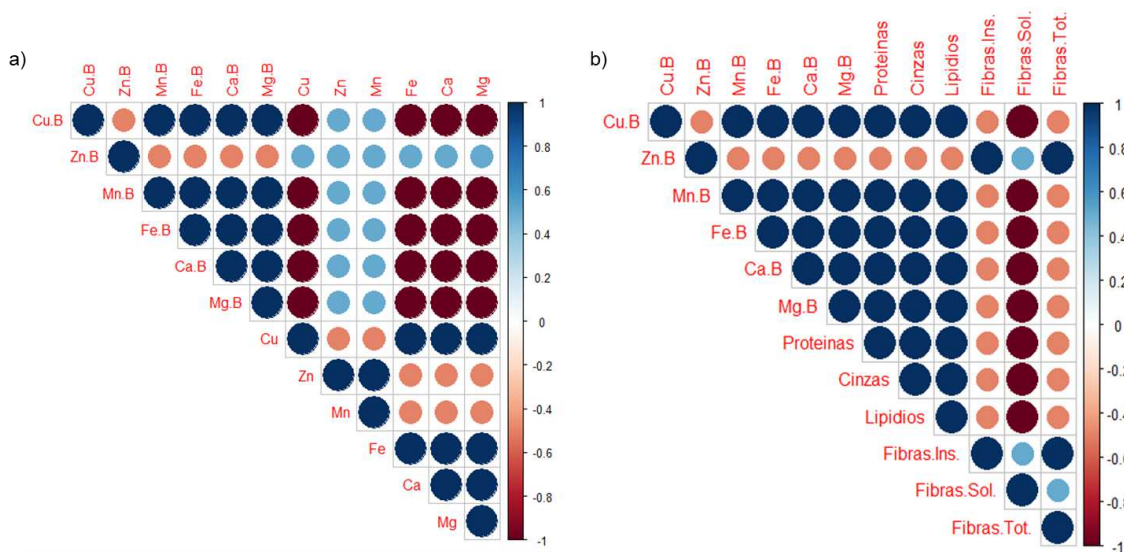
*FB: Fração Bioacessível. Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança.

De acordo com a Tabela 12, as maiores frações bioacessíveis na fase gastrointestinal nas amostras de espirulina foram observadas para Mg (82-91%) e Zn (82-90%), Cu (59–100%) seguidas de Mn (64–81%) e Ca (50–76%). Estudos de bioacessibilidade de minerais em suplementos alimentares infantis, também encontraram frações mais bioacessíveis para Mg e Mn (SILVA; FARIAS; CADORE, 2018).

A espirulina SP1 apresentou, em geral, elevadas frações bioacessíveis na fase gastrointestinal (Tabela 12). A bioacessibilidade de Zn na espirulina SP1 foi alta (90%) e apresentou comportamento diferente dos demais elementos nas

correlações, sendo positivas com todos os minerais totais (Fig. 4a) e com fibras (insolúveis, solúveis e totais). Comportamento diferente foi observado para os demais elementos dessa amostra. Dessa forma, a correlação positiva de Zn.B com os minerais totais e fibras na SP1, comparado a SP2 e SP3, se deve ao seu maior conteúdo total de zinco.

Figura 4- Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal (b) da amostra SP1 na fase gastrointestinal



Fonte: o autor

O Cu foi o mineral com as menores quantidades encontradas em mg kg^{-1} tanto no conteúdo total como nas frações bioacessíveis, em especial para SP2 e SP3, comparado com os demais elementos, o que pode ter condicionado esse elemento a apresentar diferentes interações quando comparado aos seus pares.

Correlações negativas foram observadas entre os elementos bioacessíveis (Cu.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) e seus respectivos conteúdos totais (Fig. 4a) para amostra SP1, indicando que quanto maior a concentração total desses elementos, menor é a porcentagem bioacessível. Isso também pode ser constatado ao se comparar a maior fração bioacessível do zinco, o elemento de menor concentração total, em relação aos demais elementos. Observou-se, ainda, que Ca.B e Mg.B apresentaram correlação negativa com ferro total, devido a elevada concentração de ferro na amostra SP1, indicando a interação

competitiva entre elementos com mesma carga (bivalentes), diminuindo a bioacessibilidade (COZZOLINO, 1997; HEMALATHA; PLATEL; SRINIVASAN, 2007; SILVA et al., 2020). Interessante notar que para a amostra SP2 (Figura 5a), Ca.B e Mg.B possuem correlação positiva com ferro total, devido a menor concentração de ferro comparado com SP1.

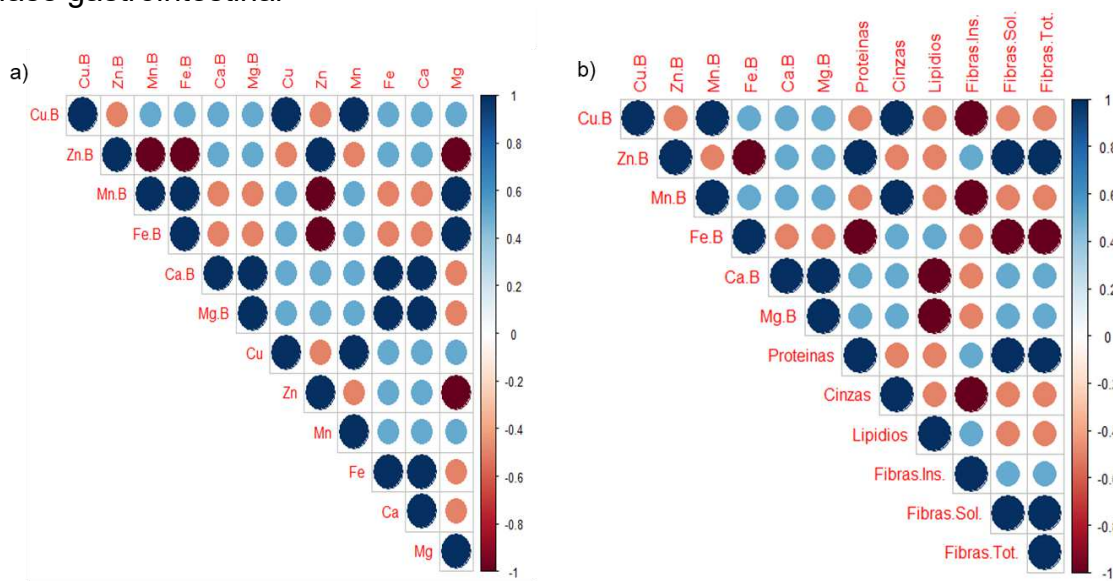
Observou-se correlações negativas dos minerais bioacessíveis (Cu.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B, Mg.B) com as fibras (solúveis e insolúveis) na espirulina SP1. A fibra solúvel, por exemplo, pode aumentar a bioacessibilidade de minerais (MOREDA-PIÑEIRO et al., 2012), contudo a SP1 possui baixo teor de fibra solúvel (1,2%) e elevado teor de fibra insolúvel (19,6%) justificando sua correlação negativa. A combinação de alto teor de fibra insolúvel e baixo teor de fibra solúvel desfavorece a bioacessibilidade dos minerais na amostra SP1, tendo em vista que as fibras insolúveis podem diminuir a bioacessibilidade. É relatado que as fibras alimentares podem inibir a solubilidade de Ca, (ETCHEVERRY; GRUSAK; FLEIGE, 2012), Fe e outros minerais (PALAFOX-CARLOS; AYALA-ZAVALA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2011; TOKALIOĞLU, 2022), devido à alta afinidade que as fibras possuem com minerais. A fibra alimentar pode diminuir a formação de micelas, inibir a atividade enzimática e aumentar a viscosidade e volume do conteúdo do lúmen, realiza a troca de cátions em alimentos ricos em fibras devido à ligação de minerais e eletrólitos na fonte de fibra, promovendo menor fração bioacessível (O'CONNELL et al., 2008; OLIVARES et al., 2001).

Por outro lado, foi observado correlação positiva de Zn.B com fibras solúveis e insolúveis na espirulina SP1 (Fig.4b), o que pode ser justificado pela maior concentração de Zn total presente nessa amostra, em relação a SP2 e SP3. Outrossim, outros estudos também apontam correlação positiva entre Zn.B e fibras solúvel de amido de arroz (BOSSCHER et al., 2003) e fibra insolúvel em cultivares de milho (KRISHNAN; MEERA, 2017). É relatado também que a pectina, uma das fibras solúveis presente na espirulina, não influencia negativamente na bioacessibilidade de Zn, mas prejudica a bioacessibilidade de Ca e Fe (BOSSCHER et al., 2003). Em razão dos numerosos grupos hidroxila, bem como grupos carbonila, encontrados em constituintes de polissacarídeos, as fibras alimentares são propensas a formar complexos com íons metálicos (LI et al., 2016). A natureza dessa interação com o zinco depende do número desses

grupos funcionais ionizáveis (hidroxila e carbonila) encontrados na fibra (BOSSCHER et al., 2003), pelo tipo de fibra (HEMALATHA; PLATEL; SRINIVASAN, 2007), e do processamento do alimento, alterando assim os complexos com as fibras alimentares (KHOUZAM; POHL; LOBINSKI, 2011).

Na amostra SP2 a correlação positiva de Zn.B, Ca.B e Mg.B com fibras solúveis (Fig.5b) pode ser explicada em face da amostra possuir maior porcentagem de fibras solúveis (2,8%). No entanto, correlação negativa para Cu.B e Mn.B foi observada em relação ao teor de fibras (solúveis e insolúveis), diferente ao observado para amostra SP3 (Fig. 6b). Nesse caso, a correlação positiva para SP3 pode ser justificada por apresentar menor teor de fibras insolúveis (11,2%) em relação a SP2 (16,3%).

Figura 5- Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal (b) da amostra SP2 na fase gastrointestinal



Fonte: o autor

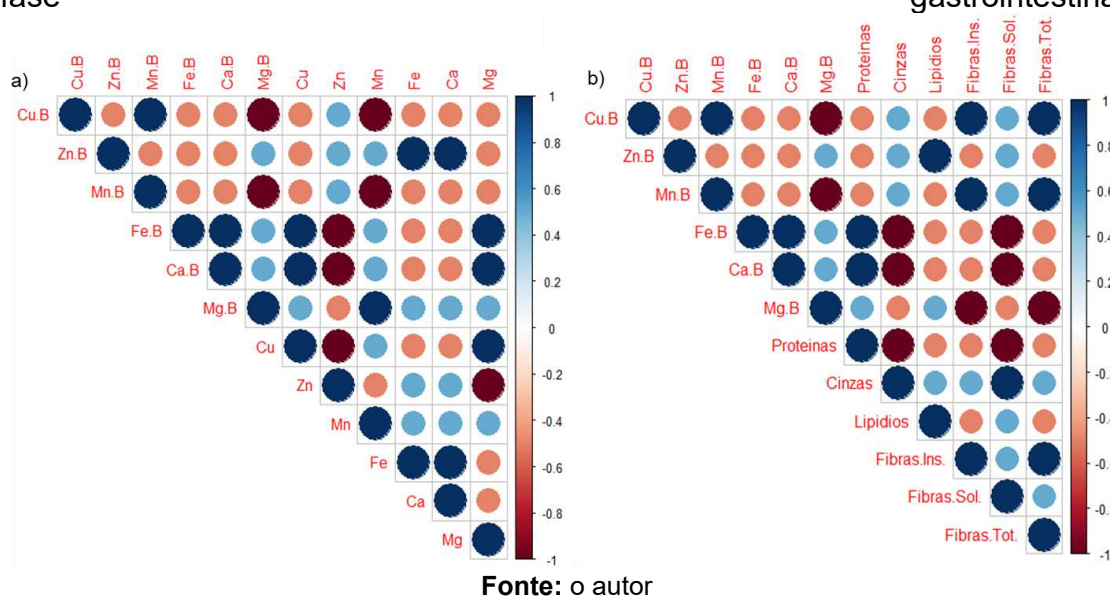
Em geral, correlações positivas foram observadas entre Mg.B e proteínas em todas as amostras de espirulina, ressaltando as altas concentrações desse mineral bem como altos teores de proteínas. Estudos apontam que as proteínas podem aumentar a absorção intestinal de magnésio dos alimentos (BHARADWAJ; DARBARI; NAITHANI, 2014; BRINK, 1992; HUNT; SCHOFIELD, 1969; IOM, 1997), ao formar complexos solúveis que posteriormente são bioacessíveis no intestino (ZHANG et al., 2022). Cu.B, Mn.B, Fe.B e Ca.B

também apresentaram correlações positivas com proteínas na amostra SP1, sendo esses, os elementos com as maiores frações bioacessíveis em mg kg⁻¹ dentre as três amostras de espirulina.

Importante constatar que foi observada correlação negativa de Fe.B, Cu.B e Mn.B com proteínas na amostra SP2, que por sua vez apresentou a menor concentração de Fe em mg kg⁻¹ dentre as amostras. Correlações negativas de minerais bioacessíveis com proteínas podem ser atribuídas ao efeito causado pela força iônica: as proteínas são hidrolisadas a aminoácidos durante a digestão *in vitro* e a maioria dos aminoácidos são solúveis e carregam cargas positivas ou negativas no pH fisiológico, aumentando a força iônica da fase aquosa. O aumento da força iônica pode resultar em uma menor solubilidade dos metais (efeito "*salting-out*") na fase aquosa e, portanto, a bioacessibilidade dos minerais é menor (VITALI; VEDRINA DRAGOJEVIĆ; ŠEBEČIĆ, 2008; YU et al., 2010), sendo esse comportamento mais acentuado para aqueles elementos com menor concentração, como é o caso do Cu, Mn e Fe na amostra SP2 e Cu, Mn e Zn na SP3.

Observou-se uma leve correlação negativa entre Cu.B, Zn.B, Mn.B e lipídios, e mais acentuada entre Ca.B e Mg.B com lipídios na amostra SP2. De fato, correlações negativas podem ser encontradas entre minerais e lipídios (MOREDA-PIÑEIRO et al., 2012), devido a formação de complexos insolúveis no intestino (CORTE-REAL; BOHN, 2018). A amostra SP2 possui o maior teor de lipídios, o que pode ter influenciado nas interações negativas com esses minerais. Por outro lado, ao analisar a correlação dos minerais bioacessíveis com lipídios para amostra SP1, com exceção do zinco, constata-se forte correlação positiva. Esse resultado pode ser explicado com base nas maiores concentrações dos minerais na amostra SP1 comparada com as amostras SP2 e SP3, uma vez que o teor de lipídios é muito similar entre as amostras.

Figura 6- Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal (b) da amostra SP3 na fase gastrointestinal.



Uma interação negativa entre Fe.B e Zn foi observada para as amostras SP2 e SP3 (Fig. 5a e 6a), que possuem menores concentrações totais de Zn e Fe quando comparadas com a SP1. Esse efeito também foi relatado em estudos anteriores, onde observou-se a atuação do Zn como regulador da absorção do Fe (IYENGAR; PULLAKHANDAM; NAIR, 2012; RAMÍREZ-OJEDA; MORENO-ROJAS; CÁMARA-MARTOS, 2018). Uma correlação negativa de Cu.B com Zn total na amostra SP2 foi observada. Comportamento similar foi relatado em farinha de banana verde (FERREIRA; TARLEY, 2020b). Na amostra SP3, as interações negativas entre Cu.B e minerais totais, podem justificar a menor porcentagem bioacessível dentre as três amostras.

Khouzam e colaboradores (2011) avaliaram a bioacessibilidade de Fe, Zn e Mn em alguns alimentos e observou-se que concentrações totais de ferro em pães ($43,6 \text{ mg kg}^{-1}$), em pepino ($4,0 \text{ mg kg}^{-1}$), abóbora ($10,8 \text{ mg kg}^{-1}$) e maçã ($3,7 \text{ mg kg}^{-1}$) apresentaram frações bioacessíveis variando de 6,8 a 12% e em queijos ($4,3 \text{ mg kg}^{-1}$) variaram de 50-84 % Fe.B. Quando comparamos as frações de Fe bioacessível encontradas nos alimentos tradicionais (KHOUZAM; POHL; LOBINSKI, 2011), nos vegetais (50 mg kg^{-1}) e na maioria das carnes (100 mg.kg^{-1}) (SOTELO et al., 2010) com as amostras SP1, SP2 e SP3, observa-se

que o Fe na espirulina possui maior concentração total e maior fração bioacessível em mg kg^{-1} .

Kougia *et al.* (2023) determinaram a bioacessibilidade de ferro em espirulina com e sem enriquecimento de ferro e o Fe.B para espirulina não fortificada foi 450 mg kg^{-1} , sendo menor que a fração bioacessível de ferro obtida para SP1 ($926,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e maior que SP2 e SP3 ($283,8$ e $252,3 \text{ mg kg}^{-1}$) ressaltando que todas são espirulinas não fortificadas. Príncipe e colaboradores (2020), avaliaram a influência dos excipientes na bioacessibilidade de Fe em sete suplementos de espirulina. Na fase gastrointestinal, as maiores frações bioacessíveis de ferro foram obtidas nas amostras que não possuíam excipientes em sua formulação, sendo elas M1 ($426,4 \text{ mg kg}^{-1}$) e M3 ($221,1 \text{ mg kg}^{-1}$). Comparando M1 com SP1, M1 possui menor Fe bioacessível. Nas amostras SP2 e SP3, as frações bioacessíveis de ferro foram maiores que M3 e menores que M1.

5.5 BIOACESSIBILIDADE DOS MINERAIS NO CAMU-CAMU

Os resultados das frações bioacessíveis (%) para os minerais presentes nas amostras de camu-camu, analisadas na fase gástrica e gastrointestinal, são apresentados nas Tabelas 13 e 14, respectivamente. Conforme observado no balanço de massa das fases gástrica e gastrointestinal os resultados variaram de 90 a 104%, demonstrando a confiabilidade das análises de bioacessibilidade. A amostra CC1 se destacou na concentração de Ca total ($2414,8 \text{ mg kg}^{-1}$). As amostras CC2 e CC3 se destacaram no conteúdo de Mg total, sendo $9361,5$ e $1049,2 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente. A elevada concentração de Mg para CC2 pode estar associada a presença de silicato de magnésio e, para amostra CC3, possivelmente porque o produto é comercializado como polpa, casca e sementes. As amostras CC2 e CC3 apresentaram o mesmo comportamento para Cu.B nas duas fases, sem solubilidade na fase gástrica e 100% bioacessível na fase gastrointestinal

Tabela 13 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de camu-camu (CC) após a digestão gástrica

Metais	Amostra	Concentração em mg kg ⁻¹			(%)	
		Total	FB*	Resíduo	FB	Balanco de massa
Cu	CC1	<LOQ**	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	CC2	0,4±1,3x10 ^{-1a}	<LOQ	0,4±5,4x10 ⁻¹	0	100
	CC3	0,4±2,5x10 ^{-1a}	<LOQ	0,4±0,1	0	100
Zn	CC1	20,5±0,1	6,5 ± 0,3 ^a	14,4 ± 0,5	32	102
	CC2	9,1±0,1	1,2±0,1 ^c	7,0±0,1	13	90
	CC3	17,6±0,1	2,8 ± 3,3x10 ^{-1b}	14,5±0,9	16	98
Mn	CC1	2,8±0,1	1,5± 1,1x10 ^{-1b}	1,2± 0,1	54	96
	CC2	9,3±0,2	0,9±0,2 ^b	8,6±0,5	10	102
	CC3	26,4±0,1	10,9±0,3 ^a	15,9±0,5	41	101
Fe	CC1	4,8±6,1x10 ⁻³	4,7±0,2 ^b	<LOQ	98	98
	CC2	46,3±0,1	11,1±3,1x10 ^{-1a}	35,6±0,4	24	101
	CC3	4,4±0,1	4,2±2,0x10 ^{-1c}	<LOQ	95	95
Ca	CC1	2414,8±21,8	2004,2±15,3 ^a	391,3±8,6	83	99
	CC2	781,3±0,9	422,8±1,2 ^c	370,7±10,5	54	101
	CC3	637,9±1,9	630,6±3,9 ^b	<LOQ	99	99
Mg	CC1	57,2±0,3	54,0±0,3 ^c	3,6±0,1	94	101
	CC2	9361,5±22,0	257,9±1,6 ^b	9103,5±14,2	3	100
	CC3	1049,2±21,5	963,9±0,9 ^a	119,7±8,5	92	103

Fonte: o autor

*FB: Fração Bioacessível. **<LOQ: abaixo do limite de quantificação. Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança.

Os resultados obtidos para a bioacessibilidade de camu-camu, na fase gastrointestinal são apresentados na Tabela 14. A bioacessibilidade de todos os minerais analisados (exceto Zn) foi menor na amostra CC2, o que pode ser justificada possivelmente pela presença de excipiente (silicato de magnésio e dióxido de silício) em sua composição, também confirmada na alta porcentagem de cinzas dessa amostra. Quando comparamos as frações bioacessíveis das outras duas amostras (CC1 e CC3), observa-se que são maiores. Sendo mencionado nesse texto, a presença de excipientes em suplementos alimentares, pode reduzir a bioacessibilidade de minerais (PRINCIPE et al., 2020).

Tabela 14 - Concentrações de minerais (média ± desvio padrão; n = 3) presentes nas frações bioacessíveis (FB) e residuais nos suplementos de camu-camu (CC) após a digestão gastrointestinal

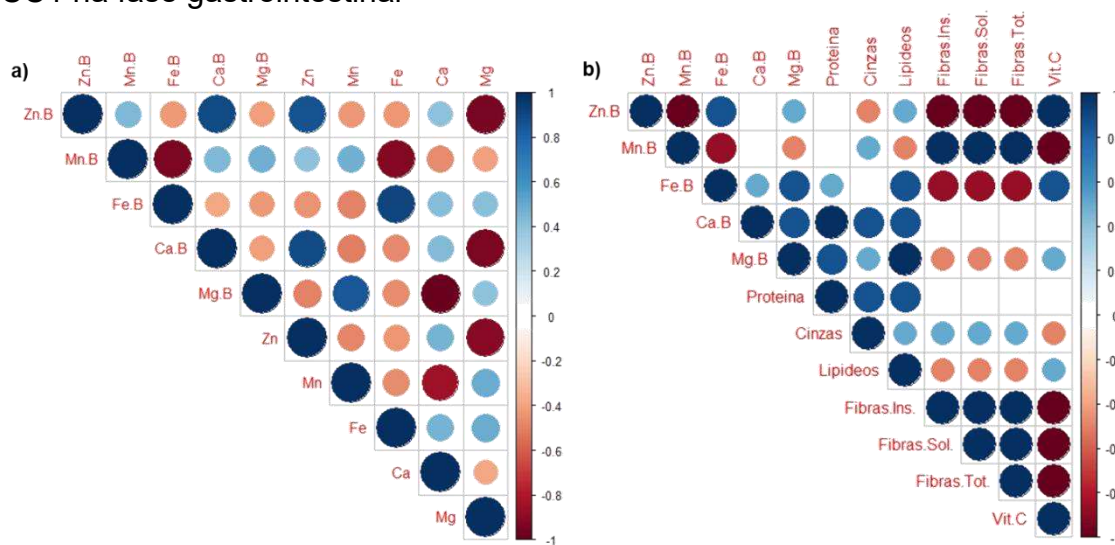
Metais	Amostra	Concentração em mg kg ⁻¹			(%)	
		Total	FB*	Resíduo	FB	Balanco de massa
Cu	CC1	<LOQ**	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	CC2	0.4±1.3x10 ^{-1a}	0,4±0,1 ^a	<LOQ	100	100
	CC3	0.4±2.5x10 ^{-1a}	0,4±0,1 ^a	<LOQ	100	100
Zn	CC1	20,5±0,1	8,5±0,1 ^a	12,1±0,8	41	100
	CC2	9,1±0,1	4,6±0,2 ^c	4,7±0,2	51	102
	CC3	17,6±0,1	5,4±0,2 ^b	11,1±0,2	31	94
Mn	CC1	2,8±0,1	2,5±0,2 ^b	<LOQ	93	93
	CC2	9,3±0,2	0,7±5,0x10 ^{-2c}	8,7±0,3	7	101
	CC3	26,4±0,1	22,1±1,0 ^a	3,9±0,3	84	98
Fe	CC1	4,8±6,1x10 ⁻³	4,7±6,2x10 ^{-2b}	0,2±3,5x10 ⁻²	98	102
	CC2	46,3±0,1	14,9±0,1 ^a	30,5±0,6	32	98
	CC3	4,4±0,1	4,6±7,5x10 ^{-2b}	<LOQ	104	104
Ca	CC1	2414,8±21,8	1772,8±1,4 ^a	636,7±11,2	73	100
	CC2	781,3±0,9	500,5±3,4 ^b	278,3±10,7	64	100
	CC3	637,9±1,9	565,5±0,9 ^c	70,3±1,2	89	100
Mg	CC1	57,2±0,3	56,9±0,1 ^c	1,5±0,3	99	102
	CC2	9361,5±22,0	390,2±2,6 ^b	8948,8±70,2	4	100
	CC3	1049,2±21,5	833,5±0,9 ^a	221,4±13,8	79	100

Fonte: o autor

Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança. * FB: Fração Bioacessível. ** <LOQ: abaixo do limite de quantificação.

Ao analisarmos a Tabela 14, é possível inferir que quanto menor a concentração do mineral na amostra maior sua bioacessibilidade, isso pode ser confirmado pela fração bioacessível de Zn (51%) e Cu (100%) na amostra CC2, Mn (93%) na amostra CC1, Fe (98% e 104%) nas amostras CC1 e CC3, respectivamente, Cu (100%) e Ca (89%) na amostra CC3 e Mg (99%) na amostra CC1.

Figura 7- Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal e vitamina C (b) da amostra CC1 na fase gastrointestinal



Fonte: o autor

Em camu-camu o Ca.B apresentou correlação positiva com Zn total nas amostras CC1 (Fig. 7a) e CC3 (Fig. 9a), o inverso ocorreu na amostra CC2 (Fig.8a), visto que essa amostra possui menor concentração de Zn ($9,1 \text{ mg kg}^{-1}$) e menor bioacessibilidade de Ca. Correlação negativa de Ca.B com Zn total também foi observada em farinhas de banana verde (FERREIRA; TARLEY, 2020a). Pode-se dizer que para o sistema Ca.B/Zn, quanto menos Zn menos Ca.B.

Observou-se correlações negativas de Mn.B com Ca total em todas as amostras de camu-camu. Estudos apontam, que o Ca pode atuar como um inibidor da bioacessibilidade de Mn (AFFONFERE et al., 2021; SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; POHL, 2015). Dentre as três amostras, o camu-camu CC1 possui a menor concentração de Mn ($2,8 \text{ mg kg}^{-1}$) o que pode justificar sua alta fração bioacessível. Em estudo de bioacessibilidade de minerais em farinhas de aveia e farinhas de casca de maracujá, o Mn, com menores concentrações totais, apresentou maiores frações bioacessíveis que Ca que por sua vez (FERREIRA; TARLEY, 2021).

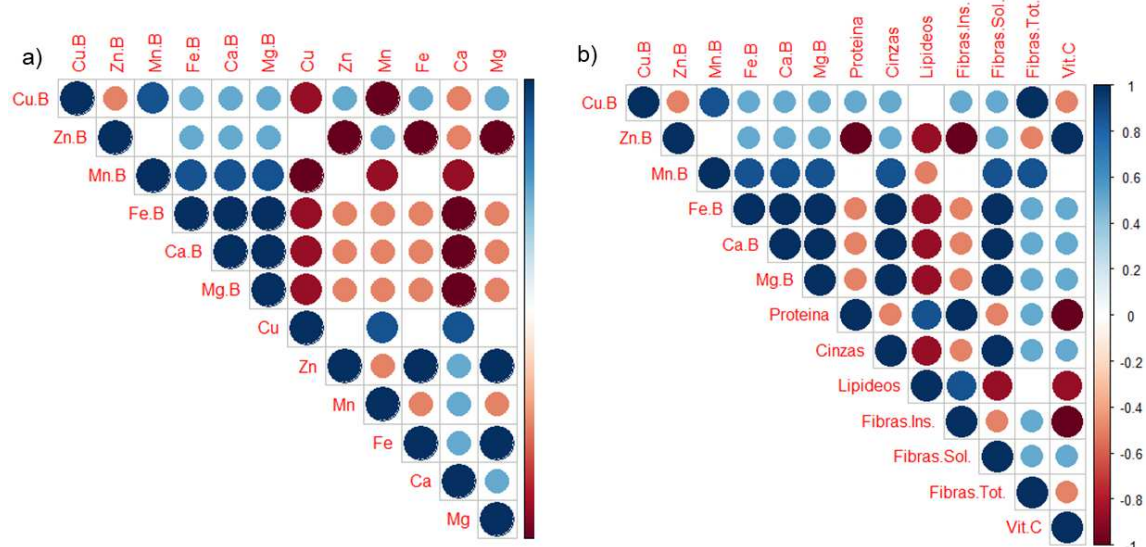
Fe.B apresentou correlações negativas com Zn e Mn total na amostra CC1 (Fig 7a), com todos os minerais totais na amostra CC2 (Fig.8a), no entanto isso não se repetiu para CC3 (Fig. 9a) sendo nesta amostra, o mineral totalmente

bioacessível. Fe.B apresentou correlações positivas com Vitamina C em todas as amostras de camu-camu. É notório que a presença de ácido ascórbico favorece a absorção de Fe, devido à sua capacidade de reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} e quelar esse mineral em meio ácido, aumentando a solubilidade e absorção em pH alcalino ao nível do duodeno (AKASAPU et al., 2020; HUMA et al., 2007). A presença de ácido ascórbico também favorece a bioacessibilidade de Ca e Zn, atuando como agente quelante, especialmente na fase gastrointestinal (JAISWAL; JYOTHI LAKSHMI, 2022; ZACCARI et al., 2015), corroborando com as interações positivas observadas de Zn.B e Ca.B com Vitamina C.

O Zn.B na amostra CC1 apresentou fortes correlações negativas com fibras (insolúveis, solúveis e totais), justificando a baixa fração bioacessível obtida. Essa interação também foi observada com Fe.B e Mg.B. Observou-se que Zn.B e Cu.B apresentaram correlações positivas com as fibras solúveis na amostra CC2 (Fig.8b), sendo a maior fração bioacessível para Zn (51%) e Cu (100%) e o maior teor de fibra solúvel dentre as amostras analisadas. Infere-se, assim, que, a bioacessibilidade desse metal foi influenciada positivamente pela fibra alimentar solúvel, pois ela pode aumentar a bioacessibilidade mineral (JIMÉNEZ-ESCRIG; SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000; MOREDA-PIÑEIRO et al., 2012). Entretanto na amostra CC3 as interações negativas dos minerais bioacessíveis com as fibras foram mais fracas, possivelmente devido ao menor teor de fibras.

Filbido *et al.* (2021) também relataram correlação negativa de Zn e Fe com fibras em alimentos infantis fortificados. Galvão *et al.* (2023) avaliaram a bioacessibilidade de minerais em farinhas de frutas comerciais e obtiveram correlações negativas de Mg.B com fibras totais, atribuindo à presença de polissacarídeos carregados negativamente, que podem formar complexos com alguns minerais por interação eletrostática. De fato, a fibra alimentar pode influenciar negativamente a bioacessibilidade, dada sua alta afinidade com esses elementos (HEMALATHA; PLATEL; SRINIVASAN, 2007; MINGRONI et al., 2018), pois tendem a formar compostos insolúveis com minerais (KHOUZAM; POHL; LOBINSKI, 2011)

Figura 8- Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Cu.B, Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal e vitamina C (b) da amostra CC2 na fase gastrointestinal.



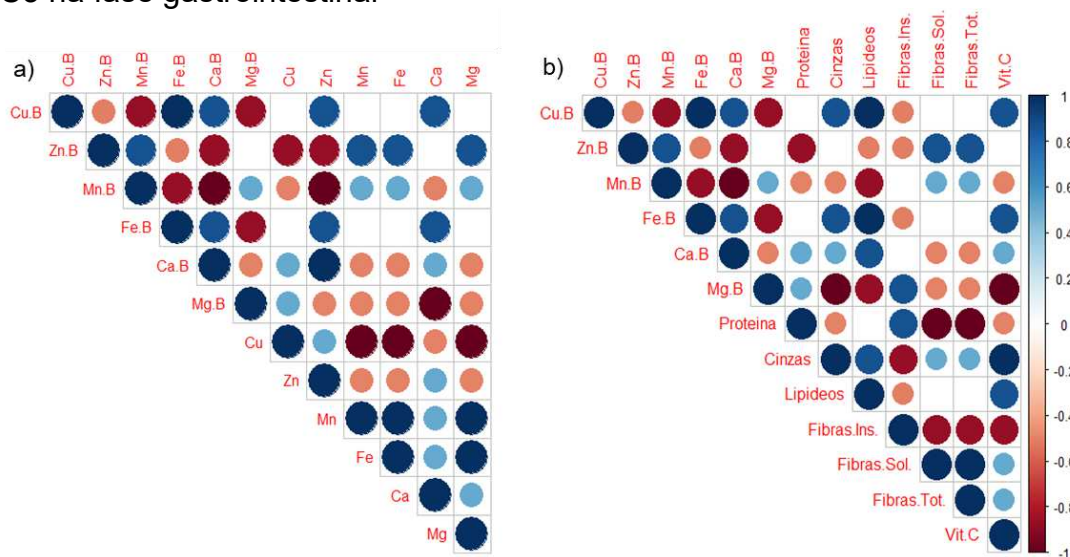
Fonte: o autor

Correlações negativas foram observadas entre Mn.B e vitamina C nas amostras CC1 e CC3. De fato a vitamina C não se comporta como um promotor da bioacessibilidade de Mn (GONÇALVES et al., 2020), como acontece com outros minerais (JAISWAL; JYOTHI LAKSHMI, 2022; ZACCARI et al., 2015). Nas três amostras de camu-camu o Mn.B apresentou correlações negativas com lipídios, comportamento similar ao apresentado em estudo de bioacessibilidade em farinhas funcionais (FERREIRA; TARLEY, 2020b). É relatado na literatura a interação de ácidos graxos com metais divalentes, formando complexos pouco solúveis em pH alcalino do trato gastrointestinal, resultando em menor absorção de minerais e lipídios. A solubilidade do complexo formado parece depender da digestibilidade dos triglicerídeos e da composição dos ácidos graxos (CHENG; MOREHOUSE; DEUEL, 1949; CORTE-REAL; BOHN, 2018).

Em geral, os minerais bioacessíveis (Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) da amostra CC2 apresentaram correlações negativas com teor total de minerais, um pouco diferente de Cu.B e Zn.B sendo esses os mais bioacessíveis nessa amostra. Nessa amostra foi encontrada concentração muito superior de Mg, em relação ao encontrado nas outras duas amostras CC1 e CC3 (57,2 e 1049,2 mg kg^{-1}), oriunda do excipiente (silicato de magnésio), uma forma inorgânica do mineral, o que pode justificar a baixa fração bioacessível encontrada para Mg

(4%) e para os demais minerais dessa mesma amostra. Tendo em vista que o silicato reduz a bioacessibilidade dos minerais, a correlação negativa demonstra que quanto maior a concentração total dos minerais, maior a interação com silicato e, portanto, menos bioacessível. (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010)

Figura 9- Correlação de Spearman entre as frações bioacessíveis dos minerais (Zn.B, Mn.B, Fe.B, Ca.B e Mg.B) (mg kg^{-1}) com teor total de minerais (Zn, Mn, Fe, Ca e Mg) (a) e com a composição centesimal e vitamina C (b) da amostra CC3 na fase gastrointestinal



Fonte: o autor

Com relação a interação dos minerais bioacessíveis com proteínas, observou-se que a amostra com menor teor de proteína (CC1) apresentou apenas interações positivas. Já as outras amostras (CC2 e CC3), com maior teor de proteínas apresentaram mais interações negativas entre minerais bioacessíveis e proteínas. Nas amostras CC2 e CC3, Cu.B foi totalmente bioacessível, podendo ser justificado pela pouca interação negativa com a composição centesimal, bem como sua menor concentração em mg kg^{-1} , tornando mais bioacessível, conforme discutido anteriormente.

Com intuito de comparar a bioacessibilidade da espirulina e do camu-camu com suplementos nutricionais, adquiridos em farmácia, fez-se uma comparação com os dados reportados por (TOKALIOĞLU e colaboradores (2014) (Quadro 2). Na fase gástrica os autores relatam valores na faixa de 55-99% para Fe, 33-95% para Mg, 83-94% para Mn, 81-104% para Zn e 9-79% para Cu. Entretanto, as frações bioacessíveis diminuíram na fase

gastrointestinal: 3-14% para Fe, 34-91% para Mg, 53-62% para Mn, 3–35% para Zn e somente para Cu aumentaram em apenas 3 suplementos (27- 66%) (TOKALIOĞLU et al., 2014).

Quadro 4- Concentração total (mg kg⁻¹) e frações bioacessíveis (%) de minerais (Mg, Fe, Mn e Zn) quantificados em dez suplementos nutricionais diferentes

Suplemento	Metal	Forma química	Total (mg kg ⁻¹)	Fase Gástrica (%)	Fase Gastrointestinal (%)	
S1	Mg	Óxido, estearato	24600 ± 880	87	84	
S2		Óxido, estearato	84500 ± 3400	71	74	
S3		Estearato	21300 ± 790	93	76	
S4		Óxido, estearato	53000 ± 3300	82	70	
S5		Óxido, estearato	75700 ± 2500	81	78	
S6		Óxido, estearato	60700 ± 1700	95	91	
S9		Óxido, estearato	146000 ± 13000	33	34	
S10		Óxido, estearato	79200 ± 6900	77	70	
S1		Fe	Fe(II) fumarato	8080 ± 130	88	14
S2			Fe(II) gluconato	4150 ± 32	84	
S3	Fe(II) sulfato		4680 ± 94	92	2	
S4	Fe(II) sulfato/ Óxido de ferro		7260 ± 540	55		
S5	Fe(II) fumarato/ Óxido de ferro		5800 ± 56	90	8	
S6	Fe(II) fumarato		9710 ± 230	62	12	
S9	Fe(II) fumarato		14600 ± 450	84	3	
S10	Fe(II) gluconato		2580 ± 200	99		
S1	Mn		Sulfato	947 ± 26	94	
S2			Gluconato	1440 ± 20	89	60
S3		Carbonato	317 ± 15	94		
S4		Sulfato	356 ± 17	92		
S5		Sulfato	1450 ± 18	92	53	
S6		Sulfato	3530 ± 68	87	62	
S10		Gluconato	2740 ± 110	92		
S1		Zn	Óxido	7220 ± 470	96	35
S2	Gluconato		4450 ± 340	81		
S3	Óxido		3170 ± 180	94		
S4	Óxido		2740 ± 200	91		
S5	Sulfato		11000 ± 510	92	16	
S6	Sulfato		18800 ± 1400	87	25	
S7	Gluconato		37800 ± 1900	91	2	
S9	Sulfato		12700 ± 980	88	3	
S10	Gluconato		2770 ± 230	104		
S1	Cu		Cu(II) sulfato	1130 ± 12	18	27
S2		Cu(II) gluconato	163 ± 5,8	63	66	
S3		Cu(II) sulfato	352 ± 5,9	19		
S5		Cu(II) sulfato	930 ± 37	9	42	
S6		Cu(II) sulfato	1350 ± 110	10		
S9		Cu(II) sulfato	1030 ± 220	18		
S10		Cu(II) gluconato	101 ± 6,3	79		

Fonte: (TOKALIOĞLU et al., 2014)

Ao se comparar as frações bioacessíveis de Fe da fase gastrointestinal obtidas para espirulina 37 – 45 % (Tabela 13) com os resultados obtidos por Tokalioğlu *et al.*, 2014 (Quadro 2) 3 -14% em quatro dos dez suplementos nutricionais analisados, observa-se que a espirulina apresentou maiores frações bioacessíveis, bem como Zn bioacessível (82 – 90%) da espirulina comparando com os outros suplementos nutricionais (3 – 35%). De acordo com o Quadro 2, pode-se observar ainda que as formas químicas que os minerais são apresentados afetam sua bioacessibilidade. Ao se comparar as frações minerais bioacessíveis das amostras CC1 e CC3 com as frações dos suplementos mostrados no Quadro 2, pode-se destacar que CC1 e CC3 apresentaram maiores frações bioacessíveis para Fe (98 e 104%), Mn (84 e 93%) e Zn (31 e 41%). Em geral, pode-se inferir que tanto os suplementos de espirulina quanto de camu-camu apresentam frações bioacessíveis relevantes na fase gastrointestinal para Fe, Zn e Mg, quando comparados a outros suplementos nutricionais.

5.6 CONTRIBUIÇÃO NUTRICIONAL

Visando garantir a qualidade dos alimentos comercializados em âmbito nacional e a saúde da população, a ANVISA estabelece por meio da Resolução nº 54/2012 parâmetros para a Informação Nutricional Complementar contida em seus rótulos, que permitem ao consumidor avaliar se o produto possui uma ou mais propriedades particulares, relacionadas ao seu conteúdo de macro e micronutrientes. Essa legislação também estabelece que em relação à micronutrientes um produto pode receber o atributo de “fonte”, quando esse apresentar o mínimo de 15% da IDR de referência por porção e, “alto teor” quando apresentar o mínimo de 30% da IDR de referência por porção (ANVISA, 2012). Por sua vez, na Resolução nº 269/2005 da mesma agência reguladora, apresenta valores de IDR de adultos para proteína, vitaminas e minerais, com o objetivo de controlar distúrbios nutricionais e doenças associadas à alimentação e nutrição (ANVISA, 2005). Assim, através destes parâmetros estabelecidos, é possível mensurar se a contribuição dos suplementos minerais é relevante, avaliando se os valores atendem ao IDR, são acima ou abaixo do recomendado.

Foram realizados os cálculos de contribuição da IDR, em %, para as amostras referentes aos valores do conteúdo total para espirulina e camu-camu. Com intuito de avaliar a verdadeira contribuição em relação aos minerais investigados, foram realizados também os cálculos de contribuição da IDR para a média dos valores de bioacessibilidade na fase gastrointestinal para os suplementos de espirulina e de camu-camu (Tabela 15). Os cálculos foram realizados considerando uma porção diária recomendada pelo fabricante (1g) dos suplementos, considerando o IDR de Ca (1000,0 mg), Fe (14,0 mg), Mg (260,0 mg), Zn (7,0 mg), Mn (2,3 mg) e Cu (0,9 mg) para adultos (ANVISA, 2005).

Os valores bioacessíveis na fase gastrointestinal, onde a absorção intestinal efetivamente ocorre, são determinantes na análise da contribuição nutricional. De acordo com a Tabela 15, os valores bioacessíveis de minerais encontrados em suplementos de espirulina e camu-camu na fase gastrointestinal, indicam que esses suplementos não são fonte (<15% da IDR) dos minerais estudados, considerando a ingestão de 1 g dia⁻¹. Dessa forma, pode-se perceber que dentre as amostras de suplementos de espirulina os minerais que contribuem mais significativamente para a IDR são Fe, Mn e Mg.

Tabela 15- Contribuição (%) do consumo de espirulina (SP) e camu-camu (CC) para o IDR dos elementos para uma porção de 1g (2 cápsulas) dia⁻¹, considerando o conteúdo total (CT) e bioacessibilidade gastrointestinal (BG)

Metal	IDR ^a (mg dia ⁻¹)	Amostras						
		Porção (1g dia ⁻¹)	SP1	SP2	SP3	CC1	CC2	CC3
Mg	260,0	CT	0,9	1,2	1,2	2,2x10 ⁻¹	3,6	0,4
		BG	0,8	1,1	1,0	2,1x10 ⁻¹	0,1	0,3
Ca	1000	CT	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
		BG	0,1	3,8x10 ⁻¹	5,0x10 ⁻¹	0,2	5,0x10 ⁻¹	0,1
Fe	14,0	CT	14,8	47	4,9	3,4x10 ⁻¹	0,3	3,1x10 ⁻¹
		BG	6,6	2,0	1,8	3,3x10 ⁻¹	0,1	3,2x10 ⁻¹
Zn	7,0	CT	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2
		BG	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Mn	2,3	CT	2,7	1,1	1,6	0,1	0,4	1,1
		BG	2,0	0,9	1,1	0,1	3,0x10 ⁻¹	0,2
Cu	0,9	CT	1,0	0,1	0,2	<LOQ*	4,4x10 ⁻¹	4,4x10 ⁻¹
		BG	0,8	0,1	0,1	<LOQ	4,4x10 ⁻¹	4,4x10 ⁻¹

Fonte: o autor

^a IDR – Ingestão diária recomendada; ^b CT- Conteúdo total; ^c BG- Bioacessibilidade gastrointestinal. *<LOQ: abaixo do limite de quantificação.

Contribuições obtidas referente à IDR de Fe, a espirulina pode ser uma alternativa na suplementação deste mineral, visto a alta bioacessibilidade encontrada (principalmente na amostra SP1) quando comparamos com outros suplementos alimentares (PUYFOULHOX et al., 2001; TOKALIOĞLU et al., 2014), com outros alimentos convencionais, como carnes, leguminosas, pães, folhosas, frutas e legumes (KHOUZAM; POHL; LOBINSKI, 2011; KOUGIA et al., 2023; MENEZES et al., 2018; PUYFOULHOX et al., 2001; TOKALIOĞLU, 2022).

A contribuição nutricional dos minerais não pode ser destacada nos suplementos de camu-camu, especialmente quando consideramos a amostra contendo silicato de magnésio e dióxido de silício (CC2) que apresentaram frações bioacessíveis reduzidas de minerais, especialmente Mn, Mg e Fe, comparativamente às amostras analisadas, fica claro que esses excipientes influenciam negativamente a bioacessibilidade mineral.

6. CONCLUSÕES

Foram estudadas amostras de suplementos alimentares de espirulina e camu-camu, com intuito de estimar o real valor nutricional oferecido por esses produtos. Através dos resultados obtidos, evidenciou-se os suplementos de espirulina podem ser classificados como alimento com alto teor de proteínas e fibra alimentar, para todas as marcas analisadas, e suplementos de camu-camu podem ser classificados como alimento com alto teor de vitamina C e como alimento com baixo teor de gordura total.

Considerando apenas o teor total dos minerais, independente da marca de espirulina analisada, quantidades relevantes de Mg, Fe e Ca foram encontradas, enquanto quantidades de Ca e Mg se destacaram em camu-camu. Com a determinação da bioacessibilidade, foi possível uma compreensão a respeito do valor nutricional dos suplementos analisados. A determinação da bioacessibilidade de minerais em suplementos alimentares de camu-camu foi realizada pela primeira vez na literatura, como também a correlação da

composição centesimal e vitamina C com as frações minerais bioacessíveis. A avaliação da bioacessibilidade mostrou que nem sempre a concentração total dos minerais de um suplemento alimentar estará disponível para absorção quando esse passar pelo processo de digestão e que a fração bioacessível varia de elemento para elemento dependendo da sua solubilidade no trato gastrointestinal e, de sua interação com componentes presentes na matriz.

A concentração total e a bioacessibilidade de Fe na espirulina destacou-se quando comparada a outros alimentos reportados na literatura como carne, feijão, legumes, considerando assim a espirulina uma boa fonte de suplementação desse mineral.

Em relação aos resultados obtidos nos ensaios *in vitro*, suplementos de espirulina mostraram que os elementos Mg, Zn e Mn possuem valores altos de bioacessibilidade, chegando a 90% na fase gastrointestinal. De acordo com a correlação de Spearman a redução da bioacessibilidade desses elementos pode estar fortemente relacionada a interações com a matriz. Por sua vez, camu-camu apresentou frações bioacessíveis também relevantes, com médias mais altas para Fe e Ca, seguidas de Mn, Mg e Zn. Evidenciou-se que a Vitamina C demonstrou ter favorecido a bioacessibilidade de Fe e Ca.

De modo geral, em relação a contribuição da IDR, quando analisado os resultados obtidos de bioacessibilidade na fase gastrointestinal, os suplementos de espirulina se destacam em sua contribuição de Fe, Mn e Mg na ingestão de 2 cápsulas ao dia. Suplementos de camu-camu apresentaram baixa contribuição nutricional no fornecimento dos minerais de forma geral. Dessa forma o consumo de suplementos alimentares de espirulina parece contribuir de forma relevante para o suprimento das necessidades de minerais e manutenção do bom funcionamento do organismo.

7. REFERÊNCIAS

AFFONFERE, M. et al. In-vitro Digestibility Methods and Factors Affecting Minerals Bioavailability: A Review. **Food Reviews International**, p. 1–29, 31 maio 2021.

AGUIAR, J. P. L.; SOUZA, F. DAS C. DO A. Antioxidants, Chemical Composition and Minerals in Freeze-Dried Camu-Camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) Pulp. **Food and Nutrition Sciences**, v. 06, n. 10, p. 869–874, 2015.

AKASAPU, K. et al. An innovative approach for iron fortification of rice using cold plasma. **Food Research International**, v. 136, p. 109599, out. 2020.

AKTER, MST. S. et al. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1728–1732, ago. 2011.

ALAGAWANY, M. et al. Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: A review. **Aquaculture**, v. 542, p. 736841, set. 2021.

ALMEIDA, L. M. R. et al. Effect of the addition of *Spirulina* sp. biomass on the development and characterization of functional food. **Algal Research**, v. 58, p. 102387, out. 2021.

ANDAÇ ÖZTÜRK, S.; YAMAN, M. Investigation of bioaccessibility of vitamin C in various fruits and vegetables under in vitro gastrointestinal digestion system. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 16, n. 5, p. 3735–3742, out. 2022.

ANDRADE, B. B. et al. Production and characterization of *Spirulina* sp. LEB 18 cultured in reused Zarrouk's medium in a raceway-type bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 284, p. 340–348, jul. 2019.

ANDRADE, A. M. DE et al. In vitro bioaccessibility of metals from tape tea – A low-cost emerging drug. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 62, p. 126613, dez. 2020.

ANVISA. **Resolution No. 269, of September 22, 2005. Technical regulation on the recommended daily intake (RDI) of protein, vitamins and minerals. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.** Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269_22_09_2005.html>.

ANVISA. **Resolution of the collegiate board No. 54, of November 12, 2012. Provides for the Technical Regulation on Supplementary Nutritional Information. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.** Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054_12_11_2012.html>.

ANVISA. **Resolution No. 243 of July 26, 2018. Provides for the health requirements of food supplements. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.** Disponível em: <<https://www.in.gov.br/materia/>>

/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379969/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-243-de-26-de-julho-de-2018-34379917>.

ANVISA. **Justifications for the minimum and maximum limits of nutrients, bioactive substances and enzymes in the regulatory proposal for dietary supplements. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.** Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/Justificativa_Limites_Suplementos+-+CP+457-2017/ac372a4a-43ba-4721-bf3c-bd3c1ce60f81>.

ANVISA. **Normative Instruction No. 28, of July 26, 2018. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.** , 2018c. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/IN_28_2018_COMP.pdf/db9c7460-ae66-4f78-8576-dfd019bc9fa1>

ANVISA. **Colegiate Board Resolution No. 429, of October 8, 2020: Provides for nutritional labeling of packaged foods. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.** Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-n-429-de-8-de-outubro-de-2020-282070599>>.

ANVISA. **Guide for evaluating functional and health property claims for bioactive substances present in foods and dietary supplements Guide nº 55/2021 – version 1. Brazilian Agency for Sanitary Surveillance.**

ANVISA, A. N. DE V. S. **PORTARIA Nº 32, DE 13 DE JANEIRO DE 1998.** Ministério da Saúde, , 1998. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1998/prt0032_13_01_1998.html>. Acesso em: 10 out. 2022

ANVISA, A. N. DE V. S. **Resolução nº 18 de 30 de abril de 1999, Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais.** Ministério da Saúde, , 1999.

ANVISA, A. N. DE V. S. **Perguntas e Respostas - Suplementos Alimentares.** Gerência-Geral de Alimentos (GGALI), , 2020b.

ANVISA; UNB. **Rotulagem Nutricional Obrigatória Manual de Orientação aos Consumidores Educação para o Consumo Saudável.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária, , 2001. Disponível em: <http://www.ccs.saude.gov.br/visa/publicacoes/arquivos/Alimentos_manual_rotulagem_Anvisa.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2022

ASHOKA, S. et al. Comparison of digestion methods for ICP-MS determination of trace elements in fish tissues. **Analytica Chimica Acta**, v. 653, n. 2, p. 191–199, out. 2009.

BAILEY, R. L. et al. Dietary supplement use is associated with higher intakes of minerals from food sources. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 5, p. 1376–1381, 1 nov. 2011.

BALDERMANN, S. et al. Are Neglected Plants the Food for the Future? **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 35, n. 2, p. 106–119, 3 mar. 2016.

- BARROSO, F. M. et al. Flavoured versus natural waters: Macromineral (Ca, Mg, K, Na) and micromineral (Fe, Cu, Zn) contents. **Food Chemistry**, v. 116, n. 2, p. 580–589, set. 2009.
- BATISTA, A. P. et al. Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. **Algal Research**, v. 26, p. 161–171, set. 2017.
- BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 207–210, mar. 2007.
- BELAY, A.; GERSHWIN, E. **Spirulina in Human Nutrition and Health**. United States Of America: Taylor and Francis Group, 2007.
- BENELHADJ, S. et al. Extraction of *Arthrospira platensis* (Spirulina) proteins via Osborne sequential procedure: Structural and functional characterizations. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 115, p. 104984, jan. 2023.
- BHARADWAJ, J.; DARBARI, A.; NAITHANI, M. Magnesium: The fifth electrolyte. **Journal of Medical Nutrition and Nutraceuticals**, v. 3, n. 2, p. 186, 2014.
- BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. 2010.
- BILUCA, F. C. et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and bioaccessibility of minerals of stingless bee honey (*Meliponinae*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 89–97, out. 2017.
- BIONDO, P. B. F. et al. A new method for lipid extraction using low-toxicity solvents developed for canola (*Brassica napus* L.) and soybean (*Glycine max* L. Merrill) seeds. **Analytical Methods**, v. 7, n. 23, p. 9773–9778, 2015.
- BLANCO, A.; BLANCO, G. Proteins. Em: **Medical Biochemistry**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 21–71.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. 1959.
- BORTOLINI, D. G. et al. Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 5, p. 100134, dez. 2022.
- BOSSCHER, D. et al. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutrition**, v. 19, n. 7–8, p. 641–645, jul. 2003.
- BRAGA, V. DA S. et al. Cultivation strategy to stimulate high carbohydrate content in *Spirulina* biomass. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 221–226, dez. 2018.

BRINK, E. J. **Nutrition and magnesium absorption Voeding en magnesiumabsorptie.** Netherlands: Wageningen University and Research ProQuest Dissertations Publishing, 1992.

BUNGĂU, S. et al. Studies on citrus species fruits ascorbic acid content using kinetic, spectrophotometric and iodometric methods. v. 16, p. 212–217, 2011.

BUTTERFIELD, D. A. et al. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 8, p. 444–461, ago. 2002.

CAPELLI, B.; CYSEWSKI, G. R. Nf2_pp19-26_Capelli:IN 1 - Bordoni. **Potential health benefits of spirulina microalgaeA review of the existing literature**, p. 9, 2010.

CARDOSO, C. et al. Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk–benefit evaluation of food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 5–23, jan. 2015.

CASTRO, D. R. G. et al. Improvement of the Bioavailability of Amazonian Juices Rich in Bioactive Compounds Using Glow Plasma Technique. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 4, p. 670–679, abr. 2020.

CASTRO, J. C.; MADDOX, J. D.; IMÁN, S. A. Camu-camu— *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. Em: **Exotic Fruits**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 97–105.

CENCIC, A.; CHINGWARU, W. The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. **Nutrients**, v. 2, n. 6, p. 611–625, 1 jun. 2010.

CHENG, A. L. S.; MOREHOUSE, M. G.; DEUEL, H. J. The Effect of the Level of Dietary Calcium and Magnesium on the Digestibility of Fatty Acids, Simple Triglycerides, and Some Natural and Hydrogenated Fats , ,. **The Journal of Nutrition**, v. 37, n. 2, p. 237–250, fev. 1949.

CHEONG, S. H. et al. Spirulina Prevents Atherosclerosis by Reducing Hypercholesterolemia in Rabbits Fed a High-Cholesterol Diet. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 56, n. 1, p. 34–40, 2010.

CHI, H. et al. *In Vitro* Model To Assess Arsenic Bioaccessibility and Speciation in Cooked Shrimp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 18, p. 4710–4715, 9 maio 2018.

CHIOCCHETTI, G. M. E et al. Mineral composition of fruit by-products evaluated by neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 297, n. 3, p. 399–404, set. 2013.

CHIRINOS, R. et al. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 1019–1024, jun. 2010.

CHRISTODOULOU, C. et al. The effect of Spirulina supplementation in ewes' oxidative status and milk quality. **Animal Feed Science and Technology**, p. 115544, dez. 2022.

COMAPA, S. et al. Microwave processing of camu-camu juices: Physicochemical and microbiological parameters. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 7, jul. 2019.

CORTE-REAL, J.; BOHN, T. Interaction of divalent minerals with liposoluble nutrients and phytochemicals during digestion and influences on their bioavailability – a review. **Food Chemistry**, v. 252, p. 285–293, jun. 2018.

COSTA, F. et al. Mercury bioaccessibility in fish and seafood: Effect of method, cooking and trophic level on consumption risk assessment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 179, p. 113736, jun. 2022.

COSTA, J. A. V. et al. Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121946, nov. 2019.

COZZOLINO, S. M. F. **Bioavailability of Minerals**. 2. ed. Campinas, SP: Revista Nutrição: PUC, 1997. v. 10

CRUZ REINA, L. J. et al. Chemical composition and bioactive compounds of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and bagasse from Colombian varieties. **Heliyon**, v. 8, n. 5, p. e09528, maio 2022.

CUNHA-SANTOS, E. C. E. et al. Vitamin C in camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: evaluation of extraction and analytical methods. **Food Research International**, v. 115, p. 160–166, jan. 2019.

CURIMBABA, T. F. S. et al. Prebiotic, antioxidant and anti-inflammatory properties of edible Amazon fruits. **Food Bioscience**, v. 36, p. 100599, ago. 2020.

DA CRUZ, V. H. M. et al. Evaluation of different conventional lipid extraction techniques' efficiency in obtaining oil from oleaginous seeds. **Chemical Papers**, v. 75, n. 2, p. 515–522, fev. 2021.

DE ALMEIDA, F. G. et al. Synthesis and performance of cross-linked poly(vinylpyridine-co-protoporphyrin) for effective cobalt determination using a micro-packed column hyphenated system coupled to FAAS. **Reactive and Functional Polymers**, v. 164, p. 104934, jul. 2021.

DE CARVALHO, W. C. et al. Effect of losartan potassium, metformin hydrochloride, and simvastatin on in vitro bioaccessibility of Cu, Fe, Mn, and Zn in oat flour from Brazil. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 73, p. 127032, set. 2022.

DE HIGUERA, J. et al. Bioaccessibility Assessment of Cu, Fe, K, Mg, P, and Zn in Thermally Treated Lamb Meat. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2021.

DE LIMA, A. C. S. et al. In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 161, p. 142–147, out. 2014.

DEMARCO, M. et al. Digestibility, bioaccessibility and bioactivity of compounds from algae. **Trends in Food Science & Technology**, v. 121, p. 114–128, mar. 2022.

DI MATTEO, A. et al. Morphological characteristics, ascorbic acid and antioxidant activity during fruit ripening of four lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 276, p. 109741, jan. 2021.

DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R. et al. Evaluation of an in vitro method to estimate trace elements bioavailability in edible seaweeds. **Talanta**, v. 82, n. 5, p. 1668–1673, 15 out. 2010.

EJIKE, C. E. C. C. et al. Prospects of microalgae proteins in producing peptide-based functional foods for promoting cardiovascular health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 30–36, jan. 2017.

EL-MOATAAZ, S.; ISMAEL, H.; ABORHYEM, S. Assessment of Chemical Composition of *Spirulina Platensis* and its Effect on Fasting Blood Glucose and Lipid Profile in Diabetic Rats. **Journal of High Institute of Public Health**, v. 0, n. 0, p. 198–209, 9 dez. 2019.

EMBRAPA. **The camu-camu culture**. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/175155/1/COLECAO-PLANTAR-A-cultura-do-camu-camu-2012.pdf>>.

ETCHEVERRY, P.; GRUSAK, M. A.; FLEIGE, L. E. Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. **Frontiers in Physiology**, v. 3, 2012.

FANG, T. et al. Variation of ascorbic acid concentration in fruits of cultivated and wild apples. **Food Chemistry**, v. 225, p. 132–137, jun. 2017.

FANZO et al. **Global Nutrition Report**. Londres, Reino Unido:, , 2019. Disponível em: <<https://globalnutritionreport.org/reports/global-nutrition-report-2018/>>

FAO. **Vitamin and mineral requirements in human nutrition**. 2nd ed ed. Geneva, Rome: World Health Organization; Food and Drug Administration., 2004.

FDA. **Food Labeling: Revision of the Nutrition and Supplement Facts Labels**. Food and Drug Administration. Department of Health and Human Services, , 2016.

FERREIRA, B. A. et al. In vitro bioaccessibility of the bioactive compounds and minerals in the pulp and peel of *Buchenavia tomentosa* Eichler fruits and their antioxidant capacities. **Measurement: Food**, v. 8, p. 100064, nov. 2022.

FERREIRA, G. F. et al. Biomass and lipid characterization of microalgae genera *Botryococcus*, *Chlorella*, and *Desmodesmus* aiming high-value fatty acid production. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 11, n. 5, p. 1675–1689, out. 2021.

FERREIRA, M. D. P.; TARLEY, C. R. Assessment of in vitro bioaccessibility of macrominerals and trace elements in green banana flour. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 92, p. 103586, set. 2020a.

FERREIRA, M. DO P.; TARLEY, C. R. T. Assessment of in vitro bioaccessibility of macrominerals and trace elements in green banana flour. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 92, p. 103586, set. 2020b.

FERREIRA, M. DO P.; TARLEY, C. R. T. Bioaccessibility estimation of metallic macro and micronutrients Ca, Mg, Zn, Fe, Cu and Mn in flours of oat and passion fruit peel. **LWT**, v. 150, p. 111880, out. 2021.

FILBIDO, G. S. et al. In vitro bioaccessibility of minerals in fortified infant foods and correlation between mineral absorption facilitators and inhibitors. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 6, p. 5648–5656, dez. 2021.

FONTELES, T. V. et al. Protective effect of inulin on thermally treated acerola juice: in vitro bioaccessibility of bioactive compounds. **Food Bioscience**, v. 41, p. 101018, jun. 2021.

FREITAS, C. A. B. et al. Characterization of the Fruit Pulp of Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) of Seven Different Genotypes and Their Rankings Using Statistical Methods PCA and HCA. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.

FU, Y. et al. Arsenic speciation and bioaccessibility in raw and cooked seafood: Influence of seafood species and gut microbiota. **Environmental Pollution**, v. 280, p. 116958, jul. 2021.

FUJITA, A. et al. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. **Food Research International**, v. 77, p. 194–203, nov. 2015.

FULGONI, V. L. et al. Foods, Fortificants, and Supplements: Where Do Americans Get Their Nutrients? **The Journal of Nutrition**, v. 141, n. 10, p. 1847–1854, 1 out. 2011.

GALVÃO, F. et al. Nutritional composition and minerals bioaccessibility of commercial fruit flours. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 12 jan. 2023.

GARCÍA-CHACÓN, J. M.; MARÍN-LOAIZA, J. C.; OSORIO, C. Camu Camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh): An Amazonian Fruit with Biofunctional Properties—A Review. **ACS Omega**, v. 8, n. 6, p. 5169–5183, 14 fev. 2023.

GE, Y. et al. Quinoa bran insoluble dietary fiber-zinc chelate mediates intestinal flora structure to regulate glucose and lipid metabolism in obese rats. **Journal of Functional Foods**, v. 108, p. 105765, set. 2023.

GENOVESE, M. I. et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Exotic Fruits and Commercial Frozen Pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 3, p. 207–214, jun. 2008.

GOHARA-BEIRIGO, A. K. et al. Microalgae trends toward functional staple food incorporation: Sustainable alternative for human health improvement. **Trends in Food Science & Technology**, v. 125, p. 185–199, jul. 2022.

GONÇALVES, T. DE O. et al. In vitro bioaccessibility of the Cu, Fe, Mn and Zn in the baru almond and bocaiúva pulp and, macronutrients characterization. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 86, p. 103356, mar. 2020.

GRATON, I. S. ESTUDO DA SECAGEM INTERMITENTE DA MICROALGA. 2019.

GUERRA, A. et al. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 11, p. 591–600, nov. 2012.

GULDAS, M. et al. Effects of honey enrichment with *Spirulina platensis* on phenolics, bioaccessibility, antioxidant capacity and fatty acids. **LWT**, v. 153, p. 112461, jan. 2022.

HAMZALIOĞLU, A.; GÖKMEN, V. **Hamzalıoğlu, 2016. Interação entre compostos carbonílicos bioativos e Asparagina e Impacto na Acrilamida.pdf.** , 2016.

HAN, P. et al. Anti-oxidation properties and therapeutic potentials of spirulina. **Algal Research**, v. 55, p. 102240, maio 2021.

HEENA; MALIK, A. K. Review on metal speciation and their applications since 2010. Em: **Chemical Analysis of Food**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 813–868.

HEMALATHA, S.; PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Zinc and iron contents and their bioaccessibility in cereals and pulses consumed in India. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1328–1336, jan. 2007.

HERRERA-AGUDELO, M. A.; MIRÓ, M.; ARRUDA, M. A. Z. In vitro oral bioaccessibility and total content of Cu, Fe, Mn and Zn from transgenic (through cp4 EPSPS gene) and nontransgenic precursor/successor soybean seeds. **Food Chemistry**, v. 225, p. 125–131, jun. 2017.

HUMA, N. et al. Food Fortification Strategy—Preventing Iron Deficiency Anemia: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 3, p. 259–265, 29 mar. 2007.

HUNT, S. M.; SCHOFIELD, F. A. Magnesium Balance and Protein Intake Level in Adult Human Female. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 367–373, 1 mar. 1969.

IAL, I. A. L. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 1020p. São Paulo, , 2008.

INTAWONGSE, M.; DEAN, J. R. In-vitro testing for assessing oral bioaccessibility of trace metals in soil and food samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 9, p. 876–886, out. 2006.

INTAWONGSE, M.; KONGCHOUY, N.; DEAN, J. R. Bioaccessibility of heavy metals in the seaweed *Caulerpa racemosa* var. *corynephora* : Human health risk from consumption. **Instrumentation Science & Technology**, v. 46, n. 6, p. 628–644, 2 nov. 2018.

IOM. **Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride**. Washington, D.C.: National Academies Press, 1997. p. 5776

ISANI, G. et al. Iron Speciation and Iron Binding Proteins in *Arthrospira platensis* Grown in Media Containing Different Iron Concentrations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 6283, 3 jun. 2022.

IUPAC, V. (ED.). **The IUPAC Compendium of Chemical Terminology: The Gold Book**. 4. ed. Research Triangle Park, NC: International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), 1997.

IYENGAR, V.; PULLAKHANDAM, R.; NAIR, K. M. Coordinate expression and localization of iron and zinc transporters explain iron–zinc interactions during uptake in Caco-2 cells: implications for iron uptake at the enterocyte. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 9, p. 1146–1154, set. 2012.

JAHNEN-DECHENT, W.; KETTELER, M. Magnesium basics. **Clinical Kidney Journal**, v. 5, n. Suppl 1, p. i3–i14, 1 fev. 2012.

JAIWAL, A.; JYOTHI LAKSHMI, A. Maximising the bioaccessibility of iron and zinc of a complementary food mix through multiple strategies. **Food Chemistry**, v. 372, p. 131286, mar. 2022.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J. Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. **Nutrition Research**, v. 20, n. 4, p. 585–598, abr. 2000.

JOMOVA, K. et al. Essential metals in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 367, p. 110173, nov. 2022.

JUSTI, K. C. et al. Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición - ALAN**, v. 50, n. 4, p. 405–408, 2000.

KHOUZAM, R. B.; POHL, P.; LOBINSKI, R. Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables. **Talanta**, v. 86, p. 425–428, out. 2011.

KOUGIA, E. et al. Iron (Fe) biofortification of *Arthrospira platensis*: Effects on growth, biochemical composition and in vitro iron bioaccessibility. **Algal Research**, v. 70, p. 103016, mar. 2023.

KREJČOVÁ, A. et al. Elemental analysis of nutritional preparations by inductively coupled plasma mass and optical emission spectrometry. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 588–596, maio 2012.

KRISHNAN, R.; MEERA, M. S. Assessment of inhibitory factors on bioaccessibility of iron and zinc in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) cultivars. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4378–4386, dez. 2017.

KULKARNI, S. D. et al. Evaluation of bioaccessibility of some essential elements from wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) by in vitro digestion method. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 681–688, jan. 2007.

LAFARGA, T. Effect of microalgal biomass incorporation into foods: Nutritional and sensorial attributes of the end products. **Algal Research**, v. 41, p. 101566, ago. 2019.

LAFARGA, T. et al. Spirulina for the food and functional food industries. **Food Research International**, v. 137, p. 109356, nov. 2020.

LAFARGA, T. et al. Industrial production of spirulina as a protein source for bioactive peptide generation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 176–185, out. 2021.

LAFARGA, T.; HAYES, M. Bioactive protein hydrolysates in the functional food ingredient industry: overcoming current challenges. **Food Review Internacional**, v. 33, n. 3, 2017.

LATULIPPE, MARIEE. et al. ILSI Brazil International Workshop on Functional Foods: a narrative review of the scientific evidence in the area of carbohydrates, microbiome, and health. **Food & Nutrition Research**, v. 57, n. 1, p. 19214, jan. 2013.

LEE, S. C.; PROSKY, L.; VRIES, J. W. D. Determination of Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber in Foods—Enzymatic-Gravimetric Method, MES-TRIS Buffer: Collaborative Study. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 75, n. 3, p. 395–416, 1 maio 1992.

LEUFROY, A. et al. Use of a continuous leaching method to assess the oral bioaccessibility of trace elements in seafood. **Food Chemistry**, v. 135, n. 2, p. 623–633, nov. 2012.

LI, C. et al. Preparation of Prunella vulgaris polysaccharide-zinc complex and its antiproliferative activity in HepG2 cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 671–679, out. 2016.

LI, H.; ZHOU, Y.; DU, J. Ascorbic acid as an alternative coreactant for luminol reaction and sensitive chemiluminescence determination of ascorbic acid in soft drinks. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 429, p. 113945, ago. 2022.

LI, T.-T. et al. Polyunsaturated fatty acids from microalgae *Spirulina platensis* modulates lipid metabolism disorders and gut microbiota in high-fat diet rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 131, p. 110558, 2019.

LI, Y.; SCHELLHORN, H. E. New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 10, p. 2171–2184, 1 nov. 2007.

LOUZADA, A. R. DA R. et al. Assessment of total concentration and bioaccessible fraction of minerals in peaches from different cultivars by MIP OES. **Food Chemistry**, v. 391, p. 133228, out. 2022.

MA, Z. et al. Fresh living *Arthrospira* as dietary supplements: Current status and challenges. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 439–444, jun. 2019.

MARIN, B. et al. Comparison of microwave-assisted digestion procedures for total trace element content determination in calcareous soils. **Talanta**, v. 77, n. 1, p. 282–288, 19 out. 2008.

MARZE, S. Méthodes in vitro pour l'étude de la digestion des aliments. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, v. 57, n. 2, p. 139–147, abr. 2022.

MATONDO, F. K. et al. *Spirulina* Supplements Improved the Nutritional Status of Undernourished Children Quickly and Significantly: Experience from Kisantu, the Democratic Republic of the Congo. **International Journal of Pediatrics**, v. 2016, p. 1–5, 2016.

MATOS, Â. P. et al. Chemical Characterization of Six Microalgae with Potential Utility for Food Application. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 7, p. 963–972, jul. 2016.

MATTIETTO, R. A.; CARVALHO, A. V.; RIBEIRO, S. I. **Características físico-químicas da polpa de camu-camu provenientes de diferentes genótipos.** , 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>>

MENEZES, E. A. et al. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, and crude protein in beef, pork and chicken after thermal processing. **Food Chemistry**, v. 240, p. 75–83, fev. 2018.

MICHALKE, B. Review about the manganese speciation project related to neurodegeneration: An analytical chemistry approach to increase the knowledge about manganese related parkinsonian symptoms. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 37, p. 50–61, set. 2016.

MIERZWA, J. et al. Comparative determination of Ba, Cu, Fe, Pb and Zn in tea leaves by slurry sampling electrothermal atomic absorption and liquid sampling inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Talanta**, v. 47, n. 5, p. 1263–1270, 7 dez. 1998.

MINEKUS, M. et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. **Food Funct.**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

MINGRONI, T. et al. In vitro Evaluation of Ca, Cu, and Mg Bioaccessibility in Fresh and Dried Fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2018.

MOLINO, A. et al. Microalgae Characterization for Consolidated and New Application in Human Food, Animal Feed and Nutraceuticals. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 11, p. 2436, 1 nov. 2018.

MONTERO, I. F. et al. Nutrients in Amazonian fruit pulps with functional and pharmacological interest. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 14, n. 5, p. 118–127, 30 jun. 2020.

MORAES, D. P. et al. Influence of the cultivar on the composition of blackberry (*Rubus* spp.) minerals. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 100, p. 103913, jul. 2021.

MOREDA-PIÑEIRO, J. et al. In-vivo and in-vitro testing to assess the bioaccessibility and the bioavailability of arsenic, selenium and mercury species in food samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 324–345, fev. 2011.

MOREDA-PIÑEIRO, J. et al. Trace metals in marine foodstuff: Bioavailability estimation and effect of major food constituents. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 339–345, set. 2012.

NAJWA, R. F.; AZRINA, A. Comparison of vitamin C content in citrus fruits by titration and high performance liquid chromatography (HPLC) methods. v. 24, n. 2, p. 726–733, 2017.

NAS. **Dietary reference intakes for sodium and potassium**. Washington, D.C: National Academies Press, 2019.

NASCIMENTO, O. V. et al. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 1, p. 355–363, mar. 2013.

NEHER, B. D. et al. Nutritional analysis of Spirulina dietary supplements: Optimization procedure of ultrasound-assisted digestion for multielemental determination. **Food Chemistry**, v. 257, p. 295–301, ago. 2018.

- NICCOLAI, A. et al. Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. **Algal Research**, v. 42, p. 101617, set. 2019.
- NORTON, J. E. et al. Functional food microstructures for macronutrient release and delivery. **Food & Function**, v. 6, n. 3, p. 663–678, 2015.
- O'CONNELL, O. et al. Carotenoid Micellarization Varies Greatly Between Individual and Mixed Vegetables With or Without the Addition of Fat or Fiber. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 78, n. 45, p. 238–246, 1 maio 2008.
- OLIVARES, A. B. et al. Influence of the design of a product on in vitro mineral availability of homogenized weaning foods. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 2, n. 3, p. 181–187, set. 2001.
- OLIVEIRA, A. P. DE et al. Effect of cooking on the bioaccessibility of essential elements in different varieties of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 67, p. 135–140, abr. 2018.
- OLSEN, Y. Lipids. Em: **Encyclopedia of Inland Waters**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 774–782.
- OOMEN, A. G. et al. Development of an In Vitro Digestion Model for Estimating the Bioaccessibility of Soil Contaminants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, n. 3, p. 281–287, 1 abr. 2003.
- PAKRAVAN, S. et al. Partial and total replacement of fish meal by marine microalga *Spirulina platensis* in the diet of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Growth, digestive enzyme activities, fatty acid composition and responses to ammonia and hypoxia stress. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 11, p. 5576–5586, nov. 2017.
- PALAFIX-CARLOS, H.; AYALA-ZAVALA, J. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. R6–R15, jan. 2011.
- PELFRÊNE, A. et al. Bioaccessibility of trace elements as affected by soil parameters in smelter-contaminated agricultural soils: A statistical modeling approach. **Environmental Pollution**, v. 160, p. 130–138, jan. 2012.
- PEREIRA, E. D. **Chemical composition and antioxidant potential of camu-camu (*Myrciaria dubia*) and its influence on nutritional compositions used in fish farming**. Toledo, PR: UTFPR, 2019.
- PEREIRA, M. C. et al. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 19–24, fev. 2013.
- PINTO, L. F. R. et al. Lipid and phycocyanin extractions from *Spirulina* and economic assessment. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 184, p. 105567, maio 2022.

PRINCIPE, M. V. et al. Bioaccessibility studies of Fe, Cu and Zn from Spirulina dietary supplements with different excipient composition and dosage form. p. 12, 2020.

PUYFOULHOUX, G. et al. Iron Availability from Iron-Fortified Spirulina by an in Vitro Digestion/Caco-2 Cell Culture Model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1625–1629, 1 mar. 2001.

QU, Z. et al. A novel fluorimetric sensing strategy for highly sensitive detection of phytic acid and hydrogen peroxide. **Analytica Chimica Acta**, v. 1039, p. 74–81, dez. 2018.

RACZYK, M. et al. Effect of Spirulina (*Arthrospira platensis*) Supplementation on Physical and Chemical Properties of Semolina (*Triticum durum*) Based Fresh Pasta. **Molecules**, v. 27, n. 2, p. 355, 6 jan. 2022.

RAHIM, A. et al. Chemical characterization and nutritional value of Spirulina platensis cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco). **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 235–242, set. 2021.

RAJI, A. A. et al. Fishmeal replacement with Spirulina Platensis and Chlorella vulgaris in African catfish (*Clarias gariepinus*) diet: Effect on antioxidant enzyme activities and haematological parameters. **Research in Veterinary Science**, v. 119, p. 67–75, ago. 2018.

RAMADAN, M. F.; ASKER, M. M. S.; IBRAHIM, Z. K. Functional bioactive compounds and biological activities of Spirulina platensis lipids. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 26, n. 3, p. 211–222, 30 jun. 2008.

RAMÍREZ-OJEDA, A. M.; MORENO-ROJAS, R.; CÁMARA-MARTOS, F. Mineral and trace element content in legumes (lentils, chickpeas and beans): Bioaccessibility and probabilistic assessment of the dietary intake. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 73, p. 17–28, out. 2018.

RIBEIRO, P. F. DE A. et al. **Teor de vitamina C, β -caroteno e minerais em camu-camu cultivado em diferentes ambientes.** , 2016.

RODRÍGUEZ DE MARCO, E. et al. Effects of spirulina biomass on the technological and nutritional quality of bread wheat pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 102–108, set. 2014.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, ago. 2010.

SANTOS, I. L. et al. Camu-camu [*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh]: A review of properties and proposals of products for integral valorization of raw material. **Food Chemistry**, v. 372, p. 131290, mar. 2022.

SCHULZ, M. et al. Composition and potential health effects of dark-colored underutilized Brazilian fruits – A review. **Food Research International**, v. 137, p. 109744, nov. 2020.

SEGHIRI, R.; KHARBACH, M.; ESSAMRI, A. Functional Composition, Nutritional Properties, and Biological Activities of Moroccan *Spirulina* Microalga. **Journal of Food Quality**, v. 2019, p. 1–11, 3 jul. 2019.

SHIELS, K. et al. Anti-inflammatory and antithrombotic properties of polar lipid extracts, rich in unsaturated fatty acids, from the Irish marine cyanobacterium *Spirulina subsalsa*. **Journal of Functional Foods**, v. 94, p. 105124, jul. 2022.

SILVA, E. DO N. DA; FARIAS, L. O. DE; CADORE, S. The total concentration and bioaccessible fraction of nutrients in purées, instant cereals and infant formulas by ICP OES: A study of Dietary Recommended Intakes and the importance of using a standardized in vitro digestion method. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, p. 65–72, maio 2018.

SILVA, J. G. S. et al. In vitro digestion effect on mineral bioaccessibility and antioxidant bioactive compounds of plant-based beverages. **Food Research International**, v. 130, p. 108993, abr. 2020.

SOLIS, V. S. et al. Evaluation of the antioxidant activity of the pulp, shell and seed of the camu camu fruit. **Rev Soc Quím Perú.**, p. 7, 2009.

SOMERA, B. F. et al. 3-mercaptopropyltrimethoxysilane-Modified Multi-walled Carbon Nanotubes as a New Functional Adsorbent for Flow Injection Extraction of Pb(II) from Water and Sediment Samples. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 223, n. 9, p. 6069–6081, nov. 2012.

SOTELO, A. et al. Role of oxate, phytate, tannins and cooking on iron bioavailability from foods commonly consumed in Mexico. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 61, n. 1, p. 29–39, fev. 2010.

SOTO-SIERRA, L.; STOYKOVA, P.; NIKOLOV, Z. L. Extraction and fractionation of microalgae-based protein products. **Algal Research**, v. 36, p. 175–192, dez. 2018.

SOUZA, L. A. et al. Determination and in vitro bioaccessibility evaluation of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P and Zn in linseed and sesame. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 8–14, mar. 2018a.

SOUZA, L. A. et al. Flow-through dynamic microextraction system for automatic in vitro assessment of chyme bioaccessibility in food commodities. **Analytica Chimica Acta**, v. 1026, p. 51–61, out. 2018b.

SPADA, P. D. S. et al. Macro and micro minerals: are frozen fruits a good source? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 4, p. 861–867, dez. 2010.

STELMACH, E.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. A simplified determination of total concentrations of Ca, Fe, Mg and Mn in addition to their bioaccessible fraction in popular instant coffee brews. **Food Chemistry**, v. 197, p. 388–394, abr. 2016.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; POHL, P. Solubility and Bioaccessibility of Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, P, Sr and Zn in Slim Coffee

Infusions by *in vitro* Gastrointestinal Digestion. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2015.

THEVARAJAH, B. et al. Large-scale production of Spirulina-based proteins and c-phycocyanin: A biorefinery approach. **Biochemical Engineering Journal**, v. 185, p. 108541, jul. 2022.

TOGNON, A. L. **Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de micro e macroelementos em frutas, hortaliças e cereais**. Mestrado em Química—São Carlos: Universidade de São Paulo, 20 abr. 2012.

TOKALIOĞLU, Ş. et al. Bioaccessibility of Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Se and Zn from nutritional supplements by the unified BARGE method. **Food Chemistry**, v. 150, p. 321–327, maio 2014.

TOKALIOĞLU, Ş. Bioaccessibility of Cu, Mn, Fe, and Zn in Fruit and Vegetables by the In Vitro UBM and Statistical Evaluation of the Results. **Biological Trace Element Research**, 4 maio 2022.

TOKUŞOĞLU, O.; UNAL, M. K. Biomass Nutrient Profiles of Three Microalgae: Spirulina platensis, Chlorella vulgaris, and Isochrysis galbana. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 4, p. 1144–1148, maio 2003.

TORRES-TIJI, Y.; FIELDS, F. J.; MAYFIELD, S. P. Microalgae as a future food source. **Biotechnology Advances**, v. 41, p. 107536, jul. 2020.

URIBE-WANDURRAGA, Z. N. et al. *In vitro* bioaccessibility of minerals from microalgae-enriched cookies. **Food & Function**, v. 11, n. 3, p. 2186–2194, 2020.

VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. et al. Consumo alimentar de vitaminas e minerais em adultos residentes em área metropolitana de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 157–162, abr. 1997.

VIEIRA, A. L. et al. Evaluation of an improved closed-vessel conductively heated digestion system for the analysis of raw meat samples by ICP techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 33, n. 8, p. 1354–1362, 2018.

VITALI, D.; VEDRINA DRAGOJEVIĆ, I.; ŠEBEČIĆ, B. Bioaccessibility of Ca, Mg, Mn and Cu from whole grain tea-biscuits: Impact of proteins, phytic acid and polyphenols. **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 62–68, set. 2008.

WANG, F. et al. Antineoplastic activity of γ -linolenic acid extract from *Spirulina platensis* on HepG2 cells and its inhibition effect on platelet aggregation. **Food and Agricultural Immunology**, v. 26, n. 1, p. 97–108, 2 jan. 2015.

WELLS, M. L. et al. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 949–982, abr. 2017.

WHO. **Malnutrition**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>>. Acesso em: 5 nov. 2021.

WITTSIEPE, J. et al. Comparison of different digestive tract models for estimating bioaccessibility of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/F) from red slag 'Kieselrot'. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 203, n. 3, p. 263–273, jan. 2001.

WRAGG, J. et al. An inter-laboratory trial of the unified BARGE bioaccessibility method for arsenic, cadmium and lead in soil. **Science of The Total Environment**, p. S0048969711005213, jun. 2011.

XU, X. et al. Bioaccessibility and bioavailability evaluation of heavy metal(loid)s in ginger in vitro: Relevance to human health risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 857, p. 159582, jan. 2023.

YU, Y.-X. et al. Assessment of the Bioaccessibility of Polybrominated Diphenyl Ethers in Foods and the Correlations of the Bioaccessibility with Nutrient Contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 1, p. 301–308, 13 jan. 2010.

YUYAMA, L. K. O. et al. QUANTIFICAÇÃO DE FIBRA ALIMENTAR EM ALGUMAS POPULAÇÕES DE CUBIU (*Solanum sessiliflorum* Dunal), CAMUCAMU (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh) E AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart). **ACTA AMAZÔNICA**, v. 32, n. 3, p. 491–497, 2002.

YUYAMA, L. K. O. et al. **Yuyama, 2003. Teores de elementos minerais em algumas populações de Camu-Camu.pdf.** , 2003.

ZACCARI, F. et al. In vitro bioaccessibility of β -carotene, Ca, Mg and Zn in landrace carrots (*Daucus carota*, L.). **Food Chemistry**, v. 166, p. 365–371, jan. 2015.

ZALEWSKI, P. D. et al. Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: basic mechanisms and clinical targets. A review. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 105, n. 2, p. 127–149, fev. 2005.

ZAPATA, S. M.; DUFOUR, J.-P. Camu-camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh: Chemical composition of fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 61, n. 3, p. 349–351, 1993.

ZHANG, Y. Y. et al. Bioprocessing of Pea Protein can Enhance Fortified Fe But Reduce Zn In Vitro Bioaccessibility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 1241–1251, 2 fev. 2022.

ZHANG, Z. et al. Maillard reaction-based conjugation of Spirulina protein with maltodextrin using wet-heating route and characterisation of conjugates. **Food Chemistry**, v. 406, p. 134931, abr. 2023.

ZHENG, X. et al. Comparative evaluation of in vivo relative bioavailability and in vitro bioaccessibility of arsenic in leafy vegetables and its implication in human exposure assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 423, p. 126909, fev. 2022.

ZHOU, T. et al. Characterization of additional zinc ions on the growth, biochemical composition and photosynthetic performance from *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 285–291, dez. 2018.

ZHUANG, P. et al. Bioavailability and bioaccessibility of cadmium in contaminated rice by in vivo and in vitro bioassays. **Science of The Total Environment**, v. 719, p. 137453, jun. 2020.

ZIVKOVIC, S. et al. Spectrochemical analysis of powdered biological samples using transversely excited atmospheric carbon dioxide laser plasma excitation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 128, p. 22–29, fev. 2017.

