



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**TEOR DE  $\beta$ -CAROTENO EM *Spirulina* COMERCIALIZADA  
COMO SUPLEMENTO ALIMENTAR**

**FRANCISCA IVONE COELHO RIBEIRO**

---

**Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para obtenção do título de Engenheiro de Pesca.**

---

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL  
FEVEREIRO / 2006**



**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup> Silvana Saker Sampaio, Ph.D.**  
**Orientadora**

---

**Prof. Wladimir Ronald Lobo Farias, D.Sc.**  
**Membro**

---

**Prof<sup>a</sup> Márcia Barbosa de Sousa, M.Sc.**  
**Membro**

**VISTO**

---

**Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc.**  
**Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca**

---

**Prof<sup>a</sup> Artamizía Maria Nogueira Montezuma, M.Sc.**  
**Coordenadora do Curso de Engenharia de Pesca**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

R369t Ribeiro, Francisca Ivone Coelho.

Teor de  $\beta$ -caroteno em *Spirulina* comercializada como suplemento alimentar / Francisca Ivone Coelho Ribeiro. – 2006.

29 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2006.

Orientação: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio.

1. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

---

Aos meus pais, José Valdo Coelho (*in memoriam*) e  
Maria Matos Coelho (*in memoriam*) pela vida,  
pelo amor e pelos incentivos em  
todos os meus projetos;

Aos meus filhos, Fernando Rafael e  
Angela Claudia, inspirações eternas  
de minhas realizações, pelo amor e  
carinho que me dedicaram nesta  
etapa tão importante da  
minha vida.



## AGRADECIMENTOS

Especialmente a Deus, pela vida, pela fé, pela persistência, pela força e pelas vezes que me carregou no colo quando mais precisei.

Aos meus filhos, Angela e Fernando, por serem quem são; a tia Pedrina, pelo seu carinho incentivador; as minhas irmãs, Cecília e Inês, pelo apoio.

A minha orientadora Professora Silvana Saker Sampaio, que acolheu meu pedido de orientação, pela dedicação e paciência na elaboração deste trabalho e pelo prazer de tê-la como mestra e amiga.

Ao Professor Wladimir Ronald Lobo Farias e a Professora Márcia Barbosa de Sousa, pela atenção e valiosa contribuição.

Ao Professor Alexandre Holanda Sampaio, pela atenção e apoio dispensado durante todo o Curso.

A Professora Artamizia Maria Nogueira Montezuma, pelo carinho e dedicação que sempre teve para comigo.

Ao Professor José Wilson Calíope de Freitas, por todo o seu empenho na melhoria do Departamento de Engenharia de Pesca.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia de Pesca, em especial, a Leni Góis, pelo seu carinho.

Ao amigo José Olavo Bezerra Mourão, sempre disposto a me ajudar, e a estimada Kelma Maria dos Santos Pires, pelo grande apoio e dedicação durante toda execução deste trabalho.

Aos amigos Mário César Wiegand e Paula Cíntia de Oliveira Marvinier, parceiros da trajetória acadêmica. A minha grande amiga, Maria Conceição Pereira de Sousa, parceira de vida. Aos sinceros amigos, pela força.

**SUMÁRIO**

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
3. RESULTADOS	11
4. DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO	20
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Biossíntese de vitamina A.	5
Figura 2. Curva padrão do $\beta$ -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.	7
Figura 3. Esquema dos componentes de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).	9
Figura 4. Cromatograma típico do $\beta$ -caroteno padrão (solução de trabalho) $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .	11
Figura 5. Cromatograma típico de um extrato da microalga <i>Spirulina maxima</i> da marca A.	13
Figura 6. Cromatograma típico de um extrato da microalga <i>Spirulina maxima</i> da marca B.	13
Figura 7. Cromatograma típico de um extrato da microalga <i>Spirulina maxima</i> da marca C.	14
Figura 8. Cromatograma típico de um extrato da microalga <i>Spirulina maxima</i> da marca D.	14

(3) elas fazem parte de um grande e inexplorado grupo de organismos que fornecem uma ampla fonte de produtos (RADMER; PARKER, 1994).

Além disso, elas podem ser cultivadas nos mais diversos ambientes por serem adaptáveis a grandes variações de salinidade, temperatura, irradiação e disponibilidade de nutrientes (ROSALES et al., 2005; WU et al., 2005).

A produção de microalgas em larga escala teve início em 1964, no Japão com o cultivo da microalga verde *Chlorella*. A primeira unidade de produção da microalga verde-azul *Spirulina* surgiu na Cidade do México em 1974 (LEE, 1997; LI, QI, 1997; HENRIQUES et al., 1998; BOROWITZKA, 1999). Em 1991, foi fundada a primeira corporação de microalgas, a "Shenzhen Lanza Biotechnology Corporation", em Shenzhen, China. O desenvolvimento foi tão grande que, em pouco mais de 10 anos, foram criados mais de cem institutos de pesquisas e empresas interessadas na utilização das microalgas como alimento. Em 1996, a produção de *Spirulina* em pó atingiu 1.000 t e a China é considerada o maior produtor mundial dessa microalga (LIANG et al., 2004). De acordo com WIKFORS; OHNO (2001), estima-se que a indústria do cultivo de algas movimenta de 5 a 6 bilhões de dólares americanos por ano.

Existe uma sólida produção de *Spirulina* no mundo devido ao sucesso de sua exploração comercial (BOROWITZKA, 1992; PARKER et al., 1994; LEE, 1997; LI, QI, 1997; HENRIQUES et al., 1998; LIANG et al., 2004). As microalgas apresentam reconhecido potencial de aproveitamento como fonte de alimento humano (ANNAPURNA et al., 1991a; BABU, RAJASEKARAN, 1991; LIANG et al., 2004) e animal (BELAY et al., 1996; LI, QI, 1997; CHIEN, SHIAU, 2005), além de sua extraordinária capacidade de sintetizar e acumular grandes quantidades de ficobilinas (HIRATA et al., 2000) e carotenóides (ANNAPURNA et al., 1991b; HENRIQUES et al., 1998; MIRANDA et al., 1998).

A França foi o primeiro país europeu a estabelecer um regulamento específico para o uso de algas marinhas como alimento humano, que inclui especificações técnicas, industriais e também às relativas à saúde dos consumidores, como limites máximos permitidos de algumas bactérias e minerais tóxicos. Onze espécies de macroalgas e duas de microalgas (*Spirulina* sp. e *Odontella aurita*) receberam autorização para serem utilizadas como alimento e condimento (MABEAU, FLEURENCE, 1993; BURTIN, 2003).



A *Spirulina* é usada como suplemento alimentar, sendo comercializada em cápsulas ou tabletes, que são fabricados a partir da microalga seca que é macerada e vira um pó. No caso dos tabletes, uma substância ligante é adicionada ao pó. Embora a *Spirulina* e outras microalgas sejam usadas principalmente na produção de cápsulas e extratos, alguns alimentos industrializados, como leite em pó, macarrão, pão, biscoitos e chás, especialmente o chá verde, e bebidas como a cerveja, são enriquecidos com microalgas (LIANG et al., 2004).

O nível de proteína na *Spirulina* pode ser tão elevado quanto em amêndoas e grãos, atingindo de 50 a 70% do peso seco da alga, o que a torna uma fonte promissora para ser usada como suplemento protéico para populações mal-nutridas (BELAY et al., 1993; MIRANDA et al., 1998).

Além do uso como alimento, vários trabalhos enfatizam os efeitos farmacológicos da *Spirulina*, dentre os quais são citados: estimulação do sistema imunológico e da microbiota intestinal, contra hiperlipidemia, hipercolesterolemia, tumor bucal, hipertensão, diabetes, obesidade, efeitos efetivos no tratamento de alergias, anemia, câncer, hepatotoxicidade, doenças cardiovasculares e virais e ainda efeitos tóxicos de radiação (BELAY et al., 1993; CHAMORRO et al., 2002). A *Spirulina* exibe várias propriedades que dificilmente são encontradas em um único produto natural.

A *Spirulina* também apresenta um teor naturalmente elevado de ficocianina,  $\beta$ -caroteno, vitaminas do complexo B,  $\alpha$ -tocoferol, ácidos graxos insaturados essenciais (ácido linoléico, ômega 3 e ômega 6), e compostos fenólicos (MIRANDA et al., 1998; CANELA et al. 2002; CHAMORRO et al., 2002).

Diferentes pigmentos estão presentes nas microalgas, mas dois em particular podem ser destacados: as clorofilas e os carotenóides (MACÍAS-SANCHEZ et al., 2005). A maior produção dos pigmentos carotenóides ocorre nos tecidos fotossintetizantes das plantas superiores e das algas (BRITTON et al., 1995). Estima-se que a produção natural de carotenóides, especialmente nos organismos fotossintetizantes, esteja em torno de 100 milhões de toneladas por ano, com as microalgas contribuindo com parte dessa produção (BRITTON, 1995). Várias espécies dos gêneros *Chlorella*, *Spirulina* e *Dunaliella* vêm despontando comercialmente, sendo possível encontrar no



mercado alguns produtos extraídos dessas microalgas, como por exemplo  $\beta$ -caroteno e ficocianina (BOROWITZKA, 1992).

Os carotenóides pertencem a uma família de compostos naturais encontrados em vegetais, animais e microrganismos, dos quais mais de 600 foram descritos e caracterizados (OLSON; KRINSKY, 1995). Entretanto, somente bactérias, fungos e vegetais, incluindo algas, são capazes de sintetizá-los, embora muitos animais possam incorporá-los através de suas dietas, para utilizá-los como antioxidantes e fonte de vitamina A. Para os organismos produtores, a importância dos carotenóides tem sido relacionada principalmente com a proteção que ele confere contra os danos causados pela luz e oxigênio (STAHL; SIES, 2003). Nas células das algas, uma das funções do  $\beta$ -caroteno consiste aparentemente em proteger o aparelho fotossintético contra a fotoxidação e os raios ultravioleta desencadeados por qualquer excesso de luz (BRITTON et al., 1995; ARMSTRONG; HEARST, 1996; VISHNEVETSKY et al., 1999). SALGUERO et al. (2003) destacaram os efeitos protetores dos carotenóides de *Dunaliella bardawil* como importantes agentes contra os danos fotoxidativos.

A principal função fisiológica dos carotenóides nos animais é atuarem como precursores de vitamina A (BRITTON et al., 1995). A maior parte do  $\beta$ -caroteno e de outros carotenóides pró-vitamina A absorvida é convertida a retinol, principalmente na mucosa intestinal, mas também no fígado e outros órgãos (OLSON, 1989; YAMANO et al., 1994; ARMSTRONG, HEARST, 1996; ARMSTRONG, 1997). Entretanto, alguns aspectos são variáveis. A taxa de conversão é dependente do estado nutricional do indivíduo; a quantidade de carotenóide absorvido e metabolizado no intestino varia de indivíduo para indivíduo (BENDICH, OLSON, 1989); e a via metabólica usada na conversão depende da espécie (OLSON, 1994).

As rotas metabólicas utilizadas pelos mamíferos, particularmente os seres humanos, para a formação de retinol a partir de  $\beta$ -caroteno e outros carotenóides pró-vitamina A envolvem dois mecanismos: fissão central e rompimento assimétrico. Duas enzimas estão envolvidas: a  $\beta$ -caroteno-15,15'-dioxigenase divide a molécula na ligação dupla central (C-15,15') para produção de retinal e a retinal-redutase, uma enzima NADPH-dependente



micronutrientes essenciais e não existe uma regulamentação específica para ingestão diária desses carotenóides. Mesmo assim, eles são levados em consideração no cálculo do teor de vitamina A dos alimentos, expressa em retinol equivalentes (RE). Nos alimentos, 1  $\mu\text{g}$  de RE é igual a 1  $\mu\text{g}$  de *all-trans* retinol, ou 6  $\mu\text{g}$  de *all-trans*  $\beta$ -caroteno, ou 12  $\mu\text{g}$  de outro carotenóide pró-vitamina A (BRASIL, 1998).

O interesse crescente pelo uso de "Spirulina" como suplemento alimentar e a importância do  $\beta$ -caroteno com precursor de vitamina A foram as razões que estimularam a realização do presente trabalho, cujo objetivo foi analisar o teor de  $\beta$ -caroteno em quatro marcas de *Arthrospira (Spirulina) maxima*, comercializadas em lojas de produtos naturais como suplemento alimentar.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Quatro marcas de *Arthrospira (Spirulina) maxima*, comercializadas como suplemento alimentar em lojas de produtos naturais, foram adquiridas no mercado varejista de Fortaleza e analisadas quanto ao teor de  $\beta$ -caroteno. O processo de fabricação desse produto envolve a desidratação da microalga *S. maxima*, acondicionamento em cápsulas e apresentação no mercado em embalagens de 45 ou 90 unidades dependendo do fabricante.

Os reagentes utilizados neste trabalho e suas procedências estão descritos a seguir: hidróxido de potássio (Merck, Alemanha);  $\beta$ -caroteno tipo I all *trans*, sintético aproximadamente 95% C-9750 (Sigma, Estados Unidos); metanol, *n*-hexano e tetrahydrofurano grau HPLC (OmniSolv, Merck, Alemanha). Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água ultrapura, obtida através do sistema Milli-Q (Millipore, Estados Unidos).

A quantificação de  $\beta$ -caroteno nos extratos de *Spirulina maxima* foi feita com base na curva padrão do  $\beta$ -caroteno processado, assim chamado por ter sido submetido à saponificação e à partição. A existência de correlação linear ( $r = 0,9997$ ,  $p < 0,05$ ) entre a área do pico e a concentração (10 a 200  $\mu\text{g}$ ) de  $\beta$ -caroteno processado, correspondente a aproximadamente 0,1 a 2,0  $\mu\text{g}$  na coluna, possibilitou o procedimento (Figura 2).

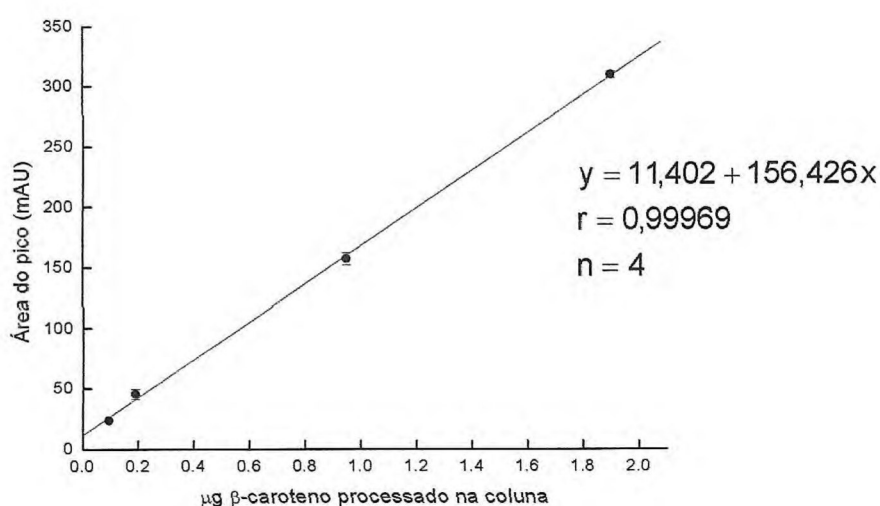


Figura 2. Curva padrão do  $\beta$ -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Para a preparação dos extratos de *S. maxima*, doze cápsulas de cada uma das marcas estudadas (A, B, C e D) foram abertas e o material, aproximadamente 5 g da microalga desidratada, foi misturado mecanicamente para garantir sua homogeneidade.

Os extratos de *S. maxima* foram preparados em triplicata. Três porções de 1 g foram pesadas em tubos de vidro graduados com tampa esmerilhada (20 x 150 mm) e 10 mL de metanol-água (90:10, v/v) contendo 5% de hidróxido de potássio foram adicionados. Os tubos foram homogeneizados e levados ao banho-maria (Thermomix® BM, modelo 18 BU, B. Braun Biotech International) a 70°C por 30 minutos para saponificação.

Depois de resfriados à temperatura ambiente, os extratos foram centrifugados por 5 minutos a 2.000 x g. Após a centrifugação, 5 mL dos extratos saponificados, 1,5 mL de água Milli-Q e 2,5 mL de *n*-hexano foram transferidos para tubos Pyrex de tampa rosqueada (15 x 100 mm), os quais foram misturados por 10 minutos usando-se uma plataforma misturadora. Esse procedimento de partição permite a migração dos carotenóides não saponificáveis presentes no extrato de *Spirulina* do metanol para o *n*-hexano.

Após a partição, para separar as fases, os tubos foram centrifugados por 3 minutos a 2.000 x g. Um volume correspondente a 1 mL da fase hexânica foi transferido para tubos de ensaio (10 x 75 mm), os quais foram deixados sob corrente de ar em banho-maria a aproximadamente 65°C para evaporação do solvente. O resíduo foi então suspenso em 500 µL de metanol no momento da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cujo funcionamento está resumido na Figura 3.

Diariamente era preparada uma solução de β-caroteno em tetrahidrofurano (THF) na concentração de 1 mg.mL<sup>-1</sup>, que era diluída com metanol (MeOH) para dar uma concentração de 10 µg.mL<sup>-1</sup>, chamada de solução de trabalho. A concentração verdadeira da solução de trabalho era determinada através da leitura de sua absorbância em 450 nm, sendo sua capacidade de absorção de luz ("absorptivity") igual a 0,2592 µg<sup>-1</sup>.mL<sup>-1</sup> (SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS, 1972). O conhecimento da concentração verdadeira da solução de trabalho permitiu a padronização da injeção de 2 µg de β-caroteno na coluna, diariamente.



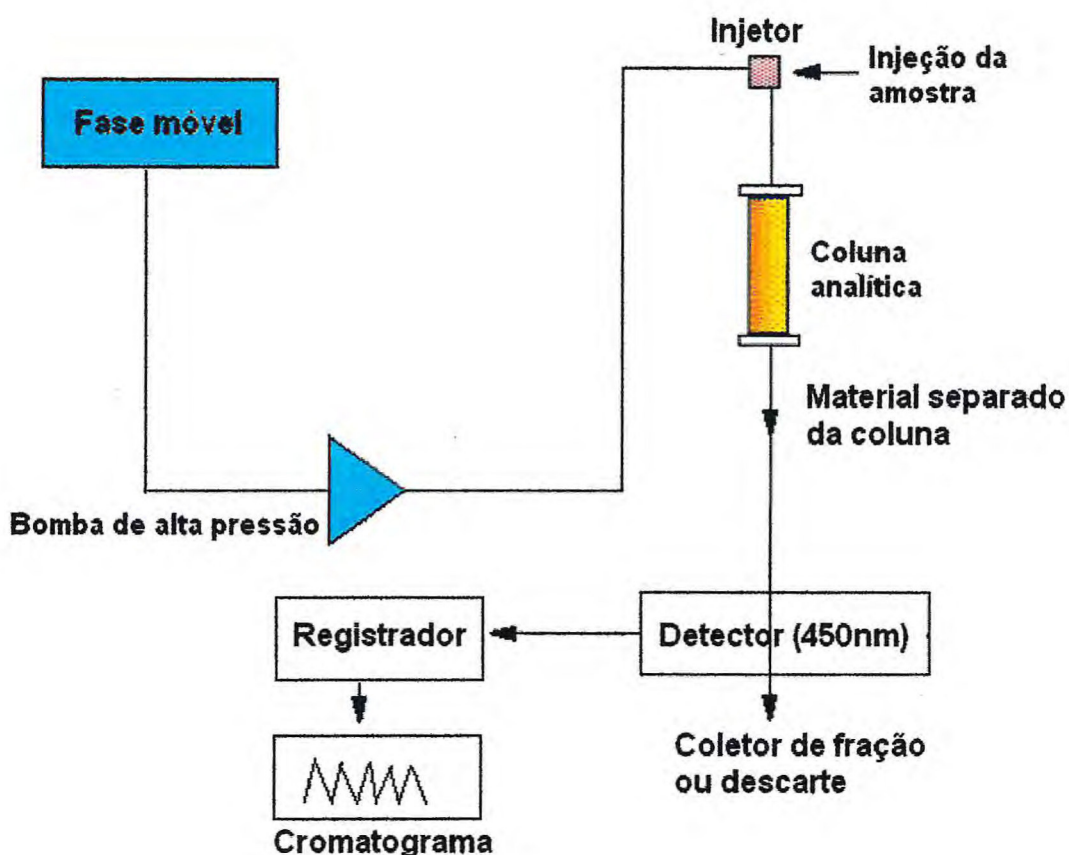


Figura 3. Esquema dos componentes de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

A solução de trabalho ( $10 \mu\text{g } \beta\text{-caroteno.mL}^{-1}$ ) foi submetida à saponificação e à partição ( $\beta\text{-caroteno}$  processado) separadamente e em combinação com 1 g de *S. maxima*.

Os extratos e a solução de trabalho (com ou sem a microalga) foram processados (submetidos ao processo de saponificação e partição) de forma idêntica, com relação ao volume de reagentes e alíquotas transferidas entre etapas do procedimento. Além disso, a recuperação do  $\beta\text{-caroteno}$  processado junto com a *Spirulina* ou isoladamente foi a mesma.

O sistema cromatográfico utilizado neste trabalho, ÅKTA BASIC da Amersham, Suécia, era composto por uma coluna Spherisorb S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) da Waters e uma fase móvel constituída de MeOH:THF (90:10, v/v), bombeada a  $2 \text{ mL.min}^{-1}$ . Alíquotas de  $100 \mu\text{L}$  do resíduo suspenso em MeOH foram injetadas manualmente usando um injetor Rheodyne 7210

### 3. RESULTADOS

A identificação de  $\beta$ -caroteno nas quatro marcas comerciais de *Spirulina maxima* testadas no presente trabalho foi feita considerando os tempos de retenção do padrão e dos extratos da microalga *S. maxima*.

O tempo de retenção do  $\beta$ -caroteno padrão (solução de trabalho) foi igual a  $11,34 \pm 0,30$  min ( $n = 6$ ) e o tempo de retenção do composto considerado  $\beta$ -caroteno, cromatografado nos extratos da microalga, foi de  $11,06 \pm 0,33$  min ( $n = 22$ ).

Um cromatograma típico do  $\beta$ -caroteno padrão (solução de trabalho) está apresentado na Figura 4.

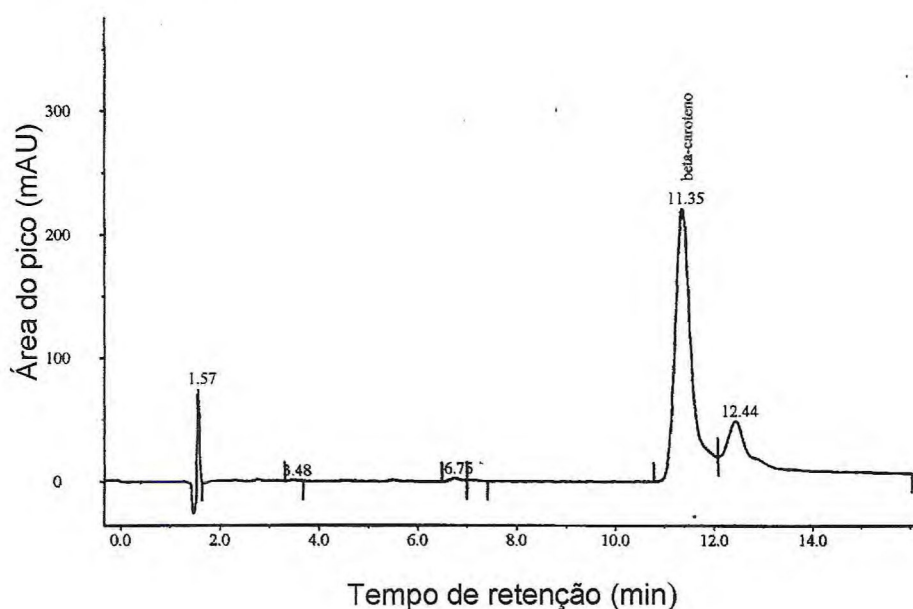


Figura 4. Cromatograma típico do  $\beta$ -caroteno padrão (solução de trabalho)  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Neste trabalho, os extratos das quatro marcas comerciais de *S. maxima* apresentaram grandes variações nos teores de  $\beta$ -caroteno de 0,402 a  $32,211 \mu\text{g.g}^{-1}$  peso seco..

Os teores de  $\beta$ -caroteno nos extratos das quatro marcas comerciais de *S. maxima* estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Conteúdo de  $\beta$ -caroteno nos extratos das quatro marcas de *Spirulina maxima* comercializadas como suplemento alimentar.

Marcas	$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco)	$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}\cdot\text{cápsula}^{-1}$ )
A	$32,211 \pm 4,989^{\text{a}}$	$12,884 \pm 1,996$
B	$12,700 \pm 1,100^{\text{b}}$	$5,080 \pm 0,440$
C	$0,402 \pm 0,138^{\text{c}}$	$0,153 \pm 0,052$
D	$0,528 \pm 0,059^{\text{cd}}$	$0,148 \pm 0,017$

Letras minúsculas iguais - não há diferença estatisticamente significativa.

Letras minúsculas diferentes - há diferença estatisticamente significativa.

Os teores de  $\beta$ -caroteno foram convertidos em retinol equivalente (RE), considerando que 1  $\mu\text{g}$  de RE é igual a 6  $\mu\text{g}$  de *all-trans*  $\beta$ -caroteno (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo de retinol equivalente nos extratos das quatro marcas de *Spirulina maxima* comercializadas como suplemento alimentar.

Marcas	RE ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco)	RE ( $\mu\text{g}\cdot\text{cápsula}^{-1}$ )
A	$5,369 \pm 0,831$	$2,147 \pm 0,333$
B	$2,117 \pm 0,183$	$0,847 \pm 0,073$
C	$0,067 \pm 0,023$	$0,026 \pm 0,009$
D	$0,088 \pm 0,010$	$0,025 \pm 0,003$

Cromatogramas típicos dos extratos da microalga *S. maxima* das marcas A, B, C e D estão apresentados nas Figuras 5, 6, 7 e 8, respectivamente.

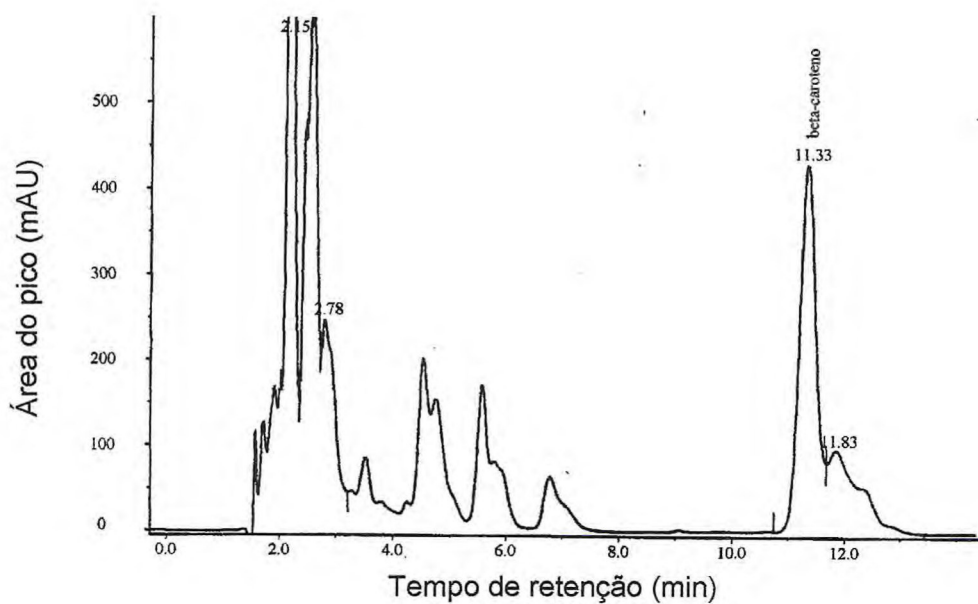


Figura 5. Cromatograma típico de um extrato da microalga *Spirulina maxima* da marca A.

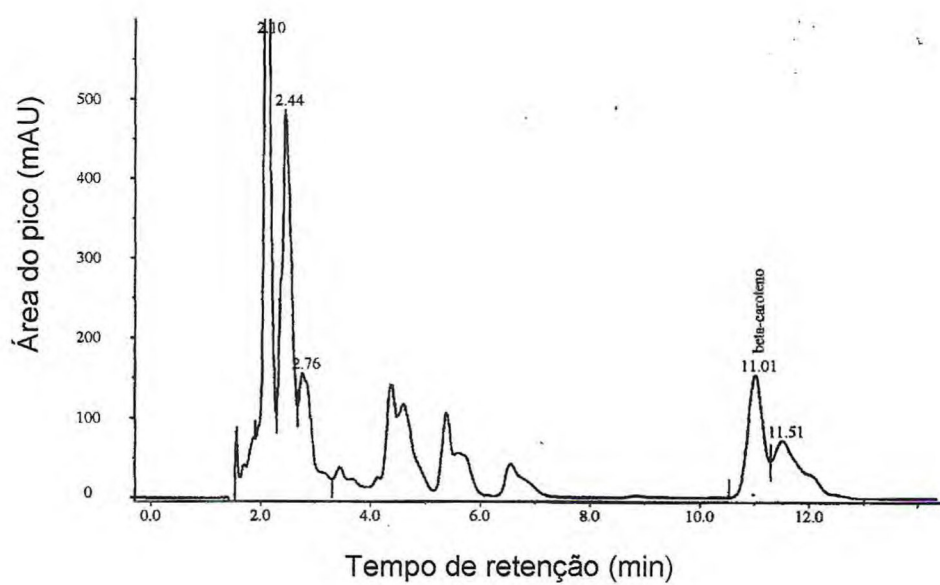


Figura 6. Cromatograma típico de um extrato da microalga *Spirulina maxima* da marca B.



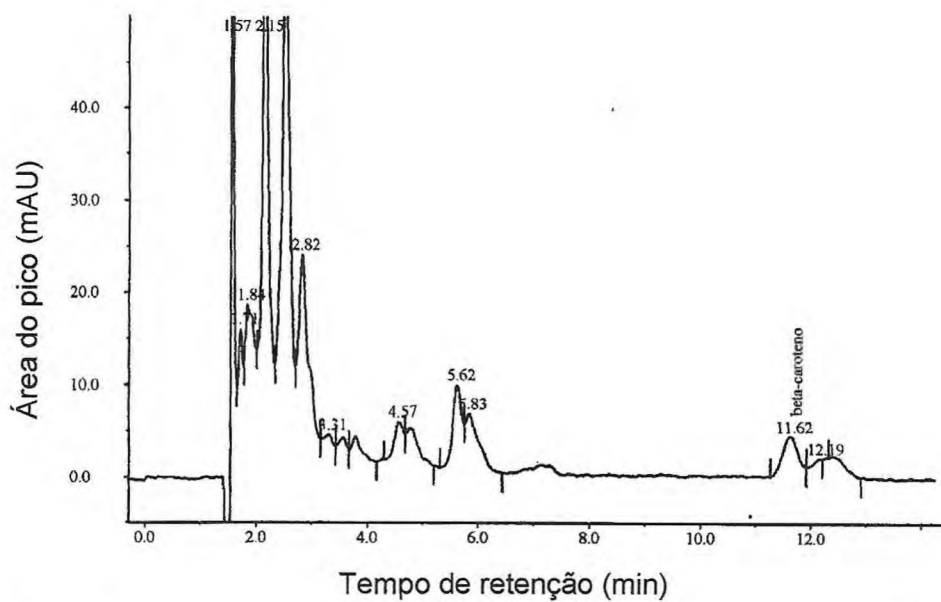


Figura 7. Cromatograma típico de um extrato da microalga *Spirulina maxima* da marca C.

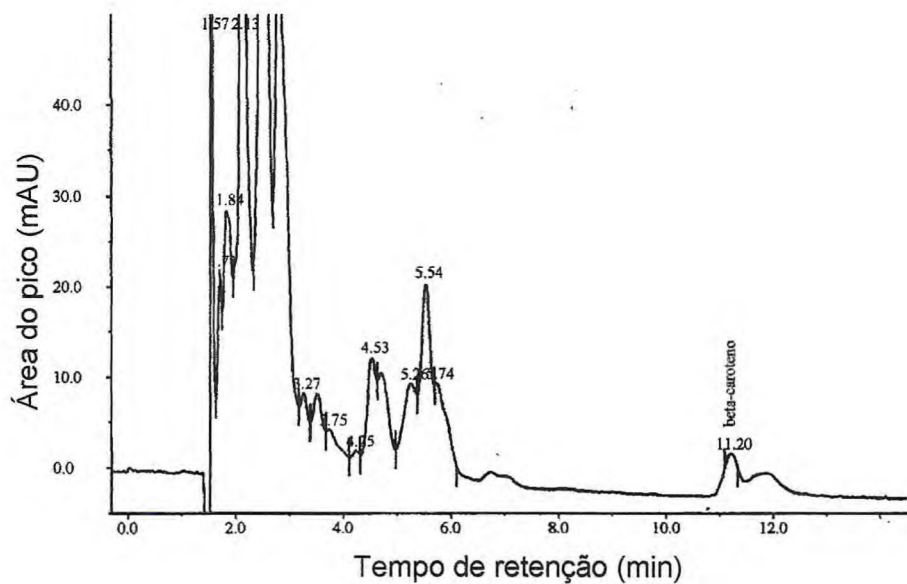


Figura 8. Cromatograma típico de um extrato da microalga *Spirulina maxima* da marca D.

#### 4. DISCUSSÃO



Neste trabalho, o tempo de retenção foi usado como ferramenta para a identificação do  $\beta$ -caroteno nos extratos de *Spirulina maxima* tendo em vista a inexistência de diferença estatisticamente significativa ( $t = 1,8885$ ,  $p \geq 0,05$ ) entre a média do tempo de retenção do  $\beta$ -caroteno padrão (solução de trabalho) e àquela do composto nos extratos da microalga.

A identificação de compostos feita através da comparação dos tempos de retenção é um procedimento habitualmente utilizado por muitos pesquisadores (NORZIAH; CHING, 2000). Entretanto, para AZEVEDO-MELEIRO, RODRIGUES-AMAYA (2004), a identificação conclusiva dos carotenóides deve ser feita através da combinação de alguns critérios como tempo de retenção e co-cromatografia com padrões de procedência garantida, além dos espectros UV-visível e de massa.

Das quatro marcas de *S. maxima* analisadas no presente trabalho, a maior quantidade de  $\beta$ -caroteno foi encontrada nos extratos preparados com *S. maxima* da marca A ( $32,211 \pm 4,989 \mu\text{g.g}^{-1}$  peso seco), seguida pelos da marca B ( $12,700 \pm 1,100 \mu\text{g.g}^{-1}$  peso seco). Os teores mais baixos foram verificados nos extratos das marcas C ( $0,402 \pm 0,138 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) e D ( $0,528 \pm 0,060 \mu\text{g.g}^{-1}$ ).

A marca A apresentou uma quantidade 2,5; 95 e 61 vezes superior às encontradas nas marcas B, C e D, respectivamente.

Houve uma variação muito marcante entre os teores de  $\beta$ -caroteno encontrados nas marcas analisadas, que pode estar associada ao fato de que a composição e distribuição dos carotenóides nos vegetais é irregular e afetada por fatores como estágio do ciclo de vida, clima geográfico, condições de produção, dentre outros. A colheita, manipulação e estocagem das amostras, bem como o processo de preparação, também podem influenciar na quantidade de carotenóides presentes no material (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000). Por exemplo, a disponibilidade de nitrogênio no meio influi na acumulação dos carotenóides em algumas microalgas; a concentração de nitrato no meio de cultura da microalga verde *Muriellopsis* sp. favorece a acumulação de luteína (DEL CAMPOS et al., 2000); as condições físico-



químicas do cultivo como pH, oxigênio, irradiação e temperatura promovem incremento na produção de  $\beta$ -caroteno e luteína na microalga verde *Dunaliella salina* (GARCIA-GONZALEZ et al., 2005).

A *Spirulina* é um produto comercial que aparece na legislação brasileira na Portaria Nº 19, de 15 de março de 1995 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que define a *Spirulina* como sendo “microalgas do grupo das cianosquizofiteas (algas azuis) marinhas ou dulcequíolas, cujas espécies comestíveis do gênero compreendem: *platensis* e *maxima*”. Ainda de acordo com a Portaria, elas apresentam alto conteúdo de proteínas combinado com quantidades variáveis de vitaminas do complexo B, especialmente B<sub>12</sub>, pró-vitaminas K, E, PP/A e minerais como cálcio, ferro, fósforo, potássio e magnésio” (BRASIL, 1995).

A referida Portaria ainda trata de Complemento Nutricional ou Suplemento Alimentar, com a seguinte definição: “é um produto elaborado com finalidade de complementar a dieta cotidiana de uma pessoa saudável, que deseja compensar um possível déficit de nutrientes, a fim de alcançar os valores da Dose Diária Recomendada (DDR)”. A *Spirulina* é comercializada como suplemento alimentar.

Muitos pesquisadores têm estudado o valor nutricional da *Spirulina*. MITCHELL et al. (1990) avaliaram os efeitos da ingestão de *S. maxima*, em dietas contendo 0; 2,7; 10,7; 18,7 e 26,7% da microalga em ratos machos. Após 6 semanas da aplicação da dieta, os indivíduos alimentados com dietas contendo entre 10,7 e 26,7% de *S. maxima* apresentaram significativa redução no ganho de peso, quando comparados com aqueles que receberam a dieta controle, isenta de *Spirulina*.

CHIEN; SHIAU (2005) analisaram os efeitos de dietas suplementadas com carotenóides naturais provenientes da microalga verde *Haematococcus pluvialis* e da microalga verde-azul *S. pacifica* e com um carotenóide sintético produzido pela Carophyll Pink, a astaxantina, sobre sobrevivência, crescimento e pigmentação do camarão peneídeo *Marsupenaeus japonicus*. Após nove semanas de cultivo, os camarões submetidos às dietas com suplementação de carotenóides apresentaram taxa de sobrevivência significativamente superior a do grupo controle (sem adição de carotenóide). Nenhuma diferença no ganho de peso foi encontrada nos camarões, mas aqueles que receberam dietas com

suplementação de carotenóides apresentaram 66,4 e 75,5% mais astaxantina no músculo e carapaça, respectivamente, do que os do grupo controle.

A *Spirulina* tem sido apontada como uma valiosa fonte de vitamina A. A biodisponibilidade dos carotenos encontrados nessa microalga apresenta muita semelhança com aquela de carotenos obtidos de outras fontes como por exemplo cenoura e vegetais folhosos, sugerindo que a *Spirulina* apresenta grande potencial como fonte dietária de pró-vitamina A (KUMAR et al., 2005).

ANNAPURNA et al. (1991a) avaliaram a microalga verde-azul *S. fusiformis* como fonte de vitamina A através da absorção dos carotenos totais e  $\beta$ -caroteno em crianças aparentemente saudáveis em idade pré-escolar, de 3 a 5 anos. Após sete dias recebendo uma dieta praticamente isenta de caroteno, as crianças receberam uma dose única de 1.200  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno junto com a refeição. A quantidade de carotenos totais presentes nas fezes foi acompanhada nos 4 dias que antecederam o tratamento e nos 4 dias posteriores, e a absorção dos carotenos totais foi em média 72,3% e a do  $\beta$ -caroteno 75,2%. Em outro experimento, o efeito da suplementação diária de *Spirulina* ou vitamina A durante o período de um mês foi acompanhado pelo nível de retinol sérico. Em ambos os grupos, o nível melhorou significativamente, sendo ligeiramente mais elevado naquele que recebeu o suplemento de vitamina A. Com a suspensão da suplementação, os níveis de retinol sérico voltaram àqueles observados inicialmente, entre 1 e 3 meses.

ANNAPURNA et al. (1991b) também avaliaram a *S. fusiformis* como fonte de vitamina A. Dois grupos de ratos foram separados. Um grupo recebeu uma dieta suplementada com vitamina A sintética (controle) e o outro recebeu *Spirulina* como única fonte de vitamina A. Os resultados indicaram que o grupo alimentado com *Spirulina* exibiu maior concentração de vitamina A no fígado do que o grupo controle. Em outro experimento, esses autores compararam a absorção e a disponibilidade dos carotenos sintético e extraído de *Spirulina*, julgadas pelo nível de vitamina A e caroteno no plasma e fígado. A absorção do  $\beta$ -caroteno (sintético ou extraído de *Spirulina*) não apresentou diferença significativa nas doses mais baixas como 275  $\mu$ g. Entretanto, quando doses mais elevadas de 550 e 1.100  $\mu$ g foram comparadas, a absorção do  $\beta$ -caroteno sintético foi superior aquele extraído da *Spirulina*.



Além do uso como alimento por ser rica em proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerais e outros nutrientes, a *Spirulina* exibe algumas propriedades farmacológicas importantes, que têm sido testadas experimentalmente “in vivo” e “in vitro”. CHAMORRO et al. (2002) apontaram sua eficiência no tratamento de algumas alergias, anemia, câncer, hiperlipidemia, imunodeficiência e processos inflamatórios. Estudos com ratos mostraram que o nível de colesterol sangüíneo diminuiu com a ingestão de altas quantidades de *S. maxima* (SALAZAR et al., 1998) e foi capaz de inibir a reação alérgica sistêmica (KIM et al., 1998).

Apesar da biomassa de *Spirulina* ser indicada como auxiliar em dietas que requerem diminuição da ingestão calórica, ARAUJO et al. (2003) não confirmaram a alegação de que seu uso conduz a redução de peso corporal e consumo de alimento em ratos, independentemente da concentração e da origem das biomassas utilizadas e das diferentes espécies de cianobactérias constituintes destas biomassas.

Nos últimos anos a *Spirulina* tem atraído mais a atenção dos cientistas médicos por ser um produto nutracêutico e fonte de fármacos em potencial (KUMAR et al., 2005). A *S. fusiformis* exibe potente atividade antiviral (HAYASHI et al., 1996), efeitos anticancerígenos (MITTAL et al., 1999) e capacidade de fortalecer o sistema imunológico (QURESHI et al., 1996). Os resultados obtidos por KUMAR et al. (2005) sugeriram que a administração oral de extrato de *S. fusiformis* em ratos conferiu proteção contra a intoxicação causada pelo cloreto de mercúrio.

Diferentes preparações de *Spirulina* foram ativas contra o envelope de vários vírus, incluindo o vírus do herpes, o citomegalovírus, o vírus da influenza e o HIV. Elas também foram capazes de inibir a carcinogênese devido as suas propriedades antioxidantes que protegeram os tecidos e ainda reduziram a toxicidade do fígado, rins e testículos (KHAN et al., 2005)

Apesar de sua aplicação como suplemento alimentar, a ingestão de algumas microalgas verdes-azuis pode provocar intoxicação em humanos e animais (CANELA et al., 2002). Entretanto, mesmo quando altos níveis de *S. maxima* foram utilizados na alimentação de ratos, SALAZAR et al. (1998) não observaram quaisquer efeitos toxicológicos e, ainda afirmaram que, parece

improvável que estudos futuros revelem qualquer propriedade tóxica na *S. maxima* que possa impedir sua utilização como fonte de proteína.

Para CHAMORRO et al. (2002), apesar da *Spirulina* ter sido extensivamente estudada sob o ponto de vista químico, farmacológico e toxicológico, ainda é necessário expandir as pesquisas sobre suas propriedades para que dados mais consistentes sejam obtidos e possibilitem seu uso nos seres humanos.

A microalga verde-azul *Spirulina* é uma fonte rica de muitos nutrientes, incluindo  $\beta$ -caroteno. Embora existam muitos trabalhos sobre os possíveis efeitos benéficos da *Spirulina*, outros ainda são necessários para que algumas questões sejam esclarecidas.

Talvez a falta de dados consistentes se deva em grande parte a carência de padrões de qualidade da *Spirulina* como matéria-prima.

Existe uma preocupação generalizada, mesmo na China que é o maior produtor mundial de *Spirulina*, sobre a falta de definição de critérios de padronização e garantia da qualidade na produção de *Spirulina* (LEE, 1997; LI, QI, 1997). Mais pesquisas são necessárias com relação ao processo de fotossíntese, eficiência na conversão de energia, seleção de cepas e modelos de bioreatores algais.

A posologia recomendada pelos fabricantes das marcas de *S. maxima* comercializadas como suplemento alimentar e estudadas neste trabalho consiste em: marca A, uma a duas cápsulas duas vezes por dia, o que totaliza um consumo mínimo de duas e máximo de quatro; marca B, três cápsulas duas vezes ao dia, totalizando seis unidades; marca C, duas cápsulas duas vezes ao dia, totalizando quatro unidades; e marca D, máximo de cinco cápsulas diárias.

Uma avaliação preliminar com base na quantidade de  $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}$  por cápsula) apresentada na Tabela 1 e que pode ser convertida em retinol equivalentes (RE) (Tabela 2), fornece uma informação que deve ser mais estudada. Considerando que a Ingestão Diária Recomendada de vitamina A é de 800  $\mu\text{g}$  (BRASIL, 1998) e que um alimento ou produto capaz de fornecer 15% da IDR é considerado uma fonte útil, para que as quatro marcas estudadas neste trabalho (A, B, C e D) fornecessem 120  $\mu\text{g}$  de RE, seria necessária a ingestão de 56, 142, 4.706 e 4.865 cápsulas, respectivamente.

## 5. CONCLUSÃO

A presença de  $\beta$ -caroteno foi observada nos extratos de *Spirulina maxima* das quatro marcas comerciais analisadas neste trabalho.

Os teores de  $\beta$ -caroteno nos extratos de *S. maxima* apresentaram uma grande variação, ficando de  $0,402 \pm 0,138 \mu\text{g.g}^{-1}$  peso seco, na marca C a  $32,211 \pm 4,989 \mu\text{g.g}^{-1}$  peso seco, na marca A.

Para fornecer  $120 \mu\text{g}$  de retinol equivalente (RE), que corresponde a 15% da IDR para vitamina A, seria necessária a ingestão diária de um número absurdo de cápsulas de todas as marcas analisadas.

Este assunto merece mais atenção e estudos futuros devem ser realizados.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANNAPURNA, V.V.; SHAH, N.; BHASKARAM, P.; BAMJI, M.S.; REDDY, V. The bioavailability of *Spirulina* carotenes in preschool children. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, Mitake Gifu, v.10, n.2, p.145-151, Mar 1991a.

ANNAPURNA, V.V.; DEOSTHALE, Y.G.; BAMJI, M.S. *Spirulina* as a source of vitamin A. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.41, n.2, p.125-134, Apr 1991b.

ARAÚJO, K.G.L.; FACCHINETTI, A.D.; SANTOS, C.P. Influência da ingestão de biomassas de *Spirulina* (*Arthrospira* sp.) sobre o peso corporal e consumo de ração em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.1, p.6-9, jan-abr 2003.

ARMSTRONG, G.A. Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale. **Annual Reviews of Microbiology**, Palo Alto, v. 51, p. 629-659, Oct. 1997.

ARMSTRONG, G.A.; HEARST, J.E. Carotenoids 2. Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. **FASEB Journal**, Bethesda, v.10, n.2, p.228-237, Feb 1996.

AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.17, n.3-4, p.385-396, Aug 2004.

BABU, S.C.; RAJASEKARAN, B. Biotechnology for rural nutrition - an economic evaluation of algal protein supplements in South India. **Food Policy**, Oxford, v.16, n.5, p.405-414, Oct 1991.

BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.5, n.2, p.235-241, Apr 1993.

BELAY, A.; KATO, T.; OTA, Y. *Spirulina* (*Arthrospira*): potential application as an animal feed supplement. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.8, n.4-5, p.303-311, Jul 1996.

BENDICH, A.; OLSON, J.A. Biological actions of carotenoids. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 3, n. 8, p. 1927-1932, Jun. 1989.

BOROWITZKA, M.A. Algal biotechnology products and processes - matching science and economics. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.4, n.3, p.267-279, Sep 1992.

BOROWITZKA, M.A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.70, n.1-3, p.313-321, Apr 1999.

BRASIL. Portaria (1998). Portaria Nº 33 de 13 de janeiro de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Brasília, DF. Anvisa, 1998.

BRASIL. Portaria (1995). Portaria Nº 19 de 15 de março de 1995 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Brasília, DF. Anvisa, 1995.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **FASEB Journal**, Bethesda, v.9, n.15, p.1551–1558, Dec 1995.

BRITTON, G.; LAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. (eds) **Carotenoids: Isolation and Analysis**. Vol. 1A. Birkhäuser, Basel. 1995.

BURTIN, P. Nutritional value of seaweeds. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v.2, n.4, 2003. <[http://www.ejeafche.uvigo.es/2\(4\)2003/017242003F.htm](http://www.ejeafche.uvigo.es/2(4)2003/017242003F.htm)> Acesso em: 5 fev 2005.

CANELA, A.P.R.F.; ROSA, P.T.V.; MARQUES, M.O.M.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of fatty acids and carotenoids from the microalgae *Spirulina maxima*. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Washington, v.41, n.12, p.3012-3018, Jun 2002.

CHAMORRO, G.; SALAZAR, M.; ARAUJO, K.G.D.; DOS SANTOS, C.P.; CEBALLOS, G.; CASTILLO, L.F. Update on the pharmacology of *Spirulina* (*Arthrospira*), an unconventional food. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.52, n.3, p.232-240, Sep 2002

CHIEN, Y.H.; SHIAU, W.C. The effects of dietary supplementation of algae and synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth, and low dissolved oxygen stress resistance of kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v.318, n.2 p.201-211, May 2005.

DEL CAMPO, J.A.; MORENO, J.; RODRIGUEZ, H.; VARGAS, M.A.; RIVAS, J.; GUERRERO, M.G. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta). **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.76, n. 1, p.51-59, Jan 2000.

GARCIA-GONZALEZ, M.; MORENO, J.; MANZANO, J.C.; FLORENCIO, F.J.; GURRERO, M.G. Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis- $\beta$ -carotene and lutein in a closed tubular photobioreator. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.115, n. 1, p.81-90, Jan 2005.



- GOODWIN, T.W. Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.6, p.273-297, 1986.
- GRAHAM, L.E.; WILCOX, L.W. Introduction to the algae: occurrence, relationships, nutrition, definition, general features. In: \_\_\_\_\_. **Algae**. New Jersey: Prentice Hall, 2000. cap. 1, p.1-21.
- GUGLIELMI, G.; RIPPKA, R.; TANDEAU de MARSAC, N. Main properties that justify different taxonomic positions of *Spirulina* spp. and *Arthrospira* spp. among cyanobacteria. **Bulletin de l'Institute Océanographie**, Monaco, n.12, p.13-23, 1993.
- HAYASHI, K.; HAYASHI, T.; KOJIMA, I. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: In vitro and ex vivo evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. **Aids Research and Human Retroviruses**, Nova York, v.2, n.5: p.1463-1471, Oct 1996.
- HENRIQUES, N.M.; NAVALHO, J.C.; VARELA, J.C.; CANCELA, M.L. *Dunaliella*: uma fonte natural de beta-caroteno com potencialidades de aproveitamento biotecnológico. **Boletim de Biotecnologia**, n.61, p.12-18, dez 1998.
- HIRATA, T.; TANAKA, M.; OOIKE, M.; TSUNOMURA, T.; SAKAGUCHI, M.; Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Academic publishers**, Dordrecht, v.12, n. 3-5, p.435-439, Oct 2000.
- KHAN, Z.; BHADOURIA, P.; BISEN, P.S. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Sharjah, v.6, n.5, p.373-379, Oct 2005.
- KIM, H.M.; LEE, E.H.; CHO, H.H.; MOON, Y.H. Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by *Spirulina*. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v.55, n.7, p.1071-1076, Apr 1998.
- KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v.66, n.5, p.1003-1010, May 1994.
- KUMAR, M.; SHARMA, M.K.; KUMAR, A. *Spirulina fusiformis*: A food supplement against mercury induced hepatic toxicity. **Journal of Health Science**, Tokyo, v.51, n.4, p. 424-430, Aug 2005.
- LEE, Y.K. Commercial production of microalgae in the Asia-Pacific rim. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.9, p.403-411, 1997.
- LI, D.M.; QI, Y.Z. *Spirulina* industry in China: Present status and future prospects. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.9, n.1, p.25-28, 1997.



- LIANG, S.; LIU, X.; CHEN, F.; CHEN, Z. Current microalgal health food R & D activities in China. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v.512, n.1-3, p.45-48, Jan 2004.
- MABEAU, S.; FLEURENCE, J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, v.4, n.4, p.103-107, Apr 1993.
- MACIAS-SANCHEZ, M.D.; MANTELL, C.; RODRIGUEZ, M.; MARTINEZ DE LA OSSA, E.; LUBIAN, L.M.; MONTERO, O. Supercritical fluid extraction of carotenoid and chlorophyll a from *Nannochloropsis gaditana*. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.66, n.2, p.245-251, Jan 2005.
- MATHEWS, C.K.; VAN HOLDE, K.E. Lipid metabolism II: Membrane lipids, steroids, isoprenoids, and eicosanois. In: **Biochemistry**. 2 ed. The Benjamin/Cummings Publishing Co. Menlo Park. CA pp.659-697, 1995.
- MIRANDA, M.S.; CINTRA, R.G.; BARROS, S.B.M.; MANCINI, J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.31, n.8, p.1075-1079, Aug 1998.
- MITCHELL, G.V.; GRUNDEL, E.; JENKINS, M.; BLAKELY, S.R. Effects of graded dietary levels of *Spirulina maxima* on vitamins A and E in male rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.120, n.10, p.1235-1240, Oct 1990.
- MITTAL, A.; KUMAR, P.V.S.; BANERJEE, S.; RAO, A.R.; KUMAR, A. Modulatory potential of *Spirulina fusiformis* on carcinogen metabolizing enzymes in Swiss albino mice. **Phytotherapy Research**, West Sussex, v.13, n.2, p.111-114, Mar 1999.
- NORZIAH, M.H.; CHING, C.Y. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. **Food Chemistry**, Oxford, v.68, n.1, p.69-76, Jan 2000.
- OLSON, J.A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 66, n.5, p.1011-1016, May 1994.
- OLSON, J.A. Provitamin-A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin-A. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.119, n.1, p.105-108, Jan 1989.
- OLSON, J.A.; KRINSKY, N.I. Introduction: the colorful fascinating world of the carotenoids: important physiologic modulators. **FASEB Journal**, Bethesda, v.9, n.15, p.1547-1550, Dec 1995.
- PARKER, B.C.; RADMER, R.J.; ALLNUTT, F.C.T.; CHEN, H. Microalgal biotechnology and commercial applications - introduction. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.6, n.2, p.91-92, Apr 1994.

- QURESHI, M.A.; GARLICH, J.D.; KIDD, M.T. Dietary *Spirulina platensis* enhances humoral and cell-mediated immune functions in chickens. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, New York, v.18, n.3, p.465-476, 1996.
- RADMER, R.J.; PARKER, B.C. Commercial applications of algae: opportunities and constraints. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.6, n.2, p.93-98, Apr 1994.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Some considerations in generating carotenoid data for food composition tables. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.13, n. 4, p.641-647, Ago 2000.
- ROSALES, N.; ORTEGA, J.; MORA, R.; MORALES, E. Influence of salinity on the growth and biochemical composition of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. **Ciencias Marinas**, Baja California, v.31, n.2, p.349-355, Jun 2005.
- SALAZAR, M.; MARTINEZ, E.; MADRIGAL, E.; RUIZ, L.E.; CHAMORRO, G.A. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v.62, n.3, p.235-24, Oct 1998.
- SALGUERO, A.; MORENA, B.; VIGARA, J.; VEGA, J.M.; VILCHEZ, C.; LEON, R. Carotenoids as protective response against oxidative damage in *Dunaliella bardawil*. **Biomolecular Engineering**, Amsterdam, v.20, n.4-6, p. 249-253, Jul 2003.
- SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS. 3<sup>rd</sup> ed. Ed. National Academy of Sciences. Washington, DC. 1972.
- STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, Düsseldorf, v.24, n.6, p.345-351, Dec 2003.
- VISHNEVETSKY, M.; OVADIS, M.; VAINSTEIN, A. Carotenoids sequestration in plants: the role of carotenoid-associated proteins. **Trends in Plant Science**, London, v.4, n.6, p. 232-235, Jun 1999.
- WIKFORS, G.H.; OHNO, M. Impact of algal research in aquaculture. **Journal of Phycology**, Malden, v.37, n.6, p.968-974, Dec 2001.
- WU, H.Y.; GAO, K.S.; VILLAFANE, V.E.; WATANABE, T.; HELBLING, E.W. Effects of solar UV radiation on morphology and photosynthesis of filamentous cyanobacterium *Arthrospira platensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.71, n.9, p.5004-5013, Sep 2005.
- YAMANO, S.; ISHII, T.; NAKAGAWA, M.; IKENAGA, H.; MISAWA, N. Metabolic engineering for production of beta-carotene and lycopene in *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.58, n.6, p.1112-1114, Jun 1994.