



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA  
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**JÚLIA NUNES RABELO**

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES COMERCIAIS  
À BASE DE *Chlorella pyrenoidosa***

**FORTALEZA  
2010**



**JÚLIA NUNES RABELO**

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES COMERCIAIS  
À BASE DE *Chlorella pyrenoidosa***

**Monografia submetida ao Departamento de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Pesca.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvana Saker Sampaio**

**FORTALEZA  
2010**

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)

---

R114a Rabelo, Júlia Nunes.  
Avaliação nutricional de suplementos alimentares comerciais à base de *Chlorella pyrenoidosa* / Júlia Nunes Rabelo. – 2010.  
36 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2010.  
Orientação: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio.

1. *Chlorella*. 2. Carotenóides. 3. Tocoferóis. I. Título.

CDD 639.2

---

**JÚLIA NUNES RABELO**

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES COMERCIAIS  
À BASE DE *Chlorella pyrenoidosa***

**Monografia submetida ao Departamento de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca.**

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvana Saker Sampaio (Orientadora)**  
**Universidade Federal do Ceará-UFC**

---

**Prof<sup>a</sup> Artamizia Maria Nogueira Montezuma (Membro)**  
**Universidade Federal do Ceará-UFC**

---

**Márcia Barbosa de Sousa, M.Sc. (Membro)**  
**Universidade Federal do Ceará-UFC**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as forças cósmicas e divinas que vão além da compreensão humana, responsáveis pela nossa existência nesse Planeta tão maravilhoso.

Aos meus pais José Gilberto e Ana Cristina pelo amor incondicional, pela crença em suas filhas e pelos melhores momentos de nossas vidas.

A minha irmã Cecília pelo companheirismo, pelos nossos incontáveis dias de estudo repletos de música e por me deixar a cada dia, mais orgulhosa.

Ao meu amado Jefferson Sales por me mostrar as cores da vida, pelo amor de todos os dias, por ser essencial, por me fazer tão feliz.

À Prof<sup>a</sup> Silvana Saker Sampaio pela oportunidade de me mostrar um mundo de pesquisa o qual pretendo seguir, pelos ensinamentos e pela sabedoria.

À Prof<sup>a</sup> Artamizia Maria Nogueira Montezuma e à Bióloga Márcia Barbosa de Sousa pelas considerações e sugestões com o objetivo de melhorar este trabalho.

Aos professores Paulo Roberto Ferreira Gomes da Silva e Sadra Tédde Santaella dos respectivos laboratórios de Oceanografia Abiótica e de Efluentes e Qualidade de Água, da Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de conhecer e participar de seus projetos.

Aos meus colegas de laboratório BIOMAR-HPLC, Daniel Barroso de Alencar, Kelma Maria do Santos Pires Cavalcante, Márcia Barbosa de Sousa e Mirela Gouveia pela vivência, pelos dias intensos de trabalho, pesquisa e pela paciência.

Ao João Luiz Mesquita Uchôa pelo incentivo, pelas palavras de apoio e por ter acreditado no caminho que escolhi.

Aos meus eternos amigos Amanda Swelen Santos de Araújo, José Madson de Oliveira Filho e Suzete Roberta da Silva pelas conversas sinceras, pelos abraços de conforto e por serem os responsáveis pelo apoio mútuo e indispensável durante esses cinco anos de curso.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC, pela bolsa que me foi concedida.

À sociedade por ter financiado todo o período em que estive na Universidade Federal do Ceará, a qual pretendo retribuir com dedicação, pesquisa e trabalho.

## RESUMO

As microalgas verdes do gênero *Chlorella* são seres unicelulares, eucarióticos e microscópicos que vivem em habitats marinhos e de água doce. Elas apresentam proteína, em quantidades superiores àquelas encontradas em outros vegetais, e todos os aminoácidos essenciais, além de serem uma fonte de ácidos graxos poli-insaturados. Elas também apresentam teores elevados de minerais, como ferro e magnésio, e mais de 20 vitaminas incluindo, carotenóides provitamina A, vitaminas E, K, C, B1, B2, B5, B6, B7, B12, inositol, ácido fólico e ácido nicotínico. As vitaminas lipossolúveis A e E são micronutrientes essenciais ao organismo por desempenharem papéis importantes em numerosos processos biológicos. A quantificação de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol foi realizada em sete suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*, denominados CA, CB, CC, CD, CE, CF e CG, em que 15 cápsulas de cada produto foram abertas e três porções de 0,5 g do material desidratado foram suspensas em metanol-água (90:10, v/v), na proporção 1:20 (p/v). Estes extratos foram submetidos aos processos de saponificação com hidróxido de potássio a 7% e partição em *n*-hexano, que foi completamente evaporado. Em seguida, os resíduos foram suspensos em metanol, e alíquotas de 100  $\mu$ L foram injetadas manualmente no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), composto por coluna Waters Spherisorb S5 ODS-2 (4,6 x 250 mm) e fase móvel metanol-tetrahidrofurano (90:10, v/v), bombeada a 1,5 mL min<sup>-1</sup>. Os cromatogramas foram registrados em 450 nm e 292 nm para carotenos e tocoferóis, respectivamente. Os teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno obtidos nos sete suplementos alimentares à base de *Chlorella* foram baixos e apresentaram grande variação entre as marcas analisadas. Assim, nenhum dos suplementos estudados seria capaz de suprir a ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina A de um adulto. As concentrações de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol variaram de 100,426 a 169,766 mg g<sup>-1</sup> peso seco e de 28,862 a 70,091 mg g<sup>-1</sup> peso seco, respectivamente. Com exceção do produto CA, em que não foi detectado nem  $\alpha$ - nem  $\delta$ -tocoferol, todos os outros suplementos poderiam ser utilizados como fonte de vitamina E. Quanto às informações que devem ser fornecidas em seus rótulos, a maioria dos suplementos estudados não atendeu às exigências estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil.

Palavras-chave: *Chlorella*. Carotenóides. Tocoferóis.

## LISTA DE FIGURAS

Página	
	Figura 1 – Fotografia de <i>Chlorella</i> , com aumento maior que 600 x.....14
	Figura 2 – Estruturas químicas de formas ativas de vitamina A e do $\beta$ -caroteno (DEBIER; LARONDELLE, 2005; MELENDEZ-MARTINEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004).....16
	Figura 3 – Estruturas químicas das diferentes formas de vitamina E (DEBIER; LARONDELLE, 2005).....18
	Figura 4 – Teores de $\alpha$ - e $\beta$ -caroteno nos extratos dos suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....26
	Figura 5 – Teores de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol nos extratos dos suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....28

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Informações sobre os suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....	23
Tabela 2 – Teores de $\alpha$ - e $\beta$ -caroteno nos extratos dos suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....	26
Tabela 3 – Teores de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol nos extratos dos suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....	28
Tabela 4 – Teores de retinol equivalente (RE) nos extratos dos suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....	29
Tabela 5 – Teores de $\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\alpha$ -TE) nos extratos dos suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> .....	30

## SUMÁRIO

	Página
<b>1</b> <b>INTRODUÇÃO.....</b>	11
<b>2</b> <b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	13
<b>2.1</b> <b>Microalgas.....</b>	13
<b>2.2</b> <b><i>Chlorella</i>.....</b>	13
<b>2.3</b> <b>Vitaminas A e E.....</b>	16
2.3.1    Vitamina A.....	16
2.3.2    Vitamina E.....	18
<b>2.4</b> <b>Cromatografia líquida de alta eficiência.....</b>	20
<b>2.5</b> <b>Legislação.....</b>	21
<b>3</b> <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	23
<b>3.1</b> <b>Obtenção e Caracterização dos suplementos.....</b>	23
<b>3.2</b> <b>Preparação dos extratos, Saponificação e Partição.....</b>	24
<b>3.3</b> <b>Quantificação de vitaminas.....</b>	24
<b>4</b> <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	26
<b>5</b> <b>CONCLUSÕES.....</b>	33
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	34

# AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES COMERCIAIS À BASE DE *Chlorella pyrenoidosa*

JÚLIA NUNES RABELO

## 1 INTRODUÇÃO

As microalgas consistem em um grupo de organismos autótrofos bastante diversos tanto na sua morfologia quanto em relação aos níveis ecológicos, metabólicos e bioquímicos (BELKOURA; BENIDER; DAUTA, 1997).

*Chlorella* é um gênero de microalgas verdes, unicelulares, eucarióticas e microscópicas, que vivem em habitats marinhos e de água doce (NAKANO; TAKEKOSHI; NAKANO, 2010; TIRAPEGUI; CHAVES; BORGES, 2009), com forma esférica e o diâmetro de 5 a 10  $\mu\text{m}$  (BECKER, 1994).

De acordo com o Algaebase (2010), atualmente existem 71 espécies no gênero *Chlorella* (e termos infraespecíficos), das quais 30 (42%) têm classificação taxonômica aceita.

Devido à alta produtividade, ao rápido crescimento de várias espécies de microalgas e ao grande número de substâncias de altíssimo interesse econômico por elas produzidas, a pesquisa acerca desses micro-organismos tem aumentado. Todavia, no Brasil, tais estudos ainda são incipientes (OHSE *et al.*, 2009).

Dentre os compostos de interesse estão as vitaminas lipossolúveis A e E, que são micronutrientes essenciais ao organismo por desempenharem papéis importantes em numerosos processos biológicos. Elas compartilham vários mecanismos comuns com relação ao metabolismo humano e também apresentam algumas funções complementares, como por exemplo, a prevenção e/ou o tratamento de doenças (DEBIER; LARONDELLE, 2005).

Os alimentos são sujeitos ao regime de vigilância sanitária, existindo uma legislação e regulamentos complementares com o objetivo de garantir sua qualidade (PINTO, 2008).

Algumas espécies de microalgas são comercializadas sob a forma desidratada embaladas em cápsulas, sendo encontradas em farmácias e/ou em lojas de produtos naturais. Estes produtos são classificados como suplementos alimentares ou alimentos novos pela

legislação brasileira, por apresentarem propriedades benéficas médicas e de saúde, incluindo a prevenção e/ou o tratamento de doenças. Diante do exposto, o Grupo de Pesquisa do BIOMAR-HPLC iniciou um trabalho visando à avaliação de suplementos alimentares comerciais à base de microalgas. Em trabalho anterior, foram produzidas informações sobre os teores de  $\beta$ -caroteno em suplementos à base de *Spirulina* (ALENCAR *et al.*, no prelo).

Embora existam muitos trabalhos sobre os possíveis efeitos benéficos da *Spirulina*, mais estudos são necessários com esta e outras espécies de microalgas para que algumas questões sobre seu uso sejam esclarecidas. Talvez a insuficiência de informações se deva em grande parte à carência de padrões de qualidade da microalga como matéria-prima. Mesmo na China que é o maior produtor mundial de *Spirulina* existe uma preocupação generalizada, sobre a falta de definição de critérios de padronização e garantia da qualidade na produção dessa microalga (LEE, 1997; LI; QI, 1997).

A partir da década de 1980 foi implementada uma cadeia de produção de algas na França, acompanhada da necessária e apropriada regulamentação, quando 16 espécies, entre macro e microalgas, foram consideradas alimentos de venda permitida no território francês, entre as quais se encontra a *Chlorella* (MARFAING; LERAT, 2007).

Neste trabalho foram analisadas sete marcas de suplementos alimentares comerciais à base de *Chlorella pyrenoidosa*, tanto com relação aos teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol, quanto à verificação de que os produtos atendem as exigências estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Microalgas

Por quase 50 anos, várias tentativas foram feitas para explorar as microalgas em escala tecnológica como fonte potencial de alimento, lipídios, vitaminas, pigmentos, fertilizantes, medicamentos, e cosméticos (BECKER, 1994). Alguns produtos à base de extratos microalgais vêm sendo lançados no mercado de alimentos funcionais e/ou nutracêuticos como, por exemplo, bebidas, iogurtes e massas (PULZ; GROSS, 2004).

Tendo em vista que as microalgas possuem uma grande capacidade de produção de biomassa, crescimento rápido em cultivos que requerem áreas muito menores do que aquelas utilizadas para a produção agrícola (RADMANN; COSTA, 2008), mais recentemente, o potencial desses micro-organismos tem sido estudado tanto como agentes fixadores de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) da atmosfera, quanto com relação à produção de biocombustíveis (CANTIN, 2010; OHSE *et al.*, 2007).

Durante muito tempo o exemplo mais flagrante da aplicação de microalgas foi evidenciado na criação da dinamite, quando Alfred Nobel utilizou biomassa fóssil de diatomácea para a adsorção de nitroglicerina. Há registros do uso da microalga cianofícea *Spirulina* (*Arthrospira* sp.) pela população asteca e pelos povos africanos das proximidades dos lagos Texcoco e Chad, respectivamente. Em comparação com a *Spirulina*, a *Chlorella* é uma novata na área de biotecnologia (PULZ; GROSS, 2004).

### 2.2 *Chlorella*

O nome *Chlorella* é derivado da palavra grega *chloros*, amarelo-esverdeado, e do latim *ella*, pequeno. Este gênero de microalgas clorofíceas inclui espécies que possuem pequenas células esféricas ou elipsoidais, mas não a forma zoóide, e que se propagam apenas por autoesporos. As espécies do gênero *Chlorella* geralmente são encontradas no solo, na água doce e, em menor quantidade, compondo o fitoplâncton oceânico. Elas também podem ocorrer como endossimbiontes em animais invertebrados, como o cnidário *Chlorohydra*,

algumas esponjas de água doce e o protozoário ciliado *Paramecium* (VAN DEN HOEK; MANN; JAHNS, 1995).

Uma célula de *Chlorella* (Figura 1), apesar de aparentemente simples, é um indivíduo completo com estrutura bem definida. O núcleo está contido no envelope nuclear, fora do qual estão um único cloroplasto, em forma de taça, e a mitocôndria, com um grão de amido no quadrante noroeste; as paredes celulares limitam e defendem a unidade inteira (LEE; ROSENBAUM, 1998).

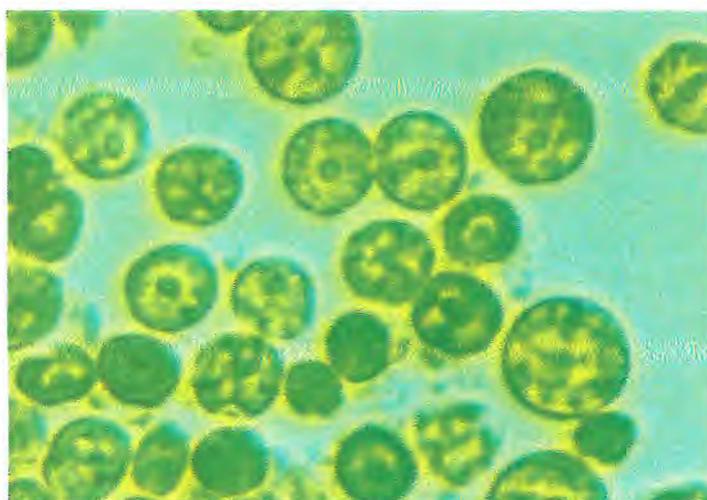


Figura 1 – Fotografia de *Chlorella*, com aumento maior que 600 x.

Fonte: LE JOYAU-VERT

<http://chlorella.joyau-vert.ch/page.html?chapter=0&id=10&zenid=43fe0a9cfe49fa6deb90ae249698bb97>

Várias espécies de microalgas possuem um metabolismo heterotrófico e se diferenciam por suas características nutricionais e capacidade de produzir ácidos graxos que podem ser usados tanto para a alimentação quanto para produção de biodiesel, havendo destaque para a clorofícea *C. vulgaris* com 56,6% de ácidos graxos insaturados (CANTIN, 2010; LI; DU; LIU, 2008; HU *et al.*, 2008b). Segundo Morais e Costa (2008), o cultivo dessa microalga, em diferentes concentrações de dióxido de carbono, pode produzir uma biomassa ainda maior. Quando ela foi cultivada com 12% de CO<sub>2</sub>, a produção de ácidos graxos insaturados foi potencializada alcançando até 72%. De acordo com Marinho *et al.* (2009), os melhores resultados de crescimento de *C. vulgaris* ocorrem quando ela é cultivada em condições de pH ácido.

Durante o cultivo da microalga *Chlorella* sp., diferentes vitaminas podem ser adicionadas ao meio de cultura, favorecendo o valor nutricional de sua biomassa, por torná-la

rica em carotenóides, tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido pantotênico (B5), piridoxina (B6), biotina (B7), cobalamina e ácido nicotínico (QUINTANA-CABRALES *et al.*, 1999).

As microalgas *Chlorella* contêm quantidades de proteína superiores àquelas encontradas em outros vegetais e todos os aminoácidos essenciais, além de ser uma fonte confiável de ácidos graxos poli-insaturados que são necessários para muitas funções fisiológicas e bioquímicas importantes. Elas também apresentam teores elevados de minerais, como ferro e magnésio, e mais de 20 vitaminas incluindo, carotenóides provitamina A, vitaminas E, K, C, B1, B2, B5, B6, B7, B12, inositol, ácido fólico e ácido nicotínico. Desse modo, elas próprias e/ou seus extratos exercem vários efeitos benéficos à saúde do homem (BENGWAYAN *et al.*, 2010; NAKANO; TAKEKOSHI; NAKANO, 2010). De acordo com Costa *et al.* (2006), a *Chlorella* é considerada GRAS (*Generally Recognized As Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos da América, podendo ser utilizada como alimento sem causar risco à saúde humana.

Após a inserção da microalga verde *C. pyrenoidosa* na dieta de ratos e hamsters, Cherng e Shih (2005) concluíram que ela foi capaz de prevenir a dislipidemia na alimentação rica em gordura desses animais e, muito provavelmente, poderia ser utilizada para evitar a absorção intestinal de lipídios, consumidos normalmente como parte da dieta diária, prevenindo quadros de hiperlipidemia e aterosclerose no homem.

Os resultados do trabalho de Nakano; Takekoshi e Nakano (2007) sugerem que a suplementação com *C. pyrenoidosa* em lactantes pode efetivamente reduzir a transferência de dioxinas através do leite materno, além de lhes causar outros efeitos benéficos, através do aumento do nível de imunoglobina A no leite materno.

Uma suplementação com *Chlorella*, conjuntamente com ferro, pode acelerar a recuperação de pacientes anêmicos (BERTOLDI; SANT'ANNA; OLIVEIRA, 2008), e, em mulheres grávidas, são capazes de reduzir significativamente o risco de anemia, proteinúria e edema (NAKANO; TAKEKOSHI; NAKANO, 2010).

## 2.3 Vitaminas A e E

### 2.3.1 Vitamina A e $\beta$ -Caroteno

O processo de descoberta científica da vitamina A e de suas funções nutricionais ocorreu no início do século XX, entre 1900 e 1930. Entretanto, alguns sinais e sintomas clínicos característicos da deficiência de vitamina A, como a cegueira noturna (nictalopia), uma das manifestações mais precoces dessa doença nutricional que consiste na dificuldade de enxergar sob luz tênue, já eram conhecidos pelos egípcios há mais de três mil anos (VASCONCELOS; SANTOS, 2007).

Vitamina A é o termo utilizado para fazer referência a uma série de substâncias de estruturas relacionadas ao *all-trans*-retinol, com atividade biológica semelhante. A atividade de vitamina A é expressa em retinol equivalentes (RE) ou em unidades internacionais (UI) (DAVYDOVA *et al.*, 2010). A vitamina A também pode ser fornecida por meio de seus precursores, os carotenóides provitamina A (MELENDEZ-MARTINEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004). As estruturas químicas de formas ativas de vitamina A e do  $\beta$ -caroteno estão ilustradas na Figura 2.

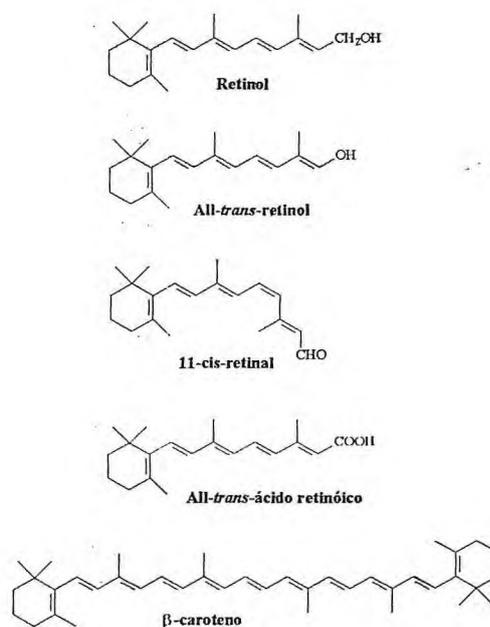


Figura 2 – Estruturas químicas de formas ativas de vitamina A e do  $\beta$ -caroteno (DEBIER; LARONDELLE, 2005; MELENDEZ-MARTINEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004).

Dos mais de 700 carotenóides conhecidos, cerca de 50 são precursores de vitamina A (HORNERO-MÉNDEZ; BRITTON, 2002), sendo convertidos pelo organismo somente quando necessário, evitando assim a toxicidade potencial de uma overdose de vitamina A.

De acordo com Ambrósio, Campos e Faro (2006), os carotenóides precursores de vitamina A devem possuir em sua estrutura pelo menos um anel  $\beta$ -ionona não substituível, com cadeia lateral poliênica com o mínimo de 11 carbonos, sendo o  $\beta$ -caroteno a forma mais abundante em alimentos e a que apresenta maior atividade de vitamina A.

Em 1994, quando o Ministério da Saúde criou o Programa Nacional de Controle das Deficiências de Vitamina A, a estratégia adotada foi a de suplementação com megadoses de vitamina A, para crianças em idade pré-escolar, selecionadas por suas características geográficas, climáticas e econômicas. Esse Programa no decorrer dos anos foi paralisado e retomado várias vezes. O estudo de Martins *et al.* (2007) fez uma análise do panorama geral dessa medida alicerçado na tríade: estrutura-processo-resultado, adaptando para o caso de políticas de alimentação e nutrição, e concluindo que os modestos avanços podem ser explicados pela irregularidade na distribuição das cápsulas de vitamina A.

Em 1997 o *World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research* recomendou, como nível prudente para a prevenção do câncer, aproximadamente 9.000 a 18.000 mg/dia de carotenóides dietéticos (MAIO *et al.*, 2010).

Os resultados da pesquisa de Campos *et al.* (2008) revelaram acometimento importante de mulheres durante a gestação por intercorrências gestacionais e por deficiências nutricionais, principalmente síndromes hipertensivas da gravidez, anemia e deficiência de vitamina A. Frente à importância da vitamina A para a saúde reprodutiva e sua associação ao desenvolvimento de síndromes na gravidez, maior atenção deve ser dada à assistência nutricional pré-natal para o diagnóstico precoce e o tratamento adequado dessa carência.

Pereira *et al.* (2008) estudaram o perfil nutricional de crianças em Teresina, Piauí e observaram baixo consumo de alimentos com alto ou moderado teores de vitamina A, identificando uma deficiência do tipo leve nas crianças institucionalizadas na faixa etária de 36 a 83 meses, indicando a necessidade de se aprimorar as estratégias de educação em saúde e nutrição da população.

### 2.3.2 Vitamina E

A vitamina E foi descoberta como fator "X" por Evans e Bishop, enquanto investigavam os fatores dietéticos essenciais para a reprodução em ratos. Experimentos similares foram realizados por Sure, responsável por dar o nome da substância de vitamina E (ZINGG, 2007).

O termo genérico vitamina E é utilizado para designar oito diferentes isômeros de tocoferóis e tocotrienóis,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ - (Figura 3), com graus variados de atividade vitamínica.

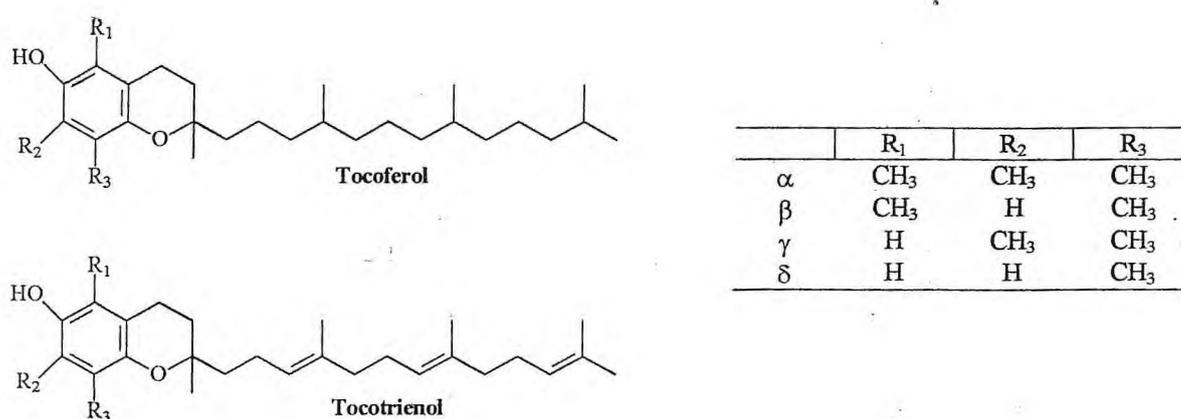


Figura 3 – Estruturas químicas das diferentes formas de vitamina E (DEBIER; LARONDELLE, 2005).

O crescente interesse pela vitamina E está relacionado principalmente com a função antioxidante, envolvida no retardamento do envelhecimento e na proteção contra doenças crônicas não transmissíveis, como Parkinson, Alzheimer, câncer e doenças cardiovasculares, além de desempenhar importantes papéis nos processos biológicos (BRAMLEY *et al.*, 2000; BRIGELIUS-FLOHÉ *et al.*, 2002). Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais.

A atividade antioxidante dos tocoferóis é principalmente devida a sua capacidade de doar hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação da reação em cadeia (RAMALHO; SILVA; JORGE, 2006). Dentre todos os isômeros,  $\alpha$ -tocoferol é aquele que exibe ação antioxidante mais potente (GUINAZI *et al.*, 2009).

Ambos  $\beta$ -caroteno e vitamina E têm ação antioxidante, podendo fornecer à célula uma defesa contra as espécies reativas de oxigênio que danificam o DNA, aminoácidos, proteínas ou lipídios (ácidos graxos poli-insaturados) (ABE; NISHIMURA; HIRANO, 1999).

Se a cadeia do DNA é quebrada, pode ser reconectada em outra posição alterando, assim, a ordem de suas bases. Esse é um dos processos básicos da mutação e o acúmulo de bases danificadas pode desencadear a oncogênese. Uma enzima que tenha seus aminoácidos alterados pode perder sua atividade ou, ainda, assumir atividade diferente. Ocorrendo na membrana celular, a oxidação de lipídios interfere no transporte ativo e passivo normal através da membrana, ou ocasiona sua ruptura, levando à morte celular. A oxidação de lipídios no sangue agride as paredes das artérias e veias, facilitando seu acúmulo, com consequente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Estudos recentes indicam que as seguintes formas da vitamina E:  $\delta$ -tocoferol,  $\alpha$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocotrienol e os derivados succinato de vitamina E (VES) e análogo de  $\alpha$ -tocoferol ligado a ácido acético por éter ( $\alpha$ -TEA) induzem a apoptose de uma grande variedade de tipos de câncer, como: câncer de mama, próstata, pulmão, cólon, ovário, colo do útero e endometrial (KLINE; YU; SANDERS, 2004).

De acordo com Santos e Cruz (2001), as interações entre antioxidantes (vitaminas A e E) e agentes antineoplásicos produzem benefícios importantes aos pacientes oncológicos, contribuindo para o sucesso do tratamento empregado. Dentre estes benefícios, destaca-se a capacidade que os antioxidantes possuem em potencializar os efeitos das drogas antineoplásicas. Este fato é especialmente importante porque possibilita a redução dos efeitos colaterais causados por estes medicamentos, minimizando a toxicidade causada por eles ao interagirem com os radicais livres, através da diminuição da dose administrada, sem que haja prejuízo nos seus efeitos terapêuticos.

Vannucchi *et al.* (1994) analisaram 202 idosos hospitalizados em Ribeirão Preto, São Paulo e verificaram que 26% deles apresentaram deficiência bioquímica de vitamina E, com prevalência maior em portadores de leucoses (33,3%), doença pulmonar obstrutiva crônica (30%), anemia (25%) e neoplasias pulmonares (21,4%). Dentre as possíveis causas dessa deficiência podem ser destacadas duas razões principais: menor ingestão da vitamina E e/ou má absorção desse micronutriente.

Os participantes de um grupo experimental nos Estados Unidos que obtiveram cápsulas diárias de vitamina E e que completaram o estudo, tiveram menos resfriados, e

também tiveram um risco 20% menor de contrair um novo resfriado do que aqueles pertencentes ao grupo placebo, demonstrando que a vitamina E pode proteger contra o resfriado comum (FABÀ, 2005).

## 2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

Atualmente o trabalho tedioso em coluna de fracionamento e isolamento de compostos desconhecidos está dando lugar à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que pode fornecer uma separação rápida dos componentes, quantificação e informações relacionadas ao seu espectro de UV (CHANG *et al.*, 2008).

O nome cromatografia tem origem das palavras gregas, *chroma*, que significa cor, e *graphie*, significando escrever (COLLINS, 2006). Este método de separação de componentes de misturas foi descoberto pelo biólogo russo Tswett, em 1906, que procedeu à análise de pigmentos de plantas (SIQUEIRA *et al.*, 2003).

O desenvolvimento da cromatografia líquida, desde o seu início em 1950, quando se usavam colunas recheadas com partículas irregulares de 100-200  $\mu\text{m}$  que alcançavam eficiências de apenas 200 pratos/15 cm, até hoje, está voltado para a tecnologia das partículas de recheio, associado à busca de melhor desempenho cromatográfico, melhor reprodutibilidade e análises mais rápidas sem perda de eficiência e de resolução. Hoje já é possível empregar, com sucesso, partículas de fase estacionária menores que 2  $\mu\text{m}$  (MALDANER; JARDIM, 2009).

A CLAE se desenvolveu muito nos últimos anos, recebendo o nome de cromatografia líquida por que a sua fase móvel é um solvente. Os componentes de um cromatógrafo líquido são: bomba, coluna cromatográfica, detector e o registrador. É um método utilizado para separação de espécies iônicas ou macromoléculas e compostos termolábeis (PERES, 2002).

Na CLAE a coluna é sempre de aço inoxidável e características, tais como: resolução, seletividade e capacidade de separação da coluna, além da velocidade do fluxo da fase móvel são essenciais para o sucesso da separação cromatográfica (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

A descoberta da cromatografia foi um passo decisivo na evolução do uso da adsorção como técnica em ciência de separação, tendo possibilitado importantes aplicações

analíticas e preparativas em várias áreas científicas, notadamente, na química, bioquímica, biologia, petroquímica, farmácia, medicina, forense, ecologia, ciência e tecnologia de alimentos, aromas e fragrâncias, entre outras (NOGUEIRA, 2006).

## 2.5 Legislação

Alimentos apresentados em cápsula, comprimidos e tabletes, constituídos de partes comestíveis de frutas e vegetais submetidos ao processamento de secagem ou desidratação, devem ser avaliados como novos alimentos (ANVISA, 2010).

De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) N<sup>o</sup> 16, de 30 de abril de 1999, novos alimentos e/ou novos ingredientes são os alimentos ou substâncias sem histórico de consumo no país, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que, entretanto, venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos normalmente observados na dieta regular (BRASIL, 1999). *Chlorella* é um produto registrado no Ministério da Saúde na categoria de novos alimentos (PINTO, 2008).

Ainda com relação à Resolução acima, os alimentos que vierem a ser comercializados em forma de cápsulas, comprimidos ou em outras formulações farmacêuticas, e que não apresentem alegação de propriedade funcional ou de saúde cientificamente comprovadas deverão trazer no rótulo a seguinte informação: “O Ministério da Saúde adverte: Não existem evidências científicas comprovadas de que este alimento previna, trate ou cure doenças” (BRASIL, 1999).

Em 2003, foi publicada a Lei N<sup>o</sup> 10.674, que determina que todos os alimentos devem apresentar impresso em seus rótulos a inscrição: “contém glúten” ou “não contém glúten”, como medida de orientação aos consumidores com doença celíaca (BRASIL, 2003a).

Ainda no mesmo, a RDC N<sup>o</sup> 360, de 23 de dezembro de 2003, institui a obrigatoriedade da declaração dos nutrientes por porção e sua porcentagem em relação à IDR, ou seja, a inclusão do percentual do valor diário, tomando como base uma dieta de 2.000 kcal (BRASIL, 2003b).

De acordo com a RDC N<sup>o</sup> 269, de 22 de setembro de 2005, a IDR de vitamina A consiste em 600 µg RE e que cada 1 µg de β-caroteno corresponde a 0,167 µg de RE e cada 1 µg de outros carotenóides provitamina A, a 0,084 µg de RE, enquanto a IDR de vitamina E é de 10 mg de α-TE, ou seja, 10 mg de α-tocoferol (BRASIL, 2005).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção e Caracterização dos suplementos

Os suplementos alimentares à base da microalga *Chlorella pyrenoidosa*, de sete marcas comerciais diferentes, denominados CA, CB, CC, CD, CE, CF e CG, foram obtidos em lojas de produtos naturais do mercado varejista de Fortaleza no primeiro semestre de 2010. Os produtos foram comercializados em embalagens em que o número de cápsulas variava de 45 a 90 cápsulas com conteúdo também variável, de 300 a 450 mg de *C. pyrenoidosa* desidratada, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Informações sobre os suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*.

Suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Nº de cápsulas	Conteúdo da cápsula (mg)	Dose diária (cápsulas) recomendada pelo fabricante
CA	90	400	2 a 3
CB	50	300	3 a 4
CC	80	450	2
CD	60	340	6
CE	60	300	3
CF	45	320	3 a 12
CG	90	350	3

Com relação aos aspectos físicos dos produtos estudados, todos foram adquiridos em embalagens plásticas com tampa rosqueável, algumas das quais apresentaram proteção contra umidade, algodão ou sílica, menos o produto CF cuja venda foi feita em cartelas acondicionadas em caixa de papelão. Dentre todos, ele foi o único que possuía a bula com informações sobre o produto.

### 3.2 Preparação dos extratos, Saponificação e Partição

Para a preparação dos extratos, 15 cápsulas de cada produto foram abertas e três porções de 0,5 g do material desidratado foram suspensas em metanol-água (90:10, v/v), na proporção 1:20 (p/v).

Os extratos foram levados ao banho-maria a 70°C por 30 min, sendo saponificados com hidróxido de potássio a 7%. Em seguida, os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados a 1.000 x g por 5 min.

Do sobrenadante foram retirados 5 mL, aos quais foram adicionados 1,5 mL de água milliQ e 2,5 mL de *n*-hexano. Em seguida, os extratos saponificados foram homogeneizados em plataforma misturadora durante 10 min, para permitir a partição dos compostos de interesse da fase metanólica para a hexânica. Os extratos foram novamente centrifugados, sob as mesmas condições citadas anteriormente, para a retirada de 1 mL da fase hexânica, que foi completamente evaporada.

Os resíduos foram suspensos em 1 mL de metanol e alíquotas de 100 µL foram injetadas manualmente no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

### 3.3 Quantificação de vitaminas

O sistema CLAE constituído de coluna Waters Spherisorb S5 ODS-2 (4,6 x 250 mm) e fase móvel MeOH:THF (90:10, v/v), bombeada a 1,5 mL min<sup>-1</sup>. Os cromatogramas foram registrados através do *software* Unicorn<sup>TM</sup> versão 5.0, em 450 nm e 292 nm para carotenos e tocoferóis, respectivamente.

As concentrações dos compostos de interesse foram calculadas pela comparação entre as áreas dos picos das soluções padrão (Sigma) e daqueles observados nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*, conforme fórmula abaixo. Os resultados foram expressos em µg g<sup>-1</sup> peso seco para α- e β-caroteno ou mg g<sup>-1</sup> peso seco para α- e δ-tocoferol:

$$\text{concentração} = \frac{\text{área amostra}}{\text{área padrão}} \times \mu\text{g padrão na coluna} \times \frac{1 \text{ g}}{\text{g a l g a}}$$

Os cálculos de retinol equivalente (RE) e  $\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\alpha$ -TE) foram procedidos neste trabalho, levando em consideração ambos  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e apenas  $\alpha$ -tocoferol, respectivamente.

Com base nos teores de RE e  $\alpha$ -TE, os suplementos foram classificados como fonte útil ou excelente. Um alimento é considerado fonte útil quando uma porção razoável de consumo diário for capaz de fornecer  $1/6$  da IDR do nutriente, enquanto, para ser considerado fonte excelente, ele deve fornecer  $1/2$  da IDR (RICHARDSON, 1990).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno nos extratos dos sete suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa* estão apresentadas na Tabela 2 e Figura 4.

Tabela 2 – Teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*.

Suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	$\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)	$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)
CA	$0,017 \pm 0,008$	$0,205 \pm 0,155$
CB	ND	$0,199 \pm 0,050$
CC	ND	$9,827 \pm 0,627$
CD	$0,395 \pm 0,055$	$6,855 \pm 0,473$
CE	$4,419 \pm 0,172$	$32,632 \pm 1,094$
CF	$20,664 \pm 0,209$	$21,527 \pm 0,396$
CG	$2,610 \pm 0,157$	$17,889 \pm 1,096$

ND – não detectado

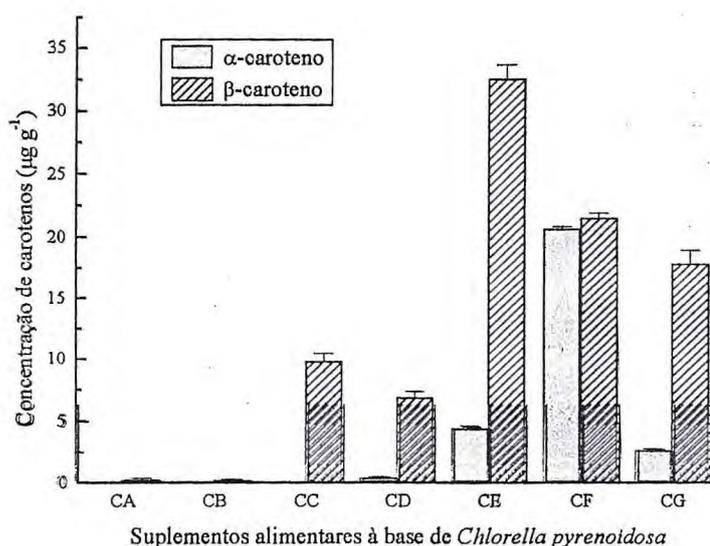


Figura 4 – Teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*.

Os suplementos identificados como CB e CC não apresentaram  $\alpha$ -caroteno. Nos demais suplementos, os teores de  $\alpha$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) variaram entre  $0,017 \pm 0,008$  e  $20,664 \pm 0,209$ , respectivamente em CA e CF. Esta foi uma variação muito grande, em que a concentração máxima foi mais de 1.200 vezes maior que a mínima.

Todos os suplementos analisados apresentaram  $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco), com teores variando de  $0,199 \pm 0,050$  em CB a  $32,632 \pm 1,094$  em CE. Da mesma forma, foi possível observar uma grande variação (164 vezes) entre as diferentes marcas, embora menor do que aquela relativa aos teores de  $\alpha$ -caroteno.

No estudo de quantificação de carotenóides totais na microalga clorofícea *Dunaliella salina*, Hu *et al.* (2008a) encontraram  $290,77 \text{ mg g}^{-1}$  peso seco, em que 90% desse conteúdo corresponderam às formas *trans*- $\beta$ -caroteno e 9- ou 9'-*cis*- $\beta$ -caroteno, cujos teores foram  $138,25 \pm 10,03$  e  $124,65 \pm 9,91 \text{ mg g}^{-1}$  peso seco, respectivamente.

Já Wang *et al.* (2007) quantificaram carotenóides totais na microalga cianofícea *Spirulina platensis*, cultivada em nível de  $\text{CO}_2$  supercrítico, tendo encontrado  $191 \text{ g kg}^{-1}$  peso fresco. O  $\beta$ -caroteno foi o carotenóide predominante e, portanto o de maior representatividade (40,7%), apresentando  $77,8 \text{ g kg}^{-1}$  peso fresco.

Müller, Rodriguez-Amaya e Lourenço (2003) encontraram  $\beta$ -caroteno ( $307 \mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco) como o carotenóide principal da cianobactéria *Synechocystis pevalekii* produzida em meio Conway a  $22^\circ\text{C}$ , perfazendo 64% do total, seguido pela  $\beta$ -criptoxantina.

As linhagens das leveduras das espécies *Rhodotorula mucilaginosa* e *R. graminis* pesquisadas no trabalho de Maldonado; Scamparini; Rodriguez-Amaya (2007) mostraram ser micro-organismos promissores para a produção de carotenóides totais por fermentação, apresentando valores entre 54,7 e  $61,4 \mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco.

Após pesquisar quatro diferentes espécies de microalgas australianas, *Nannochloropsis* sp., *Pavlova pinguis*, *Stichococcus* sp. e *Tetraselmis* sp., Brown *et al.* (1999) obtiveram o maior teor de  $\beta$ -caroteno,  $1,05 \pm 0,03 \text{ mg g}^{-1}$  peso seco, em *Tetraselmis* sp.

Os resultados dos teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno obtidos nos sete suplementos à base de *Chlorella* ficaram muito abaixo dos valores médios apresentados nos trabalhos supracitados, com teor de  $\beta$ -caroteno até mais de um milhão de vezes menor.

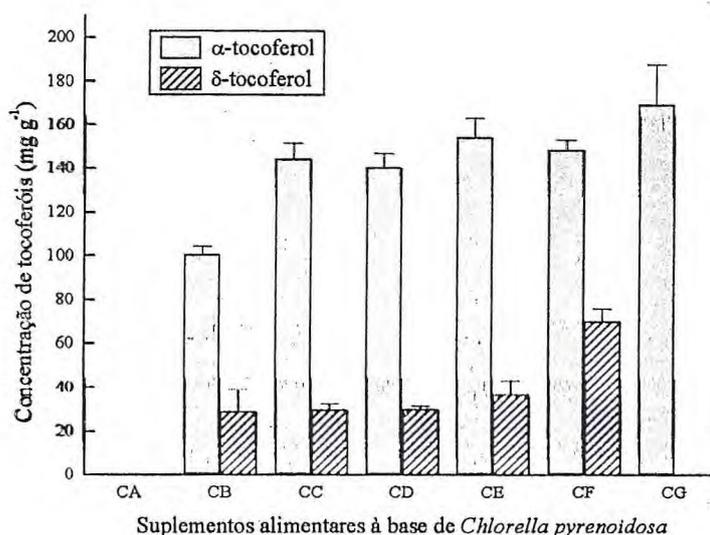
No que diz respeito à quantificação de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol nesses suplementos à base de *C. pyrenoidosa*, os valores encontrados apresentaram uma variação menor. Com exceção dos produtos CA e CG, os demais apresentaram os dois isômeros de tocoferol. Os resultados de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol estão apresentados na Tabela 3 e Figura 5.

No suplemento CA não foi detectado nenhum  $\alpha$ -tocoferol. O conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol ( $\text{mg g}^{-1}$  peso seco) foi mínimo e igual a  $100,426 \pm 3,829$  em CB, e máximo de  $169,766 \pm 18,040$  em CG. A variação foi de aproximadamente 1,7 vezes quando se comparou valores máximo e mínimo.

Tabela 3 – Teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*.

Suplementos alimentares à base de <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	$\alpha$ -tocoferol (mg g <sup>-1</sup> peso seco)	$\delta$ -tocoferol (mg g <sup>-1</sup> peso seco)
CA	ND	ND
CB	100,426 ± 3,829	28,862 ± 9,735
CC	144,418 ± 6,993	29,754 ± 2,455
CD	140,305 ± 6,666	30,130 ± 1,156
CE	154,383 ± 8,896	36,970 ± 6,400
CF	148,671 ± 4,522	70,091 ± 5,640
CG	169,766 ± 18,040	ND

ND – não detectado

Figura 5 – Teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*.

O conteúdo de  $\delta$ -tocoferol (mg g<sup>-1</sup> peso seco) foi 70,091 ± 5,640 no suplemento CF (máximo) e 28,862 ± 9,735, em CB (mínimo). Com relação ao teor de  $\delta$ -tocoferol a variação entre máximo e mínimo foi da ordem de 2,5 vezes.

Apesar da existência de variação, considerando compostos de interesse e marcas analisadas, é notável que os teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol foram maiores do que aqueles registrados para  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno.

Wang *et al.* (2007) quantificaram  $\alpha$ -tocoferol nos extratos de *Spirulina platensis*, tendo encontrado 3,4 g kg<sup>-1</sup> peso fresco, um valor quase 23 vezes menor do que o de  $\beta$ -caroteno (77,89 g kg<sup>-1</sup> peso fresco). No trabalho de Yasar, Sevket (2006), a *S. platensis* cultivada em bioreator com painel de vidro apresentou quantidade de  $\alpha$ -tocoferol de 63,48 ± 10,73  $\mu$ g g<sup>-1</sup> peso seco. A mesma espécie de microalga pode apresentar teores

diferentes tanto de carotenóides quanto de tocoferóis quando há modificação da forma de cultivo ou quando elas são coletadas em diferentes fases do crescimento.

A presença de tocoferóis também foi investigada em outras espécies de microalgas. Em *Dunaliella tertiolecta* e *Tetraselmis suecica*, provenientes de cultivos enriquecidos com nitrato e fosfato, esta última apresentou maior teor de  $\alpha$ -tocoferol,  $27,849 \pm 4,19 \text{ mg g}^{-1}$  peso seco (CARBALLO-CÁRDENAS *et al.*, 2003).

Vismara *et al.* (2003) encontraram quantidades maiores de  $\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) nas microalgas *Euglena gracilia*, *Dunaliella salina* e *Tetraselmis suecica*, sendo seus valores iguais a 283,6; 153,2 e 157,7, respectivamente.

Com relação ao trabalho de Brown *et al.* (1999), a microalga *Nannochloropsis* sp. apresentou quantidade de  $\alpha$ -tocoferol variável de acordo com o cultivo utilizado, obtendo valor máximo de  $0,35 \pm 0,02 \text{ mg g}^{-1}$  peso seco, quando exposta 24 h à luz. O valor nutricional das células microalgais variou com as condições de cultivo, o tratamento da colheita e o método de secagem.

Os suplementos alimentares à base de *Chlorella*, utilizados neste estudo, apresentaram quantidades bastante elevadas de  $\alpha$ -tocoferol quando comparadas aos demais trabalhos citados, com teor de  $\alpha$ -tocoferol até, aproximadamente, 2.700 vezes maior.

Os conteúdos de retinol equivalente (RE) e  $\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\alpha$ -TE) foram calculados para avaliar os suplementos alimentares como fontes de vitaminas A e E, respectivamente.

Os teores de RE ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) estão apresentados na Tabela 4 e variaram de  $0,033 \pm 0,008$  em CB a  $5,821 \pm 0,195$  em CE.

Tabela 4 – Teores de retinol equivalente (RE) nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*, e quantidade a ser consumida por dia para ser considerada fonte excelente ( $1/2$ ·IDR = 300  $\mu\text{g}$ ) ou fonte útil ( $1/6$  IDR = 100  $\mu\text{g}$ ) de vitamina A.

Produtos comerciais	RE $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco	Quantidade a ser consumida para ser:			
		Fonte excelente		Fonte útil	
		g	cápsulas	g	cápsulas
CA	$0,036 \pm 0,027$	8.333,3	20.834	2.777,8	6.945
CB	$0,033 \pm 0,008$	9.090,9	30.303	3.030,3	10.101
CC	$1,641 \pm 0,105$	182,8	407	60,9	136
CD	$1,178 \pm 0,081$	254,7	749	84,9	250
CE	$5,821 \pm 0,195$	51,5	172	17,2	58
CF	$5,331 \pm 0,067$	56,3	176	18,8	59
CG	$3,207 \pm 0,196$	93,5	268	31,2	89

Com base nos resultados, as quantidades de cápsulas necessárias para obtenção de  $1/2$  ou  $1/6$  da IDR de vitamina A (RE) foram exorbitantes para todos os suplementos analisados. Tomando o produto denominado CE, cuja recomendação do fabricante consiste no consumo diário de 3 cápsulas (Tabela 1), as doses necessárias para que esse produto fosse considerado uma fonte excelente ou útil de vitamina A seriam, respectivamente, 57,3 ou 19,3 vezes superior ao recomendado na embalagem.

Os resultados de  $\alpha$ -TE (mg g<sup>-1</sup> peso seco) estão apresentados na Tabela 5 e variaram de  $100,426 \pm 3,829$  a  $169,766 \pm 18,040$ .

Tabela 5 – Teores de  $\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\alpha$ -TE) nos extratos dos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa*, e quantidade a ser consumida por dia para ser considerada fonte excelente ( $1/2$  IDR = 5 mg) ou fonte útil ( $1/6$  IDR = 1,67 mg) de vitamina E.

Produtos comerciais	$\alpha$ -TE mg g <sup>-1</sup> peso seco	Quantidade a ser consumida para ser:			
		Fonte excelente		Fonte útil	
		g	cápsulas	g	cápsulas
CA	-	-	-	-	-
CB	$100,426 \pm 3,829$	0,05	0,166	0,02	0,055
CC	$144,418 \pm 6,993$	0,03	0,077	0,01	0,026
CD	$140,305 \pm 6,666$	0,04	0,105	0,01	0,035
CE	$154,383 \pm 8,896$	0,03	0,108	0,01	0,036
CF	$148,671 \pm 4,522$	0,03	0,105	0,01	0,035
CG	$169,766 \pm 18,040$	0,03	0,084	0,01	0,028

Os teores de vitamina E, apesar de não serem declarados nos rótulos dos suplementos à base de *Chlorella pyrenoidosa*, analisados no presente trabalho, foram suficientemente elevados para permitirem sua classificação em fonte excelente ( $1/2$  da IDR) através da ingestão de uma única cápsula de 300 mg por dia, com exceção de produto denominado CA.

A notável diferença entre os teores de carotenos e de tocoferóis encontrados nos sete suplementos analisados pode ser atribuída ao processo de secagem ao qual as microalgas são submetidas antes de serem encapsuladas para a comercialização. Esta informação não é fornecida pelos fabricantes, tampouco existem procedimentos de desidratação pré-estabelecidos para serem seguidos pelas empresas produtores de suplementos alimentares à base de microalgas. Além disso, outros aspectos, desta vez relacionados ao cultivo, não são uniformes nem padronizados, o que pode causar diferenças na composição da matéria-prima.

Alencar *et al.* (no prelo) também abordaram o problema discutindo a necessidade de medidas de controle desde o cultivo até o processamento da microalga utilizada como

suplemento alimentar, devido à grande variação observada nos teores de  $\beta$ -caroteno nos suplementos alimentares à base de *Spirulina*.

De acordo com Lee (1997), as microalgas dos gêneros *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella*, *Nannochloris*, *Nitzschia*, *Cryptocodinium*, *Schizochytrium*, *Tetraselmis*, *Skeletonema*, *Isochrysis* e *Chaetoceros* são cultivadas com fins comerciais nos países asiáticos e em outras regiões banhadas pelo Oceano Pacífico, havendo uma preocupação com relação à definição de critérios de padronização e à garantia da qualidade da biomassa produzida, que é vendida como “alimento saudável”.

Os problemas de qualidade no mercado brasileiro de fitoterápicos vêm se mantendo, levando à população a prejuízos diversos desde possíveis efeitos colaterais até a ausência dos efeitos benéficos pretendidos com o seu uso (TOBIAS *et al.*, 2007).

De acordo com o item 3, do artigo 6º, da Lei 8.078/90 (Código de Proteção e Defesa do Consumidor) é por meio do rótulo dos alimentos que se tem acesso a informações como quantidade, características nutricionais, composição, qualidade e riscos que os produtos poderiam apresentar (BRASIL, 1990).

Não há informação do número de registro no Ministério da Saúde ou no órgão competente em dois (28,57%) dos produtos estudados. Três produtos (42,86%) não apresentaram o uso da frase: “O Ministério da Saúde adverte: não existem evidências científicas comprovadas de que este alimento previna, trate ou cure doenças”. Também se observou que a informação sobre presença/ausência de glúten não constava no rótulo de 3 (42,86%) dos 7 suplementos analisados.

Os resultados do trabalho de Pinto (2008), em Viçosa, Minas Gerais, sobre os aspectos legais de produtos à base de *Chlorella* mostraram que 60% dos produtos não apresentaram número de registro no Ministério da Saúde ou no órgão competente e 80% deles não apresentaram a informação: “O Ministério da Saúde adverte: não existem evidências científicas comprovadas de que este alimento previna, trate ou cure doenças”. Nenhum produto exibia em sua embalagem a informação sobre glúten.

Yoshizawa *et al.* (2003) realizaram estudo parecido em Curitiba, Paraná, em que a análise de rótulos de produtos da categoria Novos Alimentos revelou que 20% deles não detinham registro no Ministério da Saúde, apresentando apenas o número de protocolo, além de 50% não possuírem informação nutricional por porção.

O mercado de suplementos alimentares na categoria de novos alimentos ainda necessita de regulamentações efetivas para a padronização destes produtos e de fiscalização eficaz. Stringheta *et al.* (2006) concluíram que o cumprimento da legislação é possível quando

## 5 CONCLUSÕES

Houve grandes variações nas quantidades de carotenos e tocoferóis nos suplementos alimentares à base de *Chlorella pyrenoidosa* analisados neste trabalho.

Os teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno foram consideravelmente baixos de modo que nenhum dos sete suplementos seria capaz de suprir a IDR de vitamina A de um adulto.

Os teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol foram elevados e, com exceção do CA, os suplementos analisados poderiam ser utilizados como fontes de vitamina E.

A maioria dos produtos estudados não atende a muitas das exigências estabelecidas pela ANVISA, com relação às informações que devem constar em seus rótulos.

## REFERÊNCIAS

ABE, K.; NISHIMURA, N.; HIRANO, M. Simultaneous production of beta-carotene, vitamin E and vitamin C by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. **Journal of Applied Phycology**, Amsterdam, v. 11, n. 4, p. 331–336, May 1999.

ALENCAR, D. B.; PIRES-CAVALCANTE, K. M. S.; SABOYA, J. P. S.; SOUSA, M. B.; FARIAS, W. R. L.; SAKER-SAMPAIO, S. Teores de beta-caroteno em *Spirulina*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, no prelo.

ALGAEBASE. Disponível em:

<[http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus\\_id=43426&sk=0](http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=43426&sk=0)> Acesso em: 3 mai. 2010.

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 233-243, mar/abr 2006.

ANVISA. Disponível em:

<[http://www.ANVISA.gov.br/alimentos/comissoes/novos\\_alimentos.htm](http://www.ANVISA.gov.br/alimentos/comissoes/novos_alimentos.htm)> Acesso em: 2 nov. 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, jan/fev 2006.

BECKER, E. W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. Cambridge: Cambridge University Press. 1994. 293 p. ISBN 0 521 35020 4.

BELKOURA, M.; BENIDER, A.; DAUTA, A. Influence de la température, de l'intensité lumineuse et du stade de croissance sur la composition biochimique de *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss. **Annales de Limnologie**, Toulouse, v. 33, n. 1, p. 3-11, Mar 1997.

BENGWAYAN, P. T.; LAYGO, J. C.; PACIO, A. E.; POYAOAN, J. L. Z.; REBUGIO, J. F.; YUSON, A. L. L. A comparative study on the antioxidant property of *Chlorella* (*Chlorella* sp.) tablet and glutathione tablet. **E-International Scientific Research Journal**, v. 2, n. 1, p. 25-35, 2010.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Teor de clorofila e perfil de sais minerais de *Chlorella vulgaris* cultivada em solução hidropônica residual. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 54-58, jan/fev 2008.

BRAMLEY, P. M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F. J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H. E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P. J. A.; WAGNER, K. H. Vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v. 80, n. 7, p. 913-938, May 2000.

BRASIL. Lei Nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 nov. 1990. Disponível em: <<http://www6.senado.gov.br/sicon/index.jsp>>. Acesso em: 13 nov. 2010.

\_\_\_\_\_. Lei Nº 10.674, 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 mai. 2003a. Disponível em: <<http://www6.senado.gov.br/sicon/index.jsp>>. Acesso em: 13 nov. 2010

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 16 de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 03 de dezembro de 1999.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 de setembro de 2005.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 de dezembro de 2003b.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; KELLY, F. J.; SALONEN, J. T.; NEUZIL, J.; ZINGG, J. M.; AZZI, A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 76, n. 4, p. 703-716, Oct 2002.

BROWN, M. R.; MULAR, M.; MILLER, I.; FARMER, C.; TRENERRY, C. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. **Journal Applied of Phycology**, Dordrecht, v. 11, n. 3, p. 247-255, 1999.

CAMPOS, L. F.; SAUNDERS, C.; RAMALHO, A.; GOMES, M. M.; ACCIOLY, E. Níveis de retinol e carotenóides séricos e intercorrências gestacionais em puérperas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 21, n. 6, p. 623-632, nov/dez 2008.

CANTIN, I. **La production de biodiesel à partir des microalgues ayant um métabolisme hétérotrophe**. 2010. 87 f. Dissertation (Master en Environnement) – Centre Universitaire de Formation en Environnement, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, juillet 2010.

CARBALLO-CÁRDENAS, E. C.; TUAN, P. M.; JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H. Vitamin E (a-tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. **Biomolecular Engineering**, Amsterdam, v. 20, n. 4-6, p. 139-147, July 2003.

CHANG, R; PILO-VELOSO, D.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Analysis of a Brazilian green propolis from *Baccharis dracunculifolia* by HPLC-APCI-MS and GC-MS. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 4, p. 549-556, out/dez 2008.

CHERNG, J. Y.; SHIH, M. F. Preventing dyslipidemia by *Chlorella pyrenoidosa* in rats and hamsters after chronic high fat diet treatment. **Life Sciences**, Oxford, v. 76, n. 26, p. 3001-3013, May 2005.

COLLINS, C. H. 2006 - Cem anos das palavras cromatografia e cromatograma. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 889-890, jul/ago 2006.

COSTA, J. A. V.; RADMANN, E. M.; CERQUEIRA, V. S.; SANTOS, G. C.; CALHEIROS, M. N. Perfil de ácidos graxos das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Chlorella minutissima* cultivadas em diferentes condições. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 4, p. 429-436, out/dez 2006.

DAVYDOVA, N.; STIPPLER, E.; JIN, P.; GIANCASPRO, G. Development and validation of a dissolution test method for vitamin A in dietary supplement tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 53, n. 3, p. 295-301, Nov 2010.

DEBIER, C.; LARONDELLE, Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. **British Journal of Nutrition**, Oxon, v. 93, n. 2, p. 153-174, Feb 2005.

FABÀ, E. H. Si las personas mayores institucionalizadas toman vitamina E tienen menos riesgo de contraer un resfriado común. **Enfermería Clínica**, v.15, n. 3, p. 185, June 2005.

FERREIRA, A. B.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Legislação brasileira referente à rotulagem nutricional de alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 83-93, jan/fev 2007.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009.

HORNERO-MÉNDEZ, D.; BRITTON, G. Involvement of NADPH in the cyclization reaction of carotenoid biosynthesis. **FEBS Letters**, Oxford, v. 515, n. 1-3, p. 133-136, Mar 2002.

HU, C. C.; LIN, J. T.; LU, F. J.; CHOU, F. P.; YANG, D. J. Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract. **Food Chemistry**, Oxford, v. 109, n. 2, p. 439-446, July 2008a.

HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **Plant Journal**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 621-639, May 2008b.

KLINE, K.; YU, W.; SANDERS, B. G. Vitamin E and breast cancer. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 12, p. 3458S-3462S, Dec 2004.

LE JOYAU VERT. Disponível em: <<http://chlorella.joyau-vert.ch/page.html?chapter=0&id=10&zenid=43fe0a9cfe49fa6deb90ae249698bb97>> Acesso em: 16 nov. 2010.

LEE, W. H.; ROSENBAUM, M. *Chlorella*: the sun-powered supernutrient and its beneficial properties. McGraw-Hill Professional, 1998. 26 p. ISBN 0 879 83464 1.

LEE, Y. K. Commercial production of microalgae in the Asia Pacific rim. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 9, n. 5, 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.

LI, Q.; DU, W.; LIU, D. Perspectives of microbial oils for biodiesel production. **Applied Microbiology Biotechnology**, New York, v. 80, n. 5, p. 749-756, Oct 2008.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001, 357 p. ISBN 85-87922-25-4.

MAIO, R.; BERTO, J. C.; CORRÊA, C. R.; CAMPANA, A. O.; PAIVA, S. A. P. Ingestão dietética, concentrações séricas e teciduais orais de carotenóides em pacientes com carcinoma epidermóide da cavidade oral e da orofaringe. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 56, n. 1, p. 7-15, 2010.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 214-222, 2009.

MALDONADE, I. R.; SCAMPARINI, A. R. P.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Selection and characterization of carotenoid-producing yeasts from Campinas region, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 65-70, jan/mar 2007.

MARFAING, H.; LERAT, Y. Les algues ont-elles une place en nutrition? **Phytothérapie**, HS2-HS5, 2007. DOI 10.1007/s10298-007-0227-5.

MARINHO, Y. F.; SANTOS, A. P. F.; SANTOS, L. B. G.; VASCONCELOS, R. F. L.; KALAZANS, N. K. F.; NASCIMENTO, R. D. M.; DANTAS, D. M. M.; GÁLVEZ, A. O. Avaliação do crescimento da *Chlorella vulgaris* em diferentes pH objetivando sua inserção na matéria-prima do biodiesel. 2009. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0160-2.pdf>> Acesso em: 08 nov 2010.

MARTINS, M. C.; OLIVEIRA, Y. P.; COITINHO, D. C.; SANTOS, L. M. P. Panorama das ações de controle da deficiência de vitamina A no Brasil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 5-18, jan/fev 2007.

MELENDEZ-MARTINEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 2, p. 149-155, June 2004.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1245-1251, jul/ago 2008.

MÜLLER, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; LOURENÇO, S. O. Carotenóides da cianobactéria *Synechocystis pevalekii* produzida em condições normais e sob limitação de nutrientes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 415-423, out/dez 2003.

NAKANO, S.; TAKEKOSHI, H.; NAKANO M. *Chlorella pyrenoidosa* supplementation reduces the risk of anemia, proteinuria and edema in pregnant women. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 65, n. 1, p. 25-30, Mar 2010.

NAKANO, S.; TAKEKOSHI, H.; NAKANO, M. *Chlorella (Chlorella pyrenoidosa)* supplementation decreases dioxin and increases immunoglobulin A concentrations in breast milk. **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle, v. 10, n. 1, p. 134-142, Mar 2007.

NOGUEIRA, J. M. F. Mikhail S. Tswett: Um legado para a cromatografia moderna. **Química**, São Paulo, n. 100, p. 51-56, jan/mar 2006.

OHSE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. A.; BRAGA, M. V. C.; CUNHA, P.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E. Produção de biomassa e teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteína em microalgas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1760-1767, set 2009.

OHSE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. A.; CUNHA, P.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E.; MENDES, L. B. B. Revisão: sequestro de carbono realizado por microalgas e florestas e a capacidade de produção de lipídios pelas microalgas. **Insula**, Florianópolis, n. 36, p. 39-74, 2007.

PEREIRA, J. A.; PAIVA, A. A.; BERGAMASCHI, D. P.; RONDÓ, P. H. C.; OLIVEIRA, G. C.; LOPES, I. B. M.; GONÇALVES-CARVALHO, C. M. R. Concentrações de retinol e de beta-caroteno séricos e perfil nutricional de crianças em Teresina, Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 287-296, mar 2008.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**. São Paulo, v. 63, n. 2, p. 227-229, jul/dez 2002.

PINTO, M. A. O. **Aspectos legais e análise de conteúdo de propagandas impressas de alimentos com alegações de propriedades funcionais**. 2008. 352 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 65, n. 6, p. 635-648, Nov 2004.

QUINTANA-CABRALES, M. M.; HERNÁNDEZ-NAZARIO, L.; MORRIS-QUEVEDO, H.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M. Contenido de algunas vitaminas en cultivos de microalga *Chlorella* sp. **Revista Cubana de Alimentación y Nutrición**, Habana, v. 13, n. 1, p. 9-13, ene/jun 1999.

RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> e NO. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1609-1612, set 2008.

RAMALHO, V. C.; SILVA, M. G.; JORGE, N. Influência do extrato de alecrim sobre a estabilidade do  $\alpha$ -tocoferol em óleo de soja submetido à termoxidação. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 197-202, abr/jun 2006.

RICHARDSON, D. P. Food fortification. **Proceedings of the Nutrition Society**, New York, v. 49, n. 1, p. 39-50, Feb 1990.

SANTOS, H. S.; CRUZ, W. M. S. A terapia nutricional com vitaminas antioxidantes e o tratamento quimioterápico oncológico. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 3, p. 303-308, 2001.

SIQUEIRA, A. J. S.; SIQUEIRA, N. C. S.; BJERK, R. L.; AZEVEDO, A. M. P. **Introdução à cromatografia com ênfase em material biológico**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003, 92 p. ISBN 85-7430-362-3.

STRINGHETA, P. C.; VILELA, M. A. P.; AMARAL, M. P. H.; VILELA, F. M. P.; BERTGES, F. S. A propaganda de alimentos e a proteção da saúde dos portadores de doença celíaca. **Hospital Universitário Revista**, Juiz de Fora, v. 32, n. 2, p. 43-46, abr/jun 2006.

TIRAPEGUI, J.; CHAVES, E. M. G.; BORGES, M. C. Efeito da suplementação com *Chlorella pyrenoidosa* sobre o perfil lipídico de mulheres adultas. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 93-98, jan 2009.

TOBIAS, M. L.; OLIVEIRA, F.; OLIVEIRA, K. P.; MARQUES, L. C. Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá (Paraná - Brasil). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 95-103, 2007.

VAN DEN HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **Algae: An introduction to Phycology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 365 p. ISBN 0 521 30419 9.

VANNUCCHI, H.; CUNHA, D. F.; BERNARDES, M. M.; UNAMUNO, M. R. L. Avaliação dos níveis séricos das vitaminas A, E, C e B2, de carotenóides e zinco, em idosos hospitalizados. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 121-126, abr 1994.

VASCONCELOS, F. A. G.; SANTOS, L. M. P. Tributo a Manoel da Gama Lobo (1835-1883), pioneiro na epidemiologia da deficiência de vitamina A no Brasil. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.14, n.4, p.1341-1356, out/dez 2007.

VISMARA, R.; VESTRI, S.; KUSMIC, C; BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. Natural vitamin E enrichment of *Artemia salina* fed freshwater and marine microalgae. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 15, n. 1, p. 75-80, Jan/Feb 2003.

WANG, L.; PAN, B.; SHENG, J.; XU, J.; HU, Q. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, Oxford, v. 105, n. 1, p. 36-41, 2007.

YASAR, D.; SEVKET, G.  $\alpha$ -Tocoferol and fatty acids of *Spirulina platensis* biomass in glass panel bioreactor. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 15, p. 2901-2904, 2006.

YOSHIZAWA, N.; POSPISSIL, R. T.; VALENTIM, A. G.; SEIXAS, D.; ALVES, F. S.; CASSOU, F.; YOSHIDA, I.; SEGA, R. A.; CÂNDIDO, L. M. B. Rotulagem de alimentos como veículo de informação ao consumidor: adequações e irregularidades. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 21, n. 1, p. 169-180, jan/jun 2003.

ZINGG, J. M. Vitamin E: An overview of major research directions. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v. 28, n. 5-6, p. 397-422, Oct/Dec 2007.