



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

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE α - e δ -TOCOFEROL EM
MACROALGAS MARINHAS “IN NATURA” UTILIZANDO CROMATOGRAFIA
LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)**

JONAS GUARANY SANTIAGO

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
DEZEMBRO/2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Biblioteca Central do Campus do Pici Prof. Francisco José de Abreu Matos

-
- S226e Santiago, Jonas Guarany.
Extração e quantificação de α — e δ — tocoferol em macroalgas marinhas "in natura" utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (clae) / Jonas Guarany Santiago. – 2008.
32f. : il. color.
- Monografia (Graduação)—Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia de Pesca, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2008.
Orientação: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio.

1. Algas marinhas - Cromatografia líquida. 2. Algas como alimento. 3. Macroalgas.
4. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a Silvana Saker Sampaio, Ph.D.
Orientadora

Bióloga Márcia Barbosa de Sousa, M.Sc.
Membro

Eng. de Pesca Kelma Maria dos Santos Pires, M.Sc.
Membro

VISTO

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

Prof. Raimundo Nonato de Lima Conceição, D.Sc.
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

“Um pouco de ciências
nos afasta de Deus.
Muito, nos aproxima”.

Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Criador, Autor da minha vida, Luz do mundo, Rocha, Torre forte, Maravilhoso, Conselheiro, Príncipe da paz, Senhor dos senhores, Rei dos reis, Fiel, Pão da vida, Justo, o Caminho, a Verdade, a Vida, Todo poderoso, a Esperança, Misericordioso, Consolador, Redentor, Rei do universo, Rei da glória, Digno de louvor, Vitorioso, Senhor dos exércitos, Conquistador, Salvador, Magnífico, Incomparável, Eterno, Majestoso, Amigo, Bondoso, Pastor, Formoso, Soberano, Fonte de água viva, Deus Emanuel, Provedor, Tudo. Poderoso nas batalhas. Paizão de amor.

Aos meus pais, Wilson e Marize, pelo amor, valorização, incentivo e créditos em mim depositados; as minhas irmãs, Thaís e Louise, e a minha eterna namorada, Denise, pela presença em minha vida e compreensão pelos vários momentos em que estive ausente devido aos estudos.

As minhas tias por acreditarem, ajudarem, apoiarem e sempre se preocuparem com o sucesso do sobrinho.

A Prof^a Silvana Saker Sampaio pela excelência em profissionalismo, ajuda, dedicação, incentivo, por acreditar e investir em meu crescimento. Professora excepcional, levarei suas qualidades indelévels comigo.

Aos professores do Departamento de Engenharia de Pesca que de forma direta ou indireta contribuíram para meu crescimento profissional.

As amigas de laboratório Kelma Pires e Márcia Barbosa pela ajuda intensa ao longo dos dois anos com vocês, pelo apoio na execução de todo o trabalho (que parecia inexecutável no começo), sem vocês, provavelmente ele não teria saído, pelos conhecimentos repassados e paciência em transmiti-los.

Aos companheiros Daniel Barroso, Rômulo Malta, Filipe Nepomuceno e Francisco Santiago pelo trabalho em equipe, levantando informações, produzindo resultados sem perder o foco da interdependência.

Aos amigos de turma pela amizade desenvolvida ao longo dos cinco anos de caminhada contínua, juntos chegamos ao fim.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro ao longo do período de pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	iv
SUMÁRIO	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Vitamina E	3
2 MATERIAL E MÉTODOS	7
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4 CONCLUSÃO	18
5 REFERÊNCIAS	19

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Formas de vitamina E existentes na natureza (ZINGG, 2007).	4
Figura 2 - Esquema simplificado mostrando os componentes de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (CENTRO, 2008).	8
Figura 3 - Curva padrão de α -tocoferol (T3251 Sigma) submetido à saponificação e à partição. Eluição em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), com metanol-THF (90:10, v/v) a 1,5 mL min ⁻¹ e detecção em 292 nm.	10
Figura 4 - Curva padrão de δ -tocoferol (T2028 Sigma) submetido à saponificação e à partição. Eluição em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), com metanol-THF (90:10, v/v) a 1,5 mL min ⁻¹ e detecção em 292 nm.	11
Figura 5 - Cromatograma de α -tocoferol e δ -tocoferol (5,0 μ g na coluna) submetido à saponificação e à partição. Eluição em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), com metanol-THF (90:10, v/v) a 1,5 mL min ⁻¹ e detecção em 292 nm.	12
Figura 6 - Conteúdo de α -tocoferol equivalente (α -TE) presente nos extratos das algas coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.	17

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Conteúdo de α - e δ -tocoferol nos extratos de algas da divisão Chlorophyta, coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.	13
Tabela 2 - Conteúdo de α - e δ -tocoferol nos extratos de algas da divisão Rhodophyta, coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.	13
Tabela 3 - Conteúdo de α - e δ -tocoferol nos extratos de algas da divisão Phaeophyta, coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.	14
Tabela 4 - Conteúdo de α -tocoferol equivalente (α -TE) presente nos extratos das algas coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, e porções para que sejam consideradas fonte "excelente" ou fonte "útil" de vitamina E.	16

RESUMO

As macroalgas marinhas são fontes de uma grande variedade de compostos benéficos para o homem, apresentando diversas aplicações em nutrição animal e humana, fertilização do solo, indústria de alimentos e outras áreas biotecnológicas. Do ponto de vista nutricional, são alimentos de baixa caloria, elevada concentração de minerais (Mg, Ca, K, P e I), vitaminas (B, C e E) e provitamina A, proteínas e carboidratos. A vitamina E é um composto lipossolúvel existente na natureza, sintetizada exclusivamente por organismos fotossintetizantes. Uma de suas principais funções é proteger os ácidos graxos poliinsaturados existentes nas membranas celulares contra a oxidação pelos hidroperóxidos “in vivo”, devido as suas propriedades antioxidantes. Doze espécies de macroalgas marinhas “in natura” pertencentes às Divisões Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta foram estudadas. As análises de α - e δ -tocoferol foram realizadas a partir da extração da alga em metanol-água (90:10, v/v) com 5% de KOH na proporção 1:10 (p/v), seguida de saponificação e partição em *n*-hexano, que foi evaporado sob corrente de ar. O resíduo foi então suspenso em 1 mL de metanol no momento da análise cromatográfica (CLAE), realizada em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) e metanol-tetrahidrofurano (90:10, v/v), com fluxo de 1,5 mL min⁻¹. Alíquotas de 100 μ L do resíduo suspenso em metanol foram injetadas manualmente e os cromatogramas registrados em 292 nm. Os teores foram calculados por comparação com a curva padrão obtida usando α - e δ -tocoferol (Sigma). Dentre as quatro espécies de Chlorophyta analisadas, três apresentaram α -tocoferol, com teor mínimo de $21,201 \pm 4,801 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Ulva fasciata* e máximo de $353,839 \pm 72,844 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Caulerpa prolifera*. δ -Tocoferol foi detectado apenas em *Caulerpa racemosa*, com teor de $32,438 \pm 14,373 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido. Dentre as clorófitas estudadas, o padrão de distribuição de α - e δ -tocoferol foi bastante diversificado e provavelmente está relacionado com a localização das espécies em seu habitat. Nas Rhodophyta estudadas neste trabalho, foi encontrado α -tocoferol em todas elas. O mínimo foi detectado em *Pterocladia americana* ($1,290 \pm 0,134 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido) e o máximo em *Amansia multifida* ($16,370 \pm 3,264 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido). δ -Tocoferol foi detectado em apenas três espécies, variando de $1,823 \pm 0,378 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido a $10,643 \pm 4,206 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Gracilaria domingensis* e *Amansia multifida*, respectivamente. Das algas pardas analisadas, α -tocoferol foi encontrado em três espécies, com valores entre $0,125 \pm 0,012 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Lobophora variegata* e $72,323 \pm 4,385 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Dictyota dichotoma*. δ -Tocoferol foi detectado em duas das quatro espécies estudadas. Os valores foram $2,748 \pm 0,694 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Lobophora variegata* e $40,962 \pm 0,694 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Dictyota dichotoma*.

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE α - E δ -TOCOFEROL EM MACROALGAS MARINHAS “IN NATURA” UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

JONAS GUARANY SANTIAGO

1 INTRODUÇÃO

As algas estão inseridas em um diversificado grupo de organismos fotossintetizantes, podendo variar de simples células microscópicas até algas multicelulares com vários metros de comprimento (SZE, 1997). Distribuídas por todo o globo terrestre, apresentam, no ambiente onde crescem, importantes papéis biológicos, comparáveis aos das plantas em habitats terrestres, fornecendo proteção e alimento à rica diversidade de organismos microscópicos, alguns invertebrados e peixes. A complexidade estrutural das macroalgas oferece-lhes habilidade para sobreviverem nas zonas mais adversas, onde são submetidas a amplas flutuações de umidade, temperatura, salinidade e luz, além da ação das ondas em regiões de arrebentação. Estão classificadas em quatro divisões: algas azuis (Cyanophyta), algas verdes (Chlorophyta), algas vermelhas (Rhodophyta) e algas pardas (Phaeophyta). Os cloroplastos nas algas diferem em suas características bioquímicas, conferindo-lhes coloração característica (RAVEN et al., 2001).

As macroalgas marinhas são fontes de uma grande variedade de compostos benéficos para o homem, apresentando diversas aplicações em nutrição animal e humana (URBANO; GOÑI, 2002), fertilização do solo (BLUNDEN, 1991), indústria de alimentos (MAMATHA et al., 2007) e outras áreas biotecnológicas (FARIAS et al., 2001; LIMA et al., 2004). Do ponto de vista nutricional, são alimentos de baixa caloria, elevada concentração de minerais (Mg, Ca, K, P e I), vitaminas (B, C e E) e provitamina A, proteínas e carboidratos (JIMÉNEZ-ESCRIG; CAMBRODON, 1999; MAMATHA et al., 2007). Durante as últimas décadas, a comunidade científica demonstrou

interesse crescente pelo estudo de diversos compostos que estão presentes nestes organismos, entre eles as vitaminas lipossolúveis, que podem estar associadas com a redução de doenças cardiovasculares e outras doenças degenerativas (WILLIS; WIAN JR, 2003; JOHNSON, 2004).

O consumo de algas marinhas como alimento humano está documentado desde 600 a.C. Hoje em dia, Japão, China e Coréia são os maiores consumidores de algas como alimento. Os povos orientais têm tradição no consumo de algas marinhas como suplemento vitamínico ou aditivo alimentar, sendo comum a adição de algas cruas em diferentes preparos culinários (ITO; HORI, 1989). Embora o consumo de algas marinhas pareça estar associado a benefícios à saúde humana, os povos ocidentais não têm esta tradição. Na Europa, as algas são usadas principalmente nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e têxtil. Os polissacarídeos extraídos de algas marinhas são usados como agentes gelificantes e espessantes em vários alimentos industrializados para alterar sua consistência como produtos lácteos, sucos de frutas, molhos, pudins, geléias e carnes enlatadas (GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998).

Nos países ocidentais o uso de algas como alimento humano tem crescido, e a procura crescente ao longo dos últimos cinquenta anos, ultrapassaram a capacidade de abastecimento por parte dos estoques naturais. Pesquisas sobre o ciclo de vida das algas mais consumidas atualmente têm-se desenvolvido em nível industrial, possibilitando a produção de mais de 90% da procura de mercado. Alguns governos e organizações comerciais na França têm promovido e incentivado o consumo de algas em restaurante e seu uso doméstico, com algum sucesso. Existe um mercado informal entre de habitantes das zonas costeiras em alguns países em desenvolvimento onde tem havido uma tradição de utilização como legumes frescos e saladas (FAO, 2007).

A França foi o primeiro país europeu a estabelecer um regulamento específico para o uso de algas na alimentação humana. Onze espécies de macroalgas (Phaeophyta: *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *F. serratus*, *Himanthalia elongata* e *Undaria pinnatifida*; Rhodophyta: *Porphyra umbilicalis*, *Palmaria palmata*, *Gracilaria verrucosa* e *Chondrus crispus*; e Chlorophyta: *Ulva* spp. e *Enteromorpha* spp.) e duas de microalgas (*Spirulina*

sp. e *Odontella aurita*) receberam autorização dos órgãos competentes para serem utilizadas como alimento vegetal e condimento (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

Outras espécies de algas marinhas podem apresentar características que as tornam potencialmente apropriadas para o uso como alimento, inclusive sendo capazes de suplementar àqueles produzidos na terra. O cultivo de algas, fundamentado na pesquisa científica que elucida os ciclos de vida e as características de crescimento das espécies de interesse comercial, tornou-se uma importante indústria, principalmente na Ásia, e tem-se expandido para a América do Sul e África (XIA; ABBOTT, 1987; ABBOTT, 1988; GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998 WIKFORS; OHNO, 2001; BURTIN, 2003; LUNING; PANG, 2003). Análises químicas e bioquímicas de algas “in natura” freqüentemente mostram que elas são boas fontes de importantes nutrientes, como polissacarídeos e fibras dietárias, minerais, proteínas e aminoácidos, lipídios e ácidos graxos e vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis (MABEAU; FLEURENCE, 1993; FLEURENCE, 1999; NORZIAH; CHING, 2000; WONG; CHEUNG, 2001; AGUILERA-MORALES et al., 2005).

No Brasil, pouco se tem estudado a respeito do valor nutricional das macroalgas marinhas. Algumas pesquisas vêm sendo realizadas com resultados bastante animadores quanto ao conteúdo de provitaminas A (α - e β -caroteno) e vitamina E presentes nesses organismos (MACIEL DA SILVA, 2003; SOUSA, 2005; PIRES, 2007; PIRES et al., 2008).

1.1 Vitamina E

A descoberta da vitamina E ocorreu em 1922, quando pesquisadores realizavam estudos para elucidar seu papel na reprodução de algumas espécies e a causa da infertilidade em ratas, daí o termo tocoferol, que em grego significa “carregar e nutrir bebês”. A vitamina E, desde então, tem sido objeto de estudo de várias entidades que procuram esclarecer sua real função e metabolismo (HENDLER, 1994; BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999).

A vitamina E é um composto lipossolúvel existente na natureza, sintetizada exclusivamente por organismos fotossintetizantes. A elevada

quantidade de α -tocoferol encontrada na membrana dos cloroplastos provavelmente está relacionada com a capacidade dos tocoferóis de remover ou capturar as espécies reativas de oxigênio e os radicais peroxi dos lipídios por meios físicos ou químicos. Desse modo, o aparato fotossintético pode ser protegido da ação deletéria do oxigênio e da peroxidação lipídica (HOFIUS; SONNEWALD, 2003).

Análises estruturais têm revelado que suas moléculas são distribuídas em duas séries: os tocoferóis e os tocotrienóis (Figura 1), cada uma com quatro formas diferentes (α , β , γ e δ). Entre elas, o α -tocoferol é a forma antioxidante mais ativa e amplamente distribuída nos tecidos e plasma, sendo um componente essencial ao organismo, visto que é considerado o melhor antioxidante lipofílico biológico na defesa contra efeitos nocivos dos radicais livres. A atividade do α -tocoferol "in vivo" é superior a das outras espécies, sendo cerca de dez vezes maior do que a de seu precursor imediato, o γ -tocoferol. Portanto, o valor nutricional dos tocoferóis, em termos de atividade de vitamina E, é determinado pela concentração de α -tocoferol (MACHLIN, 1991; BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999; HIRSCHBERG, 1999; BRAMLEY et al., 2000; RONCADA, 2000; DELLAPENNA, 2005).

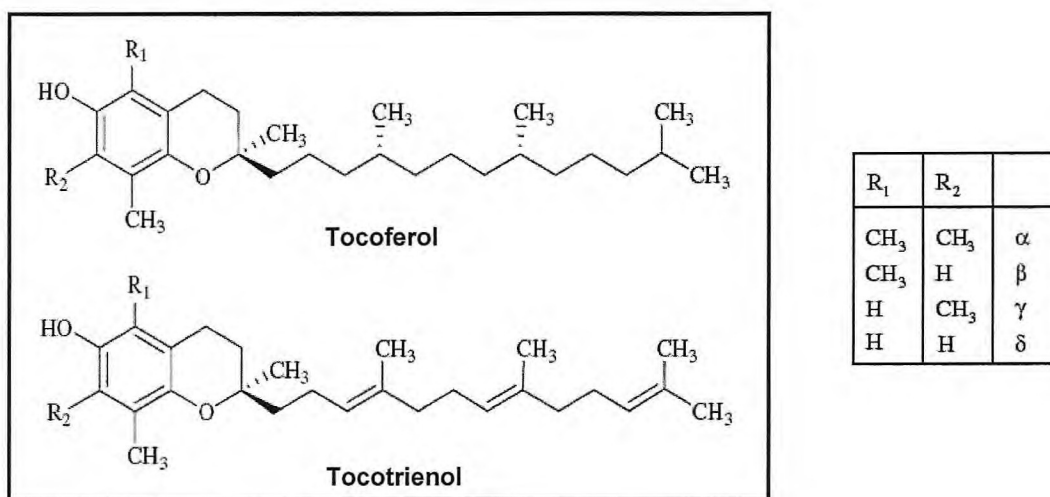


Figura 1 - Formas de vitamina E existentes na natureza (ZINGG, 2007).

A vitamina E é encontrada predominantemente em alimentos de origem vegetal, principalmente em amêndoas, óleos vegetais ricos em ácidos graxos

poliinsaturados, espinafre, aspargo, cenoura, tomates, sementes, grãos integrais, abacate, maçã, além de ser encontrado em alimentos de origem animal, em teores bem menores como gema de ovo, carne de gado (fígado), toucinho e pescado. Os compostos com atividade de vitamina E são termoestáveis na ausência de oxigênio, mas oxidam lentamente por ação dos oxigênio atmosférico, ação essa acelerada pela exposição à luz, calor, álcalis, gorduras rançosas e presença de íons metálicos (AZZI; STOCKER, 2000; RONCADA, 2000; BURNS et al., 2003; GÓMEZ-CORONADO et al., 2004).

Uma das principais funções atribuídas à vitamina E é proteger os ácidos graxos poliinsaturados existentes nas membranas celulares contra a oxidação pelos hidroperóxidos "in vivo", devido as suas propriedades antioxidantes, (RONCADA, 2000). O crescente interesse pela vitamina E está relacionado principalmente com a função antioxidante, envolvida no retardamento do envelhecimento e na proteção a doenças crônicas não transmissíveis, como Parkinson, Alzheimer, câncer e doenças cardiovasculares, além de desempenhar importantes papéis nos processos biológicos (HIRSCHBERG, 1999; BRIGELIUS-FLOHÉ et al., 2002). O α -tocoferol também apresenta funções independentes da ação antioxidante. A identificação dos mecanismos de ação e o potencial metabólico dos tocoferóis têm sido estudados desde sua descoberta (ROSENAU et al., 1995; ROSENAU; HABICHER, 1997). As diferenças na distribuição e metabolismo das isoformas após sua absorção regulam a concentração de vitamina E nos tecidos. Essas diferenças podem exercer um importante papel na capacidade de uma dada isoforma de vitamina E funcionar como agente químico preventivo, considerando que a liberação adequada ao tecido-alvo é crítica para uma quimioprevenção eficiente (CAMPBELL et al., 2003).

Os tocoferóis e tocotrienóis são considerados micronutrientes essenciais para o homem. O α -tocoferol, em particular, tem sido apontado como benéfico para a saúde humana. Suplementos de vitamina E administrados em doses terapêuticas de 100 a 1.000 Unidades Internacionais (U.I.) têm sido associados com a diminuição dos riscos de doenças associadas com o envelhecimento, como catarata e artrite (HIRSCHBERG, 1999; BRAMLEY et al., 2000; WILLIS; WIAN JR., 2003).

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) Nº 269 de 22 de setembro de 2005 trata das necessidades dos valores de Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas a serem utilizados como parâmetro de ingestão de nutrientes por indivíduos adultos acatando as diretrizes da Política Nacional de Alimentação e Nutrição sobre o controle dos distúrbios nutricionais e doenças associadas à alimentação e nutrição, estabelece que a IDR para a vitamina E (tocoferóis) é 10 mg α -tocoferol equivalente (α -TE). É importante lembrar que 1 α -TE é igual a 1 mg de d- α -tocoferol que corresponde a 1,49 U.I. (BRASIL, 2005).

O objetivo desse trabalho foi verificar a presença de α - e δ -tocoferol e quantificar seus teores em doze espécies de macroalgas marinhas “in natura” pertencentes às divisões: Chlorophyta (*Enteromorpha* sp., *Caulerpa prolifera*, *C. racemosa* e *Ulva fasciata*), Rhodophyta (*Acantophora specifera*, *Amansia multifida*, *Gracilaria domingensis* e *Pterocladia americana*) e Phaeophyta (*Dictyota dichotoma*, *Lobophora variegata*, *Sargassum* sp. e *Spatoglossum schroederi*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Espécies de macroalgas marinhas das divisões Chlorophyta (*Caulerpa prolifera*, *C. racemosa*, *Enteromorpha* sp. e *Ulva fasciata*), Rhodophyta (*Acantophora specifera*, *Amansia multifida*, *Gracilaria domingensis* e *Pterocladia americana*) e Phaeophyta (*Dictyota dichotoma*, *Lobophora variegata*, *Sargassum* sp. e *Spatoglossum schroederi*) foram coletadas na Praia do Pacheco, Caucaia-CE, em setembro de 2007, durante a maré baixa e levadas para o laboratório, onde foram lavadas para remoção de impurezas e epífitas macroscópicas e preparadas para estocagem a -20°C até o momento de seu uso.

Para a extração dos tocoferóis, foram pesados aproximadamente 100 g de alga “in natura”, cortados manualmente em pequenos pedaços e macerados em gral de aço inoxidável com auxílio de nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino, que foi utilizado para a preparação dos extratos.

Três porções de 1 g foram pesadas em tubos de vidro graduados com tampa esmerilhada e 10 mL de metanol-água (90:10, v/v) contendo 5% de hidróxido de potássio foram adicionados. Os tubos foram colocados em banho-maria a 70°C por 30 minutos, e os extratos foram submetidos à saponificação. Depois de resfriados à temperatura ambiente, o extrato saponificado foi centrifugado por 5 minutos a $1.000 \times g$. Do extrato saponificado foram tomados 5 mL, que foram submetidos à partição com 1,5 mL de água milli-Q e 2,5 mL de *n*-hexano em tubos de tampa rosqueada, misturados por 10 minutos e, em seguida, centrifugados por 5 minutos a $2.000 \times g$. Da fase hexânica superior, 1 mL foi transferido para tubos de ensaio e deixados sob corrente de ar para evaporação do solvente. O resíduo foi então suspenso em 1 mL de metanol no momento da análise cromatográfica.

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC, em inglês) é a mais usada de todas as técnicas analíticas de separação. As razões para a popularidade do método consistem em sua sensibilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas acuradas, ampla aplicabilidade a substâncias de grande interesse para a indústria e para muitos campos da ciência (SKOOG et al., 2002).

O processo cromatográfico, cujo esquema simplificado na está mostrado na Figura 2, consiste na partição dos componentes de uma mistura entre a fase móvel e a fase estacionária. Na cromatografia líquida, a fase estacionária é constituída de partículas sólidas empacotadas em uma coluna, a qual é atravessada pela fase móvel. As forças físicas e químicas que atuam entre os solutos e as duas fases são responsáveis pela retenção dos solutos sobre a coluna cromatográfica. A diferença na magnitude dessas forças que determina a resolução e portanto a separação dos solutos individuais (CENTRO, 2008).

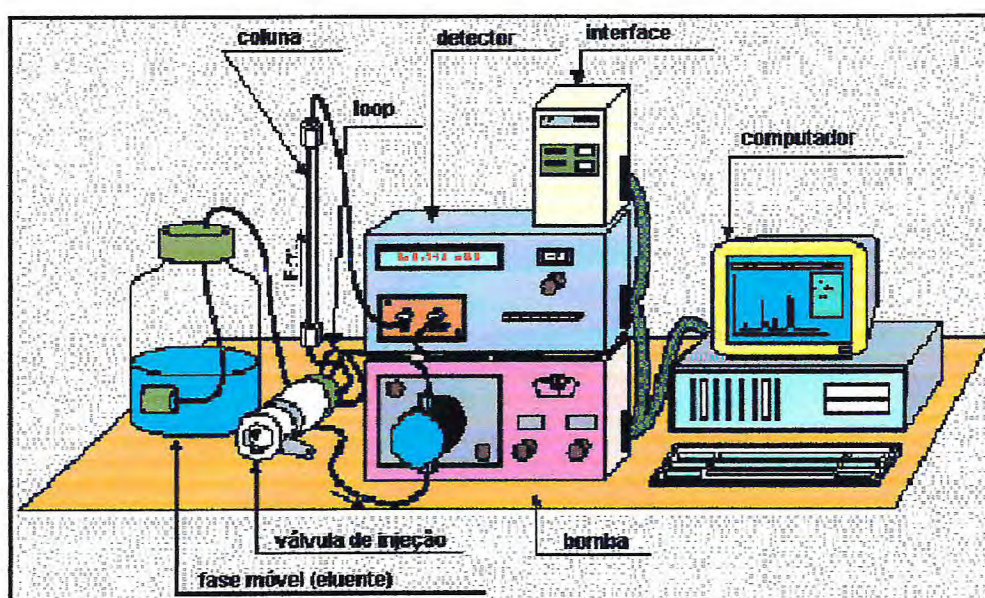


Figura 2 - Esquema simplificado mostrando os componentes de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (CENTRO, 2008).

Uma solução padrão de α -tocoferol (T3251, Sigma) e outra de δ -tocoferol (T2028, Sigma), ambas com concentração de 1 mg mL^{-1} , foram preparadas diariamente em tetrahidrofurano e diluídas com metanol para $100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. As concentrações das soluções padrão foram determinadas a partir de sua absorbância a 292 nm .

Dois padrões de α - e δ -tocoferol com $50 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ foram processados separadamente e em combinação com 1 g de alga, para assegurar a detecção de α -tocoferol e δ -tocoferol, onde eles foram adicionados intencionalmente.

O sistema cromatográfico CLAE consistiu em uma coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), e uma fase móvel constituída de metanol-tetrahidrofurano (90:10, v/v), com fluxo de 1,5 mL min⁻¹. Alíquotas de 100 µL foram injetadas manualmente. O detector foi ajustado em 292 nm e os cromatogramas registrados através do programa Unicorn 5.0.

As concentrações de α-tocoferol e δ-tocoferol nos extratos das algas analisadas foram calculadas com base nos padrões de 50 µg de α-tocoferol e de δ-tocoferol processados. O cálculo foi procedido usando-se a área dos picos obtidos para as soluções padrão de α-tocoferol e de δ-tocoferol e as áreas dos picos referentes ao α-tocoferol e δ-tocoferol no extrato de alga, utilizando a fórmula abaixo:

$$\mu\text{g g}^{-1} = \frac{\text{área amostra}}{\text{área padrão}} \times \mu\text{g padrão} \times \frac{1 \text{ g}}{\text{peso da alga usada no extrato}}$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A relação entre as áreas dos picos e as quantidades de α - e δ -tocoferol aplicadas na coluna foi estabelecida para os padrões de α - e δ -tocoferol submetidos à saponificação e à partição. As correlações entre a área do pico e a concentração de α -tocoferol ($r = 0,9994$, $p < 0,05$) (Figura 3) e entre a área do pico e a concentração de δ -tocoferol ($r = 0,9944$, $p < 0,05$) (Figura 4) possibilitaram o cálculo desses compostos nos extratos das algas.

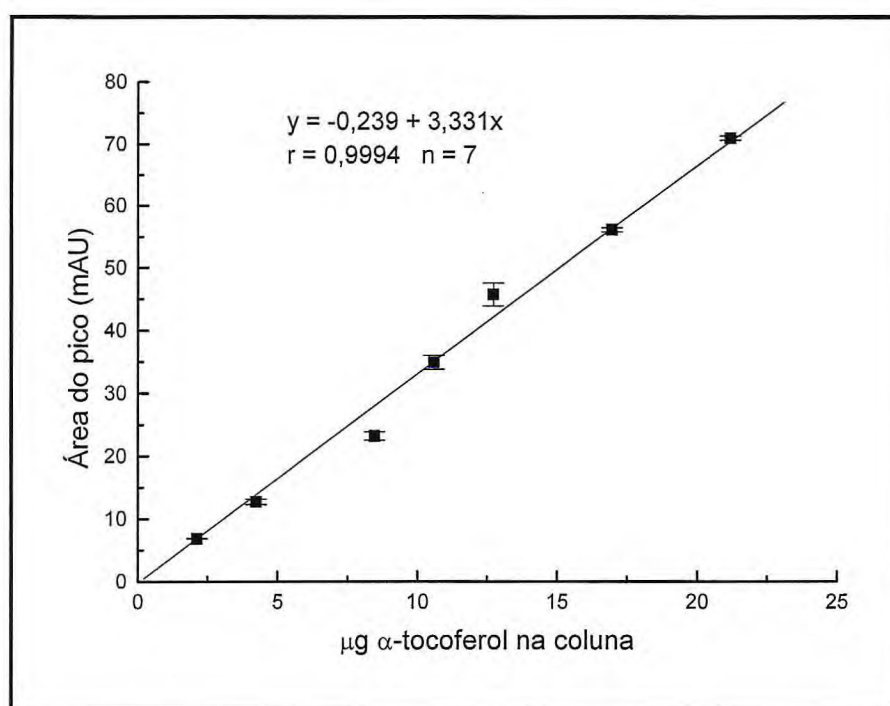


Figura 3 - Curva padrão de α -tocoferol (T3251 Sigma) submetido à saponificação e à partição.

Eluição em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), com metanol-THF (90:10, v/v) a 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 292 nm.

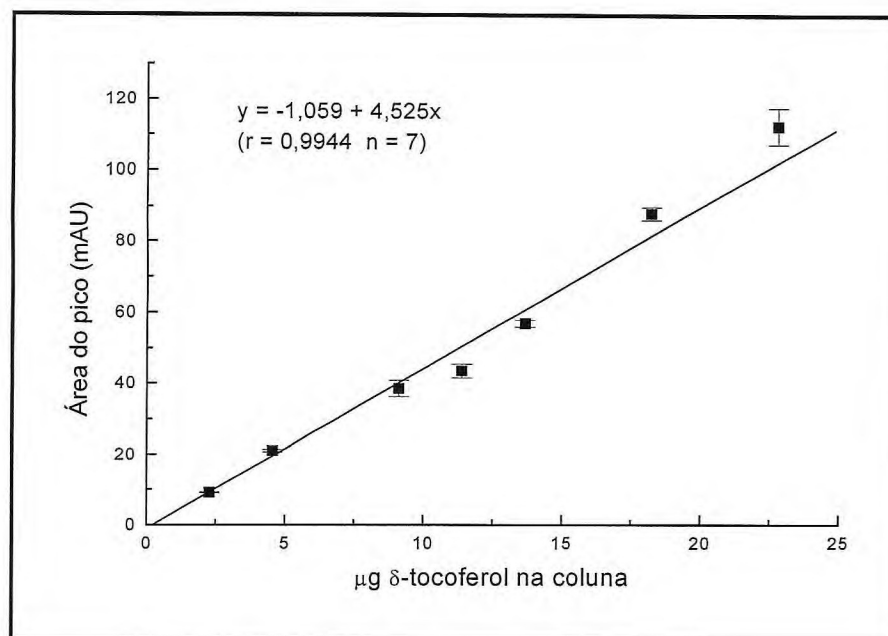


Figura 4 - Curva padrão de δ -tocoferol (T2028 Sigma) submetido à saponificação e à partição. Eluição em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), com metanol-THF (90:10, v/v) a $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção em 292 nm.

Para a identificação de α - e δ -tocoferol nos extratos das algas, foi feita a comparação dos tempos de retenção das soluções-padrão de α - e δ -tocoferol com os tempos de retenção desses compostos presentes nos extratos das algas submetidos aos processos de saponificação e partição. Na Figura 5 é apresentado um cromatograma de α - e δ -tocoferol, respectivamente, com tempos de retenção de $5,10 \pm 0,17$ minutos e $4,15 \pm 0,12$ minutos.

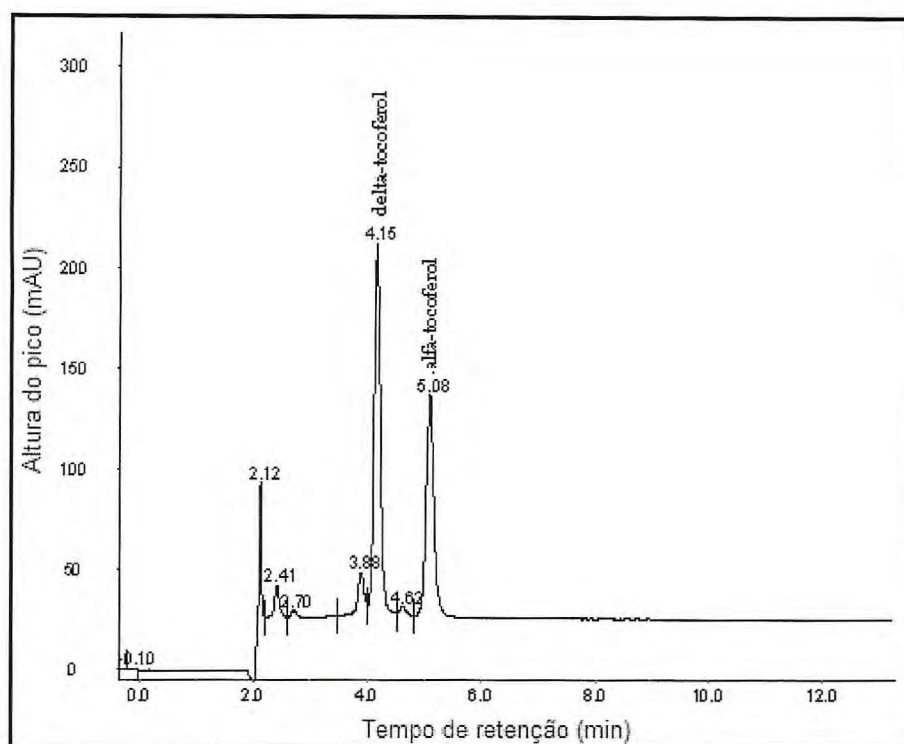


Figura 5 - Cromatograma de α -tocoferol e δ -tocoferol (5,0 μg na coluna) submetido à saponificação e à partição.

Eluição em coluna Waters-Hichrom Spherisorb S5 ODS2 (250 x 4,6 mm), com metanol-THF (90:10, v/v) a 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 292 nm.

Dentre as algas verdes analisadas neste trabalho, o conteúdo de α -tocoferol foi mínimo de $21,201 \pm 4,801 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Ulva fasciata* e máximo de $353,839 \pm 72,844 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Caulerpa prolifera*. δ -Tocoferol foi detectado apenas em *Caulerpa racemosa* com teor de $32,438 \pm 14,373 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido. Não foram encontrados os isômeros de tocoferóis (α - e δ -) em *Enteromorpha* sp. (Tabela 1).

Tabela 1 - Conteúdo de α - e δ -tocoferol nos extratos de algas da divisão Chlorophyta, coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.

Espécies de Chlorophyta	α -tocoferol ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)	δ -tocoferol ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)
<i>Enteromorpha</i> sp.	ND	ND
<i>Caulerpa prolifera</i>	353,839 \pm 72,844	ND
<i>Caulerpa racemosa</i>	55,793 \pm 8,979	32,438 \pm 14,373
<i>Ulva fasciata</i>	21,201 \pm 4,801	ND

ND = Não detectado

α -Tocoferol foi encontrado em todas as Rhodophyta estudadas neste trabalho, com mínimo de 1,290 \pm 0,134 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Pterocladia americana* e máximo de 16,370 \pm 3,264 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Amansia multifida*. δ -Tocoferol foi detectado em três rodofíceas e seu teor variou de 1,823 \pm 0,378 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido a 10,643 \pm 4,206 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Gracilaria domingensis* e *Amansia multifida*, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Conteúdo de α - e δ -tocoferol nos extratos de algas da divisão Rhodophyta, coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.

Espécies de Rhodophyta	α -tocoferol ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)	δ -tocoferol ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)
<i>Acantophora specifera</i>	3,352 \pm 0,120	5,421 \pm 1,536
<i>Amansia multifida</i>	16,370 \pm 3,264	10,643 \pm 4,206
<i>Gracilaria domingensis</i>	8,367 \pm 1,508	1,823 \pm 0,378
<i>Pterocladia americana</i>	1,290 \pm 0,134	ND

ND = Não detectado

Das algas pardas analisadas, α -tocoferol foi encontrado em três espécies, com valores entre 0,125 \pm 0,012 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Lobophora variegata* e 72,323 \pm 4,385 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Dictyota dichotoma*. δ -Tocoferol foi detectado em duas das quatro espécies estudadas, com valores iguais a 2,748 \pm 0,694 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Lobophora variegata* e 40,962 \pm

0,694 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido em *Dictyota dichotoma*. Não foram encontrados os isômeros de tocoferóis (α - e δ -) em *Sargassum* sp. (Tabela 3).

Tabela 3 - Conteúdo de α - e δ -tocoferol nos extratos de algas da divisão Phaeophyta, coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.

Espécies de Phaeophyta	α -tocoferol ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)	δ -tocoferol ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)
<i>Dictyota dichotoma</i>	72,323 \pm 4,385	40,962 \pm 2,978
<i>Lobophora variegata</i>	0,125 \pm 0,012	2,748 \pm 0,694
<i>Sargassum</i> sp.	ND	ND
<i>Spatoglossum schoederi</i>	2,319 \pm 0,139	ND

ND = Não detectado

Nas doze espécies de algas analisadas neste trabalho foi possível observar que, apesar de a distribuição de α - e δ -tocoferol ter sido bastante diferente, de um modo geral as clorófitas são melhores fontes de vitamina E do que as algas vermelhas e pardas.

Compostos com atividade de vitamina E têm sido relatados em macroalgas, sendo comum a presença de dois ou mais isômeros com atividades biológicas diferentes. Existem relativamente poucos trabalhos sobre a quantidade de tocoferol em macroalgas marinhas da Europa (SAKER-SAMPAIO, 1997; SÁNCHEZ-MACHADO et al., 2002), Ásia (JAYASREE et al., 1985; MIYASHITA; TAKAGI, 1987), América do Norte (McDERMID; STUERCKE, 2003) e Brasil (SOUSA, 2005; PIRES, 2007).

As quantidades de α -tocoferol nas microalgas *Tetraselmis* sp., *Stichococcus* sp., *Pavlova pinguis* e *Nannochloropsis* sp., foram estimadas em 70, 160, 140 e de 180 a 350 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, respectivamente (BROWN et al., 1999). A cianofícea *Spirulina platensis* apresentou 13 $\mu\text{g g}^{-1}$ α -tocoferol peso seco, uma quantidade inferior as supracitadas. Nenhuma amostra apresentou γ -tocoferol (GOMEZ-CORONADO et al., 2004).

Sousa (2005) encontrou α -tocoferol em seis das sete espécies de algas verdes. O teor mais elevado (383,047 \pm 85,254 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) foi observado em *Caulerpa prolifera* e o mais baixo (15,650 \pm 2,634 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso

fresco) em *Codium decorticatum*. Apenas *Cladophora prolifera* não apresentou α -tocoferol.

Realizando análise sazonal do conteúdo de α -tocoferol em macroalgas marinhas verdes “in natura” do gênero *Caulerpa*, Pires (2007) encontrou no mês de setembro teores de $331,6 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco em *Caulerpa prolifera* e de $48,6 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco em *C. racemosa*, valores semelhantes aos encontrados no presente trabalho, durante o mesmo mês de coleta.

Sánchez-Machado et al. (2002) determinaram α -tocoferol por CLAE em quatro produtos de alga parda: *Himanthalia elongata* e *Laminaria ochroleuca* desidratadas, e *H. elongata* e *Saccorhiza polychides* enlatadas. As duas algas desidratadas apresentaram conteúdo de α -tocoferol igual a $33,3 \pm 4,2$ e $8,9 \pm 2,1 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, respectivamente, enquanto as algas enlatadas apresentaram quantidades inferiores e iguais a $12,0 \pm 2,0$ e $5,7 \pm 1,3 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, respectivamente.

A presença dos isômeros de tocoferol em algas marinhas coletadas no início da primavera na Noruega foi investigada por Jensen (1969a, 1969b, 1969c), tendo encontrado apenas α -tocoferol nas algas verdes *Enteromorpha intestinalis* ($92 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e *Ulva lactuca* ($35 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco); nas vermelhas *Polysiphonia fastigiata* ($80 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), *Odonthalia dentata* ($20 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), *Gigartina stellata* e *Palmaria palmata* ($35 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco); e nas pardas *Laminaria digitata* ($9 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), *L. hyperborea* ($10 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e *L. saccharina* ($7 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco). As feofíceas apresentaram além de α -tocoferol, β - + γ -tocoferol, que foram determinados conjuntamente, e δ -tocoferol, cujos teores foram os seguintes: *Ascophyllum nodosum* (250 a $510 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), *Fucus serratus* (300 a $600 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), *F. spiralis* ($356 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), *F. vesiculosus* (250 a $480 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e *Pelvetia canaliculata* (350 a $650 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

Os alimentos podem ser considerados como fontes “excelentes” ou “úteis” de vitamina. Para que sejam considerados uma fonte “excelente” de vitamina, a ingestão de uma porção razoável do alimento deve fornecer $1/2$ da IDR. Quando a ingestão de uma porção razoável for responsável por $1/6$ da IDR, ele pode ser considerado uma fonte “útil” da vitamina (RICHARDSON,

1993). A Tabela 4 mostra os teores de α -tocoferol equivalente (α -TE) presentes nas macroalgas analisadas no presente trabalho, bem como as porções que devem ser ingeridas para que sejam consideradas fontes “úteis” ou “excelentes” de vitamina E. Nos extratos da clorófito *Enteromorpha* sp. e da feófito *Sargassum* sp. não foram detectados α - e δ -tocoferol e, conseqüentemente, nenhum α -TE.

A melhor fonte de vitamina E, expressa como α -TE, foi a *Caulerpa prolifera*, seguida de *Dictyota dichotoma* e *Caulerpa racemosa* (Figura 6), cujos conteúdos representaram 20,4 e 15,8% daquele encontrado em *C. prolifera*. O consumo de porções variando de 5 a 30 g dessas algas atenderia $\frac{1}{6}$ da IDR de vitamina E do homem adulto.

Tabela 4 - Conteúdo de α -tocoferol equivalente (α -TE) presente nos extratos das algas coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, e porções para que sejam consideradas fonte “excelente” ou fonte “útil” de vitamina E.

Espécies	α -Tocoferol equivalente (α -TE) ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido)	Fonte útil (g)	Fonte excelente (g)
<i>Caulerpa prolifera</i>	353,839 \pm 72,844	5	14
<i>Caulerpa racemosa</i>	55,793 \pm 8,979	30	89
<i>Ulva fasciata</i>	21,201 \pm 4,801	79	238
<i>Acanthophora specifera</i>	3,352 \pm 0,120	555	1.667
<i>Amansia multifida</i>	16,370 \pm 3,264	104	312
<i>Gracilaria domingensis</i>	8,367 \pm 1,508	208	625
<i>Pterocladia americana</i>	1,290 \pm 0,134	1.667	5.000
<i>Dictyota dichotoma</i>	72,323 \pm 4,385	23	69
<i>Lobophora variegata</i>	0,125 \pm 0,012	16.667	50.000
<i>Spatoglossum schroederi</i>	2,319 \pm 0,139	833	2.500

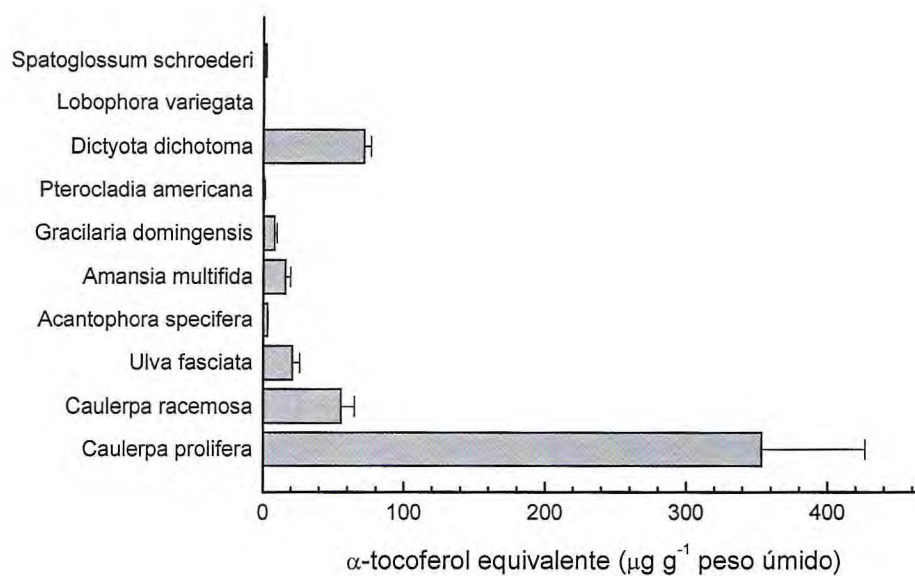


Figura 6 - Conteúdo de α -tocoferol equivalente (α -TE) presente nos extratos das algas coletadas em setembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.

4 CONCLUSÃO

Os tempos de retenção do α - e do δ -tocoferol observados no sistema cromatográfico desenvolvido neste trabalho foram de aproximadamente $5,10 \pm 0,17$ min e $4,15 \pm 0,12$ min, respectivamente.

O maior conteúdo de α -tocoferol dentre as Chlorophyta foi detectado em *Caulerpa prolifera*, e δ -tocoferol foi detectado apenas em *Caulerpa racemosa*.

Das Rhodophyta estudadas, *Amansia multifida* apresentou os teores máximos de ambos α - e δ -tocoferol.

As maiores quantidades de α - e δ -tocoferol, dentre as espécies de algas pardas analisadas, foram encontradas em *Dictyota dichotoma*.

Os extratos da clorófito *Enteromorpha* sp. e da feófito *Sargassum* sp. não apresentaram α - e δ -tocoferol.

5 REFERÊNCIAS

ABBOTT, I. A. Food and food products from algae. In: LEMBI, C. A.; WAALAND, J. R. (eds.). **Algae and Human Affairs**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. p. 135-147.

AGUILERA-MORALES, M.; CASAS-VALDEZ, M.; CARRILLO-DOMÍNGUEZ, B.; GONZÁLEZ-ACOSTA, B.; PÉREZ-GIL, F. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potential food source. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 18, n. 1, p. 79-88, Feb. 2005.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 39, n. 3, p. 231-255, May 2000.

BLUNDEN, G. Agricultural uses of seaweeds and seaweed extracts. In: GUIRY, M. D.; BLUNDEN, G. (eds.). **Seaweed resources in Europe: uses and potential**. England: John Wiley & Sons, 1991. p. 65-94.

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. Resolução (2005). Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 269 de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Brasília, DF. Anvisa, 2005.

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.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R; TRABER, M. G. Vitamin E: function e metabolism. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 13, n. 10, p. 1145-1155, July 1999.

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

BURNS, J.; FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. **Phytochemistry**, Oxford, v. 62, n. 6, p. 939-947, Mar. 2003.

BURTIN, P. Nutritional value of seaweeds. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 2, n. 4, 2003.
Disponível em: <[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.

CAMPBELL, S.; STONE, W.; WHALEY, S.; KRISHNAN, K. Development of gamma (γ)-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, New York, v. 47, n. 3, p. 249-259, Sept. 2003.

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DO RIO DE JANEIRO. CEFET-Química/RJ. **Cromatografia líquida de alta resolução**. Disponível em: <<http://www.cefetquimica.edu.br/aluno/a/instrumental/CLAE.pdf>> Acesso em: 13 nov. 2008

DELLAPENNA, D. A decade of progress in understanding vitamin E synthesis in plants. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, n. 7, p. 729-737, July 2005.

FAO. **Introduction to Comercial Seaweeds**. Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4765E/y4765e04.htm> (2 of 9)>. Acesso em: 02 ago. 2007.

FARIAS, W. R. L.; NAZARETH, R. A.; MOURÃO, P. A. S. Dual effects of sulfated D-galactans from the red algae *Botryocladia occidentalis* preventing thrombosis and inducing platelet aggregation. **Thrombosis and Haemostasis**, Stuttgart, v. 86, n. 6, p. 1540-1546, Dec. 2001.

FLEURENCE, J. Seaweeds proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 10, n. 1, p. 25-28, Jan. 1999.

GÓMEZ-CORONADO, D. J. M.; IBANEZ, E.; RUPÉREZ, F. J.; BARBAS, C. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1-2, p. 227-233, Oct. 2004.

GUNSTHEIMER, S.; JAHREIS, G. Marine macroalgae. **Ernährungs-Umschau**, Frankfurt, v. 45, n. 12, p. 424-428, Dec. 1998.

HENDLER, S. S. O supermercado de suplementos. In: _____. **A enciclopédia de vitaminas e minerais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Campus, 1994. Parte 2.

HIRSCHBERG, J. Production of high-value compounds: carotenoids and vitamin E. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 10, n. 2, p. 186-191, Apr. 1999.

HOFIUS, D.; SONNEWALD, U. Vitamin E biosynthesis: biochemistry meets cell biology. **Trends in Plant Science**, London, v. 8, n. 1, p. 6-8, Jan. 2003.

ITO, K.; HORI, K. Seaweed: chemical composition and potential uses. **Food Reviews International**, New York, v. 5, n. 1, p. 101-144, 1989.

JAYASREE, V.; SOLIMABI, B. D.; KAMAT, S. Y. Distribution of tocopherol (vitamin E) in marine algae from Goa, West coast of India. **Indian Journal of Marine Sciences**, New Delhi, v. 14, n. 4, p. 228-229, 1985.

JENSEN, A. Tocopherol content of seaweed and seaweed meal. 1. Analytical methods and distribution of tocopherols in benthic algae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v. 20, n. 8, p. 449-453, 1969a.

JENSEN, A. Tocopherol content of seaweed and seaweed meal. 2. Individual, diurnal and seasonal variations in some Fucaceae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v. 20, n. 8, p. 454-, 1969b.

JENSEN, A. Tocopherol content of seaweed and seaweed meal. 3. Influence of processing and storage on content of tocopherols, carotenoids and ascorbic acid in seaweed meal. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v. 20, n. 10, p. 622-, 1969c.

JIMENEZ-ESCRIG, A.; CAMBRODON, I. G. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 49, n. 2, p. 114-120, Jun 1999.

JOHNSON, E. J. A biological role of lutein. **Food Reviews International**, New York, v. 20, n. 1, p. 1-16, 2004.

LIMA, R. F.; CRIDDLE, D. N.; SOUZA, E. P.; SAMPAIO, A. H.; NASCIMENTO, K. S.; CAVADA, B. S.; ASSREUY, A. M. S. Red marine alga *Bryothamnion triquetrum* lectin induces endothelium-dependent relaxation of the rat aorta via release of nitric oxide. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 11, n. 56, p. 1415-1421, Nov. 2004.

LUNING, K.; PANG, S. J. Mass cultivation of seaweeds: current aspects and approaches. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 15, n. 2-3, p. 115-119, Mar.-June 2003.

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.

MACHLIN, L. J. Vitamin E. In: _____ **Handbook of Vitamins**. 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1991. Chapter 1, p. 99-144.

MACIEL DA SILVA, H. C. **Levantamento da ocorrência de carotenóides pró-vitamina A em algas marinhas do Estado do Ceará**. 2003. 60 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

MAMATHA, B. S.; NAMITHA, K. K.; SENTHIL, A.; SMITHA, J.; RAVISHANKAR, G. A. Studies on use of *Enteromorpha* in snack food. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n. 4, p.1707–1713, Apr. 2007.

McDERMID, K. J.; STUERCKE, B. Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 15, n. 6, p. 513-524, Nov. 2003.

MIYASHITA, K.; TAKAGI, T. Tocopherol content of Japanese algae and its seasonal variation. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 51, n. 11, p. 3115-3118, Nov. 1987.

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.

PIRES, K. M. S. **Avaliação sazonal de carotenóides provitamina A (alfa- e beta-caroteno) e vitamina E (alfa- e delta-tocoferol) em macroalgas marinhas pertencentes à família Caulerpaceae (Divisão Chlorophyta).** 2007. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PIRES, K. M. S.; ALENCAR, D. B. ; SOUSA, M. B.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S. Teores de alfa-caroteno e beta-caroteno em macroalgas marinhas desidratadas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 257-262, abr./jun. 2008.

RAVEN, P. H; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Protista I e II. In_____. **Biologia vegetal**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, Cap. 16 e 17, p. 335-383.

RICHARDSON, D.P. Food fortification. In: Ottaway, P.B. (ed). **The Technology of Vitamins in Food**. Glasgow. Blackie Academic & Professional. 1993. p. 233-245

RONCADA, M. J. Vitaminas lipossolúveis. In: DUTRA-DE OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. (eds.). **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 2000. p. 167-189.

ROSENAU, T.; CHEN, C. L.; HABICHER, W. D. A vitamin E derivative as a novel, extremely advantageous amino-protecting group. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 60, n. 25, p. 8120-8121, Dec. 1995.

ROSENAU; T.; HABICHER, W. D. "Vitamin CE," a novel prodrug form of vitamin E. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 45, n. 6, p. 1080-1084, June 1997.

SAKER-SAMPAIO, S. **Evaluation of *Palmaria palmata* and *Laminaria digitata* as potential human food products**. Tese (PhD) – University of Portsmouth, Portsmouth, 165 f. 1997.

SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J.; PASEIRO-LOSADA, P. High-performance liquid chromatography determination of α -tocopherol in macroalgae. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 976, n. 1-2, p. 277-284, Nov. 2002.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. Cap. 28 p. 641-676.

SOUSA, M. B. **Extração e quantificação de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol em macroalgas marinhas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa**. 2005. 75 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

SZE, P. Introduction to algal characteristics and diversity. In: _____. **A Biology of the Algae**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1997. Chapter 1. p.1-20.

URBANO, M. G.; GOÑI, I. Bioavailability of nutrients in rats fed on edible seaweeds, Nori (*Porphyra tenera*) and Wakame (*Undaria pinnatifida*), as a source of dietary fibre. **Food Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 281–286, Mar. 2002.

WIKFORS, G. H.; OHNO, M. Impact of algal research in aquaculture. **Journal of Phycology**, Malden, v. 37, n. 6, p. 968-974, Dec. 2001.

WILLIS, M. S.; WIAN JR, F. H. The role of nutrition in preventing prostate cancer: a review of the proposed mechanism of action of various dietary substances. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 330, n. 1-2, p. 57-83, Apr. 2003.

WONG, K. H.; CHEUNG, P. C. K. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. Part II – In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. **Food Chemistry**, Oxford, v. 72, n. 1, p. 11-17, Jan. 2001.

XIA, B.; ABBOTT, I. A. Edible seaweeds of China and their place in the Chinese diet. **Economic Botany**, New York, v. 41, n. 3, p. 341-353, July-Sept. 1987.

ZINGG, J. M. Vitamin E: An overview of major research directions. **Molecular Aspects of Medicine**, Bern, v. 28, p. 400-422, May 2007.