

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA**

**AVALIAÇÃO SAZONAL DE CAROTENÓIDES PROVITAMINA A (α - E
 β -CAROTENO) E VITAMINA E (α -TOCOFEROL) EM MACROALGAS
MARINHAS PERTENCENTES A FAMÍLIA CAULERPACEAE (DIVISÃO
CHLOROPHYTA)**

KELMA MARIA DOS SANTOS PIRES

**FORTALEZA-CEARÁ-BRASIL
DEZEMBRO / 2007**

AVALIAÇÃO SAZONAL DE CAROTENÓIDES PROVITAMINA A (α - E β -CAROTENO) E VITAMINA E (α -TOCOFEROL) EM MACROALGAS MARINHAS PERTENCENTES A FAMÍLIA CAULERPACEAE (DIVISÃO CHLOROPHYTA)

KELMA MARIA DOS SANTOS PIRES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA DE PESCA.

**FORTALEZA-CEARÁ-BRASIL
DEZEMBRO / 2007**

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Ana Cristina Azevedo U. Melo CRB-3/572

P745a Pires, Kelma Maria dos Santos

Avaliação sazonal de carotenóides provitamina A (α - e β - caroteno) e vitamina E (α -tocoferol) em macroalgas marinhas pertencentes a família Caulerpacea (Divisão Chlorophyta) / Kelma Maria dos Santos Pires.

94f., il. color. enc.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

Área de Concentração : Recursos Pesqueiros

Orientadora: Profa. PhD Silvana Saker Sampaio

1. Nutrientes 2. Conteúdo mensal 3. CLAE I. Saker-Sampaio, Silvana (orient.) II. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação em Engenharia de Pesca III. Título

CDD 639.2

Esta dissertação foi submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Pesca, outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca de Ciências e Tecnologia da referida Universidade.

A transcrição de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de acordo com as normas da ética científica.

Kelma Maria dos Santos Pires

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ____/____/____

Prof^a Silvana Saker Sampaio, Ph.D.
Orientadora da Dissertação
Presidente

Prof. Alexandre Holanda Sampaio, Ph.D.
Conselheiro

Prof. Francisco Arnaldo Viana, D.Sc.
Conselheiro

Aos meus pais, Ocelo e Maria José,
por me amarem incondicionalmente
e pelo incentivo e apoio em todas as
etapas de minha vida.

Às minhas irmãs, Kelly e Kelry, e ao
meu noivo Cleber pela amizade,
apoio, motivação e cumplicidade.

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu o dom da vida, e pela sua presença constante em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, José Ocelo Pires e Maria José dos Santos Pires, as minhas irmãs, Kelly e Kelry e ao meu cunhado Tiago de Sousa pelo incentivo, motivação, compreensão e por estarem sempre presentes em minha vida.

Ao meu querido noivo, Cleber Pereira Cavalcante, pois sempre que eu quis fraquejar me encorajou a continuar em frente, pelo amor e carinho demonstrados nesses últimos anos e pelos domingos que abriu mão para me ajudar em minhas pesquisas.

Ao meu avô Olívio Maximiano (*in memoriam*), aos meus tios Aderson Maximiano e Agostinho Maximiano (*in memoriam*) pela ajuda e apoio aos meus estudos.

Ao meu querido primo Paulo Sérgio Gadelha que sempre foi muito presente nessa minha jornada.

A Prof^ª Dr^ª Silvana Saker Sampaio por ter acreditado em meu potencial, pela valiosa orientação e conhecimentos passados durante execução deste trabalho e pelo carinho e amizade.

Ao Prof^º Dr^º Alexandre Holanda Sampaio, pelo apoio durante a realização deste experimento, sempre procurando proporcionar boas condições de trabalho e pelas valiosas sugestões.

Ao Prof^º Dr^º Francisco Arnaldo Viana, por ter tão gentilmente aceito participar da minha banca de dissertação e por suas valiosas sugestões.

Ao Prof^º Dr^º Wladimir Ronald Lobo Farias, por ter sido muito prestativo sempre que o solicitei.

A Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa – FUNCAP, por ter me concedido a bolsa durante todo o meu curso de mestrado.

Aos meus amigos, Rômulo Malta, Jonas Guarany e Filipe Nepomuceno pela ajuda na execução dos trabalhos de laboratório.

Ao amigo Daniel Alencar (meu bebeim) pelo seu companheirismo e ajuda incondicional e por muitas vezes ter renunciado suas horas de lazer para poder me acompanhar na realização de meus experimentos.

A minha querida amiga Márcia Barbosa, por seu carinho e pelos seus valiosos ensinamentos a mim passados desde a época da graduação.

Aos meus amigos Eudismar Nunes, Durvânia Andrade, Olavo Mourão e Ivone Coelho que sempre se preocuparam com meu bem estar.

Aos meus amigos do laboratório BIOMAR, Ariévilo, Paula, Valeska e José Júnior pelos momentos de descontração.

A minha ex-professora e hoje amiga Alessandra Cristina da Silva pelas valiosas sugestões na estatística do meu trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação que contribuíram para a minha formação profissional, em especial, ao Prof^o Dr^o José Wilson Calíope de Freitas, que foi tão compreensivo comigo durante suas disciplinas.

A todos, os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Macroalgas marinhas	4
2.2. Carotenóides	10
2.2.1. Estrutura química dos carotenóides	13
2.2.2. Carotenóides provitamina A	16
2.2.3. Deficiência de vitamina A	18
2.2.4. Absorção e Transporte dos carotenóides pelo organismo	19
2.3. Vitamina E	21
2.3.1. Estrutura química da vitamina E	25
2.3.2. Atividade biológica da vitamina E	26
2.3.3. Deficiência de vitamina E	27
2.3.4. Absorção e Transporte dos tocoferóis pelo organismo	29
2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência	31
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1. Coleta das algas e Preparação do material	33
3.2. Reagentes	34
3.3. Preparação dos extratos, Saponificação e Partição	34
3.4. Soluções-padrão de β-caroteno e de α-tocoferol	35
3.5. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa	36
3.6. Cálculo dos teores de α - e β -caroteno e de α -tocoferol	36
3.7. Análises estatísticas	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1. Curvas padrão de β -caroteno e de α -tocoferol	40
4.2. Carotenóides provitamina A	41
4.3. Vitamina E (α-tocoferol)	65
5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS	84

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Espécies de <i>Caulerpa</i> de ocorrência mais comum no litoral do Ceará.	6
Figura 2. Estrutura e sistema de numeração dos carotenóides (BRITTON, 1995).	15
Figura 3. Estruturas dos carotenóides de ocorrência mais comum na natureza e quantitativamente importantes (ROWAN, 1989).	16
Figura 4. Clivagem simétrica e assimétrica do β -caroteno para produção de retinal, retinol e ácido retinóico (AMBRÓSIO et al., 2006).	18
Figura 5. Biossíntese da vitamina E. O quadro azul destaca os quatro tocoferóis naturais em plantas (HOFIUS; SONNEWALD, 2003).	23
Figura 6. Estruturas químicas do tocoferol e tocotrienol (CERQUEIRA et al., 2007).	25
Figura 7. Curva padrão do β -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.	40
Figura 8. Curva padrão do α -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.	41
Figura 9. Cromatograma típico de β -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.	42
Figura 10. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em <i>Caulerpa sertularioides</i> "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.	44
Figura 11. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em <i>Caulerpa prolifera</i> "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.	45
Figura 12. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em <i>Caulerpa cupressoides</i> "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.	46

- Figura 13. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa mexicana* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 47
- Figura 14. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa racemosa* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 48
- Figura 15. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa sertularioides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 55
- Figura 16. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa prolifera* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 56
- Figura 17. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa cupressoides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 57
- Figura 18. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa mexicana* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 58
- Figura 19. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa racemosa* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 59
- Figura 20. Cromatograma típico de α -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição. 66
- Figura 21. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa sertularioides* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 68
- Figura 22. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa prolifera* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 68
- Figura 23. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa cupressoides* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 69

- Figura 24. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa mexicana* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 69
- Figura 25. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa racemosa* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. 70
- Figura 26. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa sertularioides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 75
- Figura 27. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa prolifera* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 75
- Figura 28. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa cupressoides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 76
- Figura 29. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa mexicana* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 76
- Figura 30. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa racemosa* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 77

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Distribuição dos carotenóides em algas marinhas (LIAAEN-JENSEN, 1977; ROWAN, 1989).	12
Tabela 2. Teores de retinol equivalente e porções para que as espécies de <i>Caulerpa</i> analisadas “in natura” sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A.	53
Tabela 3. Teores de retinol equivalente e porções para que as espécies de <i>Caulerpa</i> analisadas desidratadas sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A.	61
Tabela 4. Teores de α -tocoferol equivalente e porções para que as espécies de <i>Caulerpa</i> analisadas “in natura” sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E.	73
Tabela 5. Teores de α -tocoferol equivalente e porções para que as espécies de <i>Caulerpa</i> analisadas desidratadas sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E.	81

RESUMO

As algas marinhas são fontes de uma grande variedade de compostos benéficos para o homem, dentre os quais se destacam os minerais, as fibras dietárias e as vitaminas (A, B, C e E). O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de variação sazonal nos teores de α - e β -caroteno (carotenóides provitamina A) e de α -tocoferol (vitamina E), em cinco espécies de macroalgas marinhas pertencentes ao gênero *Caulerpa* (Família Caulerpaceae, Divisão Chlorophyta), “in natura” e desidratada. Os conteúdos desses nutrientes nas algas desidratadas foram comparados com aqueles nas algas “in natura”, com o objetivo de verificar se houve alteração pelo processo de desidratação. As espécies de macroalgas marinhas foram coletadas mensalmente, de janeiro a dezembro de 2006, durante as marés baixas na Praia do Pacheco, Caucaia-CE. As análises de α - e β -caroteno e α -tocoferol foram realizadas a partir da extração da alga em metanol-água (90:10) nas proporções 1:10 (p/v), nas amostras “in natura”, e 1:20 (p/v), nas desidratadas, saponificação com hidróxido de potássio 5% por 30 min a 70°C e partição em *n*-hexano que foi evaporado sob corrente de ar. O resíduo foi suspenso em 1 mL de metanol no momento da análise cromatográfica e 100 μ L foram injetados manualmente. O sistema cromatográfico consistiu em uma coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5ODS-2 (4,6 x 250 mm) e uma fase móvel constituída de metanol:tetrahidrofurano (90:10, v/v), com fluxo de 1,5 mL min⁻¹. O detector foi ajustado em 450 nm e 292 nm e os cromatogramas registrados através do sistema UnicornTM versão 5.0. Todas as espécies de *Caulerpa* “in natura” e desidratadas analisadas no presente trabalho apresentaram tanto α -caroteno quanto β -caroteno e as suas distribuições mostraram diferenças ao longo dos doze meses de coleta. De um modo geral, os teores de α -caroteno foram superiores aos de β -caroteno. As perdas nos conteúdos de carotenóides provitamina oscilaram entre 10% e 94%. Para que as algas analisadas neste trabalho fossem consideradas fontes excelentes de vitamina A seria necessário que as porções consumidas diariamente variassem de 52 g a 689 g, quando consumidas “in natura” ou de 42 g a 469 g, quando desidratadas. As cinco espécies analisadas neste trabalho apresentaram α -tocoferol, tanto nas amostras “in natura” quanto nas desidratadas, com exceção de *C. racemosa* coletada em março que após ser submetida a secagem não foi detectado α -tocoferol, e sua distribuição foi variável ao longo do ano. Nos teores de α -tocoferol foi observado perdas que variaram de 22 a 91%. As porções que deveriam ser consumidas diariamente para que as espécies de *Caulerpa* estudadas fossem capazes de fornecer $1/2$ da IDR são relativamente pequenas, devendo oscilar entre 11 g e 168 g, quando “in natura”, ou entre 13 g e 70 g, quando desidratadas. As quantidades de retinol equivalente e α -tocoferol equivalente nas algas analisadas no presente trabalho não diferiram muito daquelas encontradas nos vegetais normalmente consumidos.

ABSTRACT

Marine macroalgae are sources of a great variety of beneficial compounds such as minerals, dietary fibers and vitamins. The aim of this work was to verify seasonal variation upon both provitamin A carotenoids (α - and β -carotene) and vitamin E (α -tocopherol) contents in five species of the marine green macroalga *Caulerpa* both fresh and oven-dried at 40°C for 15 h. The contents in dried algae were compared to those in fresh algae to evaluate the losses after drying. Algal material was collected monthly from January to December 2006, in Pacheco Beach, Caucaia, Ceará. Analyses of α - and β -carotene and α -tocopherol were carried out in extracts 1:10 (p/v) for fresh alga and 1:20 (p/v) for dried alga using aqueous methanol (90:10, v/v). They were saponified with 5% KOH and partitioned into *n*-hexane, which was then evaporated. The residues were suspended in 1 mL methanol prior to HPLC analyses. Aliquots of 100 μ L were injected in a HPLC system consisting of a Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS-2 column (4.6 x 250 mm) and a mobile phase of methanol:tetrahydrofurane (90:10, v/v), delivered at 1.5 mL min⁻¹. The detector was set at 450 nm for α - and β -carotene and 290 nm for α -tocopherol. Chromatograms were registered at UnicornTM version 5.0. All samples showed α - and β -carotene and α -tocopherol, but their distribution along the year was variable. In general, the contents of α -carotene were greater than those of β -carotene. The losses of α - and β -carotene varied between 10% and 94%. In order to be considered an excellent source of vitamin A, the daily consumption would be 52 g to 689 g of fresh alga or 42 g to 469 g of dried alga. α -Tocopherol was detected in all samples except in dried *C. racemosa* collected in March. Similar to the distribution of α - and β -carotene along the year, α -tocopherol contents varied too. Losses varied from 22% to 91%. Daily portions to supply 50% of the Recommended Daily Allowance (RDA) would be 11 g to 168 g of fresh alga or 13 g to 70 g of dried alga. Amounts of vitamin A (retinol equivalents) and vitamin E (tocopherol equivalents) in all algae analyzed were not very different from most vegetables normally consumed.

1. INTRODUÇÃO

As algas marinhas são fontes de uma grande variedade de compostos benéficos para o homem, apresentando diversas aplicações em nutrição, fertilização do solo, indústria de alimentos e outras áreas biotecnológicas (OLIVEIRA, 1997; MCHUGH, 2003). Elas têm sido usadas na alimentação humana, por vários séculos, principalmente nos países da Ásia como China, Japão, Coréia e Filipinas, onde as espécies mais consumidas são *Laminaria japonica*, *Undaria pinnatifida* e *Porphyra* spp (LIPKIN, 1985; XIA; ABBOTT, 1987; LUNING; PANG, 2003). Na Europa, predomina o consumo de *Palmaria palmata*, *Porphyra* spp, *Chondrus crispus* e *Mastocarpus stellatus* (INDERGAARD; MINSAAS, 1991; BURTIN, 2003). Estas espécies apresentam características que promovem seu uso como alimento humano e seu consumo é limitado apenas pela aceitabilidade do consumidor.

Nas últimas décadas, a comunidade científica tem demonstrado interesse crescente pelo estudo dos carotenóides e das vitaminas lipossolúveis, que podem estar associados à prevenção e/ou redução de doenças cardiovasculares e outras doenças degenerativas (JIMENEZ-ESCRIG et al., 2001; GRASSMANN et al., 2002; DRISKO et al., 2003; STAHL, SIES, 2003; WILLIS; WIANS JR, 2003; JOHNSON, 2004).

Os carotenóides, divididos em duas classes: carotenos (formados apenas de carbono e hidrogênio) e xantofilas (que possuem pelo menos um átomo de oxigênio na molécula), consistem em um grupo de pigmentos naturais, amplamente distribuídos na natureza, onde desempenham várias funções biológicas (HORNERO-MÉNDEZ; BRITTON, 2002; BAKER;

GÜNTHER, 2004; TAPIERO et al., 2004; LIN; CHEN, 2005). Alguns carotenóides, especialmente o β -caroteno, são importantes na nutrição humana como fonte de vitamina A (BRITTON et al., 1995), a qual desempenha importante papel em vários processos metabólicos destacando-se o processo visual (OLSON, 1993; RONCADA, 2000; NELSON; COX, 2006). Além de alguns carotenóides serem precursores de vitamina A, esses pigmentos são conhecidos por seu potencial antioxidante, prevenindo assim muitas patologias humanas (AMBRÓSIO et al., 2006; CARDOZO et al., 2007; GAMA; SYLOS, 2007; RAO; RAO, 2007; SEMBA et al., 2007).

Da mesma forma, a vitamina E é considerada um micronutriente essencial à nutrição humana e o mais efetivo antioxidante lipossolúvel encontrado na natureza (MACHLIN, 1991; SEN et al., 2007), estando também relacionada com a prevenção e/ou redução de inúmeras doenças (BRIGELIUS-FLOHÉ et al., 2002; SEN et al., 2007; TRABER; ATKINSON, 2007).

De acordo com Burtin (2003), as algas pardas são particularmente ricas em carotenóides especialmente fucoxantina, β -caroteno e violaxantina. Os principais carotenóides das algas verdes e vermelhas são β -caroteno, α -caroteno e seus derivados hidroxilados, zeaxantina e luteína, respectivamente. Quanto ao conteúdo de vitamina E, as algas pardas são melhores fontes desse micronutriente, apresentando α -, β - e γ -tocoferol, do que as algas verdes e vermelhas, que possuem apenas α -tocoferol.

Apesar do potencial nutricional das macroalgas marinhas, fatores como sazonalidade, condições ambientais de temperatura, salinidade e luminosidade, frescor, método de conservação e processamento (industrial ou doméstico), podem alterar a qualidade nutricional por afetar o conteúdo

vitamínico desses vegetais (MABEAU; FLEURENCE, 1993; GALLAND-IRMOULI et al., 1999; BERNHARDT; SCHLICH, 2006; MARINHO-SORIANO et al., 2006), porém, pesquisas que abordam o efeito do calor sobre esses compostos são bastante escassas (SAKER-SAMPAIO, 1997).

O número de trabalhos abordando a composição e/ou a distribuição e a variação sazonal de carotenóides e vitamina E em algas marinhas é relativamente pequeno, quando comparado às informações disponíveis sobre os vegetais normalmente consumidos como alimentos. Entretanto, o Laboratório de Bioquímica Marinha – BIOMAR, da Universidade Federal do Ceará, desde 2003 vem estudando a ocorrência e distribuição de tais compostos presentes nas espécies de macroalgas marinhas do litoral do Ceará (MACIEL DA SILVA, 2003; SOUSA, 2005; PIRES 2006).

Diante do importante papel que as algas vêm desempenhando na indústria e na nutrição animal e humana, muitas pesquisas ainda são necessárias para elucidar o verdadeiro valor nutricional das macroalgas marinhas, para que elas possam ser aproveitadas da melhor maneira.

Os teores de α - e β -caroteno nas algas do gênero *Caulerpa* analisadas por Pires (2006) e a abundância dessas espécies no litoral cearense impulsionaram a escolha desse gênero para ser objeto de estudo no presente trabalho, verificando a existência de variação sazonal nos teores de α - e β -caroteno e de α -tocoferol, em cinco espécies do gênero *Caulerpa* “in natura” e desidratada. Os conteúdos desses nutrientes nas algas desidratadas foram comparados com aqueles nas algas “in natura”, para verificar se houve alteração pelo processo de desidratação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Macroalgas marinhas

As algas pertencem a um diversificado grupo de organismos fotossintéticos abrangendo desde células únicas e microscópicas a estruturas complexas, como as macroalgas marinhas que podem atingir muitos metros de comprimento. Podem ser classificadas como organismos eucariontes ou procariontes; as eucariontes pertencem ao Reino Protista juntamente com fungos e protozoários, e as procariontes estão incluídas no Reino Monera junto com as eubactérias. Crescem tanto em água doce como em ambiente marinho, sendo encontradas também em ambientes terrestres úmidos. Nos locais onde crescem, as algas desenvolvem papel ecológico comparável àquele das plantas terrestres. Como organismos fotossintéticos, são os maiores produtores de oxigênio e matéria orgânica nos ambientes aquáticos, sendo responsáveis por 30 a 50% da fotossíntese da Terra. Por converterem matéria inorgânica em compostos orgânicos que podem ser utilizados por organismos heterotróficos, as algas ocupam o primeiro nível em muitas cadeias alimentares (SZE, 1997; RAVEN et al., 2001; VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

As macroalgas marinhas bentônicas são encontradas ao longo dos costões rochosos e dos recifes de maré, onde estão distribuídas em faixas bem definidas, visíveis em relação aos níveis de marés. A complexidade estrutural das macroalgas reflete sua capacidade de sobrevivência na zona de marés,

onde duas vezes por dia estão sujeitas a amplas flutuações de umidade, temperatura, salinidade e luz.

As macroalgas são classificadas em três divisões: Chlorophyta (algas verdes), que podem ser encontradas em ambientes marinhos, continentais ou mesmo terrestres; Rhodophyta (algas vermelhas) e Phaeophyta (algas pardas) que são primariamente marinhas existindo poucos gêneros de água doce. Essa classificação tem como base a grande variação de suas características tais como: captação de luz para a fotossíntese, polissacarídeos de reserva, organização celular, filogenia molecular, ciclo de vida, morfologia e ecologia (SZE, 1997; RAVEN et al., 2001; VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

A divisão Chlorophyta constitui o grupo mais diversificado de todas as algas, tanto na morfologia quanto no histórico de vida, compreendendo 17.000 espécies. Apesar da maioria ser aquática, elas também são encontradas em uma ampla variedade de ambientes (neve, tronco de árvores, solos) (RAVEN et al., 2001). Dentro dessa divisão, pode-se destacar o gênero *Caulerpa* (Família Caulerpaceae), que é constituído por algas marinhas bentônicas dotadas de um talo rastejante formado por uma porção rizomatosa que se espalha ao longo da superfície do substrato, fixando-se através de tufo de rizóides. Ao longo da porção rizomatosa são encontrados ramos eretos, também chamados de assimiladores, por sua vez ramificados, com uma morfologia característica para cada diferente espécie, cenocíticos em todas as porções (JOLY, 1965; SZE, 1997). Nesse gênero, as espécies *Caulerpa cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera*, *C. racemosa* e *C. sertularioides* podem ser ressaltadas como as de ocorrência mais comum no litoral cearense (Figura 1).

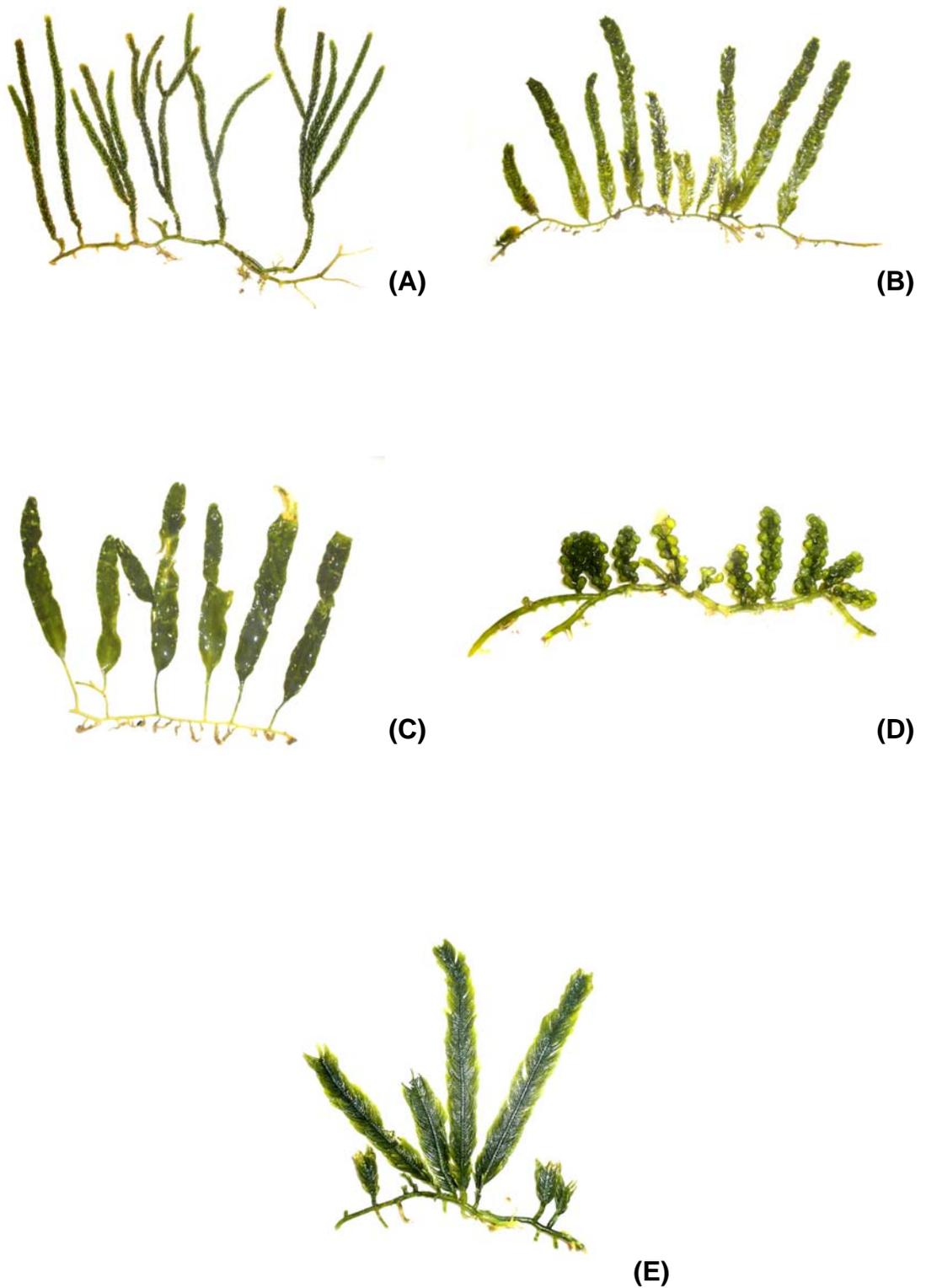


Figura 1. Espécies de *Caulerpa* de ocorrência mais comum no litoral do Ceará.
(A) *C. cupressoides*; (B) *C. mexicana*; (C) *C. prolifera*; (D) *C. racemosa* e
(E) *C. sertularioides*.

A produção mundial de plantas aquáticas provenientes da aquicultura foi de 13.930.570 toneladas em 2004, gerando US\$ 6.809.424. Dessa produção, as algas pardas contribuíram com 51,64% (7.194.316 toneladas), as vermelhas com 29,20% (4.067.028 toneladas) e as verdes com 0,14% (19.046 toneladas) (FAO, 2004).

O consumo de macroalgas marinhas na alimentação humana é uma tradição bastante antiga no Oriente, datando dos séculos 4^o no Japão e 6^o na China. Hoje, Japão, China e República da Coreia são os maiores consumidores de algas como alimento (OLIVEIRA, 1997; McHUGH, 2003).

Nos países ocidentais, a utilização de algas marinhas ocorre predominantemente como fonte de ficocolóides, como alginatos, carragenanas e ágar, e como agentes espessantes e gelificantes utilizados em várias indústrias, incluindo a de alimentos. Entretanto, em 1990 a França regulamentou o uso de onze macroalgas (Chlorophyta: *Ulva* spp e *Enteromorpha* spp; Rhodophyta: *Porphyra umbilicalis*, *Palmaria palmata*, *Gracilaria verrucosa* e *Chondrus crispus* e Phaeophyta: *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *F. serratus*, *Himanthalia elongata* e *Undaria pinnatifida*) e uma microalga (Cyanophyta: *Spirulina* sp) para consumo humano (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

No Brasil, a região costeira compreendida entre o Estado do Ceará e o Norte do Rio de Janeiro abriga a flora algal mais diversificada do país. No tocante à exploração das espécies para fins comerciais, a atividade de maior porte corresponde à coleta de algas vermelhas (*Gracilaria* e *Hypnea*) no litoral do Nordeste, principalmente entre os estados do Ceará e da Paraíba. O registro de coleta da *Gracilaria* data da década de 60. A biomassa coletada é

destinada à exportação ou à produção de ágar no próprio país. Da mesma forma, a *Hypnea* ou é exportada como matéria-prima ou recebe um processamento prévio para ser utilizada na indústria de carragenana; nesse caso particular, a biomassa consiste em algas arribadas nas praias (VEDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

As algas são de interesse nutricional, pois apresentam características importantes como baixo valor calórico, sendo ricas em vitaminas (A, B, C e E), minerais (cálcio, magnésio, fósforo, potássio, sódio, ferro e iodo) e fibras dietárias (ITO; HORI, 1989). Geralmente o conteúdo de lipídio é baixo contribuindo com 1 a 5% do peso seco, além de apresentar ácidos graxos poliinsaturados, principalmente das séries ω -3 e ω -6, os quais desempenham importante papel na prevenção de doenças cardiovasculares, osteoartrites e diabetes (BURTIN, 2003). Na alga vermelha *Gracilaria changgi*, o teor de lipídios é superior àqueles em alguns vegetais normalmente consumidos pelo homem, com exceção da soja, e 74% dos ácidos graxos presentes são insaturados com predominância da série ômega (NORZIAH; CHIANG, 2000). Ao lado dos ácidos graxos, na fração não saponificável, encontram-se os carotenóides como β -caroteno, luteína, violaxantina, dentre outros, os tocoferóis, os esteróis e os terpenóides (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

Nas algas verdes e pardas, os níveis de vitamina C variam de 500 a 3.000 mg kg⁻¹ peso seco, ao passo que nas vermelhas a variação é de 100 a 800 mg kg⁻¹ peso seco (BURTIN, 2003). Na alga verde *Monostroma undulatum*, esse teor variou de 159 a 455 g 100 g⁻¹ (RISSO et al., 2003), e em *G. changgi*, o conteúdo foi igual a 285 mg kg⁻¹, comparável àqueles encontrados em alface e tomate (NORZIAH; CHIANG, 2000). Com relação à quantidade de tocoferóis,

as algas pardas são as melhores fontes; por exemplo, *Ascophyllum* sp e *Fucus* sp apresentam teores entre 200 e 600 mg kg⁻¹ peso seco (BURTIN, 2003).

Minerais tais como cálcio, ferro, zinco, cobre e cádmio foram detectados em *G. changgi*, sendo considerada uma rica fonte dos dois primeiros, com teor de cinza, em base úmida, de 22,7 ± 0,6% (NORZIAH; CHIANG, 2000). Entretanto, a fração mineral pode responder por até 36% da matéria seca (BURTIN, 2003).

As fibras dietárias das algas diferem daquelas encontradas nas plantas terrestres em relação a sua composição, estrutura química, propriedades físico-químicas e efeitos biológicos. Essas fibras são freqüentemente incluídas em dietas, exibindo elevado potencial na prevenção de doenças (URBANO; GOÑI, 2002). O conteúdo total de fibras dietárias em *Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata*, *Undaria pinnatifida*, *Chondrus crispus* e *Porphyra tenera* varia de 33,6% a 50%, dos quais 19,6% a 64,9% pertencem à fração solúvel (MABEAU; FLEURENCE, 1993; RUPÉREZ; SARA-CALIXTO, 2001; BURTIN, 2003). O teor de fibras solúveis na alga marinha verde *Ulva fasciata* foi igual a 34,5% do peso seco (SOUSA, 2000) e na alga *G. changgi*, 24,7 ± 0,7% em base úmida (NORZIAH; CHIANG, 2000).

O teor de proteínas nas algas pardas varia de 5% a 15% peso seco, enquanto que nas verdes e vermelhas, os conteúdos estão entre 10% e 30% do peso seco (MABEAU; FLEURENCE, 1993; WONG; CHEUNG, 2001; BURTIN, 2003; McDERMID; STUERCKE, 2003). Entretanto, duas espécies de algas vermelhas, *Porphyra tenera* e *Palmaria palmata*, apresentam conteúdos de proteína superiores e iguais a 47% e 35%, respectivamente (FLEURENCE, 1999). Norziah; Chiang (2000) encontraram 6,9% de proteína, em base úmida,

em *G. changii*. Esse teor foi inferior ao da soja, porém sempre maior do que os outros vegetais estudados. Além disso, todos os aminoácidos essenciais e seis não essenciais foram encontrados. O teor de proteína em *Palmaria palmata* foi avaliado mensalmente, tendo variado de 9,7% a 25,5% do peso seco. Houve uma clara variação sazonal no perfil protéico, com valores máximos ocorrendo no período inverno-primavera e mínimos, no verão-outono (GALLAND-IRMOULI et al., 1999). Marinho-Soriano et al. (2006) estudaram a variação sazonal na composição química da rodofícea *Gracilaria cervicornis* e da feofícea *Sargassum vulgare* e concluíram que os conteúdos de proteínas, carboidratos, lipídios e fibras são influenciados pelos parâmetros ambientais.

A composição química da alga marinha verde *Monostroma undulatum* foi analisada por Risso et al. (2003), que observaram uma importante flutuação nos conteúdos dos nutrientes e sugerem que essa variação seja observada quando a alga for utilizada para consumo humano.

Apesar das algas serem consideradas boas fontes de vitaminas, sais minerais, fibras, lipídios e proteínas, esses conteúdos variam de acordo com a espécie, estação do ano, condições ambientais, frescor e métodos de conservação (GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998; MABEAU; FLEURENCE, 1993; GALLAND-IRMOULI et al., 1999; MARINHO-SORIANO et al., 2006).

2.2. Carotenóides

Os carotenóides consistem em um grupo de pigmentos naturais com mais de setecentos diferentes compostos já caracterizados (HORNERO-MÉNDEZ; BRITTON, 2002), dos quais entre cinquenta e sessenta têm

atividade de vitamina A, sendo o β -caroteno, o de maior destaque (OLSON, 1993; OLSON; KRINSKY, 1995; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004). São responsáveis pela coloração vermelha, laranja e amarela das folhas, frutas e flores das plantas, de alguns pássaros, insetos, peixes e crustáceos, que os incorporam através de suas dietas, tendo em vista que somente as plantas superiores, bactérias, fungos e algas são capazes de sintetizar os pigmentos carotenóides (MAYNE, 1996; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004; TAPIERO et al., 2004, BHOSALE; BERNSTEIN, 2007; RAO; RAO, 2007). Esses compostos são produzidos predominantemente nos tecidos fotossintéticos de plantas e algas (BRITTON et al., 1995), tendo as hortaliças e as frutas como as principais fontes alimentares desses compostos (RONCADA, 2000). Estima-se que a produção de carotenóides na natureza seja superior a 100 milhões de toneladas, com a maior parte dessa produção sendo representada pela fucoxantina das algas pardas (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004).

Nos vegetais, os carotenóides são encontrados nos plastídios formando um complexo pigmento-proteína e atuam como pigmentos acessórios da fotossíntese e na proteção contra a fotoxidação (BARTLEY; SCOLNIK, 1995). Nos animais, entretanto, eles são encontrados em quase todos os tecidos, principalmente no fígado e no tecido adiposo (OLSON, 1994).

A distribuição dos carotenóides entre os diferentes grupos de plantas não segue um padrão único (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004) e sua composição é afetada por fatores como variedade, grau de maturação, clima, tipo de solo, condições de cultivo e área geográfica de produção, condições de colheita, processamento e armazenamento (CAMPOS; ROSADO, 2005).

Os carotenóides encontrados em algas marinhas apresentam distribuição diferenciada. As clorófitas normalmente contêm α -caroteno, β -caroteno e comumente luteína, zeaxantina, anteraxantina, violaxantina e neoxantina derivados do β -caroteno. As rodófitas normalmente contêm α -caroteno e β -caroteno, assim como seus derivados hidroxilados, luteína e zeaxantina, respectivamente. As feófitas apresentam fucoxantina como principal pigmento, mas também β -caroteno e violaxantina (LIAAEN-JENSEN, 1977; ROWAN, 1989; HAUGAN; LIAAEN-JENSEN, 1994). Outros carotenóides de ocorrência menos freqüentes também estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Distribuição dos carotenóides em algas marinhas (LIAAEN-JENSEN, 1977; ROWAN, 1989).

Divisão	Carotenóides		
	Comuns	Ocasionais	Outros
Chlorophyta	β -Caroteno α -Caroteno Luteína Zeaxantina Anteraxantina Violaxantina Neoxantina	γ -Caroteno ε -Caroteno β -Criptoxantina α -Criptoxantina 5',6' epóxido Luteína epóxido Loroxantina β,β -Caroteno-2-ol β,β -Caroteno-2,2'-diol β,ε -Caroteno-2-ol Sifonaxantina Sifoneína	Equinenona 4'-Hidroxi-equinenona Cantaxantina 3-Hidroxi- cantaxantina Astaxantina
Rhodophyta	β -Caroteno α -Caroteno Luteína Zeaxantina	β -Criptoxantina α -Criptoxantina Anteraxantina Violaxantina Auroxantina Aurocromo Neoxantina Fucoxantina Taraxantina	
Phaeophyta	β -Caroteno Violaxantina Fucoxantina		ε -Caroteno Zeaxantina Anteraxantina Diatoxantina

Nas algas, a principal função dos carotenóides é absorver luz e transferir essa energia luminosa para a clorofila *a*. Entretanto, quando as algas são expostas a elevadas quantidades de luz, os carotenóides atuam na fotoproteção dos cloroplastos, na extinção de espécies de oxigênio reativo e na absorção e dispersão do excesso de energia (SZE, 1997).

2.2.1. Estrutura química dos carotenóides

A estrutura única dos carotenóides propicia um notável potencial biológico na proteção dos tecidos contra os danos oxidativos e fotooxidativos através da extinção de radicais livres e espécies de oxigênio reativo, que são produzidos como resultado de processos metabólicos e patológicos (BRITTON, 1995; DEMBINSKA-KIEC, 2005). São benéficos à saúde humana, particularmente contra os males relacionados ao envelhecimento, algumas doenças degenerativas, certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares e catarata (OLSON; KRINSKY, 1995; MAYNE, 1996; RONCADA, 2000; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004). A diversidade biológica, a função e a ação dos carotenóides são determinadas por suas propriedades físicas e químicas (KRINSKY, 1994; BRITTON, 1995).

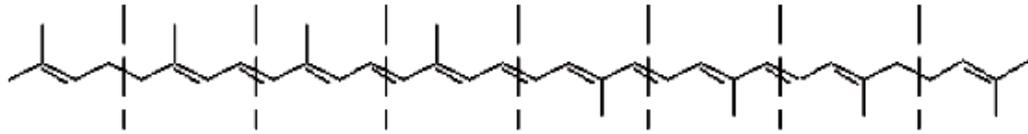
Os carotenóides são compostos terpenóides formados pela condensação de oito unidades de isopreno (BARTLEY; SCOLNIK, 1995), originando um esqueleto de quarenta átomos de carbono sintetizado pela ligação cauda-a-cauda de duas moléculas de geranyl que possuem vinte átomos de carbono cada. As extremidades das moléculas dos carotenóides podem ser lineares ou apresentar grupamentos cíclicos, como ciclohexanos ou ciclopentanos (OLIVER; PALOU, 2000). Quando a cadeia central apresenta um

grupamento final cíclico, este pode ser substituído por grupos funcionais contendo oxigênio (ROJAS-HIDALGO; OLMEDILLA, 1993; TAPIERO et al., 2004; STAHL; SIES, 2005; BHOSALE; BERNSTEIN, 2007). α -Caroteno, β -caroteno e licopeno são os principais constituintes do grupo dos carotenos. Zeaxantina, luteína, α -criptoxantina, β -criptoxantina e cantaxantina são as xantofilas mais importantes (STAHL; SIES, 2005).

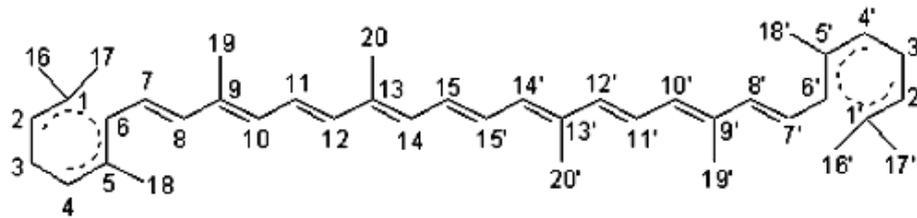
A estrutura básica da molécula dos carotenóides inclui um sistema de duplas ligações conjugadas, que lhes confere capacidade de absorver luz no espectro visível (400 a 700 nm), grande susceptibilidade à degradação oxidativa e isomerização geométrica ocasionada pela luz, calor e ácidos (BRITTON et al., 1995; STAHL; SIES, 2003, AMBRÓSIO et al., 2006).

O número de duplas ligações (sete ou mais) confere à molécula dos carotenóides várias configurações *cis* e *trans*, mas a forma *all-trans* predomina na natureza (STAHL; SIES, 2003; RAO; RAO, 2007). O β -caroteno, por exemplo, com nove duplas ligações conjugadas em sua cadeia poliênica pode, teoricamente, formar 272 estereoisômeros, enquanto seu isômero assimétrico, α -caroteno pode formar 512 (OLSON; KRINSKY, 1995). A estrutura básica e o esquema de numeração normalmente utilizado para carotenóides estão ilustrados na Figura 2A. A ciclização de uma ou ambas as extremidades da molécula, a combinação dos grupos funcionais finais, a adição de grupos funcionais contendo oxigênio e a mudança no nível de hidrogenação modificam o esqueleto carbônico dando origem a sete grupos terminais diferentes (Figura 2B), possibilitando uma ampla diversidade estrutural dos carotenóides (BRITTON, 1995; OLIVER; PALOU, 2000, RAO; RAO, 2007).

(A)



Licopeno

 β -caroteno

(B)

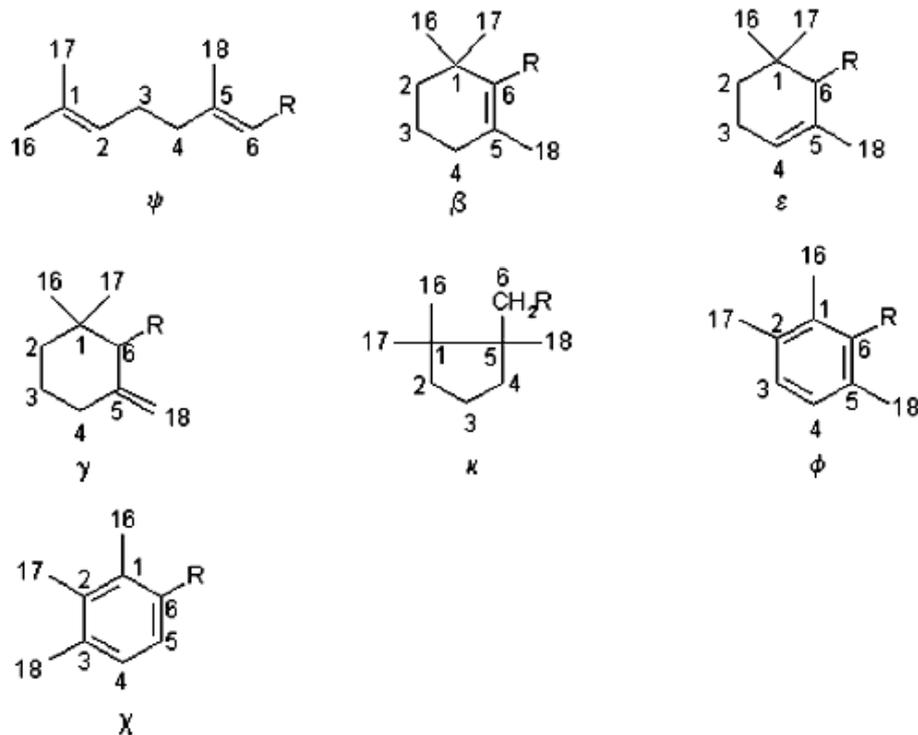


Figura 2. Estrutura e sistema de numeração dos carotenóides (BRITTON, 1995).

(A) Carotenóide acíclico (licopeno) e carotenóide dicíclico (β -caroteno); e (B) Sete grupos terminais de diferentes carotenóides naturais.

As estruturas dos carotenóides de ocorrência mais comum nas algas e quantitativamente importantes estão apresentadas na Figura 3 (ROWAN, 1989).

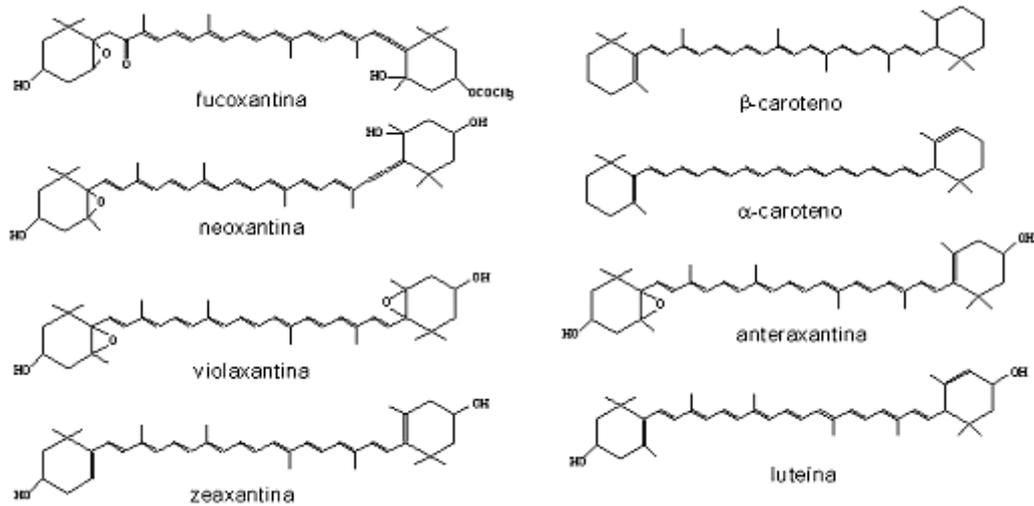


Figura 3. Estruturas dos carotenóides de ocorrência mais comum nas algas e quantitativamente importantes (ROWAN, 1989).

2.2.2. Carotenóides provitamina A

Os carotenóides também podem ser divididos em compostos com atividade de vitamina (provitamina A) e sem atividade de vitamina A (OLSON; KRINSKY, 1995).

A capacidade dos carotenóides para atuarem como vitamina A depende de sua conversão em retinol, assim como da presença do anel β -ionona insubstituível (RONCADA, 2000; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004; AMBRÓSIO et al., 2006). Por isso menos de 10% dos carotenóides encontrados na natureza são precursores de vitamina A. β -Caroteno, α -caroteno, γ -caroteno e β -criptoxantina possuem atividade de vitamina A, porém o β -caroteno é o que apresenta maior atividade biológica (RONCADA, 2000, AMBRÓSIO et al., 2006), sendo a principal fonte de vitamina A para muitos animais e humanos (BRITTON et al., 1995).

O termo vitamina A é genérico e se refere a todos os retinóides com atividade biológica de vitamina A, que têm importante participação no processo

visual, no crescimento e na reprodução (OLSON, 1993; RONCADA, 2000; CAMPOS; ROSADO, 2005). Em suas várias formas, funciona como hormônio e como pigmento visual do olho dos vertebrados (NELSON; COX, 2006).

Quimicamente, os retinóides são compostos por três domínios estruturais distintos: um anel β -ionona, uma cauda isoprenóide e um grupo terminal polar com estado de oxidação variável: hidroxila nos retinóis, aldeído nos retinais e carboxila nos ácidos retinóicos, todos ativos no organismo. O retinol é um álcool cíclico insaturado, formado por vinte átomos de carbono unidos por cinco ligações duplas conjugadas, que é responsável pelo transporte e armazenamento da vitamina. O retinaldeído está relacionado no ciclo visual, sendo o pigmento dos cones e bastonetes presentes nas células da retina que iniciam o processo visual de resposta à luz pela produção de um sinal neuronal enviado pelo cérebro. O retinol e o retinaldeído estão envolvidos na reprodução, enquanto o ácido retinóico possui atividade parcial de vitamina A, sendo a forma ativa na diferenciação celular. Ele atua por meio de proteínas receptoras presentes no núcleo celular e regula a expressão gênica para o desenvolvimento de tecidos epiteliais, incluindo a pele, não participando da visão ou da reprodução (NOY, 2000; RONCADA, 2000; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004; NELSON; COX, 2006).

O β -caroteno é convertido a retinal através da ação da enzima 15-15' β -caroteno dioxidase, a qual requer um detergente, oxigênio molecular e grupos sulfidrila livres. A clivagem enzimática dos carotenóides ocorre principalmente na mucosa intestinal, embora a enzima possa atuar em outros tecidos, como o fígado. A clivagem central divide o β -caroteno na dupla ligação central (15-15') e o produto resultante é o retinal, que pode ser convertido

reversivelmente a retinol e irreversivelmente a ácido retinóico. Na clivagem assimétrica são formados β -apocarotenóides, que podem ser convertidos a retinal, como demonstrado na Figura 4 (AMBRÓSIO et al., 2006).

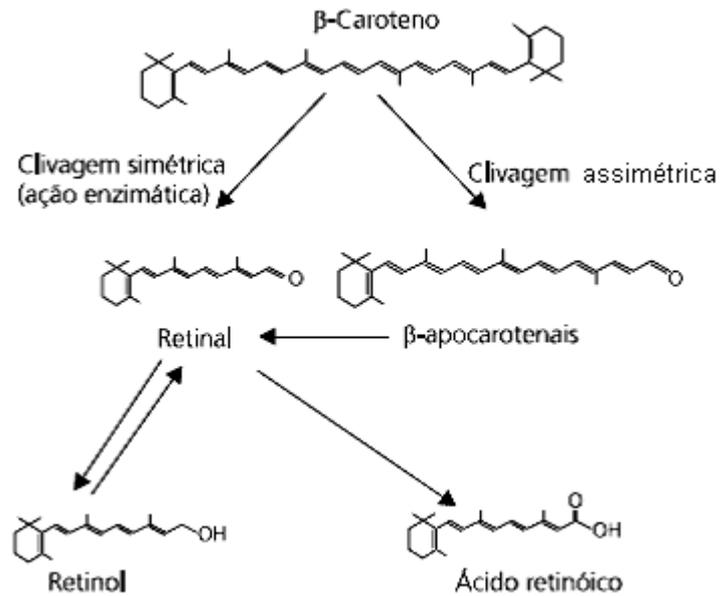


Figura 4. Clivagem simétrica e assimétrica do β -caroteno para produção de retinal, retinol e ácido retinóico (AMBRÓSIO et al., 2006).

2.2.3. Deficiência de vitamina A

A deficiência de vitamina A provoca vários sintomas no homem, incluindo desidratação da pele, olhos e mucosas, atraso no desenvolvimento e crescimento e cegueira noturna, considerada um sintoma precoce da carência dessa vitamina (NELSON; COX, 2006).

Essa deficiência é considerada um problema de saúde pública em mais da metade dos países, especialmente os pobres situados na África e Sudeste da Ásia, afetando severamente crianças e mulheres gestantes. Segundo a Organização Mundial de Saúde, estima-se que entre 140 e 250 milhões de crianças menores de cinco anos de idade são afetadas pela deficiência de vitamina A e estão sujeitas a um grande risco de ficarem cegas, contraírem

várias infecções, especialmente sarampo e diarreia, e até mesmo morrerem (WHO, 2000).

Apesar de alguns carotenóides serem precursores da vitamina A, eles não são considerados micronutrientes essenciais e não existe uma ingestão diária recomendada (IDR) específica para eles. Contudo, no cômputo geral da atividade de vitamina A dos alimentos, expressa em retinol equivalente (RE), eles são levados em consideração (ROJAS-HIDALGO; OLMEDILLA, 1993; BRITTON, 1995; RONCADA, 2000).

Segundo a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) Nº 269, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005), que trata da IDR de vitaminas, minerais e proteínas para indivíduos e diferentes grupos populacionais, a IDR de vitamina A consiste em 600 µg de RE para adultos. 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.

Os alimentos podem ser considerados como fontes excelentes ou úteis de um determinado nutriente. Para que um alimento seja considerado uma fonte excelente de vitamina A, por exemplo, a ingestão de uma porção razoável desse alimento deve fornecer $\frac{1}{2}$ da IDR. Quando a ingestão de uma porção razoável for responsável por $\frac{1}{6}$ da IDR, o alimento pode ser considerado uma fonte útil (RICHARDSON, 1993).

2.2.4. Absorção e Transporte dos carotenóides pelo organismo

Os seres humanos absorvem quantidades substanciais de carotenóides provenientes de suas dietas, provavelmente muitos miligramas por dia (HANDELMAN, 2001), porém os carotenóides são biologicamente menos

disponíveis do que a vitamina A, talvez por causa de sua estrutura e organização dentro da célula, requerimento específico por sais biliares durante a absorção e baixa taxa de clivagem em vitamina A no intestino e outros tecidos (OLSON, 1991). Aproximadamente 5% dos carotenóides totais de um alimento são absorvidos pelo intestino e 50% ou mais são absorvidos por soluções micelares (OLSON, 1994). A absorção dos carotenóides provitamina A varia de 20% a 50%, enquanto a da vitamina A pré-formada gira em torno de 70% a 90% (MOURÃO et al., 2005).

Depois de ingeridos, os carotenóides são incorporados em micelas mistas constituídas de ácido biliares, ácidos graxos livres, monoglicerídios e fosfolipídios. A absorção ocorre sem clivagem e, em carotenóides como β -caroteno e criptoxantina, que são parcialmente convertidos a retinal, a hidrólise acontece no interior da célula intestinal. Posteriormente o retinal é convertido a retinol e transportado por meio dos vasos linfáticos ao fígado pelos quilomícrons, na forma de ésteres de retinol (AMBRÓSIO et al., 2006; RAO; RAO, 2007).

Existem vários fatores que afetam a absorção dos carotenóides pelo organismo, como por exemplo, tipo ingerido, ligações moleculares, quantidade na dieta, matriz em que se encontra, presença de fatores inibidores ou facilitadores da absorção, estado nutricional do indivíduo, fatores genéticos e interação entre essas variáveis (VAN HET HOF et al., 2000; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004).

De acordo com Campos; Rosado (2005), dentre os fatores que influenciam a biodisponibilidade dos carotenóides, os mais estudados têm sido aqueles relacionados à dieta. O principal deles é o tipo de alimento em que os

carotenóides estão presentes, isso porque esses pigmentos têm distribuição diferenciada nos vegetais, podendo ocupar diferentes locais em uma mesma planta ou em plantas diferentes. A presença de fibras também pode interferir na sua biodisponibilidade. O processamento e a homogeneização mecânica dos alimentos que reduzem o tamanho das partículas podem elevar a biodisponibilidade dos carotenóides. O tratamento térmico em alimentos de origem vegetal também pode aumentar sua biodisponibilidade, uma vez que o calor promove uma desnaturação mais eficiente dos complexos pigmento-proteína, nos quais os carotenóides estão ligados, embora a intensidade e a duração do tratamento possam promover a isomerização da forma *trans* para a *cis*, sendo essa última menos biodisponível. O consumo de lipídios é importante para a absorção dos carotenóides, uma vez que esses compostos são absorvidos de forma semelhante aos demais lipídios da dieta. Além desses fatores relacionados diretamente a dieta, a presença de parasitas intestinais pode diminuir sua absorção. Sabe-se ainda que quanto maior o estoque de vitamina A, menor será a taxa de conversão dos carotenóides.

2.3. Vitamina E

Vitamina E é o termo genérico atribuído a um grupo de oito substâncias encontradas na natureza, com graus variados de atividade vitamínica, fazendo parte duas séries de compostos: tocoferóis e tocotrienóis, cada uma com quatro formas diferentes (α , β , γ e δ). De todos os compostos, o α -tocoferol é o que apresenta maior atividade biológica e o mais facilmente encontrado em fontes naturais (MACHLIN, 1991; RONCADA, 2000). As atividades vitamínicas

relativas de α -, β -, γ - e δ -tocoferol são 100%, 50%, 10% e 3%, respectivamente (GRUSAK; DELLAPENNA, 1999).

A vitamina E tem localização única na membrana (MACHLIN, 1991), sendo encontrada predominantemente na bicamada lipídica das membranas celulares e na monocamada lipídica das lipoproteínas plasmáticas (MARZZOCO; TORRES, 2007), fazendo parte da matéria não saponificada e podendo ocorrer junto com fosfolípidios, carotenóides, clorofilas e álcool triterpenol (GÓMEZ-CORONADO et al., 2004). É vital para o funcionamento dos plastídios (DELLAPENNA, 2005) e para a manutenção da integridade das membranas (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2002), protegendo os ácidos graxos das membranas fotossintéticas contra os danos do estresse oxidativo (MAEDA; DELLAPENNA, 2007).

A vitamina E é sintetizada apenas pelas plantas e outros organismos fotossintetizante, incluindo as algas (BRAMLEY et al., 2000; DELLAPENNA, 2005; MAEDA; DELLAPENNA, 2007). A biossíntese dos tocoferóis (Figura 5) ocorre através da condensação do ácido homogentísico, derivado da via siquimato, com o fitil pirofosfato (fitil-PP), derivado da via não-mevalonato, através da ação da enzima homogentisato preniltransferase (HPT). Essa reação produz o 2-metil-6-fitilhidroquinona, intermediário e precursor comum na síntese de todos os tocoferóis. Reações posteriores de ciclização e metilação do anel resultam na formação dos quatros principais derivados do tocoferol. É provável que a formação de γ - e δ -tocoferol ocorra via uma ciclase comum. Similarmente, a reação final de metilação, catalisada pela mesma enzima metiltransferase (γ -TMT), resulta na formação de α - e β -tocoferol (HOFIUS; SONNEWALD, 2003; SEN et al., 2007).

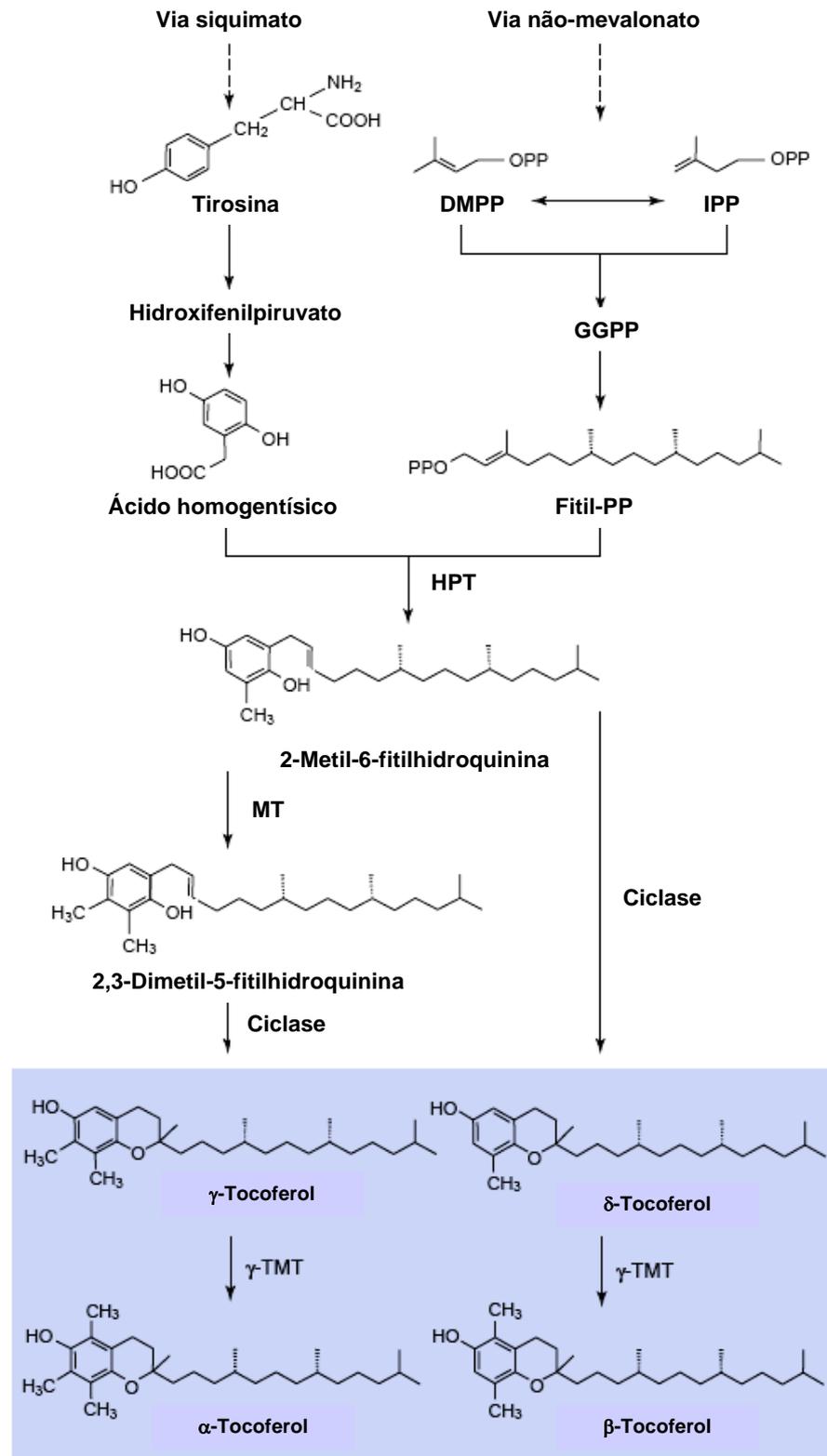


Figura 5 Biossíntese da vitamina E. O quadro azul destaca os quatro tocoferóis naturais em plantas (HOFIUS; SONNEWALD, 2003). **DMPP**, dimetilalil pirofosfato; **GGPP**, geranylgeranyl pirofosfato; **fitol-PP**, fitil pirofosfato; **HPT**, homogentisato fitiltransferase; **IPP**, isopentenil pirofosfato; **MT**, 2-metil-6-fitolhidroquinona metiltransferase; **γ-TMT**, γ-tocoferol metiltransferase.

Apesar das diferenças estruturais, tocoferóis e tocotrienóis são produzidos pela mesma rota biossintética, embora o conteúdo total e a composição variem amplamente no tecido vegetal, principalmente com relação ao estágio de desenvolvimento da planta (BRAMLEY et al., 2000; DELLAPENNA, 2005).

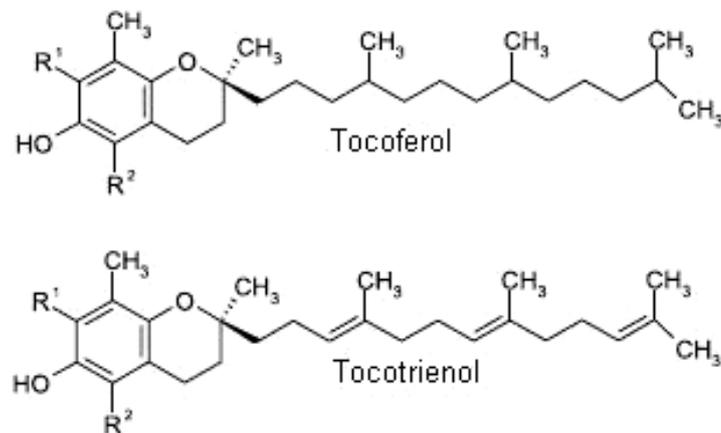
Nos cloroplastos das folhas das plantas superiores, a vitamina E ocorre principalmente como α -tocoferol, enquanto os tocotrienóis são mais abundantes nas sementes. Nos vegetais, sua função é proteger o aparato fotossintético contra a toxicidade do oxigênio e a peroxidação dos lipídios (BRAMLEY et al., 2000; MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2002).

Nos alimentos, as fontes mais ricas de vitamina E são os óleos vegetais, e seus produtos derivados (GRUSAK; DELLAPENNA, 1999; BRAMLEY et al., 2000, RIGOTTI, 2007, SCHWARTZ et al., 2007), entretanto as folhas verdes dos vegetais, amêndoas e grãos também contribuem com uma significativa quantidade desse nutriente (RIGOTTI, 2007). Nos alimentos de origem animal o teor de α -tocoferol é menor (RONCADA, 2000).

A vitamina E é termoestável na ausência de oxigênio, mas se oxida lentamente por ação do oxigênio atmosférico, ação essa acelerada pela exposição à luz, calor, álcalis, gorduras rançosas e presença de íons metálicos. A perda de tocoferol é natural e mínima durante o armazenamento dos óleos vegetais, mas se torna apreciável durante a cocção (MACHLIN, 1991; BRAMLEY et al., 2000; RONCADA, 2000). Os alimentos submetidos a processamentos, domésticos ou industriais, tais como floculação, cocção, refinamento, clareamento, esterilização entre outros, podem apresentar alterações em seus conteúdos de vitamina E (BRAMLEY et al., 2000).

2.3.1. Estrutura química da vitamina E

Todos os compostos com atividade de vitamina E têm em sua estrutura um anel 6-cromanol e uma cadeia lateral (MACHLIN, 1991; REITER et al., 2007). O anel cromanol possui um grupo hidroxila, importante tanto para a função biológica desempenhada pela vitamina, como para a esterificação dessa vitamina com ácido acético, formando acetato de α -tocoferila, que é uma forma ativa da vitamina E (RONCADA, 2000). Os tocoferóis ou tocóis têm uma cadeia lateral fitol, e os tocotrienóis ou trienóis têm uma estrutura similar, com duplas ligações nas posições 3', 7' e 11' da cadeia lateral (MACHLIN, 1991). Todos os isômeros do tocoferol e do tocotrienol são diferenciados pelo número e posição do grupo metil no anel cromanol (Figura 6) (MACHLIN, 1991; RONCADA, 2000).



Tocoferol / tocotrienol	R ¹	R ²
α -	CH ₃	CH ₃
β -	H	CH ₃
γ -	CH ₃	H
δ -	H	H

Figura 6. Estruturas químicas do tocoferol e tocotrienol (CERQUEIRA et al., 2007).

A formação desses oito isômeros só é possível, pois o tocol possui três carbonos assimétricos, especificamente na posição 2 do anel cromanol e nas posições 4' e 8' da cadeia lateral (MACHLIN, 1991; BRAMLEY et al., 2000; REITER et al., 2007).

2.3.2. Atividade biológica da vitamina E

A vitamina E desempenha um importante papel no organismo, sendo o mais efetivo antioxidante lipossolúvel encontrado na natureza. O α -tocoferol é a forma mais ativa e amplamente distribuída nos tecidos e plasma, ajudando o organismo a manter sua defesa normal contra doenças e injúrias ambientais, por proteger as membranas celulares contra os danos causados por radicais livres, que são espécies químicas altamente reativas pois possuem um ou mais pares de elétrons desemparelhados, capazes de atacar proteínas, ácidos nucleicos, fosfolipídios e outras macromoléculas celulares, resultantes da peroxidação dos lipídios (BRAMLEY et al., 2000; SILVA; NAVES, 2001; RIGOTTI, 2007; SILUK et al., 2007; TRABER; ATKINSON, 2007).

A propriedade antioxidante da vitamina E evita que os ácidos graxos insaturados das membranas celulares se oxidem (MARZZOCO; TORRES, 2007), desempenhando importante papel na imunocompetência e na reparação de tais estruturas, que estão associadas à inibição da carcinogênese (RONCADA, 2000). “In vivo”, a atividade antioxidante dos tocoferóis contra a oxidação lipídica apresenta uma gradação: α - > β - \cong γ - > δ -. Assim, uma molécula de cada isômero (α -, β -, γ - e δ -tocoferol) protege até 220, 120, 100 e 30 moléculas de ácido graxo poliinsaturado, respectivamente (GRUSAK; DELLAPENNA, 1999).

Muitos trabalhos têm destacado o papel da vitamina E na prevenção de doenças cardiovasculares, certos tipos de câncer, desordens neurológicas (doenças de Parkinson e Alzheimer), catarata, degeneração macular relacionada à idade, doenças inflamatórias, hipercolesterolemia, doença fibrocística, anemia hemolítica, além de auxiliar na manutenção do sistema imune e retardamento do envelhecimento (HERRERA; BARBAS, 2001; BRAMLEY et al., 2000; BRIGELIUS-FLOHÉ et al., 2002; TRABER; ATKINSON, 2007). O risco de trombose em pacientes com diabetes tipo 2 é reduzido quando o tratamento inclui suplementação com α -tocoferol, que serve de terapia coadjuvante na prevenção de arteriosclerose (DEVERAJ et al., 2002). Estudos em animais e humanos têm demonstrado que a vitamina E de fontes naturais ou sintéticas tem significativo efeito fotoprotetor, quando aplicada topicamente sobre a pele antes da exposição aos raios UVA e UVB (THIELE; EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, 2007).

Embora seja um potente antioxidante, a vitamina E apresenta outras propriedades relacionadas à prevenção da perda da espermatogênese e reabsorção fetal em ratos e inibição da expressão de α -tropomiosina (HERRERA; BARBAS, 2001).

2.3.3. Deficiência de vitamina E

Para que um indivíduo esteja com deficiência de vitamina E, os níveis plasmáticos dessa vitamina devem estar abaixo de 0,5 mg/dL (MACHLIN, 1991). A deficiência pode causar disfunções neurológicas, miopatias e atividade anormal das plaquetas e das hemáceas (MACHLIN, 1991; BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999; RONCADA, 2000; TRABER; ATKINSON,

2007). Entretanto, o tecido afetado varia de espécie para espécie. Por exemplo, em ratos ocorre atrofia dos testículos, em galinhas, lesões no sistema nervoso central e em muitos outros animais, distrofia muscular e edema subcutâneo (MACHLIN, 1991; ROCK et al., 1996; BRAMLEY et al., 2000).

Em humanos a deficiência de vitamina E está associada ao elevado risco de arteriosclerose e outras doenças degenerativas e ainda, anemia hemolítica, neuropatias e aumento da concentração de pentano no ar exalado (BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999; BRAMLEY et al., 2000).

Os recém-nascidos apresentam relativa deficiência de vitamina E, e quanto menor o bebê, maior será o grau da deficiência (MACHLIN, 1991). Em prematuros ou bebês com baixo peso, a deficiência causa anemia hemolítica, pelo fato de os ácidos graxos poliinsaturados das membranas dos eritrócitos serem sensíveis à ação dos radicais livres (BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999; RONCADA, 2000). Porém os recém-nascidos que são alimentados com leite materno logo após o nascimento, rapidamente obtêm os níveis plasmáticos de tocoferol dos adultos (MACHLIN, 1991).

Segundo a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) Nº 269, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde, que trata da IDR de vitaminas, minerais e proteínas para indivíduos e diferentes grupos populacionais, a IDR de vitamina E (tocoferóis) consiste em 10 mg de α -tocoferol equivalente (α -TE) para adultos. É importante lembrar que 1 mg de d- α -tocoferol corresponde a 1,49 U.I. (BRASIL, 2005).

Da mesma forma que ocorre com a vitamina A, os alimentos também podem ser considerados fontes excelentes ou úteis com base no teor de vitamina E.

2.3.4. Absorção e Transporte dos tocoferóis pelo organismo

No homem e em outras espécies, a absorção do tocoferol é incompleta. Apenas 20% a 40% do α -tocoferol ingerido em doses fisiológicas é absorvido, e esse percentual decresce com o aumento da dose (MACHLIN, 1991).

Após a ingestão, a vitamina E é emulsificada com os demais componentes lipossolúveis dos alimentos formando pequenas partículas que, espontaneamente, levam a formação de micelas mistas, as quais são absorvidas nas bordas ciliadas das membranas da mucosa intestinal através de difusão passiva. Já nas células da mucosa, os tocoferóis, juntamente com os triglicerídios, fosfolipídios, colesterol e apolipoproteínas são reagrupados em quilomícrons, ação realizada pelo complexo de Golgi (AZZI, STOCKER, 2000; BRAMLEY et al., 2000; MOURÃO et al., 2005; RIGOTTI, 2007). Esses são então armazenados na forma de grãos secretores que são excretados por exocitose, sendo conduzidos do intestino para os vasos linfáticos de onde são levados até a corrente sangüínea via ductos torácicos (NAKAMURA et al., 1998; BRAMLEY et al., 2000).

Na corrente sangüínea, os quilomícrons são catabolizados pela ação da lipase-lipoprotéica e, em seguida, os componentes excedentes são diretamente transferidos para as lipoproteínas de alta densidade (HDL), as quais podem permutar seu tocoferol recentemente adquirido com outras lipoproteínas circulantes. A lipase-lipoprotéica age como uma proteína de transferência, transferindo vitamina E para vários tecidos, inclusive pele, músculo e tecido adiposo. Entretanto, a maior porção dos tocoferóis absorvidos permanece nos quilomícrons remanescentes que são absorvidos pelas células parenquimáticas do fígado (BRAMLEY et al., 2000). O fígado desempenha um importante papel

no lançamento do tocoferol na circulação sangüínea e, conseqüentemente, no seu transporte aos tecidos periféricos. Essa função hepática depende da ação da proteína transferidora de α -tocoferol (α -TTP), que preferencialmente se liga ao α -tocoferol, porque é capaz de fazer distinção entre o número e a posição do grupo metil no anel cromanol (HOSOMI et al., 1997; BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999; BRAMLEY et al., 2000, RIGOTTI, 2007). As lipoproteínas são as maiores, se não as únicas transportadoras de vitamina E no plasma (RIGOTTI, 2007), sendo a afinidade do α -tocoferol e seus análogos β -, γ - e δ -tocoferol iguais a 100%, 38%, 9% e 2%, respectivamente. Tal afinidade é considerada um dos determinantes críticos de suas atividades biológicas, podendo também determinar seus níveis séricos (HOSOMI et al., 2000). Assim, embora, α - e γ -tocoferol sejam absorvidos e incorporados nos quilomícrons em quantidades semelhantes, a maior parte do γ -tocoferol é excretada na bile, enquanto o α -tocoferol é preferencialmente retido (HOSOMI et al., 1997; BRAMLEY et al., 2000; RIGOTTI, 2007).

No fígado, os lipídios recém-absorvidos são incorporados nas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), as quais são preferencialmente enriquecidas com α -tocoferol através da ação da α -TTP. Essas proteínas são lançadas na corrente sangüínea onde são catabolizadas pelas lipases-lipoprotéicas. A maior parte das VLDL remanescentes retorna ao fígado onde são convertidas em proteína de baixa densidade (LDL) (BRAMLEY et al., 2000, SEN et al., 2007).

A taxa de consumo da vitamina E nos diferentes tecidos do organismo é bastante variada, sendo mais rápida no pulmão, fígado, baço, rim e células vermelhas do sangue, e mais lenta no cérebro, tecido adiposo e medula

espinhal. Assim, durante os períodos de baixo fluxo de vitamina E no organismo, suas concentrações caem mais rapidamente no plasma e fígado do que no tecido adiposo, cérebro, medula espinhal ou outros tecidos neurais (BRAMLEY et al., 2000). Os maiores depósitos de vitamina E são os tecidos adiposo, hepático e muscular (MACHLIN, 1991).

De acordo com Mourão et al. (2005), alguns fatores dietéticos têm sido apontados como redutores da biodisponibilidade da vitamina E. Um aumento na ingestão de lipídios insaturados, especialmente os ácidos graxos poliinsaturados, acelera a depleção e aumenta os requerimentos de vitamina E devido ao fato de esses lipídios estarem concentrados, preferencialmente, nas membranas celulares, onde eles têm a capacidade de seqüestrar uma certa quantidade dessa vitamina para manter sua estabilidade oxidativa. O alto consumo de vitamina A, farelo de trigo e pectina, também têm sido apontado como redutores da biodisponibilidade da vitamina E.

2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia é um processo físico-químico de separação em que os componentes a serem separados se distribuem nas fases estacionária e móvel. A fase estacionária pode ser um sólido ou um líquido disposto sobre um suporte rígido com grande área superficial. A fase móvel pode ser gasosa, líquida ou ainda um fluido supercrítico, que passa sobre a fase estacionária, arrastando consigo os diversos componentes da mistura. A técnica cromatográfica selecionada (papel, camada delgada, gasosa ou líquida de alta eficiência) depende do material a ser isolado (PERES, 2002; CIOLA, 2003).

Na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, os constituintes a serem separados, presentes na amostra, são particionados entre a fase estacionária de menor polaridade e a fase móvel de maior polaridade, que percola através da primeira. Os resultados de separação são tão eficientes que em menos de trinta anos, a CLAE passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos, tendo em vista as inúmeras vantagens, tais como: uso de fases móveis menos tóxicas e de menor custo, como metanol e água; fases estacionárias estáveis de muitos tipos diferentes; rápido equilíbrio da coluna após a mudança da fase móvel; facilidade de empregar eluição por gradiente; maior rapidez em análises, eficiência na separação e boa reprodutibilidade dos tempos de retenção (TONHI et al., 2002).

O estudo do potencial biológico das macroalgas tem sido facilitado com as técnicas de CLAE, que vêm sendo empregadas para a determinação de pigmentos (clorofilas e carotenóides), vitaminas, tais como A, B, C e E, presentes nesses organismos (PALERMO et al., 1991; SAKER-SAMPAIO, 1997; HEGAZI et al., 1998; SÁNCHEZ-MACHADO et al., 2002; SCHAGERL; PICHLER, 2000; MACIEL DA SILVA, 2003; McDERMID; STUERCKE, 2003; SOUSA, 2005; PIRES, 2006).

Diante do papel que as algas vem desempenhando no cotidiano humano e com os avanços das técnicas cromatográficas que possibilitam o estudo de inúmeros compostos presentes nesses organismos muitas pesquisas ainda são necessárias para elucidar o verdadeiro potencial biológico das macroalgas marinhas para que elas possam ser aproveitadas em suas máximas potencialidades.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta das algas e Preparação do material

Cinco espécies de macroalgas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, família Caulerpaceae: *Caulerpa sertularioides*, *C. prolifera*, *C. cupressoides*, *C. mexicana* e *C. racemosa* foram coletadas mensalmente, de janeiro a dezembro de 2006, durante as marés baixas na Praia do Pacheco, Caucaia-CE.

As algas coletadas foram lavadas em água corrente para remoção de impurezas e epífitas macroscópicas sendo, em seguida, colocadas sobre papel absorvente para drenar o excesso de água. Em seguida, elas foram divididas em duas porções de aproximadamente 50 g cada. A primeira porção foi embalada em sacos plásticos fechados e etiquetados e estocada a -20°C até o momento das análises, e a segunda porção foi desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. Após a secagem, o material desidratado foi armazenado em recipientes hermeticamente fechados e protegidos da luz até o momento das análises.

As algas “in natura” foram cortadas manualmente em pequenos pedaços e maceradas em gral de aço inoxidável com auxílio de nitrogênio líquido, e as algas desidratadas foram trituradas em um triturador doméstico (Braun, modelo KSM 2 B). Em ambos os casos, o material foi transformado em um pó fino usado para a preparação dos extratos de alga “in natura” ou dos extratos de alga desidratada, imediatamente antes da análise.

3.2. Reagentes

Os padrões comerciais, β -caroteno tipo I sintético aproximadamente 95% (C-9750) e (\pm)- α -tocoferol sintético aproximadamente 95% (T-3251), foram obtidos da Sigma, Estados Unidos. Os solventes, metanol, *n*-hexano e tetrahidrofurano, usados na preparação dos padrões e nas análises cromatográficas foram grau HPLC, obtidos da J. T. Baker, Estados Unidos, e o hidróxido de potássio foi obtido da Merck, Alemanha.

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água ultrapura, obtida através do sistema Milli-Q (Millipore, Estados Unidos).

3.3. Preparação dos extratos, Saponificação e Partição

Os extratos foram preparados em triplicata. Três porções de 1,0 g de alga “in natura” ou de 0,5 g de alga desidratada foram pesadas em tubos de vidro graduados com tampa esmerilhada (20 x 150 mm) e 10 mL de metanol-água (90:10, v/v) contendo 5% de hidróxido de potássio foram adicionados. Os tubos foram homogeneizados e levados ao banho-maria (Thermomix[®] BM, modelo 18 BU, B. Braun Biotech International) a 70°C por 30 minutos para saponificação.

Depois de resfriados à temperatura ambiente, os extratos foram centrifugados por 5 minutos a 2.000 x *g*. Após a centrifugação, 5 mL dos extratos saponificados, 1,5 mL de água Milli-Q e 2,5 mL de *n*-hexano foram transferidos para tubos Pyrex de tampa rosqueada (15 x 100 mm), os quais foram misturados por 10 minutos usando-se uma plataforma misturadora. Esse

procedimento de partição permite a migração dos carotenóides não saponificáveis e do α -tocoferol presentes no extrato da alga do metanol para o *n*-hexano.

A separação das fases, metanol-hexano, foi facilitada por uma centrifugação a 2.000 x *g* por 5 minutos. Um volume correspondente a 1 mL da fase hexânica foi transferido para tubos de ensaio (10 x 75 mm), os quais foram deixados sob corrente de ar em banho-maria a aproximadamente 60°C para evaporação do solvente. O resíduo foi então suspenso em 1 mL de metanol e filtrado em filtro de 0,45 μm no momento da análise por cromatografia líquida de alta eficiência.

3.4. Soluções-padrão de β -caroteno e de α -tocoferol

Diariamente, uma solução-padrão de β -caroteno em tetrahydrofurano (1 mg mL⁻¹) foi preparada e diluída com metanol para 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de modo que 0,5 μg de β -caroteno fosse injetado na coluna. A concentração da solução-padrão de β -caroteno foi determinada a partir de sua absorvância em 450 nm, sendo sua capacidade de absorção de luz igual a 0,2592 $\mu\text{g}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ (SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS, 1972).

Da mesma forma, uma solução-padrão de α -tocoferol (1 mg mL⁻¹) foi preparada em tetrahydrofurano diariamente e diluída em metanol, de modo que 5 μg de α -tocoferol fossem injetados na coluna.

Uma solução-padrão de trabalho composta por β -caroteno (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e α -tocoferol (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi saponificada e submetida à partição separadamente e em combinação com 1,0 g de alga “in natura” ou com 0,5 g

de alga desidratada. Esse procedimento assegurou a detecção de β -caroteno e α -tocoferol onde eles eram adicionados intencionalmente.

3.5. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa

O sistema cromatográfico consistiu em uma coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5ODS-2 (4,6 x 250 mm) e uma fase móvel constituída de metanol:tetrahidrofurano (90:10, v/v), com fluxo de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$, usando uma bomba (AKTAbasic 10, modelo P-900, Amersham). Alíquotas de $100 \mu\text{L}$ do resíduo suspenso em metanol foram injetadas manualmente usando um injetor de amostras Rheodyne 7210 (Hamilton Co.). O monitor (AKTAbasic UV-900) foi ajustado em 450 nm e em 292 nm para as leituras dos carotenóides e do α -tocoferol, respectivamente. Os cromatogramas foram registrados através do sistema de controle UnicornTM, versão 5.0.

3.6. Cálculo dos teores de α - e β -caroteno e de α -tocoferol

As concentrações de α - e β -caroteno nos extratos de alga foram calculadas com base no padrão de $10 \mu\text{g}$ de β -caroteno submetido à saponificação e à partição. Os cálculos foram procedidos usando-se a área do pico obtido para a solução padrão de β -caroteno e as áreas dos picos referentes ao α -caroteno ou ao β -caroteno nos extratos de alga. O uso do β -caroteno como padrão para a quantificação de α -caroteno é considerado válido porque as áreas dos picos correspondentes a $10 \mu\text{g}$ de α -caroteno e a

10 μg de β -caroteno não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) (SAKER-SAMPAIO, 1997).

A concentração de α -tocoferol nos extratos de alga foi calculada com base no padrão de 100 μg de α -tocoferol processado. O cálculo foi procedido usando-se a área do pico obtido para a solução padrão de α -tocoferol e a área do pico referente ao α -tocoferol presente no extrato de alga.

A fórmula abaixo foi utilizada para os cálculos dos teores de α - e β -caroteno e de α -tocoferol nos extratos preparados com alga “in natura” ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) ou com alga desidratada em estufa ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

$$\mu\text{g g}^{-1} = \frac{\text{área amostra}}{\text{área padrão}} \times \mu\text{g padrão na coluna} \times \frac{1 \text{ g}}{\text{g alga}}$$

Os teores de retinol equivalente (RE) e tocoferol equivalente (TE) foram calculados com base nas transformações preconizadas na literatura (BRASIL, 2005), e usados para classificar as algas em fontes excelentes ou úteis de acordo com a porção suficiente para fornecer $1/2$ ou $1/6$ da IDR, respectivamente.

Para efeito de comparação entre os conteúdos de cada um dos compostos, α - e β -caroteno e α -tocoferol, presentes nos extratos de alga “in natura” com os de alga desidratada, considerou-se um teor de umidade de 80%. Com isso, foi possível determinar o percentual de perda nas algas submetidas à secagem em estufa a 40°C por 15 horas.

3.7. Análises estatísticas

Os teores de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol, observados nos doze meses de coleta em cada uma das espécies estudadas sob a forma “in natura” e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas, foram submetidos a análise de variância unifatorial para um nível de significância de 5%. Em caso de rejeição da hipótese de nulidade, os dados foram submetidos ao teste de Tukey, considerando o mesmo nível de significância (MENDES, 1999). O programa BioEstat 4.0 foi utilizado nas análises.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimentos prévios foram elaborados para desenvolver uma metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando sistema isocrático com coluna de fase reversa C₁₈, incluindo variações na composição da fase móvel, tipos de coluna e diferentes velocidades de fluxo. A metodologia desenvolvida no presente trabalho foi comprovadamente eficiente para separar α - e β -caroteno e α -tocoferol simultaneamente em menos de 20 minutos.

A identificação e a quantificação dos compostos de interesse em cinco espécies de algas pertencentes ao gênero *Caulerpa* (*Caulerpa sertularioides*, *C. prolifera*, *C. cupressoides*, *C. mexicana* e *C. racemosa*) foram realizadas, comparando-se os tempos de retenção das soluções-padrão de β -caroteno e de α -tocoferol com o tempo de retenção dos mesmos compostos presentes nos extratos de alga e através da co-cromatografia.

A identificação de compostos, feita através da comparação dos tempos de retenção, é uma prática muito utilizada por vários pesquisadores em diversos tipos de amostras, como por exemplo, alimentos, sangue e algas (SOWELL et al., 1994; HEGAZI et al., 1998; SAKER-SAMPAIO, 1997; NORZIAH, CHIANG, 2000; SCHIEBER et al., 2002, MACIEL DA SILVA, 2003, SOUSA, 2005; PIRES, 2006).

4.1. Curvas padrão de β -caroteno e de α -tocoferol

A relação entre a área do pico e a quantidade de β -caroteno aplicado na coluna foi estabelecida para o padrão de β -caroteno processado, ou seja, submetido ao processo de saponificação e partição. Tendo em vista a existência de correlação linear ($r = 0,9977$, $p < 0,05$) entre a área do pico e a concentração de β -caroteno processado, correspondendo a aproximadamente 0,1 a 1,0 μg na coluna (Figura 7), sua quantificação nos extratos de alga foi possível.

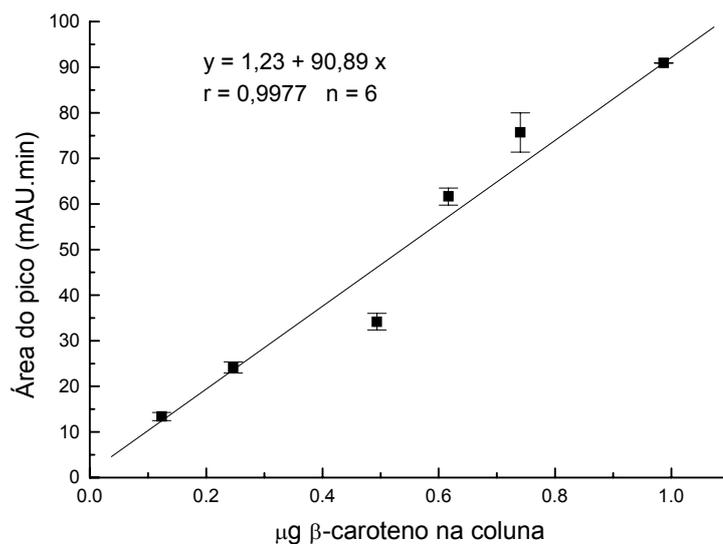


Figura 7. Curva padrão do β -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de 0,1 a 1,0 μg em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (90:10), fluxo 1,5 mL min^{-1} e detecção em 450 nm.

De forma idêntica, a relação entre a área do pico e a quantidade de α -tocoferol aplicado na coluna foi estabelecida para o padrão de α -tocoferol processado. A existência de correlação linear ($r = 0,9994$, $p < 0,05$) entre a área do pico e a concentração de aproximadamente 2,0 a 20,0 μg de

α -tocoferol processado injetado na coluna (Figura 8) permitiu sua quantificação nos extratos de alga.

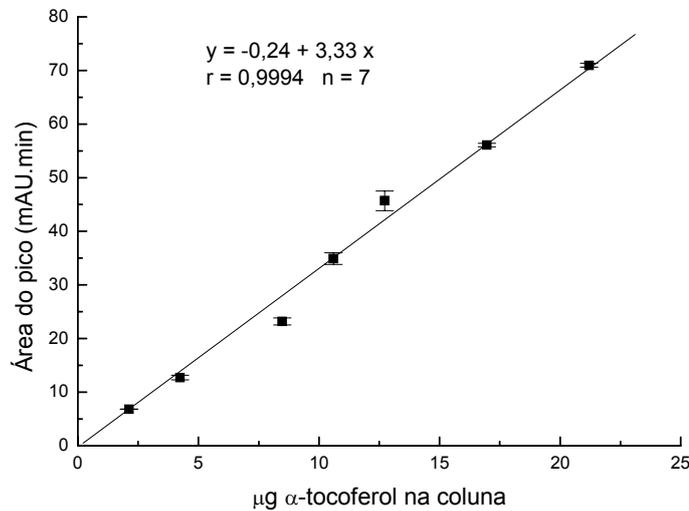


Figura 8. Curva padrão do α -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de 2,0 a 20,0 μg em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (90:10), fluxo 1,5 mL min^{-1} e detecção em 292 nm.

4.2. Carotenóides provitamina A

Com o sistema cromatográfico usado neste trabalho, o tempo de retenção do padrão de β -caroteno foi igual a $14,10 \pm 0,57$ min ($n = 46$). Um cromatograma típico do padrão contendo 0,5 μg de β -caroteno está apresentado na Figura 9. O tempo de retenção do composto identificado como β -caroteno presente nos extratos de alga foi $14,01 \pm 0,65$ min ($n = 300$). Os tempos de retenção do β -caroteno padrão e do composto presente nos extratos de alga eluído em aproximadamente 14 minutos não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$).

A dificuldade de aquisição do padrão comercial de α -caroteno e o uso de sistema cromatográfico semelhante, em que o α -caroteno foi eluído da coluna

imediatamente antes do β -caroteno (SAKER-SAMPAIO, 1997), fizeram com que, neste trabalho, o composto eluído da coluna com tempo de retenção de $13,23 \pm 0,61$ min ($n = 300$) fosse considerado como α -caroteno. Esse tempo de retenção foi comparado com aquele referente ao do β -caroteno através do teste t de Student não-pareado, havendo diferença estatisticamente significativa entre eles ($p < 0,05$).

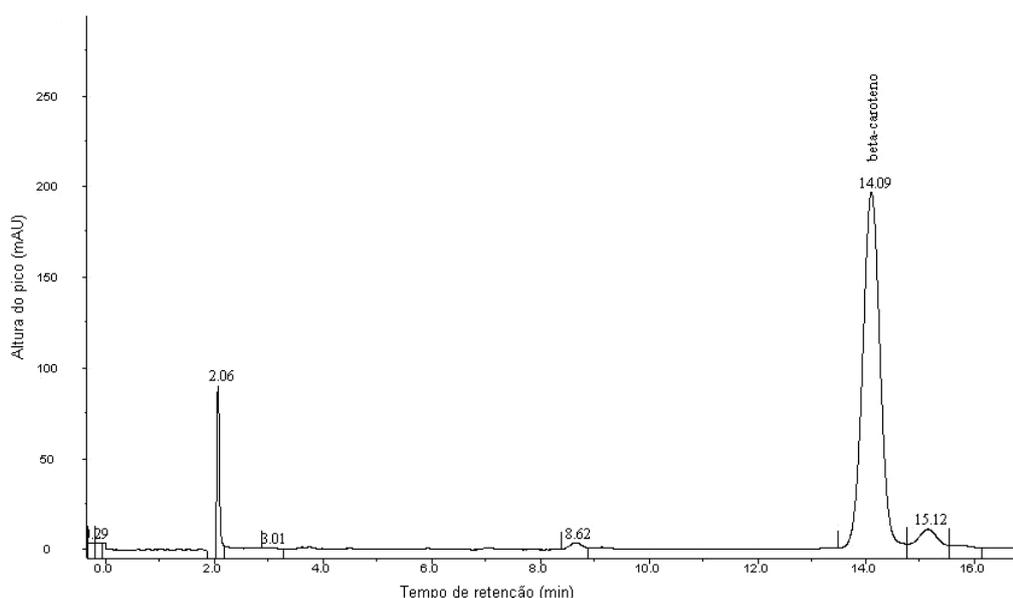


Figura 9. Cromatograma típico de β -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de $0,5 \mu\text{g}$ em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 ($4,6 \times 250$ mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (90:10), fluxo $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detecção em 450 nm .

As cinco espécies de *Caulerpa* “in natura” analisadas no presente trabalho apresentaram tanto α -caroteno quanto β -caroteno e a sua distribuição mostrou diferença ao longo dos doze meses de coleta. Os maiores valores de α - e de β -caroteno foram encontrados em *C. prolifera* e *C. mexicana*, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Sousa (2005), com relação ao máximo de α -caroteno em *C. prolifera*, mas não quanto ao teor de β -caroteno, que foi mínimo em *C. mexicana*.

Em *C. sertularioides*, os teores de α -caroteno, em $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, permaneceram entre 6,464 e 13,504, exceção feita ao mês de fevereiro, quando o máximo de $30,027 \pm 0,841$ foi registrado (Figura 10A). Com relação ao conteúdo de β -caroteno, em $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, os valores máximos foram encontrados em janeiro ($11,723 \pm 0,474$) e fevereiro ($8,359 \pm 0,159$), e nos demais meses do ano a concentração ficou entre 2,113 e 3,628 (Figura 10B).

Em *C. prolifera* e em *C. cupressoides*, os teores de α - e β -caroteno, em $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, foram máximos em setembro. Em *C. prolifera* o teor máximo de α -caroteno foi igual a $43,640 \pm 1,720$. Outros dois picos foram observados em abril ($24,357 \pm 0,305$) e julho ($23,838 \pm 1,107$), e nos demais meses, as concentrações variaram de 7,778 a 15,767 (Figura 11A). A concentração máxima de β -caroteno foi igual a $12,569 \pm 0,560$. Da mesma forma, em abril ($9,442 \pm 0,924$) e julho ($5,575 \pm 0,331$), as quantidades foram superiores aos demais meses (Figura 11B). Em *C. cupressoides*, nos meses de setembro e março foram encontradas as maiores quantidades de α -caroteno, $30,941 \pm 0,273$ e $10,018 \pm 0,395$, respectivamente (Figura 12A) e também as de β -caroteno, $15,294 \pm 0,046$ e $6,597 \pm 0,891$, respectivamente (Figura 12B).

O teor de α -caroteno em *C. mexicana* foi máximo em abril ($12,943 \pm 0,937 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco), exibindo também valores elevados em outubro, novembro e janeiro (Figura 13A). A distribuição do β -caroteno foi bastante diferente, com valores inferiores a 5,682 em todos os meses do ano, com exceção do máximo, $18,372 \pm 0,679 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, observado em janeiro (Figura 13B).

Em *C. racemosa*, os teores de α -caroteno e de β -caroteno foram máximos em junho e iguais, respectivamente, a $18,191 \pm 0,517 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco (Figura 14A) e $5,019 \pm 0,197 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco (Figura 14B). O perfil das variações de α - e β -caroteno foi semelhante ao longo do ano.

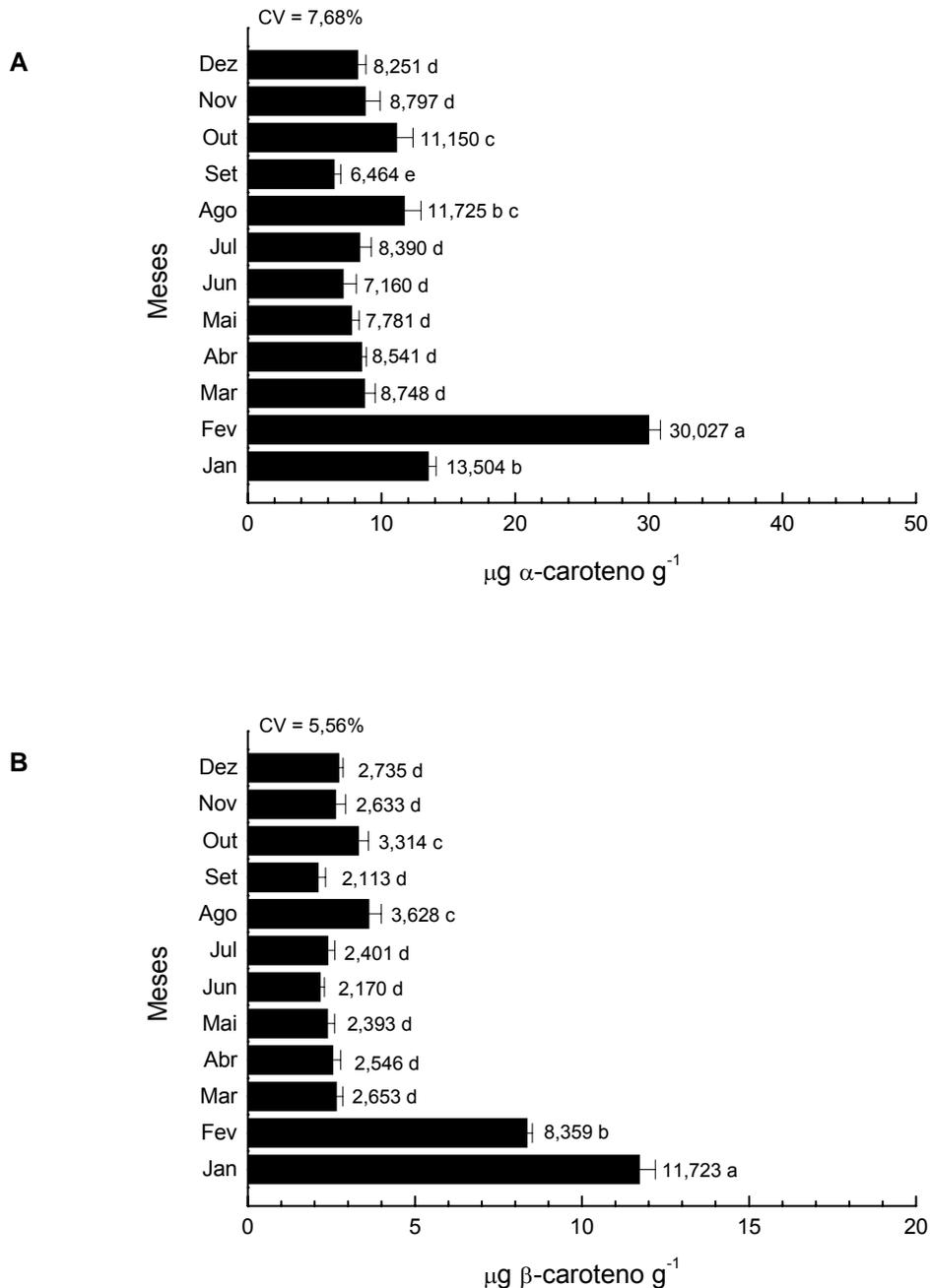


Figura 10. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa sertularioides* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

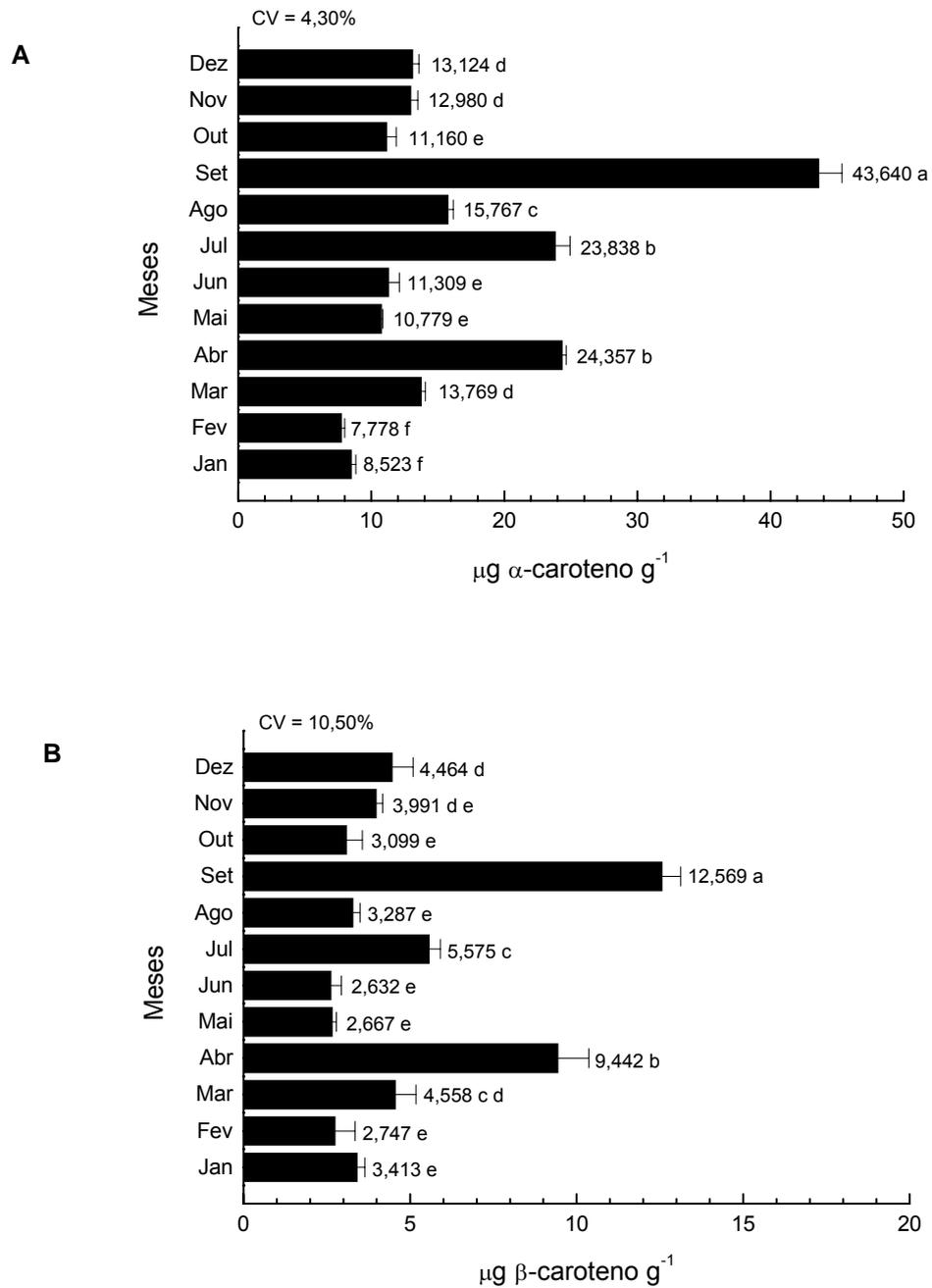


Figura 11. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa prolifera* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

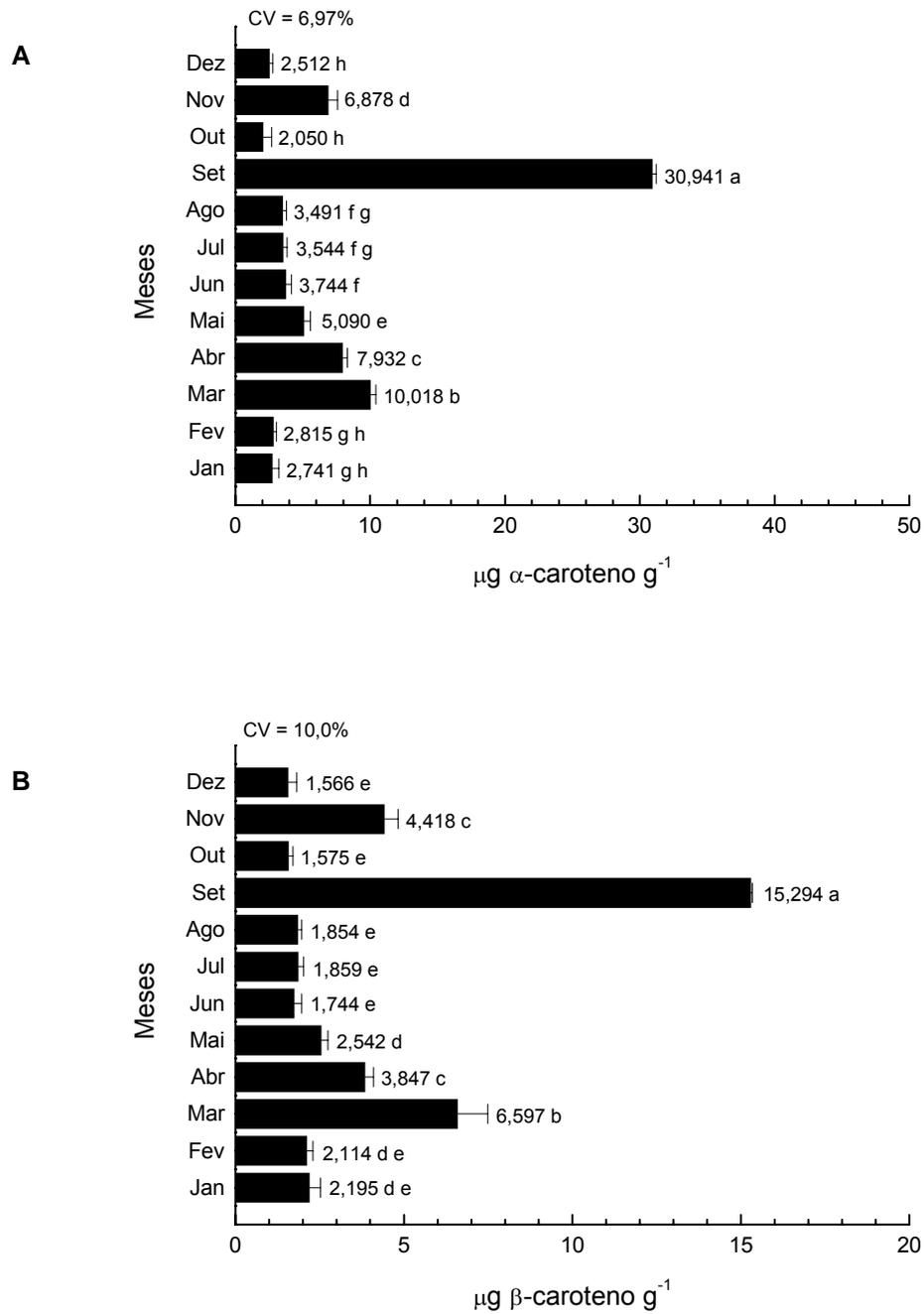


Figura 12. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa cupressoides* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

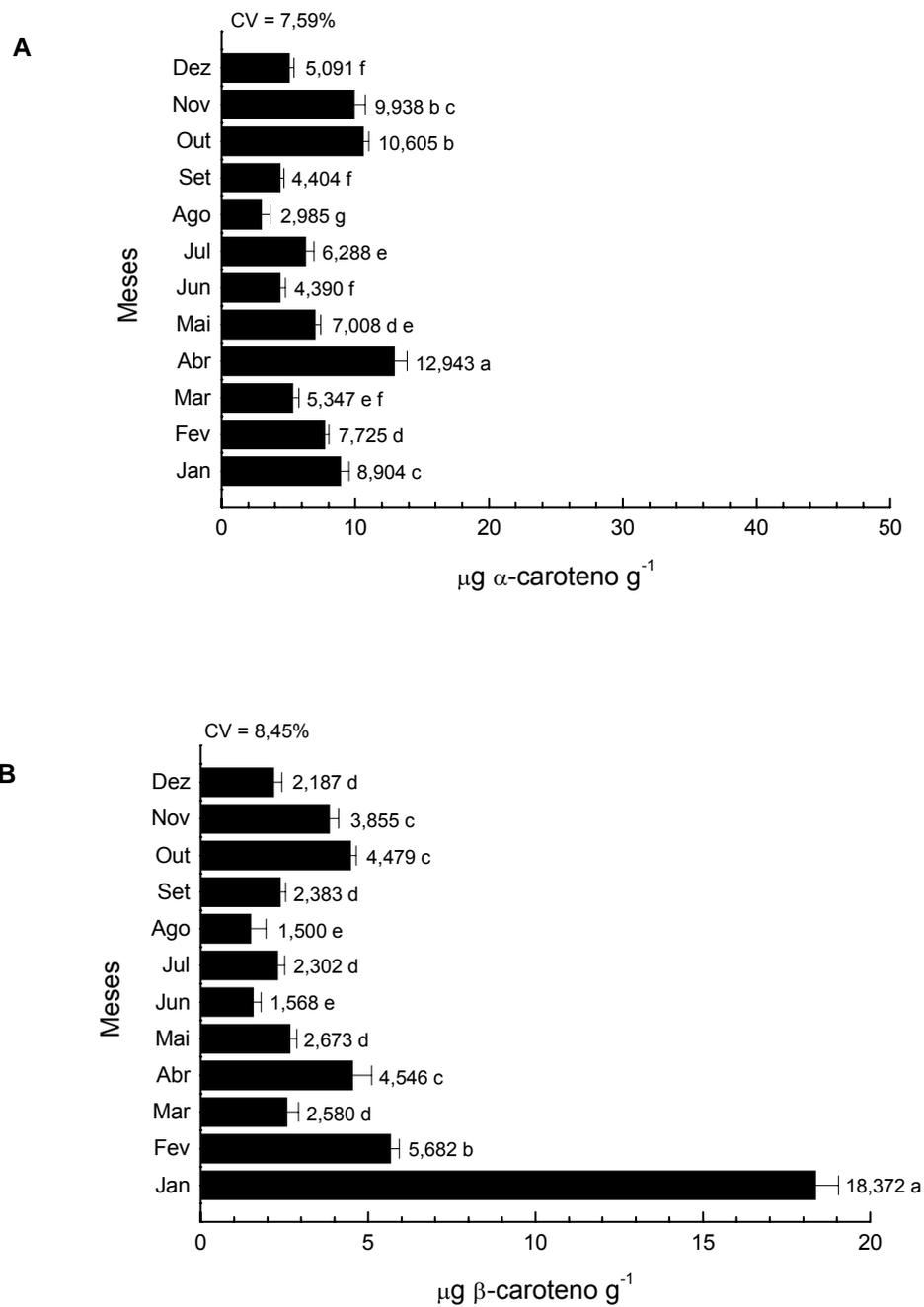


Figura 13. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa mexicana* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

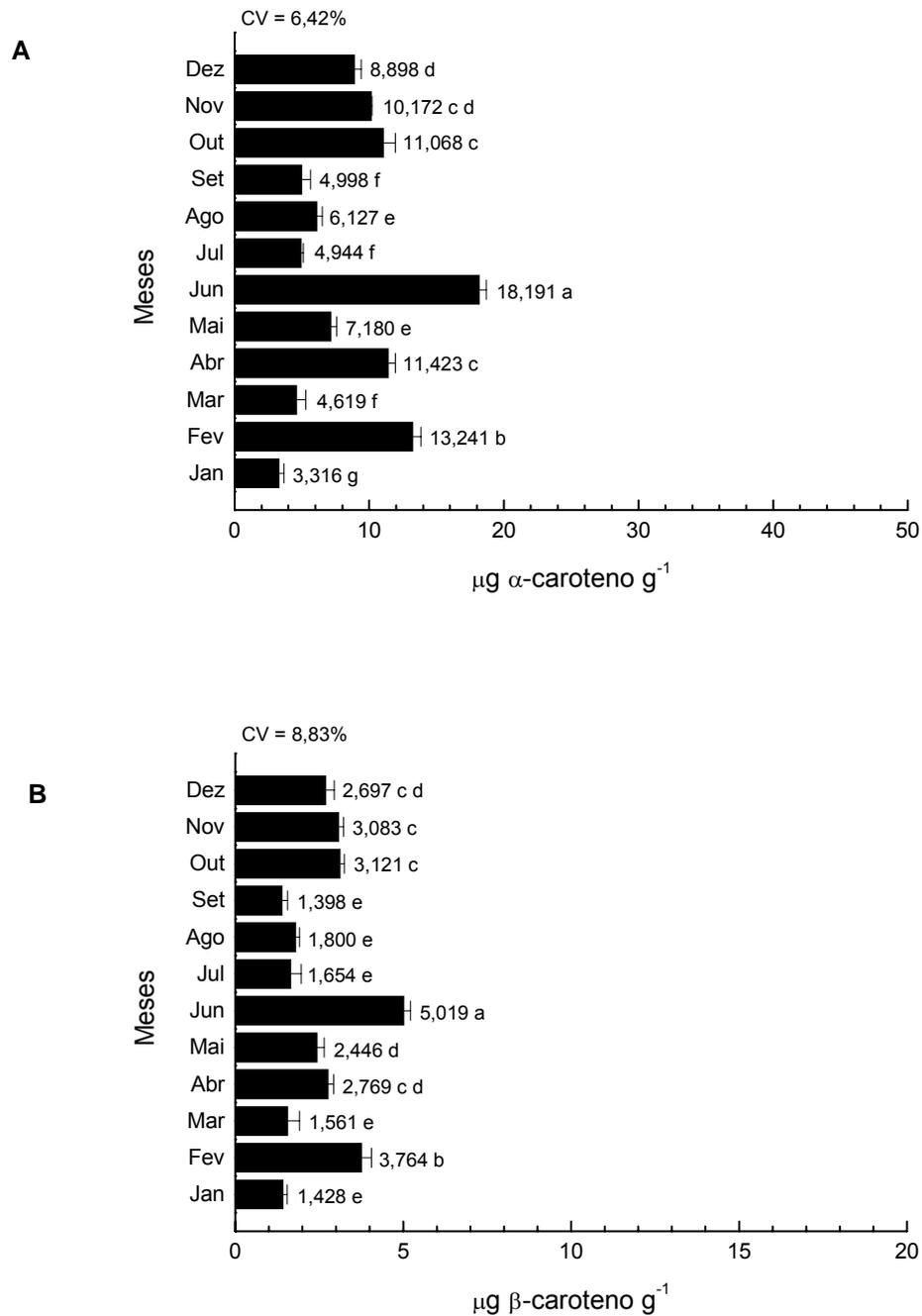


Figura 14. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa racemosa* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

Os coeficientes de variação das médias mensais de α -caroteno variaram de 4,30% a 7,68% e das de β -caroteno, de 5,56% a 10,90% (Figuras 10 a 14).

Com relação aos resultados acima, existem dois pontos interessantes a serem abordados em seqüência. O primeiro diz respeito à variação sazonal, que não obedeceu a um padrão único no gênero *Caulerpa*. Duas espécies (*C. prolifera* e *C. cupressoides*) exibiram teores máximos de α - e β -caroteno em setembro; em *C. racemosa*, os conteúdos máximos ocorreram em junho. Em *C. sertularioides* e *C. mexicana*, a distribuição foi ainda mais variável, fevereiro e janeiro e abril e janeiro, respectivamente para α -caroteno e β -caroteno.

O segundo ponto refere-se ao fato de que a literatura informa haver predominância de β -caroteno nas algas verdes e que α -caroteno ocorre em menor quantidade (HOEK et al., 1995). Neste trabalho, as cinco espécies de *Caulerpa* "in natura" analisadas durante doze meses sempre apresentaram teores de α -caroteno mais elevados, de 1,2 a 4,8 vezes, do que os de β -caroteno, com exceção de *C. mexicana* no mês de janeiro. Resultados semelhantes com espécies de *Caulerpa* coletadas em junho na Praia do Guajiru, Trairi, Ceará, também foram descritos por Sousa (2005), cujos teores de α -caroteno foram 1,2 a 4,5 vezes maiores do que os teores de β -caroteno. Maciel da Silva (2003) também analisou quatro espécies de *Caulerpa* coletadas na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará e, em todas elas, α -caroteno foi detectado, porém a presença de β -caroteno só foi registrada em *C. racemosa*, cujo teor foi 3,2 vezes menor do que α -caroteno. Duas espécies do gênero *Caulerpa* coletadas na Praia do Guajiru, Trairi, Ceará também apresentaram teores de α -caroteno superiores aos de β -caroteno (PIRES, 2006). Todas essas evidências permitem que a seguinte suposição seja feita: no gênero *Caulerpa*, α -caroteno predomina sobre β -caroteno. É importante ressaltar que nas demais espécies de algas verdes não pertencentes ao gênero *Caulerpa*,

analisadas por Sousa (2005) e Pires (2006), os teores de β -caroteno foram sempre maiores do que os de α -caroteno, chegando a ser até 15 vezes superiores.

A distribuição e o teor dos carotenóides nos vegetais, incluindo as algas, dependem da espécie, estágio de maturação da planta, estágio do ciclo de vida, método de cultivo, efeitos climáticos, manipulação na colheita e até mesmo de partes da planta (HART; SCOTT, 1995).

Essas variações sazonais podem ser muito pronunciadas como aquelas encontradas na alga verde comestível *Monostroma undulatum* da Patagônia argentina (RISSO et al., 2003). McDermid; Stuercke (2003) estudaram a composição nutricional de espécies de macroalgas marinhas consumidas no Havaí, e observaram variações nos teores de β -caroteno na mesma espécie coletada em diferentes locais. Por exemplo, as clorófitas *Ulva fasciata* e *Codium reediae* apresentaram diferenças de 2,6 e 1,3 vezes entre os dois locais, respectivamente; e a rodófito *Ahnfeltiopsis concinna*, 2,5 vezes. Em *Palmaria palmata*, coletada em Southsea, Inglaterra, em dois períodos distintos, foi possível observar que no primeiro ano de coleta, houve uma clara variação sazonal, com conteúdos similares de julho a fevereiro aumentando drasticamente em março e então decaindo até o nível mais baixo que foi detectado em junho. No segundo ano de coleta, entretanto, os maiores teores foram observados em outubro e novembro (SAKER-SAMPAIO, 1997).

Alguns pesquisadores determinaram o conteúdo de pigmentos carotenóides em algas "in natura", mas expressaram os resultados em base seca. Para efeito de comparação desses resultados com os do presente trabalho, expressos em base úmida, o teor de umidade das algas foi

considerado 80%. Bjornland (1983) analisou os teores de α - e β -caroteno na alga vermelha *Antithamnion plumula* "in natura" coletada em cinco diferentes localidades, tendo encontrado variações de 0,14 a 0,41 mg g⁻¹ peso seco para α -caroteno e de 0,09 a 0,22 mg g⁻¹ peso seco para β -caroteno.

Palermo et al. (1991) isolaram e caracterizaram oito carotenóides nas algas vermelhas *Corallina officinallis*, *C. elongata* e *Jania* sp, sendo o β -caroteno o carotenóide majoritário, com 18,4 mg 100 g⁻¹ peso seco (60,8% do total), 12,2 mg 100 g⁻¹ peso seco (74,8% do total) e 20,9 mg 100 g⁻¹ peso seco (53,3% do total), respectivamente. Esses valores foram mais elevados do que os encontrados nas espécies de *Caulerpa* analisadas no presente trabalho.

As macroalgas verdes de água doce dos gêneros *Chara* e *Nitella* exibiram β -caroteno em concentrações que variaram de 0,24 mg g⁻¹ peso seco em *C. hispida* a 2,49 mg g⁻¹ peso seco em *C. contraria* (SCHAGERL; PICHLER, 2000). Estes teores foram 3 e 27 vezes maiores do que o teor máximo de β -caroteno o qual foi detectado em *Caulerpa mexicana*, porém α -caroteno não foi detectado.

Os conteúdos de vitamina A (retinol equivalente - RE) e as porções para que as cinco espécies de *Caulerpa* "in natura" analisadas neste trabalho sejam consideradas fontes excelentes ou úteis estão apresentados na Tabela 2. O menor conteúdo de RE foi observado em outubro em *C. cupressoides* (0,435 \pm 0,076 μ g g⁻¹ peso fresco) e o maior em setembro em *C. prolifera* (5,765 \pm 0,238 μ g g⁻¹ peso fresco). Com base na quantidade de RE (μ g g⁻¹ peso fresco), se fossem consumidas porções diárias de alga "in natura" de aproximadamente 52 g de *C. prolifera* (a mais rica) ou 689 g de *C. cupressoides* (a mais pobre), elas seriam consideradas fontes excelentes. O consumo diário de porções de

17 g de *C. prolifera* ou 230 g de *C. cupressoides* forneceria $\frac{1}{6}$ da IDR, o que permitiria classificá-las como fontes úteis de vitamina A.

Segundo Sousa (2005), para que *C. prolifera* e *C. mexicana* fossem consideradas fontes excelentes de vitamina A, seria necessária à ingestão de 33 g e 312 g, e para serem fontes úteis, as porções deveriam ser iguais a 11 g e 104 g, respectivamente. Para algas vermelhas e pardas, as porções seriam muito maiores, variando de 2.290 g a 6.618 g, respectivamente. De acordo com Maciel da Silva (2003), 100 g de *C. sertularioides*, *C. cupressoides*, *C. racemosa* ou *C. mexicana* “in natura” seriam capazes de fornecer 2,5%; 5%; 15% ou 36% da IDR de vitamina A, respectivamente.

Tabela 2. Teores de retinol equivalente e porções para que as espécies de *Caulerpa* analisadas “in natura” sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A.

Mês	<i>Caulerpa. sertularioides</i>			<i>Caulerpa prolifera</i>			<i>Caulerpa cupressoides</i>			<i>Caulerpa mexicana</i>			<i>Caulerpa racemosa</i>		
	RE	E	U	RE	E	U	RE	E	U	RE	E	U	RE	E	U
Jan	3,092 ± 0,129	97	32	1,286 ± 0,065	233	78	0,597 ± 0,095	503	168	3,816 ± 0,165	79	26	0,517 ± 0,050	580	193
Fev	3,918 ± 0,097	77	26	1,112 ± 0,119	270	90	0,590 ± 0,048	509	170	1,598 ± 0,067	188	63	1,741 ± 0,099	172	57
Mar	1,178 ± 0,096	255	85	1,918 ± 0,129	156	52	1,943 ± 0,182	154	51	0,880 ± 0,095	341	114	0,649 ± 0,115	462	154
Abr	1,143 ± 0,066	263	88	3,623 ± 0,180	83	28	1,309 ± 0,073	229	76	1,846 ± 0,172	162	54	1,422 ± 0,070	211	70
Mai	1,053 ± 0,080	285	95	1,351 ± 0,028	222	74	0,852 ± 0,072	352	117	1,035 ± 0,067	290	97	1,012 ± 0,068	297	99
Jun	0,964 ± 0,100	311	104	1,390 ± 0,117	216	72	0,606 ± 0,070	495	165	0,631 ± 0,071	476	159	2,366 ± 0,076	127	42
Jul	1,106 ± 0,105	271	90	2,933 ± 0,148	102	34	0,608 ± 0,051	493	164	0,913 ± 0,088	329	110	0,692 ± 0,065	434	145
Ago	1,591 ± 0,164	189	63	1,873 ± 0,068	160	53	0,603 ± 0,044	498	166	0,501 ± 0,129	599	200	0,815 ± 0,052	368	123
Set	0,896 ± 0,078	335	112	5,765 ± 0,238	52	17	5,153 ± 0,031	58	19	0,768 ± 0,048	391	130	0,653 ± 0,080	459	153
Out	1,490 ± 0,150	201	67	1,455 ± 0,137	206	69	0,435 ± 0,076	689	230	1,639 ± 0,062	183	61	1,451 ± 0,094	207	69
Nov	1,179 ± 0,141	255	85	1,757 ± 0,074	171	57	1,315 ± 0,127	228	76	1,479 ± 0,112	203	68	1,369 ± 0,026	219	73
Dez	1,150 ± 0,069	261	87	1,848 ± 0,144	162	54	0,472 ± 0,065	635	212	0,793 ± 0,069	378	126	1,198 ± 0,083	250	83

RE = Retinol equivalente ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco).

E = porções em g peso fresco para que as espécies sejam consideradas fontes excelentes de vitamina A.

U = porções em g peso fresco para que as espécies sejam consideradas fontes úteis de vitamina A.

Nas cinco espécies do gênero *Caulerpa* estudadas sob a forma desidratada em estufa a 40°C por 15 horas, a distribuição de α - e β -caroteno também apresentou diferença ao longo dos doze meses de coleta, mas não seguiu o mesmo padrão encontrado nas algas “in natura”. Comportamento semelhante foi observado por Saker-Sampaio (1997) nos extratos da rodófito *Palmaria palmata*, desidratada em estufa a 30°C e a 45°C e liofilizada, que apresentaram distribuição ao longo do ano diferente daqueles da alga “in natura”.

Em *C. sertularioides* os maiores conteúdos de α - e β -caroteno foram detectados nos meses de abril ($26,239 \pm 0,984 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 15A) e fevereiro ($14,032 \pm 0,486 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 15B), respectivamente.

Em *C. prolifera*, os teores de α - e β -caroteno foram máximos em março e iguais a $43,919 \pm 0,818$ (Figura 16A) e $20,856 \pm 1,497 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco (Figura 16B), respectivamente. Valores elevados também foram observados nos meses de abril, maio e outubro.

Em *C. cupressoides*, os valores máximos de α -caroteno ocorreram em maio ($11,301 \pm 0,438 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e setembro ($10,757 \pm 0,56 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 17A), e os de β -caroteno, em fevereiro ($8,347 \pm 0,727 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e setembro ($9,808 \pm 0,779 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 17B).

No mês de setembro foram detectados os maiores teores de α -caroteno ($33,993 \pm 0,908 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 18A) e de β -caroteno ($22,798 \pm 0,538 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 18B), respectivamente, em *C. mexicana*.

Em *C. racemosa* os teores, em $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, máximos de α -caroteno ocorreram em maio ($16,666 \pm 0,356$) (Figura 19A) e de β -caroteno

em maio ($9,117 \pm 0,757$) e dezembro ($7,879 \pm 0,871$) (Figura 19B). Nos demais meses, as concentrações não variaram muito, com mínimo em junho e agosto.

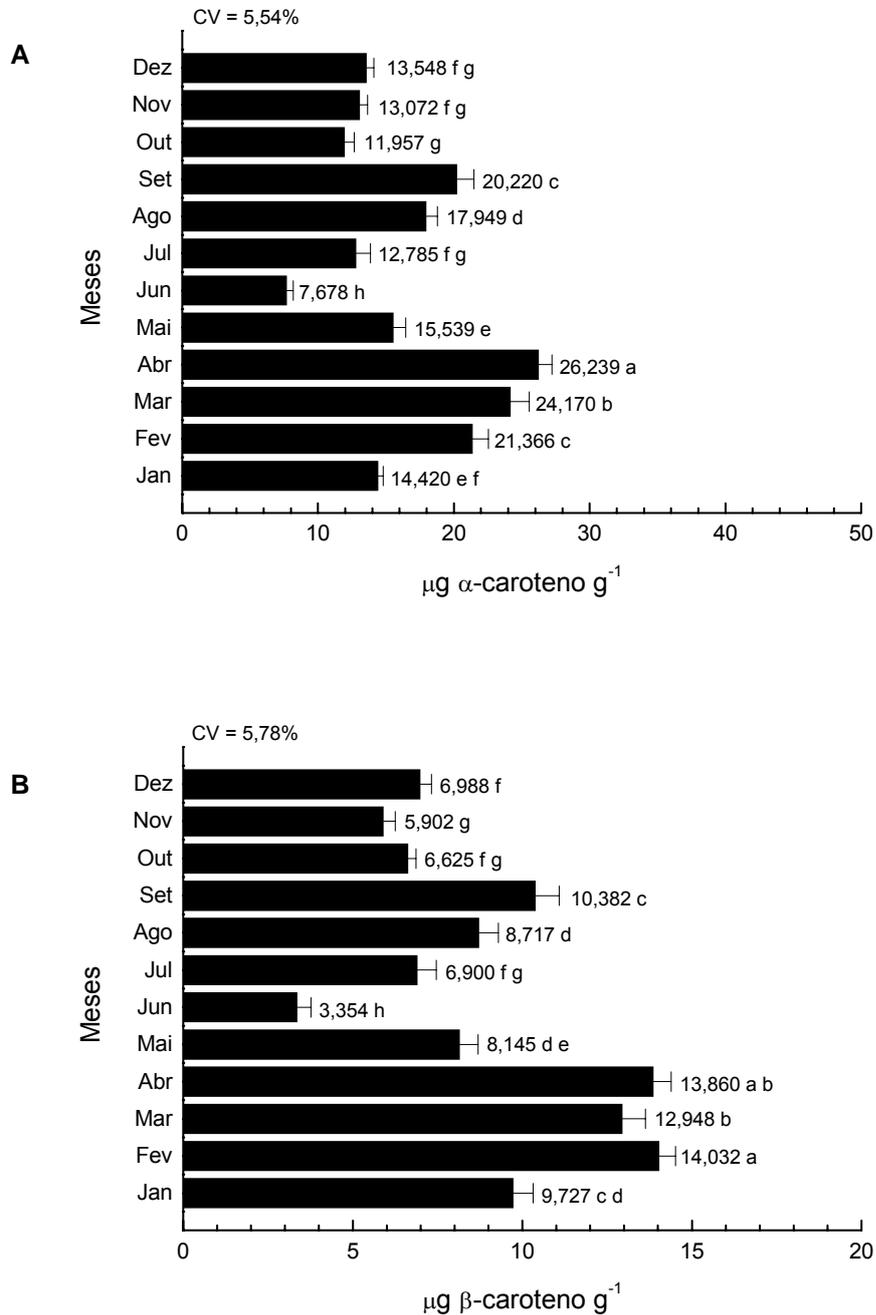


Figura 15. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa sertularioides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

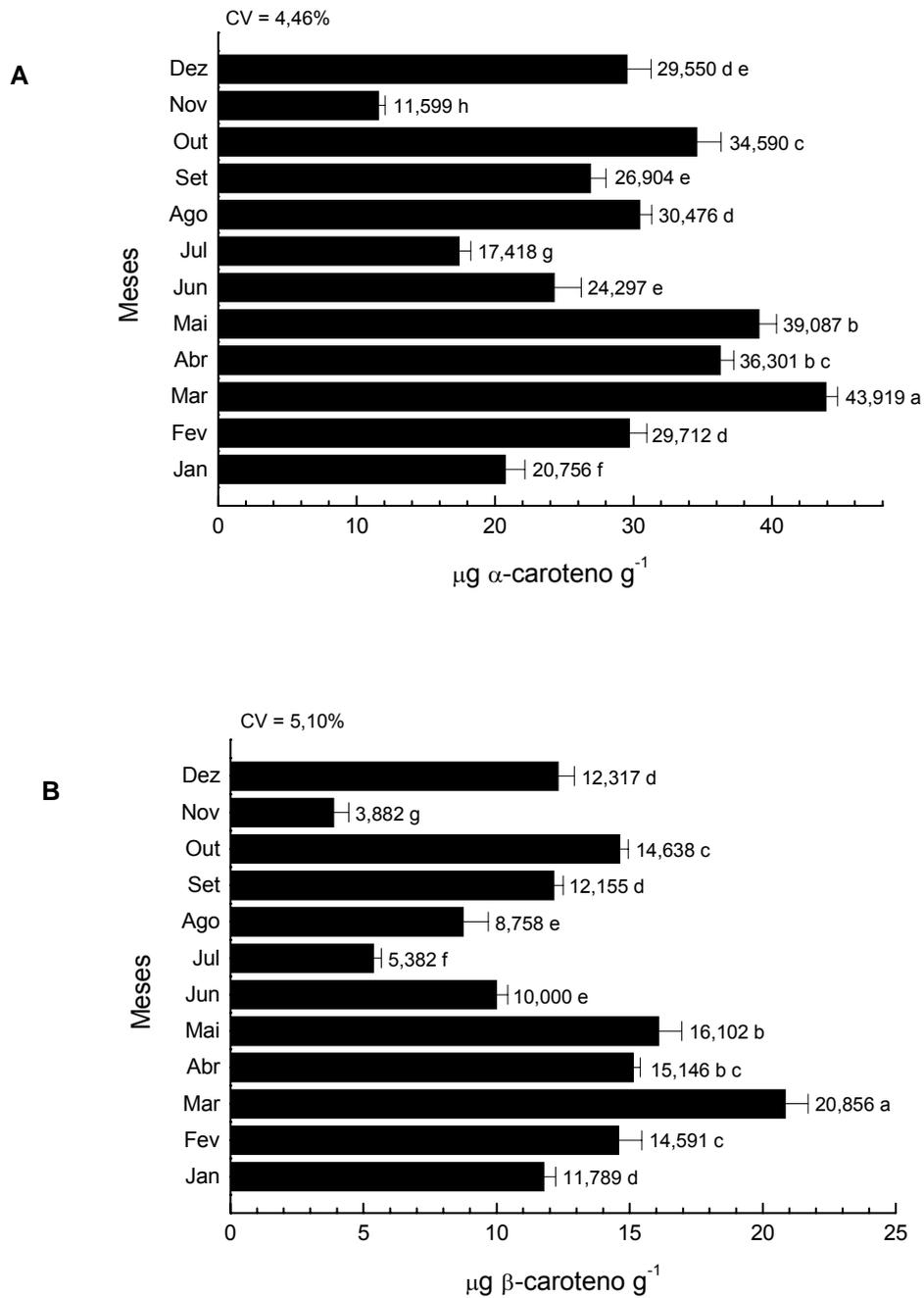


Figura 16. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa prolifera* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

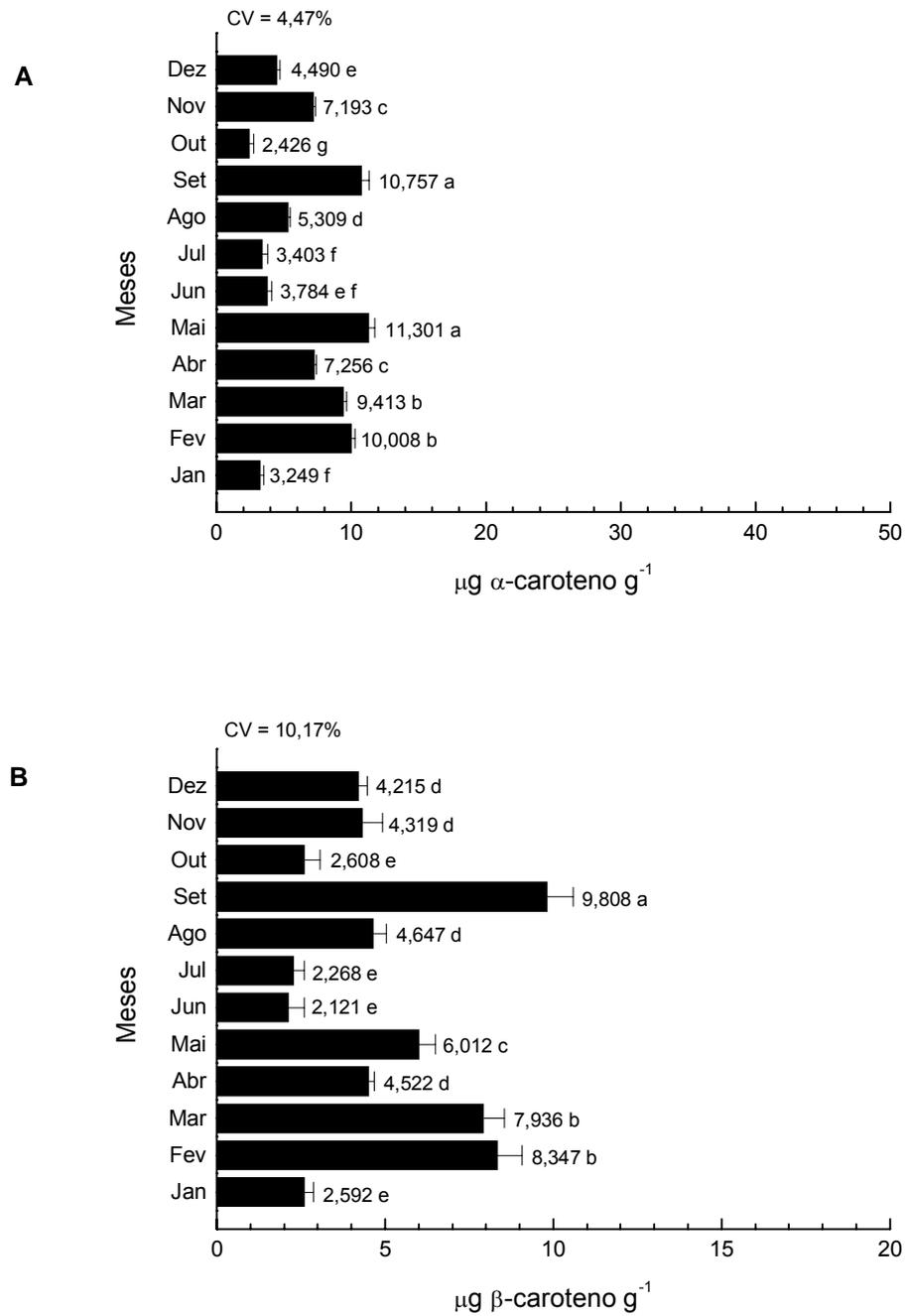


Figura 17. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa cupressoides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

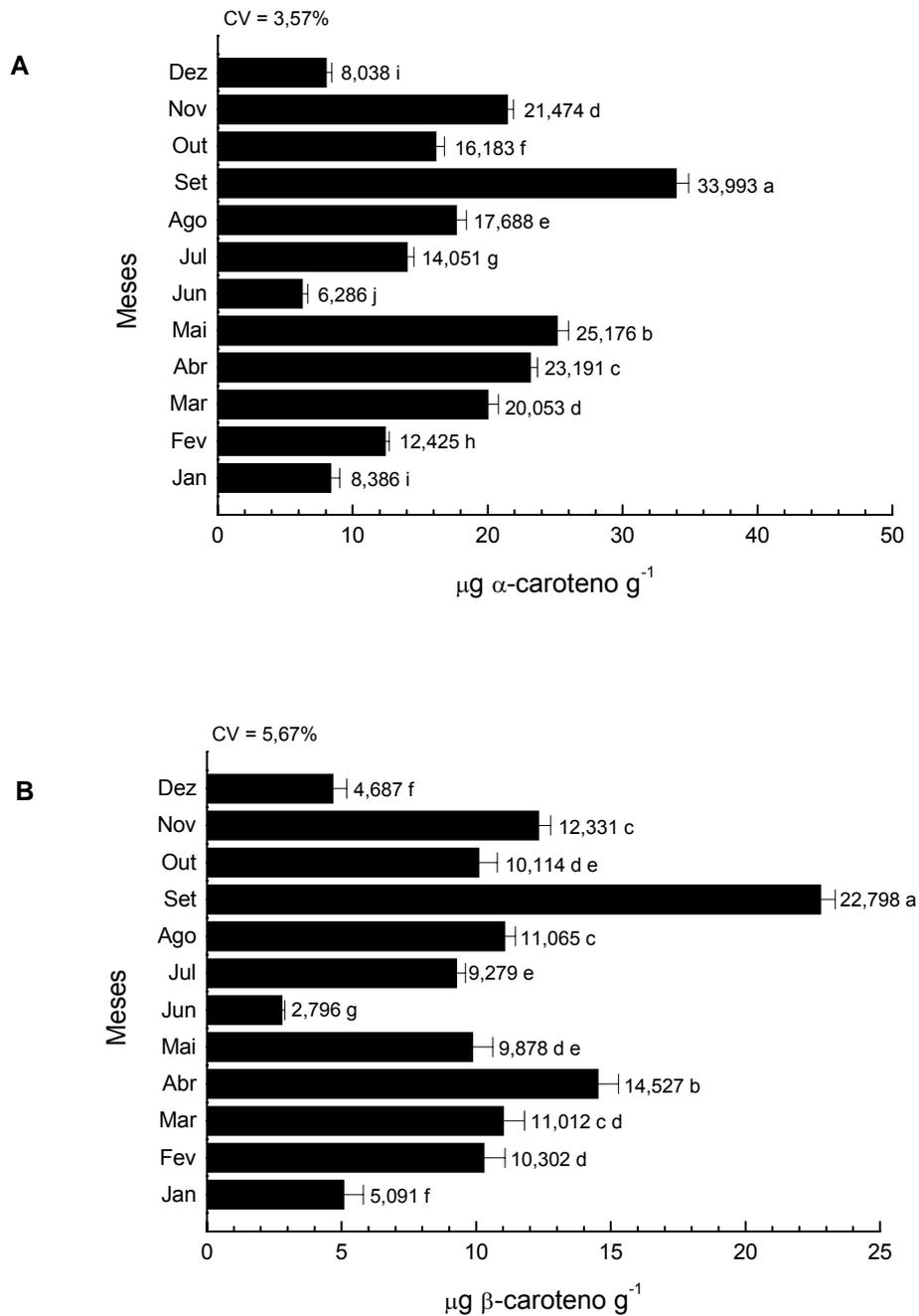


Figura 18. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa mexicana* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

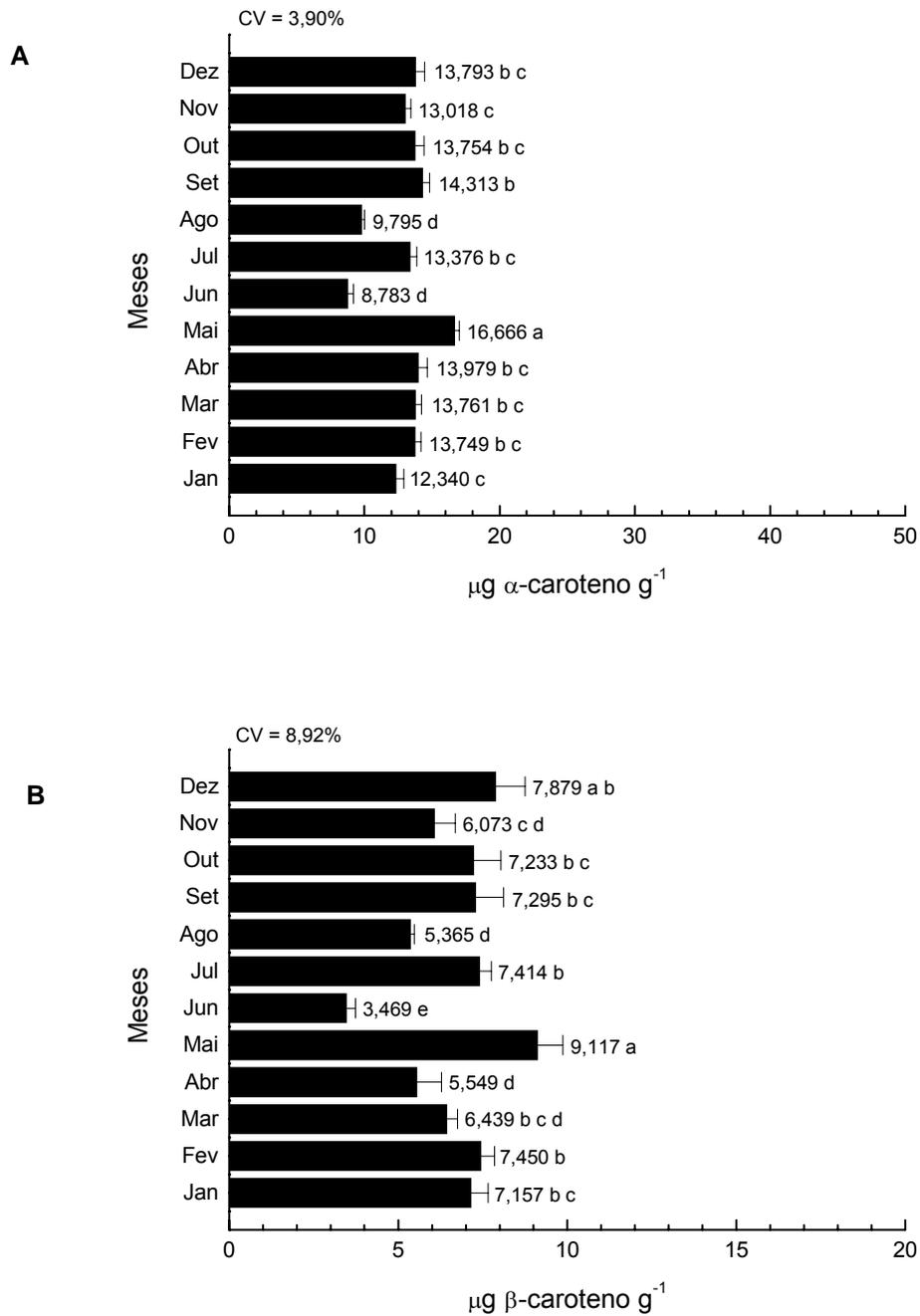


Figura 19. Teores de α -caroteno (A) e β -caroteno (B) em *Caulerpa racemosa* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

Os coeficientes de variação das médias mensais de α -caroteno variaram de 3,57% a 5,54% e das de β -caroteno, de 5,10% a 10,17% (Figuras 15 a 19).

No presente trabalho, os teores de α -caroteno e de β -caroteno em *C. cupressoides* e *C. racemosa*, ambas desidratadas a 40°C por 15 horas, foram até treze vezes e três vezes, respectivamente, superiores aos reportados por Pires (2006) nas mesmas espécies, porém coletadas no mês de julho na Praia do Guajiru, Trairi-CE.

O teor de β -caroteno na macroalga marinha vermelha *Gracilaria changgi* submetida à liofilização foi igual a $5,2 \pm 0,4 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (NORZIAH; CHIANG, 2000); 2,3 vezes superior ao conteúdo de β -caroteno em *C. mexicana* desidratada a 40°C por 15 horas.

Os conteúdos de vitamina A (retinol equivalente - RE) e as porções para que as cinco espécies de *Caulerpa* desidratadas a 40°C durante 15 horas, analisadas neste trabalho, sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A estão apresentados na Tabela 3.

Da mesma forma que nas algas “in natura”, o conteúdo de RE nas algas desidratadas foi mínimo em *C. cupressoides* em outubro ($0,639 \pm 0,104 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e máximo em *C. prolifera* em março ($7,180 \pm 0,319 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Tabela 3).

Porções diárias correspondentes a 42 g de *C. prolifera*, 45 g de *C. mexicana*, 66 g de *C. sertularioides*, 100 g de *C. racemosa* ou 119 g de *C. cupressoides*, seriam capazes de fornecer $1/2$ da IDR, e assim elas poderiam ser classificadas como fontes excelentes de vitamina A. Já o consumo diário de 14 g de *C. prolifera*, 15 g de *C. mexicana*, 22 g de *C. sertularioides*, 33 g de *C. racemosa* ou 40 g de *C. cupressoides* seria suficiente para fornecer $1/6$ da IDR de vitamina A, atuando assim como fonte útil dessa vitamina (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de retinol equivalente e porções para que as espécies de *Caulerpa* analisadas desidratadas sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A.

Mês	<i>Caulerpa sertularioides</i>			<i>Caulerpa prolifera</i>			<i>Caulerpa cupressoides</i>			<i>Caulerpa mexicana</i>			<i>Caulerpa racemosa</i>		
	RE	E	U	RE	E	U	RE	E	U	RE	E	U	RE	E	U
Jan	2,836 ± 0,129	106	35	3,783 ± 0,288	79	26	0,706 ± 0,071	425	142	1,616 ± 0,211	186	62	2,232 ± 0,132	134	45
Fev	4,138 ± 0,180	72	24	4,932 ± 0,251	61	20	1,997 ± 0,296	150	50	2,764 ± 0,152	109	36	2,399 ± 0,103	125	42
Mar	4,192 ± 0,232	72	24	7,180 ± 0,319	42	14	2,025 ± 0,261	148	49	3,523 ± 0,194	85	28	2,309 ± 0,199	130	43
Abr	4,519 ± 0,171	66	22	5,579 ± 0,120	54	18	1,365 ± 0,038	220	73	4,320 ± 0,204	69	23	2,101 ± 0,176	143	48
Mai	2,666 ± 0,168	113	38	5,972 ± 0,248	50	17	1,931 ± 0,143	155	52	3,764 ± 0,194	80	27	3,003 ± 0,241	100	33
Jun	1,205 ± 0,110	249	83	3,898 ± 0,431	77	26	0,672 ± 0,106	446	149	0,995 ± 0,049	301	100	1,317 ± 0,078	228	76
Jul	2,226 ± 0,184	135	45	2,362 ± 0,117	127	42	0,665 ± 0,087	451	150	2,730 ± 0,094	110	37	2,362 ± 0,099	127	42
Ago	2,963 ± 0,167	101	34	4,023 ± 0,225	75	25	1,222 ± 0,079	246	82	3,334 ± 0,127	90	30	1,719 ± 0,037	175	58
Set	3,432 ± 0,224	87	29	4,290 ± 0,151	70	23	2,523 ± 0,192	119	40	6,663 ± 0,166	45	15	2,333 ± 0,238	129	43
Out	2,111 ± 0,100	142	47	5,350 ± 0,196	56	19	0,639 ± 0,104	469	156	3,048 ± 0,164	98	33	2,363 ± 0,189	127	42
Nov	2,084 ± 0,105	144	48	1,623 ± 0,130	185	62	1,325 ± 0,114	226	75	3,863 ± 0,109	78	26	2,108 ± 0,137	142	47
Dez	2,305 ± 0,103	130	43	4,384 ± 0,402	68	23	1,081 ± 0,060	278	93	1,458 ± 0,117	206	69	2,264 ± 0,323	132	44

RE = Retinol equivalente ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

E = porções em g peso seco para que as espécies sejam consideradas fontes excelentes de vitamina A.

U = porções em g peso seco para que as espécies sejam consideradas fontes úteis de vitamina A.

De acordo com Pires (2006), para que as *Caulerpa* desidratadas fossem consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A, as porções consumidas diariamente deveriam ficar entre 52 g e 940 g e entre 17 g e 314 g, respectivamente.

As macroalgas verdes de água doce dos gêneros *Chara* e *Nitella* exibiram β -caroteno em concentrações tão elevadas, que o consumo de 8 g de *C. hispida* ou 1 g de *C. contraria* seria suficiente para fornecer metade da IDR de vitamina A (SCHAGERL; PICHLER, 2000). A alga vermelha *Palmaria palmata* desidratada em estufa a 30°C e 45°C apresentou níveis de α - e β -caroteno que permitiram classificá-la como uma fonte útil de vitamina A (SAKER-SAMPAIO, 1997). O teor de RE (865 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso seco) em *G. changgi* a classificaria como um alimento rico em vitamina A (NORZIAH; CHIANG, 2000).

Na microalga verde *Dunaliella salina* liofilizada, Denery et al. (2004) encontraram 1,4 mg β -caroteno g^{-1} . Assim, o consumo diário de cerca de 2 g dessa microalga liofilizada seria suficiente para fornecer 50% da IDR, o que a classificaria como fonte excelente de vitamina A.

As quantidades de RE encontradas em algumas frutas, verduras e legumes normalmente consumidos não são muito diferentes daquelas encontradas nas algas marinhas. Além disso, não se espera, nem mesmo das melhores fontes, que elas sozinhas sejam responsáveis pelo suprimento diário de um determinado nutriente. De fato, uma dieta de boa qualidade deve incluir a ingestão de diferentes alimentos de origem animal e vegetal. A medida mais apropriada para prevenir ou controlar as deficiências nutricionais em longo

prazo é assegurar que as dietas forneçam quantidades adequadas dos nutrientes.

Neste trabalho, as perdas causadas pela desidratação em estufa a 40°C durante 15 horas foram bastante pronunciadas. Com relação ao teor de α -caroteno em *C. sertularioides* ao longo dos doze meses, as perdas variaram de 39% a 86%. Nas outras quatro espécies analisadas a oscilação ficou entre 24% e 93%. Quanto ao conteúdo de β -caroteno, as perdas em *C. sertularioides* e *C. prolifera* foram de 2% a 83%. Em *C. mexicana* e *C. racemosa*, as perdas ficaram entre 10% e 94%. Em *C. cupressoides* foi possível observar a menor variação de perdas no conteúdo de β -caroteno, 35% a 87%.

Um fato comum em todas as espécies analisadas, com exceção da *C. mexicana*, foi que as maiores perdas foram observadas nos meses onde as concentrações de α - e β -caroteno nas algas “in natura” foram máximas. Por exemplo, em *C. cupressoides* os maiores teores de α - e β -caroteno foram detectados no mês de setembro (Figuras 13A e 13B), e as perdas na concentração desses compostos no material desidratado foram 93% e 87%, respectivamente.

Segundo Pires (2006), as perdas nos conteúdos de α - e β -caroteno em *C. cupressoides* e *C. racemosa* desidratadas a 40°C por 15 horas foram de aproximadamente 97%. Fan et al. (2005) encontraram que o processo de secagem da macroalga vermelha *Porphyra* (Nori) a 45°C provocou uma redução no teor de carotenóides da ordem de 80%, enquanto nenhuma perda foi observada no material liofilizado.

Os carotenóides são pigmentos reconhecidamente sensíveis a vários fatores, dentre os quais, luz, calor e oxigênio. Essa labilidade torna importante

o estudo dos carotenóides encontrados nos vegetais crus e naqueles submetidos à cocção, tendo em vista que, durante as etapas de preparação de vários vegetais utilizados na dieta humana, as condições que favorecem a degradação dos carotenóides estão presentes.

As perdas em vegetais tailandeses preparados por diferentes métodos de cocção foram avaliadas por Sungpuag et al. (1999), tendo em vista que alguns vegetais requerem processamentos térmicos mais longos para inativar enzimas ou para torná-los mais tenros. As perdas no teor de β -caroteno variaram de 7% a 43%. Os menores valores foram observados nos vegetais cozidos no vapor e os maiores, naqueles cozidos em grandes volumes de água. A relação tempo-temperatura foi importante para todos os tipos de preparações que empregaram calor, mas a intensidade da alteração dependeu do tipo de cozimento e do produto, incluindo o tamanho do corte.

Campos et al. (2003) analisaram o teor de β -caroteno em brócolis cru, cozido e frito e observam que o teor de β -caroteno foi menor no material cozido do que no cru. Esse resultado foi atribuído à degradação durante o cozimento e à absorção de água, implicando em um decréscimo na concentração dos carotenóides por unidade de peso. Interessantemente, embora a fritura seja um modo de preparo que emprega temperaturas mais elevadas, a perda de água durante o processo fez com que a quantidade de carotenóides por unidade de peso aumentasse.

Kidmose et al. (2007) avaliaram o efeito da preparação doméstica em seis variedades de batata doce e constataram que a estabilidade do β -caroteno durante o aquecimento dependeu da variedade da batata. Negi; Roy (2001) compararam dois métodos de secagem de vegetais folhosos verdes; o primeiro

utilizando temperaturas de 40-50°C (secagem solar) e o outro com temperatura igual a $65 \pm 5^\circ\text{C}$ (secagem em cabine apropriada). A maior perda no conteúdo de β -caroteno foi observada na secagem solar, e esse fato foi atribuído ao tempo mais prolongado necessário nesse tipo de procedimento.

Os diferentes métodos de cozimento, principalmente no que tange ao tempo e à temperatura, podem provocar mudanças significativas nos carotenóides. Além desses, a estabilidade dos carotenóides também é afetada durante a estocagem em temperaturas elevadas e sob a influência da luz (LIN; CHEN, 2005). Bernhardt, Schlich (2006) compararam os teores de β -caroteno em brócolis e pimentão vermelho cozidos no vapor e fervidos em água, mas aparentemente eles não foram alterados pelos métodos de cozimento avaliados. Tang; Chen (2000) analisaram as mudanças na concentração dos pigmentos presentes em uma preparação a base de cenoura liofilizada durante sua estocagem e observaram que quando o material foi estocado a 4°C , as perdas de α - e β -caroteno foram iguais a 16% e 18%, respectivamente, mas quando a estocagem ocorreu a 45°C , as perdas chegaram a 35% para o α -caroteno e a 39% para o β -caroteno.

4.3. Vitamina E (α -tocoferol)

O tempo de retenção do padrão de α -tocoferol obtido pelo sistema cromatográfico usado neste trabalho foi igual a $5,09 \pm 0,17$ min ($n = 46$). Um cromatograma típico do padrão contendo $5,0 \mu\text{g}$ de α -tocoferol está apresentado na Figura 20. O tempo de retenção do α -tocoferol detectado nos extratos de alga foi de $5,10 \pm 0,19$ min ($n = 315$). Os tempos de retenção do

α -tocoferol padrão e do composto presente nos extratos de alga eluído em aproximadamente 5,0 min não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$).

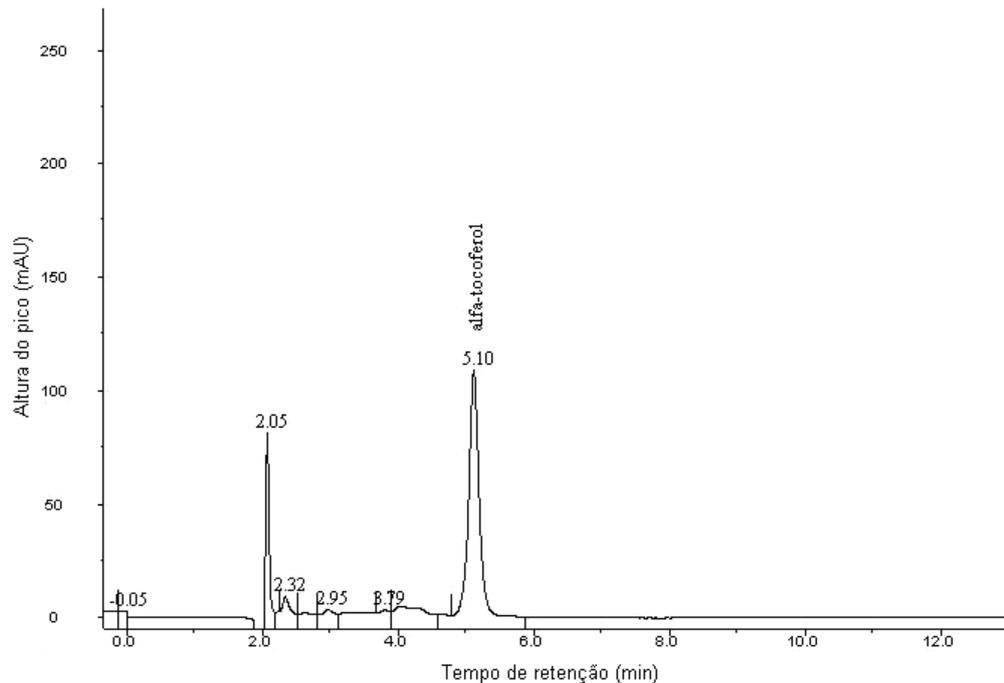


Figura 20. Cromatograma típico de α -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de 5,0 μg em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (90:10), fluxo 1,5 mL min⁻¹ e detecção em 292 nm.

As cinco espécies de *Caulerpa* “in natura” analisadas no presente trabalho apresentaram α -tocoferol. Dentre todas as amostras analisadas, os conteúdos máximo e mínimo foram detectados em *C. cupressoides* e *C. racemosa*, respectivamente.

Semelhantemente ao α - e β -caroteno, a distribuição de α -tocoferol nas cinco espécies do gênero *Caulerpa*, estudadas neste trabalho sob a forma “in natura”, apresentou diferenças ao longo dos doze meses.

Em *C. sertularioides*, os teores de α -tocoferol, $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, foram máximo em agosto ($445,453 \pm 15,093$) e mínimo em janeiro ($94,730 \pm 2,599$).

Em abril ($389,607 \pm 19,772$) e fevereiro ($346,036 \pm 11,792$) também foram encontrados valores elevados, mas nos demais meses sua distribuição variou pouco, de $166,633 \pm 12,483$ a $259,704 \pm 15,595$ (Figura 21).

Em *C. prolifera* foi possível observar teores elevados de α -tocoferol, $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, em dezembro ($426,411 \pm 14,539$), que foi o máximo, e em novembro ($342,891 \pm 7,483$) e setembro ($331,624 \pm 20,149$). No restante do ano, os teores oscilaram entre $129,389 \pm 3,663$ em junho e $271,624 \pm 13,660$ em julho (Figura 22).

C. cupressoides apresentou um pico no primeiro semestre igual a $321,860 \pm 3,200 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco (em abril) e outro no segundo semestre igual a $463,040 \pm 24,446 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco (em setembro), que foi o conteúdo máximo. Nos meses de janeiro e julho foram registrados níveis mínimos de α -tocoferol, $40,882 \pm 1,353$ e $64,651 \pm 6,062$, respectivamente. Nos outros meses a variação ficou entre $73,147 \pm 2,017$ e $200,627 \pm 3,107$ (Figura 23).

A distribuição de α -tocoferol em *C. mexicana* apresentou um pico bem evidente em abril ($399,929 \pm 21,126 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco). Nos outros meses a variação ficou entre $71,268 \pm 13,388$ e $122,210 \pm 12,606$, exceto em janeiro, agosto e setembro, nos quais os conteúdos foram mínimos (Figura 24).

Em geral a distribuição de α -tocoferol em *C. racemosa* ao longo do ano apresentou um padrão distinto das demais espécies de *Caulerpa*, com alternância de valores, sendo o máximo detectado em junho ($195,587 \pm 14,262 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) e mínimo em janeiro $29,795 \pm 2,905 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) (Figura 25).

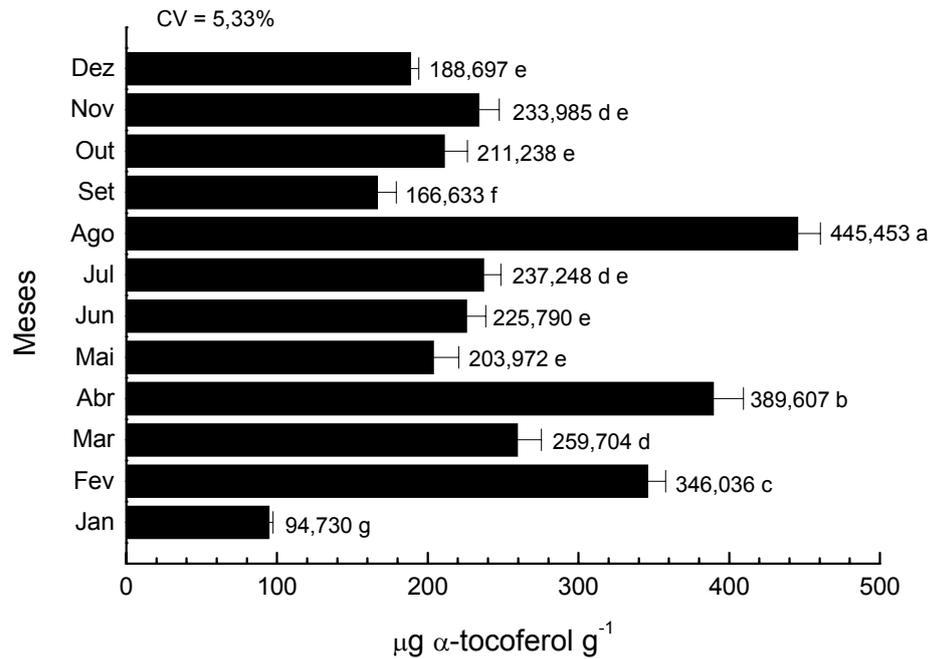


Figura 21. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa sertularioides* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

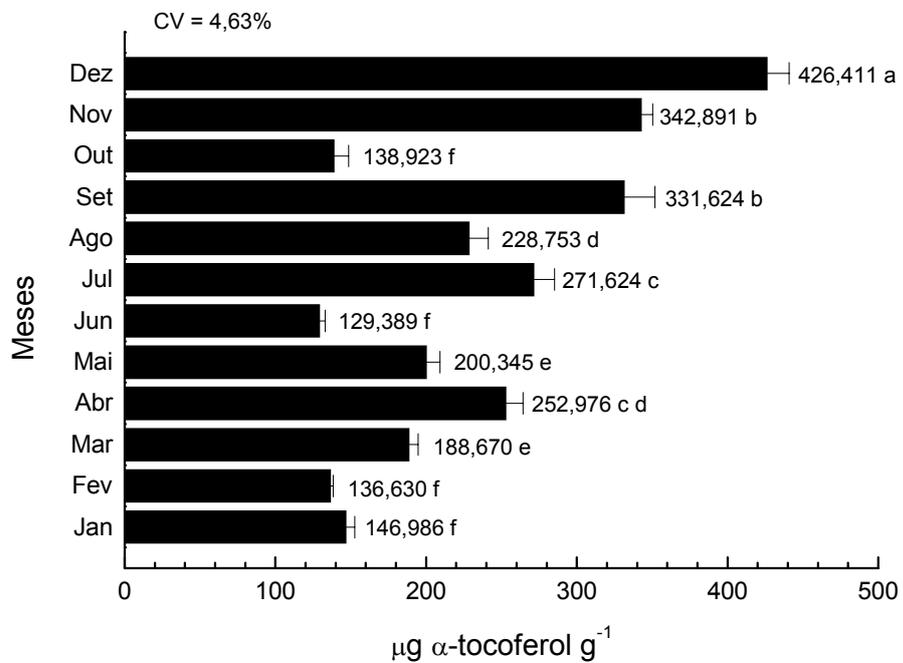


Figura 22. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa prolifera* "in natura", coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

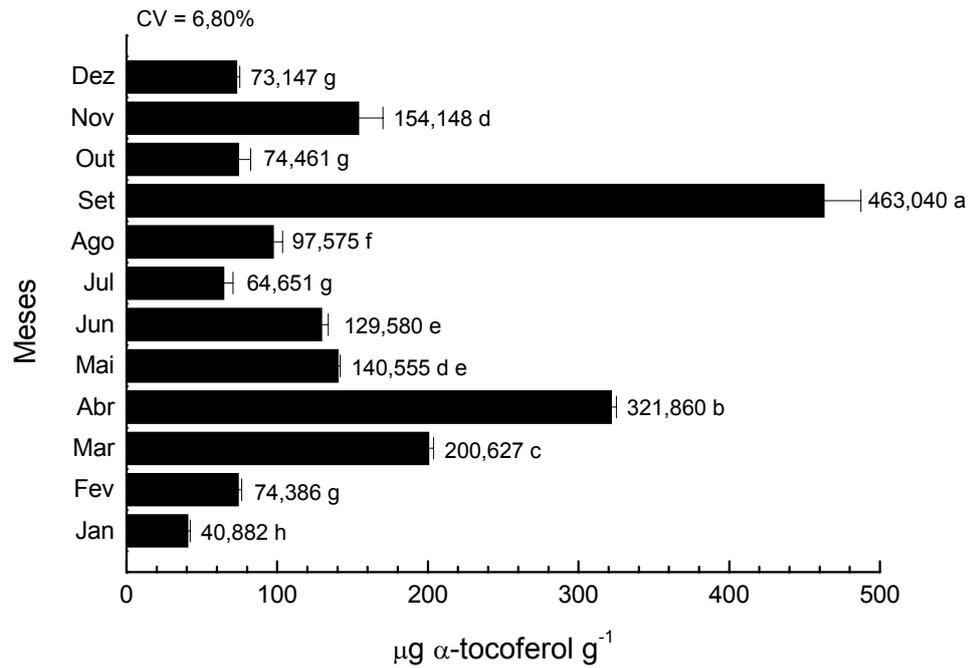


Figura 23. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa cupressoides* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

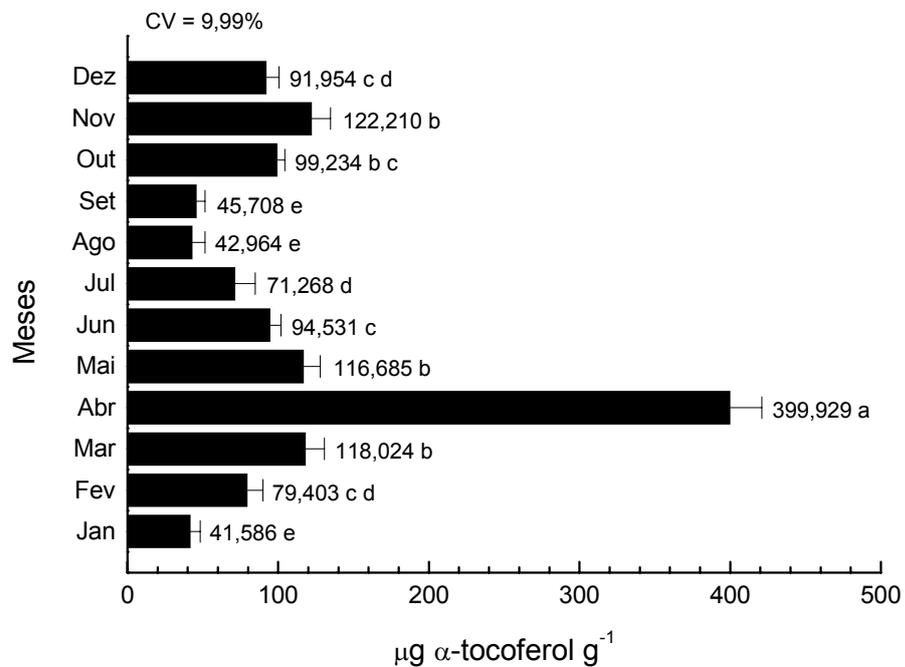


Figura 24. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa mexicana* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

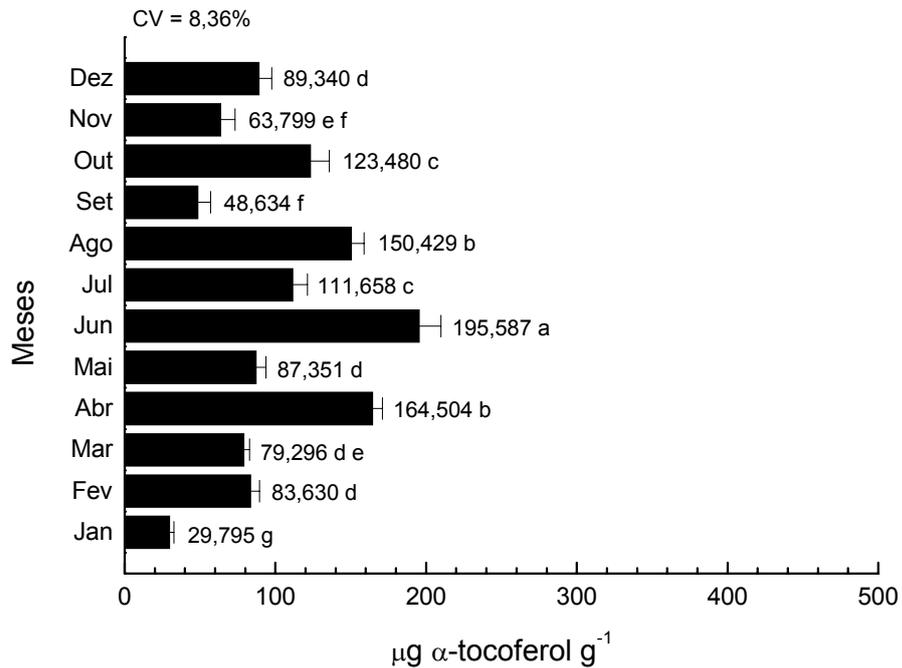


Figura 25. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa racemosa* “in natura”, coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006.

Os coeficientes de variação das médias mensais de α -tocoferol nas espécies de *Caulerpa* analisadas “in natura” foram iguais a 5,33%, 4,63%, 6,80%, 9,99% e 8,36%, respectivamente para *C. sertularioides*, *C. prolifera*, *C. cupressoides*, *C. mexicana* e *C. racemosa* (Figuras 21 a 25).

Existem poucos trabalhos sobre a distribuição e a variação sazonal de α -tocoferol em algas marinhas.

Em espécies de algas japonesas, α -tocoferol foi majoritário representando mais de 90% dos tocoferóis totais. As algas pardas apresentaram os maiores conteúdos (1,89 a 51,56 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco), seguidas pelas vermelhas (0,02 a 2,21 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) e verdes (0,07 a 0,15 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco). A variação sazonal nos conteúdos de tocoferóis nas algas pardas *Hizikia fusiformis* e *Analphus japonicus* foi atribuída às mudanças

ocorridas nos parâmetros ambientais (temperatura da água e luz). Nos meses em que a temperatura da água e a luminosidade foram mais elevadas foi possível observar os teores máximos (MIYASHITA; TAKAGI, 1987).

As algas vermelha *Palmaria palmata* e parda *Laminaria digitata* apresentaram α -tocoferol em todos os meses do ano. Em *P. palmata*, com exceção da amostra coletada em janeiro, que apresentou conteúdo máximo, a variação anual foi pequena (0,6 a 1,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco). Em *L. digitata* o nível de α -tocoferol foi relativamente consistente, oscilando de 0,6 a 2,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco, salvo os valores detectados em agosto e setembro, que foram mais elevados (SAKER-SAMPAIO, 1997). Os teores de α -tocoferol nas amostras analisadas neste trabalho foram superiores, e as variações na distribuição ao longo do ano muito mais significativas do que os reportados por Saker-Sampaio (1997).

Apesar de Burtin (2003) eleger as algas pardas como as melhores fontes de vitamina E, Sousa (2005) encontrou teores de α -tocoferol maiores em algas verdes do que nas vermelhas e pardas. Os conteúdos de α -tocoferol encontrados nas espécies de *Caulerpa* analisadas no presente trabalho foram comparados com os reportados por Jensen (1969) e Miyashita; Takagi (1987). Novamente, os teores de α -tocoferol nas espécies de *Caulerpa* foram superiores, com exceção das algas pertencentes à família Fucaceae (JENSEN, 1969), que apresentaram valores similares.

Raffo et al. (2006) observaram uma marcante variação sazonal nos teores de α -tocoferol presentes no tomate-cereja, com mínimo detectado em dezembro (40 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso fresco) e máximo em junho (1.160 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso fresco). Gómez-Coronado et al. (2004) também observaram conteúdos

variáveis de α - e γ -tocoferol em alecrim, mas no inverno os valores foram maiores do que no verão.

Os conteúdos, mg g^{-1} peso fresco, de vitamina E (α -tocoferol equivalente – α -TE) e as porções, em g peso fresco, para que as cinco espécies de *Caulerpa* “in natura” analisadas neste trabalho sejam consideradas fontes excelentes ou úteis estão apresentados na Tabela 4. O menor conteúdo de α -TE foi observado em janeiro em *C. racemosa* ($0,030 \pm 0,003 \text{ mg g}^{-1}$ peso fresco) e o maior em setembro em *C. sertularioides* ($0,463 \pm 0,024 \text{ mg g}^{-1}$ peso fresco) (Tabela 4).

Com base nos valores de α -TE obtidos para as espécies de *Caulerpa* “in natura”, as porções diárias para que sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E, são relativamente pequenas, devendo variar de 11 g a 168 g ou de 4 g a 56 g peso fresco, respectivamente (Tabela 4).

As espécies de *Caulerpa* analisadas por Sousa (2005) apresentaram teores de α -TE semelhantes aos determinados neste trabalho, e as porções necessárias para que elas fossem consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E, comparáveis às quantificadas no presente trabalho.

As porções diárias de *P. palmata* ou *L. digitata* necessárias para que elas fossem consideradas fontes excelentes de vitamina E foram tão elevadas quanto 8 kg peso fresco (SAKER-SAMPAIO, 1997). Todas as algas analisadas por Miyashita; Takagi (1987) precisariam ser consumidas em quantidades igualmente absurdas para fornecerem metade da IDR de vitamina E, com exceção da alga parda *Hizikia fusiforme* que apresentou porções comparáveis às determinadas no presente trabalho.

Tabela 4. Teores de α -tocoferol equivalente e porções para que as espécies de *Caulerpa* analisadas “in natura” sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E.

Mês	<i>Caulerpa sertularioides</i>			<i>Caulerpa prolifera</i>			<i>Caulerpa cupressoides</i>			<i>Caulerpa mexicana</i>			<i>Caulerpa racemosa</i>		
	α -TE	E	U	α -TE	E	U	α -TE	E	U	α -TE	E	U	α -TE	E	U
Jan	0,095 \pm 0,003	53	18	0,147 \pm 0,006	34	11	0,041 \pm 0,001	122	41	0,042 \pm 0,007	120	40	0,030 \pm 0,003	168	56
Fev	0,346 \pm 0,012	14	5	0,137 \pm 0,002	37	12	0,074 \pm 0,002	67	22	0,079 \pm 0,010	63	21	0,084 \pm 0,006	60	20
Mar	0,260 \pm 0,016	19	6	0,189 \pm 0,006	27	9	0,201 \pm 0,003	25	8	0,118 \pm 0,013	42	14	0,079 \pm 0,004	63	21
Abr	0,390 \pm 0,020	13	4	0,253 \pm 0,011	20	7	0,322 \pm 0,003	16	5	0,400 \pm 0,021	13	4	0,165 \pm 0,006	30	10
Mai	0,204 \pm 0,017	25	8	0,200 \pm 0,009	25	8	0,141 \pm 0,001	36	12	0,117 \pm 0,011	43	14	0,087 \pm 0,006	57	19
Jun	0,226 \pm 0,013	22	7	0,129 \pm 0,004	39	13	0,130 \pm 0,004	39	13	0,095 \pm 0,007	53	18	0,196 \pm 0,014	26	9
Jul	0,237 \pm 0,011	21	7	0,272 \pm 0,014	18	6	0,065 \pm 0,006	77	26	0,071 \pm 0,013	70	23	0,112 \pm 0,010	45	15
Ago	0,445 \pm 0,015	11	4	0,229 \pm 0,013	22	7	0,098 \pm 0,006	51	17	0,043 \pm 0,008	116	39	0,150 \pm 0,008	33	11
Set	0,167 \pm 0,012	30	10	0,332 \pm 0,020	15	5	0,463 \pm 0,024	11	4	0,046 \pm 0,006	109	37	0,049 \pm 0,008	103	34
Out	0,211 \pm 0,015	24	8	0,139 \pm 0,010	36	12	0,074 \pm 0,008	67	22	0,099 \pm 0,005	50	17	0,123 \pm 0,012	40	14
Nov	0,234 \pm 0,013	21	7	0,343 \pm 0,007	15	5	0,154 \pm 0,016	32	11	0,122 \pm 0,013	41	14	0,064 \pm 0,009	78	26
Dez	0,189 \pm 0,005	26	9	0,426 \pm 0,015	12	4	0,073 \pm 0,002	68	23	0,092 \pm 0,009	54	18	0,089 \pm 0,008	56	19

α -TE = α -Tocoferol equivalente (mg g⁻¹ peso fresco)

E = porções em g peso fresco para que as espécies sejam consideradas fontes “excelentes” de vitamina E

U = porções em g peso fresco para que as espécies sejam consideradas fontes “úteis” de vitamina E

Nas cinco espécies do gênero *Caulerpa* estudadas sob a forma desidratada em estufa a 40°C por 15 horas, a distribuição de α -tocoferol, presente em todas as amostras com exceção de *C. racemosa* coletada em março, também apresentou diferença ao longo dos doze meses de coleta.

C. sertularioides apresentou conteúdo de α -tocoferol de $138,439 \pm 3,435 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco em outubro a $380,080 \pm 13,429 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco em maio, e essa variação foi inferior a 2,8 vezes entre o maior e o menor (Figura 26).

De forma semelhante em *C. prolifera*, o teor máximo de α -tocoferol em dezembro ($289,829 \pm 14,435 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) foi apenas 2,3 vezes maior do que o mínimo ($123,832 \pm 11,323 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) em julho (Figura 27).

C. cupressoides apresentou um pico bem evidente na concentração de α -tocoferol no mês de junho ($317,222 \pm 10,431 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), e no restante dos meses os teores permaneceram em duas faixas distintas: de $125,469 \pm 4,175$ a $233,082 \pm 11,210 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco e de $89,981 \pm 3,994$ a $170,132 \pm 14,121 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco (Figura 28).

Em *C. mexicana*, o teor máximo foi detectado em abril ($231,271 \pm 15,637 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e nos demais meses do ano os conteúdos permaneceram entre $70,936 \pm 7,585$ e $194,522 \pm 8,893 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (Figura 29).

Em *C. racemosa*, exceção feita ao mês de março em que nenhum α -tocoferol foi detectado, o menor teor foi observado em outubro ($73,492 \pm 7,212 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e o maior em maio ($324,387 \pm 22,373 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco). Nos demais meses o teor permaneceu entre $101,983 \pm 9,686$ e $256,447 \pm 10,783 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco (Figura 30).

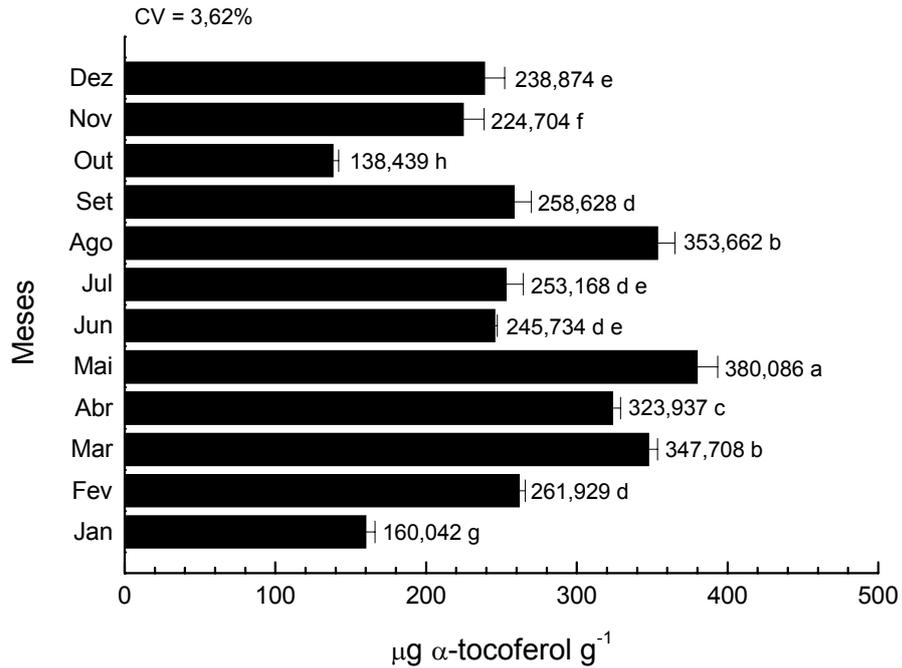


Figura 26. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa sertularioides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

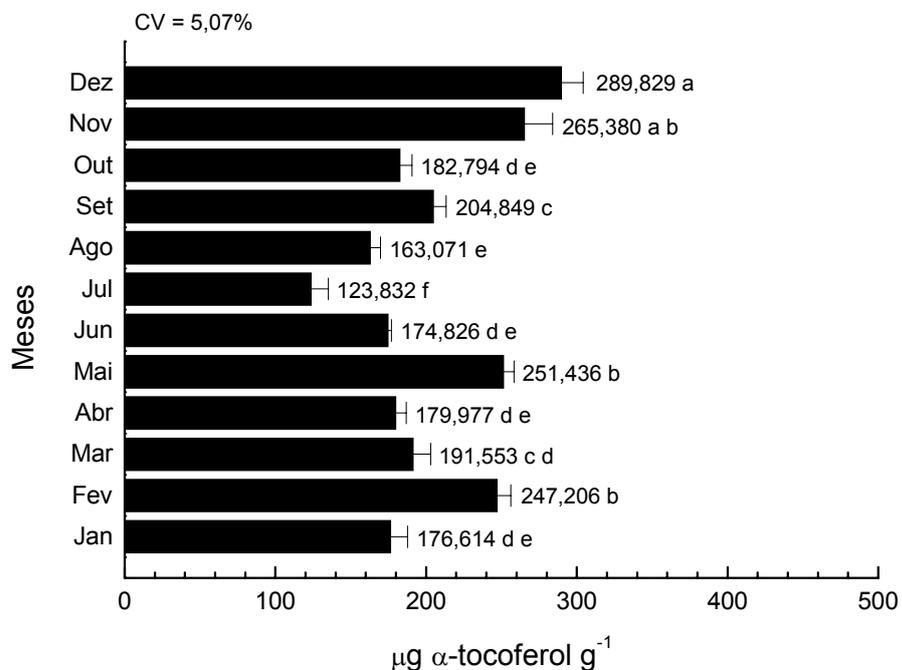


Figura 27. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa prolifera* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

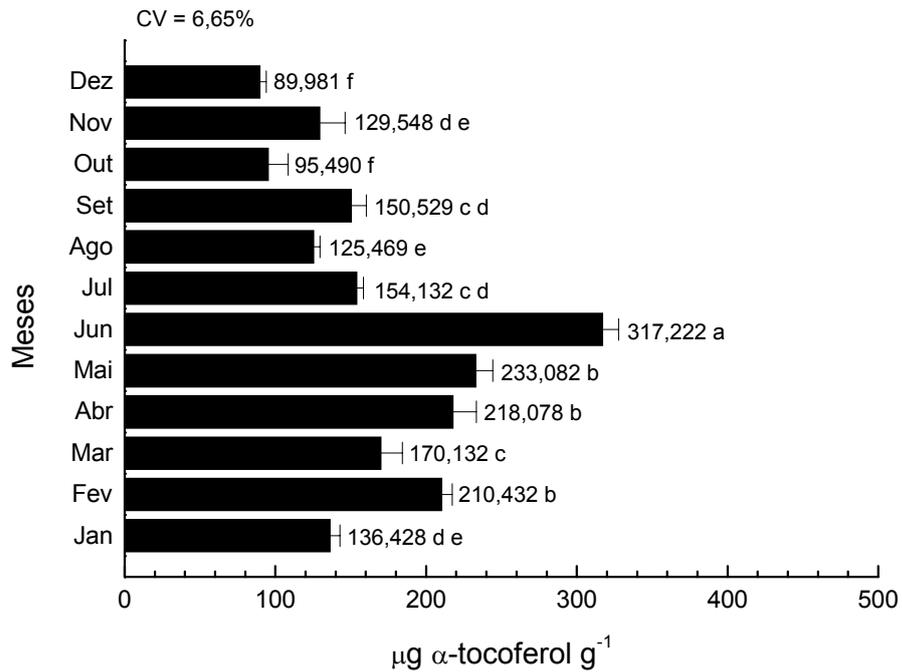


Figura 28. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa cupressoides* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

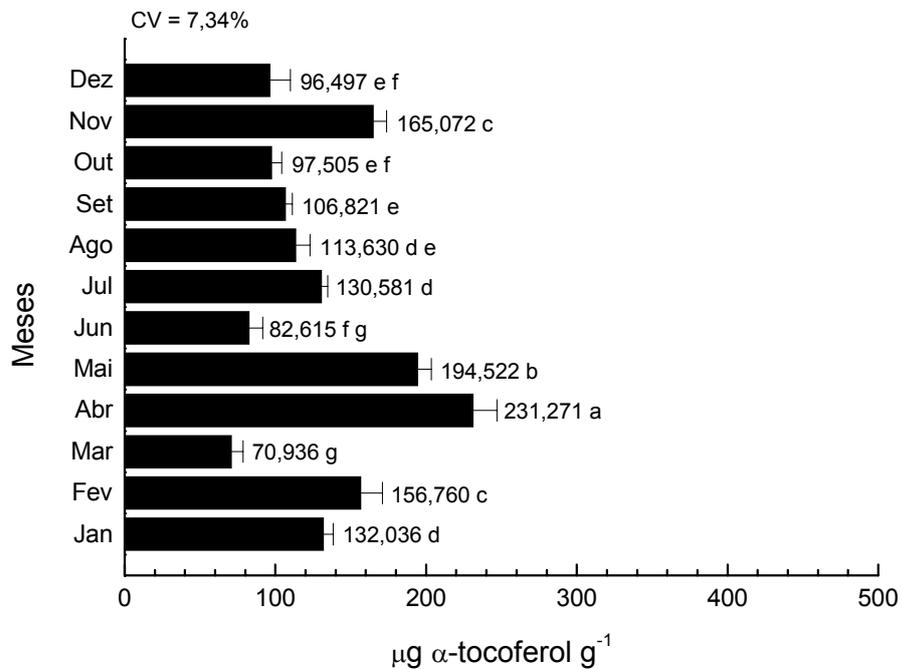


Figura 29. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa mexicana* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas

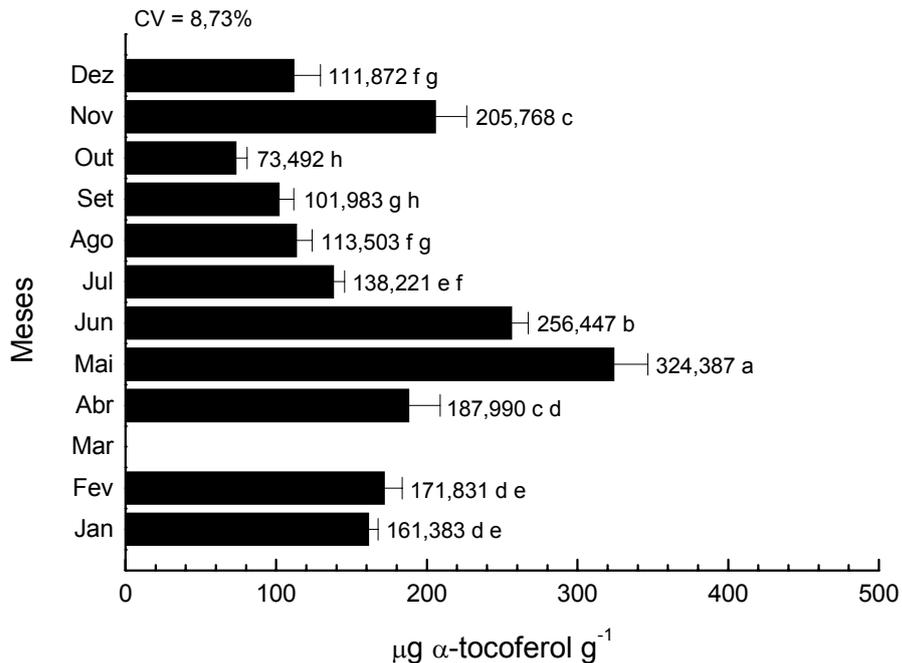


Figura 30. Teores de α -tocoferol em *Caulerpa racemosa* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

Os coeficientes de variação das médias mensais dos conteúdos de α -tocoferol nas amostras de *C. sertularioides*, *C. prolifera*, *C. cupressoides*, *C. mexicana* e *C. racemosa* desidratadas foram iguais a 3,62%, 5,07%, 6,65%, 7,34% e 8,73%, respectivamente (Figuras 26 a 30).

A distribuição do α -tocoferol foi comparada entre as amostras desidratadas e aquelas “in natura”, não tendo sido observado o mesmo padrão quanto a máximos e mínimos, exceto nos extratos de *C. prolifera* e *C. mexicana*.

As perdas no conteúdo de α -tocoferol após a desidratação a 40°C por 15 horas foram as seguintes: *C. sertularioides* e *C. prolifera* de 63% a 91%; *C. cupressoides* e *C. mexicana* de 33% a 97%; e *C. racemosa* de 26% a 88%.

Sánchez-Machado et al. (2002) determinaram α -tocoferol nas algas pardas *Himanthalia elongata* e *Laminaria ochroleuca* desidratadas a 45°C por 24 horas, que apresentaram teores iguais a $33,3 \pm 4,2$ e $8,9 \pm 2,1 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, respectivamente, e nas pardas *Saccorhiza polychides* e *H. elongata* enlatadas, submetidas a 112°C por 40 minutos, que apresentaram teores iguais a $5,7 \pm 1,3$ e $12,0 \pm 2,0 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, respectivamente. A diferença nas amostras de *H. elongata*, desidratada a 45°C por 24 horas e esterilizada comercialmente a 112°C por 40 minutos, foi atribuída às condições do processamento, variação sazonal e/ou variação entre os locais de coleta.

Le Tutour et al. (1998) quantificaram os isômeros α -, γ - e δ -tocoferol nas algas pardas *Laminaria digitata*, *H. elongata*, *Fucus vesiculosus*, *F. serratus* e *Ascophyllum nodosum* desidratadas (teor de umidade menor que 10%) e encontraram predominância de α -tocoferol. *L. digitata* e *H. elongata* apresentaram teores inferiores aos detectados em todas as amostras analisadas no presente trabalho, enquanto em *F. vesiculosus*, *F. serratus* e *A. nodosum*, os conteúdos foram várias vezes superiores.

Durante os processos de cocção, as perdas de vitamina E nos alimentos também são apreciáveis (MACHLIN, 1991; BRAMLEY et al., 2000; RONCADA, 2000). Entretanto, Bernhardt; Schlich (2006) não encontraram perdas significativas no conteúdo de α -tocoferol em brócolis e pimentão vermelho submetidos a diferentes métodos de cocção.

Torre et al. (2001) analisaram o efeito de várias técnicas de secagem sobre o conteúdo de α -tocoferol em alecrim. A secagem em forno microondas (900 W, por 1 minuto) não causou perdas, porém quando o alecrim foi

liofilizado ou submetido à secagem em forno elétrico (50°C por 3 horas), as perdas foram de 41% e 49%, respectivamente.

Os conteúdos, mg g⁻¹ peso seco, de vitamina E (α -tocoferol equivalente – α -TE) e as porções, em g peso seco, para que as cinco espécies de *Caulerpa* desidratadas analisadas neste trabalho sejam consideradas fontes excelentes ou úteis estão apresentados na Tabela 5.

A concentração de α -TE em *C. sertularioides* foi bastante consistente, com valores variando de 0,138 \pm 0,003, em outubro a 0,380 \pm 0,013 mg g⁻¹ peso seco, em maio (Tabela 5). *C. prolifera* apresentou quatro picos na concentração de α -TE, 0,290 \pm 0,014; 0,265 \pm 0,019; 0,251 \pm 0,007 e 0,247 \pm 0,009 mg g⁻¹ peso seco, respectivamente, em dezembro, novembro, maio e fevereiro. O teor mínimo foi detectado em julho, 0,124 \pm 0,011 mg g⁻¹ peso seco. Nos demais meses os valores variaram de 0,175 \pm 0,004 a 0,205 \pm 0,009 mg g⁻¹ peso seco (Tabela 5).

A distribuição de α -TE em *C. cupressoides* foi distinta nos dois semestres do ano. No primeiro, foram detectados os maiores valores, 0,136 \pm 0,006 a 0,317 \pm 0,010 mg g⁻¹ peso seco e no segundo, os menores conteúdos, 0,090 \pm 0,004 a 0,154 \pm 0,004 mg g⁻¹ peso seco (Tabela 5).

C. mexicana apresentou teores máximos de α -TE em abril (0,231 \pm 0,016 mg g⁻¹ peso seco) e maio (0,195 \pm 0,009 mg g⁻¹ peso seco), e mínimo em março (0,071 \pm 0,008 mg g⁻¹ peso seco). Nos demais meses, a variação foi de 0,083 \pm 0,009 a 0,165 \pm 0,009 mg g⁻¹ peso seco (Tabela 5).

Em *C. racemosa*, o teor máximo α -TE foi detectado em maio (0,324 \pm 0,022 mg g⁻¹ peso seco), seguido pelo mês de junho (0,256 \pm 0,011 mg g⁻¹

peso seco). No restante do ano, os teores oscilaram entre $0,073 \pm 0,007$ e $0,206 \pm 0,021$ mg g⁻¹ peso seco (Tabela 5).

As porções de *Caulerpa* desidratadas que seriam suficientes para fornecer $\frac{1}{2}$ da IDR (fonte excelente) ou $\frac{1}{6}$ da IDR (fonte útil) de vitamina E foram razoáveis e variaram de 13 g a 70 g ou de 4 g a 24 g, respectivamente (Tabela 5).

Diante da marcante variação sazonal observada na distribuição de α - e β -caroteno e α -tocoferol, nas espécies de *Caulerpa* analisadas no presente trabalho, estudos posteriores poderão revelar quais as causas, sejam elas ambientais e/ou morfológicas, que provocam tal variação.

Tabela 5. Teores de α -tocoferol equivalente e porções para que as espécies de *Caulerpa* analisadas desidratadas sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E.

Mês	<i>Caulerpa sertularioides</i>			<i>Caulerpa prolifera</i>			<i>Caulerpa cupressoides</i>			<i>Caulerpa mexicana</i>			<i>Caulerpa racemosa</i>		
	α -TE	E	U	α -TE	E	U	α -TE	E	U	α -TE	E	U	α -TE	E	U
Jan	0,160 \pm 0,006	31	10	0,177 \pm 0,011	28	9	0,136 \pm 0,006	37	12	0,132 \pm 0,006	38	13	0,161 \pm 0,006	31	10
Fev	0,262 \pm 0,004	19	6	0,247 \pm 0,009	20	7	0,210 \pm 0,007	24	8	0,157 \pm 0,014	32	11	0,172 \pm 0,012	29	10
Mar	0,348 \pm 0,006	14	5	0,192 \pm 0,011	26	9	0,170 \pm 0,014	29	10	0,071 \pm 0,008	70	24	-	-	-
Abr	0,324 \pm 0,005	15	5	0,180 \pm 0,007	28	9	0,218 \pm 0,015	23	8	0,231 \pm 0,016	22	7	0,188 \pm 0,021	27	9
Mai	0,380 \pm 0,013	13	4	0,251 \pm 0,007	20	7	0,233 \pm 0,011	21	7	0,195 \pm 0,009	26	9	0,324 \pm 0,022	15	5
Jun	0,246 \pm 0,001	20	7	0,175 \pm 0,002	29	10	0,317 \pm 0,010	16	5	0,083 \pm 0,009	61	20	0,256 \pm 0,011	19	7
Jul	0,253 \pm 0,011	20	7	0,124 \pm 0,011	40	13	0,154 \pm 0,004	32	11	0,131 \pm 0,004	38	13	0,138 \pm 0,007	36	12
Ago	0,354 \pm 0,011	14	5	0,163 \pm 0,007	31	10	0,125 \pm 0,004	40	13	0,114 \pm 0,009	44	15	0,114 \pm 0,010	44	15
Set	0,259 \pm 0,011	19	6	0,205 \pm 0,009	24	8	0,151 \pm 0,010	33	11	0,107 \pm 0,004	47	16	0,102 \pm 0,010	49	16
Out	0,138 \pm 0,003	36	12	0,183 \pm 0,008	27	9	0,095 \pm 0,013	52	17	0,098 \pm 0,007	51	17	0,073 \pm 0,007	68	23
Nov	0,225 \pm 0,014	22	7	0,265 \pm 0,019	19	6	0,130 \pm 0,017	39	13	0,165 \pm 0,009	30	10	0,206 \pm 0,021	24	8
Dez	0,239 \pm 0,013	21	7	0,290 \pm 0,014	17	6	0,090 \pm 0,004	56	19	0,096 \pm 0,013	52	17	0,112 \pm 0,018	45	15

- = não detectável

α -TE = α -Tocoferol equivalente (mg g⁻¹ peso seco)

E = porções em g peso seco para que as espécies sejam consideradas fontes excelentes de vitamina E

U = porções em g peso seco para que as espécies sejam consideradas fontes úteis de vitamina E

5. CONCLUSÕES

O sistema e o método cromatográfico desenvolvidos no presente trabalho foram adequados para a identificação e quantificação simultânea de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol.

Os extratos das cinco espécies de *Caulerpa* analisadas “in natura” e desidratadas apresentaram α - e β -caroteno em quantidades variáveis ao longo dos doze meses de coleta, porém essa variação não obedeceu a um padrão único no gênero.

Os maiores níveis de α -caroteno foram verificados em *C. prolifera* e os de β -caroteno em *C. mexicana*, tanto nos extratos preparados com alga “in natura” quanto naqueles preparados com algas desidratadas a 40°C por 15 horas. O conteúdo máximo de retinol equivalente foi observado em *C. prolifera*, tanto na forma “in natura” como na forma desidratada.

No gênero *Caulerpa*, contrariamente as demais espécies de algas verdes, os teores de α -caroteno predominaram sobre os de β -caroteno.

Todos os extratos das cinco espécies de *Caulerpa* analisadas “in natura” e desidratadas apresentaram α -tocoferol, com exceção da amostra desidratada de *C. racemosa* coletada em março. De modo semelhante aos carotenóides provitamina A, a distribuição sazonal também não seguiu o mesmo perfil.

Os valores máximos tanto de α -tocoferol como de α -tocoferol equivalente foram encontrados em *C. cupressoides* “in natura” e em *C. sertularioides* desidratada.

Com base nas porções diárias calculadas para fornecerem 50% da IDR de vitaminas, as algas analisadas sob as duas formas provavelmente são melhores fontes de vitamina E do que de vitamina A.

A secagem provocou perdas máximas de aproximadamente 90% nos conteúdos de α - e β -caroteno e de α -tocoferol, mas algumas vezes, essa perda não ultrapassou 40%. Em geral, as algas “in natura” com teores mais elevados desses nutrientes perderam uma quantidade maior do que aquelas com teores mais baixos.

6. REFERÊNCIAS

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.

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

BAKER, B.; GÜNTHER, C.; The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. **Trends in Food Science & Technology**, London, v.15, n.10, p.484-488, Oct 2004.

BARTLEY, G.E.; SCOLNIK, P.A. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. **Plant Cell**, Rockville, v.7, n.7, p.1027-1038, Jul 1995.

BERNHARDT, S.; SCHLICH, E. Impact of different cooking methods on food quality: retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.77, n.2, p.327-333, Nov 2006.

BHOSALE, P., BERNSTEIN, P. Vertebrate and invertebrate carotenoid-binding proteins. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 458, n.2, p. 121-127, Feb 2007.

BJORNLAND, T. Chlorophyll a and carotenoids of five isolates of the red algae *Antithamnion plumula*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v.11, n.2, p.73-76, Nov 1983.

BRAMLEY, P.M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F.J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H.E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P.J.A.; WAGNER, K-H. Review 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 prospective 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 and metabolism. **FASEB Journal**, Bethesda, v.13, n.10, p.1145-1155, Jul 1999.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. Carotenoids today and challenges for the future. In:_____. **Carotenoids: isolation and analysis**. Switzerland: Birkhauser Verlag, 1995. v.1A. p.13-26.

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

BURTIN, P. Nutritional value of seaweeds. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v.2, n.4, Sep-Oct 2003.

Disponível em:

<http://ejeafche.uvigo.es/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=70&Itemid=33> Acesso em: 29 out 2007.

CAMPOS, F.M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.; STRINGHETA, P.C.; CHAVES, J.B.P. Teores de beta-caroteno em vegetais folhosos preparados em restaurantes comerciais de Viçosa-MG. **Brazilian Journal of Food Technology**. São Paulo, v.6, n.2, p.163-169, jul/dez 2003.

CAMPOS, F.M.; ROSADO, G.P. Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.571-578, jul/set 2005.

CARDOZO, K.H.M.; GUARATINI, T.; BARROS, M.P. FALCÃO, V.R.; TONON, A.P.; LOPES, N.P.; CAMPOS, S.; TORRES, M.A.; SOUZA, A.O.; COLEPICOLO, P.; PINTO E. Metabolites from algae with economical impact. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.146, 1-2, p.60-78, Jul/Aug 2007.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.2, p.441-449, mar/abr 2007.

CIOLA, R. Cromatografia. In:_____. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho – HPLC**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 1, p.1-7.

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, Jul 2005.

DEMBINSKA-KIEC, A. Carotenoids: risk or benefit for health. **Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease**, Amsterdam, v.1740, n.2, p.93-94, May 2005.

DENERY, J.R.; DRAGULL, K.; TANG, C.S.; LI, Q.X. Pressurized fluid extraction of carotenoids from *Haemotococcus pluvialis* and *Dunaliella salina* and kavalactones from *Piper methysticum*. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.501, n.2, p.175-181, Jan 2004.

DEVERAJ, S.; CHAN, A.V.C.; JIALAL, I. α -Tocopherol supplementation decreases plasminogen activator inhibitor – 1 and P-selectin levels in type 2 diabetic patients. **Diabetes Care**, Alexandria, v.25, n.3, p.524-529, Mar 2002.

DRISKO, J.A.; CHAPMAN, J.; HUNTER, V.J. The use of antioxidant therapies during chemotherapy. **Gynecologic Oncology**, San Diego, v.88, n.3, p.434-439, Mar 2003.

FAN, H.; BARWELL, C.J.; ROGERS, D.J.; SAKER-SAMPAIO, S. Chinese algal food products as sources of micronutrients: carotenoids. In: INSTITUTE OF BIOMEDICAL SCIENCE (IBMS) CONGRESS, 2005, Birmingham, UK. **Proceedings...** IBMS, 2005.

FAO 2004. Yearbook of Fishery Statistics. Aquaculture Production. 2004. A-5. p. 43.

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

GALLAND-IRMOULI, A.V.; FLEURENCE, J.; LAMGHARI, R.; LUÇON, M.; ROUXEL, C.; BARBAROUX, O.; BRONOWICKI, J.P.; VILLAUME, C.; GUÉANT, J.L. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse). **Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v.10, n.6, p. 353-359, Jun 1999.

GAMA, J.J.T.; SYLOS, C.M. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. **Food Chemistry**, Oxford, v.100, n.4, p.1686–1690, 2007.

GÓMEZ-CORONADO, D.J.M.; IBAÑEZ, 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.

GRASSMANN, J.; HIPPELI, S.; ELSTNER, E.F. Plant's defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.40, n.6/8, p.471-478, Jun/Aug 2002.

GRUSAK, M.A.; DELLAPENNA, D. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.50, p.133-161, 1999.

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

HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. **Nutrition**, New York, v.17, n.10, p.818-822, Oct 2001.

- HART, D.J.; SCOTT, K.J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, Oxford, v.54, n.1, p.101-111, 1995.
- HAUGAN, J.A.; LIAAEN-JENSEN, S. Algal carotenoids 54. Carotenoids of brown algae (Phaeophyceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v.22, n.1, p.31-41, Jan 1994.
- HEGAZI, M.M.; PÉREZ-RUZAFÁ, A.; ALMELA, L.; CANDELA, M.E. Separation and identification of chlorophylls and carotenoids from *Caulerpa prolifera*, *Jania rubens* and *Padina pavonica* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.829, n.1-2, p.153-159, Dec 1998.
- HERRERA, E.; BARBAS, C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *Journal of Physiology and Biochemistry*, Pamplona, v.57, n.1, p.43-56, Mar 2001.
- HOEK, C.V.D.; MANN, D.G.; JAHNS, H.M. Introduction. In _____. **Algae an introduction to Phycology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p.1-16.
- 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.
- 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.
- HOSOMI, A.; ARITA, M.; SATO, Y.; KIYOSE, C.; UEDA, T.; IGARASHI, O.; ARAI, H.; INOUNE, K. Affinity for α -tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. **FEBS Letters**, Oxford, v.409, n.1, p.105-108, Jun 1997.
- INDERGAARD, M.; MINSAAS, J. Animal and human nutrition. In: GUIRY, M.D.; BLUNDEN, G. **Seaweed resources in Europe: uses and potential**. England: John Wiley & Sons, 1991. p.21-64.
- ITO, K.; HORI, K. Seaweed: chemical composition and potential food uses. **Food Reviews International**, New York, v.5, n.1, p.101-144, 1989.
- 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, 1969.
- JIMENEZ-ESCRIG, A.; JIMENEZ-JIMENEZ, I.; PULIDO, R.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, West Sussex, v.81, n.5, p.530-534, Apr 2001.

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

JOLY, A.B. Flora marinha do litoral norte do Estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, Série Botânica, v.21, n.294, p.5-393, 1965.

KIDMOSE, U.; CHRISTENSEN, L.P.; AGILI, S.M.; THILSTED, S.H. Effect of home preparation practices on the content of provitamin A carotenoids in coloured sweet potato varieties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v.8, n.3, p.399-406, Sep 2007.

KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v.66, n.5, p.1003-1010, May 1994.

LE TUTOUR, B.; BENSLIMANE, F.; GOULEAU, M.P.; GOUYGOU, J.P.; SAADAN, B.; QUEMENEUR, F. Antioxidant and pro-oxidant activities of the brown algae, *Laminaria digitata*, *Himantalia elongata*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.10, n.2, p.121-129, 1998.

LIAAEN-JENSEN, S. Algal carotenoids and chemosystematics. In: FAULKER, D.J.; FENICAL, W.H. **Marine natural products chemistry**. New York: Plenum Press, 1977. p.239-259.

LIN, C.H.; CHEN, B.H. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. **Food Chemistry**, Oxford, v.90, n.4, p.837-846, May 2005.

LIPKIN, Y. Outdoor cultivation of sea vegetables. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.89, n.1-3, p.159-183, 1985.

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-Jun 2003.

MABEAU, S.; FLEURENCE, J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. **Trends in Food & 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. p.99-144.

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

MAEDA, H.; DELLAPENNA, D. Tocopherol functions in photosynthetic organisms. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.10, n.3, p.260-265, Jun 2007.

MARINHO-SORIANO, E.; FONSECA, P.C.; CARNEIRO, M.A.A.; MOREIRA, W.S.C. Seasonal variation in chemical composition of two tropical seaweeds. **Bioresource Technology**, Oxford, v.97, n.18, p.2402-2406, Dec 2006.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. Nutrição – os substratos para as vias metabólicas. In: _____. **Bioquímica Básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. cap.18. p.241-255.

MAYNE, S.T. Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. **FASEB Journal**, Bethesda, v.10, n.7, p.690-701, May 1996.

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.

McHUGH, D.J. **A guide to the seaweed industry**. FAO Fisheries Technical Paper n.441. 105 p. Rome, 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 30 jul. 2007.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenóides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.54, n.2, p.209-215, jun 2004.

MENDES, P.P. Análise de variância. In: _____. **Estatística Aplicada à Aqüicultura**. Recife: Bagaço, 1999. p.97-122.

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.

MOURÃO, D.M.; SALES, N.S.; PINHEIRO-SANTANA, H.M. Biodisponibilidades de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.4, p. 529-539, jul/ago 2005.

MUNNÉ-BOSCH, S.; ALEGRE, L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.21, n.1, p.31-57, 2002.

NAKAMURA, T.; REICHER, H.; SATTLER, W. Comparison of RRR- α - and all-rac- α -tocopherol uptake by permanent rat skeletal muscle myoblasts (L6 cells): effects of exogenous lipoprotein lipase. **Lipids**, Champaign, v.33, n.10, p.1001-1008, Oct 1998.

NEGI, P.S.; ROY, S.K. Effect of drying conditions on quality of green leaves during long term storage. **Food Research International**, Amsterdam, v.34, n.4, p.283-287, Apr, 2001.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Lipídios. In: _____. **Lehninger – Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2006, cap.10. p.341-367.

NORZIAH, M.H.; CHIANG, C.Y. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. **Food Chemistry**, Oxford, v.68, n.1, p.69-76, Jan 2000.

NOY, N. Retinoid-binding proteins: mediators of retinoid action. **Biochemical Journal**, London, v.348, p.481-495, Part 3, Jun 2000.

OLIVEIRA, E.C. Macroalgas marinhas de valor comercial: Técnicas de cultivo. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.7, n.42, p.42-45, jul/ago 1997.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.881, n.1-2, p.543-555, Jun 2000.

OLSON, J.A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v.66, n.5, p.1011-1016, May 1994.

OLSON, J.A. Vitamin A, retinoids, and carotenoids. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 8. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. v.1. Chapter 19. p. 287-307.

OLSON, J.A. Vitamin A. In: MACHLIN, L.J. **Handbook of Vitamins**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1991. p.1-57.

OLSON, J.A.; KRINSKY, N.I. Introduction: the colorful, fascinating world of the carotenoids: important physiologic modulators. **FASEB Journal**, Bethesda, v.9, n.15, p.1547-1550, Dec 1995.

PALERMO, J.A.; GROS, E.G.; SELDES, A.M. Carotenoids from three red algae of the Corallinaceae. **Phytochemistry**, Oxford, v.30, n.9, p.2983-2986, 1991.

PERES, T.B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.227-229, jul/dez, 2002.

PIRES, K.M.S. **Extração e quantificação de α -caroteno e β -caroteno em macroalgas marinhas desidratadas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência**. 31f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

RAFFO, A.; LA MALFA, G.; FOGLIANO, V.; MAIANI, G.; QUAGLIA, G. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.19, n.1, p.11-19, Feb 2006.

RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids in human health. **Pharmacological Research**, London, v.55, n.3, p.207-216, Mar 2007.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. Protista II: Heterocontas e algas verdes. In: _____. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 17, p.356-383.

- REITER, E.; JIANG, Q.; CHRISTEN, S. Anti-inflammatory properties of α - and γ -tocopherol. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v.28, n.5-6, p.668-691, Dec 2007.
- RICHARDSON, D.P. Food fortification. In: OTTAWAY, P.B. **The Technology of Vitamins in Food**. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1993, p.233-245.
- RIGOTTI, A. Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v.28, n.5-6, p.423-436, Dec 2007.
- RISSO, S.; ESCUDERO, C.; BELCHIOR, S.E.; DE PORTELA, M.L.; FAJARDO, M.A. Chemical composition and seasonal fluctuations of the edible green seaweed, *Monostroma undulatum*, Wittrock, from the Southern Argentina coast. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.53, n.3, p.306-311, Sep 2003.
- ROCK, C.L., JACOB, R.A., BOWEN, F.E. Update of biological characteristics of the antioxidants micronutrients: vitamin C, vitamin E, and carotenoids. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v.96, n.7, p.693-702, Jul 1996.
- ROJAS-HIDALGO, E.; OLMEDILLA, B. Carotenoids. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.63, n.4, p.265-269, 1993.
- RONCADA, M.J., Vitaminas lipossolúveis. In: DUTRA-DE OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 2000. p.167-189.
- ROWAN, K.S. The carotenoids. In: _____ **Photosynthetic pigments of algae**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p.112-165.
- RUPÉREZ, P.; SARA-CALIXTO, F. Dietary fiber and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. **European Food Research Technology**, New York, v. 212, n.3, p.349-354, Feb 2001.
- SAKER-SAMPAIO, S. **Evaluation of *Palmaria palmata* and *Laminaria digitata* as potential human food products**. Tese (PhD) – University of Portsmouth, Portsmouth, 165f. 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.
- SCHAGERL, M.; PICHLER, C. Pigment composition of freshwater Charophyceae. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.67, n.2, p.117-129, Jun 2000.
- SCHIEBER, A.; MARX, M.; CARLE, R. Simultaneous determination of carotenes and tocopherols in ATBC drinks by high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, Oxon, v.76, n.3, p.357-362, Mar 2002.

SCHWARTZ, H.; OLLILAINEN, V., PIIRONEN, V.; LAMPI, A.M. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.21, n.2, p.152-161, Mar 2008.

SEMBA, R.D; LAURETANI, F.; FERRUCCI, L. Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v.458, n.2, p. 141–145, Feb 2007.

SEN, C.K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v.28, n.5-6, p.692-728, Oct/Dec 2007.

SILUK, D.; OLIVEIRA, R.V.; ESTHER-RODRIGUEZ-ROSAS, M.; LING, S.; BOS, A.; FERRUCCI, L.; WAINER, I.W. A validated liquid chromatography method for the simultaneous determination of vitamins A and E in human plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v.44, n.4, p.1001-1007, Aug 2007.

SILVA, C.R.M; NAVES, M.M.V. Suplementação de vitaminas na prevenção de câncer. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n.2, p.135-143, mai/ago 2001.

SOUSA, M.B. **Efeitos da macroalga marinha verde *Ulva fasciata* sobre a composição corporal, os níveis de colesterol plasmático total e o ganho de peso de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e gordura saturada**. 29f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

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. 75f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

SOWELL, A.L.; HUFF, D.L.; YEAGER, P.R.; CAUDILL, S.P.; GUNTER, E.W. Retinol, α -tocopherol, lutein/zeaxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene, trans- β -carotene, and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection. **Clinical Chemistry**, Washington, v.40, n.3, p.411-416, Mar 1994.

SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS. 3 ed. Washington: Ed. National Academy of Sciences, 1972.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v.24, n.6, p.345-351, Dec 2003.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease**, Amsterdam, v.1740, n.2, p.101-107, May 2005.

SUNGPUAG, P.; TANGCHITPIANVIT, S.; CHITTCHANG, U.; WASANTWISUT, E. Retinol and beta-carotene content of indigenous raw and home-prepared foods in Northeast Thailand. **Food Chemistry**, Oxford, v.64, n.2, p.163-167, Feb 1999.

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.

TANG, Y.C.; CHEN, B.H. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. **Food Chemistry**, Oxford, v.69, n.1, p.11-17, Apr 2000.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. The role of carotenoids in prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v.58, n.2, p.100-110, Mar 2004.

THIELE, J.J.; EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, S. Vitamin E in human skin: organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v.28, n. 5-6, p.646-667, Oct/Dec 2007.

TONHI, E.; COLLINS, K.E.; JARDIM, I.C.S.F.; COLLINS, C.H. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n.4, p.616-623, 2002.

TORRE, J.; LORENZO, M.P.; MARTÍNEZ-ALCÁZAR, M.P.; BARBAS, C. Simple high-performance chromatography in *Rosmarinus officinalis* leaves new data on α -tocopherol content. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 919, n.2, p.305-311, Jun 2001.

TRABER, M.G.; ATIKINSON, J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v.43, n.1, p.4-15, Jul 2007.

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 fiber. **Food Chemistry**, Oxford, v. 76, n.3, p.281-286, Mar 2002.

VAN HET HOF, K.H.; WEST, C.E.; WESTSTRATE, J.A.; HAUTVAST, J.G.A.J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.130, n.3, p.503-506, Mar 2000.

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M.C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.1, p.139-145, jan-fev, 2004.

WHO (World Health Organization) (2000). Vitamin A deficiency. Disponível em: <<http://www.who.int/nutrition>> Acesso em: 10 ago. 2007.

WILLIS, M.S.; WIANS 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, Jul-Sep. 1987.