

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

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE α -CAROTENO, β -CAROTENO E
 α -TOCOFEROL EM MACROALGAS MARINHAS UTILIZANDO
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FASE REVERSA**

MÁRCIA BARBOSA DE SOUSA

**FORTALEZA-CEARÁ-BRASIL
AGOSTO / 2005**

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE α -CAROTENO, β -CAROTENO E
 α -TOCOFEROL EM MACROALGAS MARINHAS UTILIZANDO
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FASE REVERSA**

MÁRCIA BARBOSA DE SOUSA

**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
AGOSTO / 2005**

S697e

Sousa, Márcia Barbosa de

Extração e quantificação de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol em macroalgas marinhas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa / Márcia Barbosa de Sousa.

75 f.: il. enc. Inclui tabelas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

Orientador: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio

Área de concentração: Bioquímica Marinha

1. Bioquímica marinha 2. Carotenóides – Quantificação - Algas marinhas
3. Pró-vitamina A 4. Vitamina E I. Saker-Sampaio, Silvana II. Universidade Federal do Ceará, Mestrado em Engenharia de Pesca III. Título

CDD 639.2

CDU 639.64:663.16(813.1)

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.

Márcia Barbosa de Sousa

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ____/____/____

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

Prof. Wladimir Ronald Lobo Farias, D.Sc.
Conselheiro

Prof. Francisco Arnaldo Viana, D.Sc.
Conselheiro

Aos meus pais, Edilson e Maria Barbosa,
que sempre incentivaram meus estudos
dando-me a sustentação e o amor
que eu sempre precisei.

Aos meus irmãos, Mônica e Roberto,
pelo que representam para mim.

Ao Rubens pelo grande apoio, incentivo
e carinho nesta etapa tão importante
da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre está comigo em todos os momentos da minha vida orientando e direcionando o meu caminho.

Agradecimento especial à minha orientadora Silvana Saker Sampaio, que me acolheu tão grandiosamente ao Laboratório de Biologia Marinha (Biomar-HPLC). Por sua inestimável dedicação a este trabalho, paciência e aos grandes conhecimentos que adquiri. Amizade, simplicidade e competência qualificam-na.

Aos Professores Doutores Wladimir Ronald Lobo Farias e Francisco Arnaldo Viana, pelas valiosas contribuições.

Ao Professor Doutor Alexandre Holanda Sampaio, pelo grande apoio para desenvolvimento do trabalho no Biomar-HPLC.

Ao Professor Doutor Benildo de Sousa Cavada, por ter me concedido alguns equipamentos para desenvolver a parte experimental deste trabalho.

Ao Professor Doutor José Wilson Calíope de Freitas, por seu incentivo ao desenvolvimento deste trabalho no Departamento de Engenharia de Pesca.

À amiga Kelma Pires, bolsista do Biomar-HPLC, presente em todos os momentos durante a execução do trabalho, ao apoio e dedicação sempre.

Aos estagiários do Biomar-HPLC, Olavo Mourão e Ivone Coelho pelo apoio.

Ao Professor e amigo Marcelo Freitas pelas dicas durante a elaboração desta dissertação.

A todos os meus amigos.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca que me ajudaram a subir mais um degrau na minha vida acadêmica, assim como a adquirir novos conhecimentos.

À Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa (FUNCAP), pela bolsa que me foi concedida durante um ano, permitindo a realização da parte experimental do trabalho.

A Universidade Federal do Ceará e ao Departamento de Engenharia de Pesca, pelo uso de laboratórios e equipamentos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Carotenóides Pró-vitamina A	8
2.2. Vitamina E	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
. Algas	28
. Reagentes	28
. Curva padrão de β -caroteno e α -tocoferol	29
3.4. Análise de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol	30
3.4.1. Extração	30
3.4.2. Saponificação e Partição	30
3.4.3. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa	32
3.3.4. Cálculo do teor de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol nas de algas	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1. Carotenóides pró-vitamina A	34
4.2. α -Tocoferol	50
5. CONCLUSÕES	62
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estrutura e sistema de numeração dos carotenóides (BRITTON, 1995).	10
Figura 2. Biossíntese de vitamina A (MATHEWS; VAN HOLDE, 1995).	15
Figura 3. Fórmulas dos oito membros das séries tocoferol e trocotrienol com atividade de vitamina E (MACHLIN, 1991).	20
Figura 4. Biossíntese dos tocoferóis em vegetais (HIRSCHBERG, 1999).	24
Figura 5. Absorção, transporte e distribuição dos tocoferóis (AZZI; STOCKER, 2000).	26
Figura 6. Curva padrão do β -caroteno (Sigma) processado.	29
Figura 7. Curva padrão do acetato de α -tocoferol (Ephynal, Roche) processado.	30
Figura 8. Cromatograma típico obtido do padrão submetido a saponificação e partição com 1,5 μ g de β -caroteno na coluna (C9750 Sigma).	35
Figura 9. Cromatograma típico do extrato das Chlorophyta, contendo α -caroteno e β -caroteno, representadas pela <i>Caulerpa prolifera</i> .	36
Figura 10. Cromatograma típico dos extratos das Rhodophyta contendo α -caroteno e β -caroteno, representadas pela <i>Bryothamnion triquetrum</i> .	40
Figura 11. Cromatograma típico dos extratos das Rhodophyta, contendo apenas β -caroteno, representadas pela <i>Gracilaria</i> sp.	41
Figura 12. Cromatograma típico dos extratos das Phaeophyta, contendo β -caroteno, representadas pela <i>Padina gymnospora</i>	44

- Figura 13. Cromatograma típico obtido para 70 μg de α -tocoferol na coluna submetido a saponificação e partição 52
- Figura 14. Cromatograma típico dos extratos das Chlorophyta, contendo α -tocoferol, representadas pela *Caulerpa prolifera* 53
- Figura 15. Cromatograma típico dos extratos das Rhodophyta, contendo α -tocoferol, representadas pela *Enantiocladia duperreyi* 55
- Figura 16. Cromatograma típico dos extratos das Phaeophyta, contendo α -tocoferol, representadas pela *Dictyota dichotoma* 56

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Distribuição dos carotenóides em algas marinhas (LIAAEN-JENSEN, 1977; ROWAN, 1989).	18
Tabela 2. Conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nas algas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.	37
Tabela 3. Conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nas algas marinhas pertencentes à divisão Rhodophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.	39
Tabela 4. Conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nas algas marinhas pertencentes à divisão Phaeophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.	43
Tabela 5. Conteúdo de carotenóides pró-vitamina A ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) em vegetais normalmente consumidos.	46
Tabela 6. Conteúdo de α -tocoferol nas algas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.	52
Tabela 7. Conteúdo α -tocoferol nas algas marinhas pertencentes à divisão Rhodophyta, coletadas na praia de Guajiru, Trairi-CE.	54
Tabela 8. Conteúdo de α -tocoferol nas algas marinhas pertencentes à divisão Phaeophyta, coletadas na Praia do Guajiru, Trairi-CE.	56
Tabela 9. Conteúdo de α -tocoferol ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) em vegetais, óleos e produtos alimentícios normalmente consumidos.	61

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de 32 espécies de algas marinhas das divisões Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta como fontes de α -, β -caroteno e α -tocoferol. Todas as Chlorophyta apresentaram α - e β -caroteno. O teor de α -caroteno variou de $0,814 \pm 0,256$ a $71,378 \pm 3,550 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco, sendo mais elevado no gênero *Caulerpa* e mais baixo em *Codium decorticatum*. O teor de β -caroteno variou de $2,322 \pm 0,736$ a $26,705 \pm 7,398 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco, sendo mínimo em *C. mexicana* e máximo em *Ulva fasciata*. Com relação ao retinol equivalente (RE), as algas verdes apresentaram mínimo em *C. mexicana* ($0,962 \pm 0,256 \mu\text{g.g}^{-1}$) e máximo em *Caulerpa prolifera* ($9,014 \pm 0,442 \mu\text{g.g}^{-1}$). Considerando a ingestão de 100 g de alga fresca por dia, uma porção de *Caulerpa prolifera* forneceria 100% da ingestão diária recomendada (IDR). Todas as Chlorophyta apresentaram α -tocoferol, exceto *Cladophora prolifera*. Os teores mínimo e máximo foram $15,650 \pm 2,634$ e $383,047 \pm 85,254 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco em *Codium decorticatum* e *Caulerpa prolifera*, respectivamente. Com relação ao tocoferol equivalente (TE), a ingestão diária de 100 g de *Caulerpa prolifera* fresca forneceria quase quatro vezes mais que a IDR e a mesma porção de *Codium decorticatum* seria responsável por apenas $\frac{1}{6}$ da IDR. Dentre as Rhodophyta estudadas, nove não apresentaram α -caroteno. Nas outras onze, o seu teor oscilou de $0,487 \pm 0,267 \mu\text{g.g}^{-1}$ em *Solieria filiformis* a $3,055 \pm 0,278 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco em *Botryocladia occidentalis*. β -Caroteno foi encontrado em todas as espécies de algas vermelhas com valores mínimo e máximo de $0,336 \pm 0,209$ e $4,284 \pm 0,607 \mu\text{g.g}^{-1}$ de peso fresco em *Gracilaria caudata* e *Bryothamnion triquetrum*, respectivamente. Com relação ao RE, foi observado valor mínimo em *Gracilaria caudata* ($0,056 \pm 0,035 \mu\text{g.g}^{-1}$) e máximo em *Bryothamnion triquetrum* ($0,764 \pm 0,109 \mu\text{g.g}^{-1}$). Uma porção de 100 g de *Bryothamnion triquetrum* fresca forneceria um pouco mais de $\frac{1}{10}$ da IDR. Oito espécies de Rhodophyta estudadas não apresentaram α -tocoferol. Nas outras doze, seu conteúdo oscilou entre $4,809 \pm 1,058$ e $31,872 \pm 5,883 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco, em *Gracilaria ferox* e *Enantiocladia duperreyi*, respectivamente. Em relação ao TE, a ingestão diária de 100 g da alga *E. duperreyi* fresca forneceria $\frac{1}{3}$ da IDR. As Phaeophyta estudadas apresentaram apenas β -caroteno, com valores mínimo e máximo em *Dictyopteris delicatula* e *Padina gymnospora*, iguais a $0,266 \pm 0,198$ e $12,230 \pm 2,859 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco, respectivamente. Com relação ao RE, o teor mínimo foi observado em *Dictyopteris delicatula* ($0,044 \pm 0,033 \mu\text{g.g}^{-1}$) e máximo em *Padina gymnospora* ($2,038 \pm 0,476 \mu\text{g.g}^{-1}$). Considerando a ingestão diária de 100 g de alga fresca, uma porção de *P. gymnospora* seria responsável por $\frac{1}{4}$ da IDR. As Phaeophyta apresentaram α -tocoferol, com valor mínimo em *Lobophora variegata* igual a $4,722 \pm 2,062 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco e máximo em *Dictyota dichotoma*, igual a $42,817 \pm 31,012 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco. Considerando a ingestão de 100 g de alga fresca por dia, uma porção de *Dictyota dichotoma* forneceria $\frac{1}{2}$ da IDR de TE.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the potential of 32 marine macroalga species belonging to Chlorophyta, Rhodophyta and Phaeophyta as sources of α -carotene, β -carotene and α -tocopherol. Both α -carotene and β -carotene were found in all species of green macroalgae analyzed. The content of α -carotene varied from 0.814 ± 0.256 to $71.378 \pm 3.550 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight, being maximum in algae belonging to *Caulerpa* genus and minimum in *Codium decorticatum*. The amount of β -carotene varied from 2.322 ± 0.736 to $26.705 \pm 7.398 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight, being minimum in *C. mexicana* and maximum in *Ulva fasciata*. Green macroalgae showed lowest retinol equivalents (RE) content in *C. mexicana* ($0.962 \pm 0.256 \mu\text{g.g}^{-1}$) and highest in *Caulerpa prolifera* ($9.014 \pm 0.442 \mu\text{g.g}^{-1}$). A 100 g portion of fresh *Caulerpa prolifera* would provide 100% of the Recommended Daily Ingestion (RDI) of RE. α -Tocopherol was found in all green macroalgae analyzed but *Cladophora prolifera*. Minimum and maximum content were observed in *Codium decorticatum* ($15.650 \pm 2.634 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight) and *Caulerpa prolifera* ($383.047 \pm 85.254 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight). Regarding tocopherol equivalents (TE), a 100 g portion of fresh *Caulerpa prolifera* would provide almost four times the RDI and the same amount of *Codium decorticatum* would provide only $\frac{1}{6}$ RDI. There was no α -carotene in nine Rhodophyta species. The other eleven showed values between $0.487 \pm 0.267 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight in *Solieria filiformis* and $3.055 \pm 0.278 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight in *Botryocladia occidentalis*. β -Carotene was found in all red macroalgae analyzed, exhibiting values of 0.336 ± 0.209 and $4.284 \pm 0.607 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight in *Gracilaria caudata* and *Bryothamnion triquetrum*, respectively. The lowest RE was observed in *G. caudata* ($0.056 \pm 0.035 \mu\text{g.g}^{-1}$) and the highest in *B. triquetrum* ($0.764 \pm 0.109 \mu\text{g.g}^{-1}$). A 100 g portion of fresh *B. triquetrum* would provide less than $\frac{1}{10}$ RDI of RE. α -Tocopherol was not detected in eight species of Rhodophyta. In the other twelve, the content varied from 4.809 ± 1.058 to $31.872 \pm 5.883 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight in *Gracilaria ferox* and *Enantiocladia duperreyi*, respectively. A 100g portion of fresh *E. duperreyi* would provide $\frac{1}{3}$ RDI of TE. Species of Phaeophyta contained β -carotene but no α -carotene. The lowest value for β -carotene was found in *Dictyopteris delicatula* ($0.266 \pm 0.198 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight) and the highest in *Padina gymnospora* ($12.230 \pm 2.859 \mu\text{g.g}^{-1}$ fresh weight). Regarding RE, the content varied from $0.044 \pm 0.033 \mu\text{g.g}^{-1}$ to $2.038 \pm 0.476 \mu\text{g.g}^{-1}$ for *D. delicatula* and *P. gymnospora*, respectively. A 100 g portion of fresh *P. gymnospora* would provide $\frac{1}{4}$ RDI of RE. α -Tocopherol was detected in all Phaeophyta species analyzed. The amount of α -tocopherol was $4.722 \pm 2.062 \mu\text{g.g}^{-1}$ *Lobophora variegata* fresh weight and $42.817 \pm 31.012 \mu\text{g.g}^{-1}$ *Dictyota dichotoma* fresh weight. A 100 g portion of fresh *D. dichotoma* would provide $\frac{1}{2}$ RDI of TE.

1. INTRODUÇÃO

As macroalgas constituem um grupo heterogêneo de vegetais criptogâmicos compreendidos em três grandes divisões. Elas são encontradas abundantemente em todos os ecossistemas, ocorrendo em água doce ou em costões rochosos marinhos, estando claramente distribuídas em função das marés (RAVEN, 1999).

As algas marinhas são fonte de uma grande variedade de compostos benéficos para o homem, apresentando diversas aplicações em nutrição animal e humana (INDERGAARD; MINSAAS, 1991), fertilização do solo (BLUNDEN, 1991), indústria de alimentos (ITO; HORI, 1989) e outras áreas biotecnológicas (LIMA et al., 1998; FARIAS et al., 2000; FARIAS et al., 2001; LIMA et al., 2004).

Durante as últimas décadas, a comunidade científica demonstrou interesse crescente pelo estudo dos carotenóides e das vitaminas lipossolúveis, que podem estar associados com a redução de doenças cardiovasculares e outras doenças degenerativas (PETO et al., 1981; HIRSCHBERG, 1999; JIMENEZ-ESCRIG et al., 2001; GRASSMANN et al., 2002; DRISKO et al., 2003; STAHL, SIES, 2003; WILLIS; WIANS JR, 2003; JOHNSON, 2004). Informações sobre o potencial das macroalgas marinhas como fontes destes compostos ainda são escassas no Brasil.

Os carotenóides são um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais, devido a sua grande distribuição, diversidade estrutural e numerosas funções. As pesquisas, que antes focalizavam somente a atividade do β -caroteno como precursor da vitamina A, têm abordado mais recentemente a

capacidade dos carotenóides como potentes antioxidantes e seqüestradores de radicais livres (HANDELMAN, 2001; KRINSKY, 2001; ROCCHI et al., 2001; MONTENEGRO et al., 2002; SEMBA; DAGNELIE, 2003).

Os organismos marinhos e de água doce são fontes de carotenóides (LIAAEN-JENSEN et al., 1982; WAN et al., 1995; MIKI et al., 1996; SHIMIDZU et al., 1996). β -Caroteno, por exemplo, ocorre naturalmente em micro e macroalgas marinhas. Algumas espécies são capazes de acumular também outros carotenóides como astaxantina, cantaxantina, luteína e zeaxantina (BJORNLAND; AGUILAR-MARTINEZ, 1976; ROWAN, 1989; SENGER et al., 1993; GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998; LI; CHEN, 2001). Muitas microalgas são cultivadas com a finalidade de serem utilizadas diretamente como alimento humano ou para a extração de compostos como β -caroteno. Entretanto, o interesse maior do cultivo de microalgas está relacionado com seu uso na alimentação de organismos marinhos cultivados (WIKFORS; OHNO, 2001).

As algas marinhas 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). Como os alimentos de origem vegetal, as algas marinhas são uma fonte natural de muitos nutrientes, dentre os quais as vitaminas (BROWN et al., 1999; NORZIAH; CHING, 2000; BURTIN, 2003; AGUILERA-MORALES et al., 2005). Na Europa, predomina o consumo de *Palmaria palmata*, *Porphyra* spp., *Chondrus crispus* e *Mastocarpus stellatus* (INDERGAARD, MINSAA, 1991; BURTIN, 2003). Estas espécies apresentam características que promovem seu uso como alimento humano e o consumo é limitado apenas

pela aceitabilidade do consumidor. A França foi o primeiro país europeu a estabelecer um regulamento específico para o uso de algas marinhas como alimento humano, que devem atender às especificações industriais e técnicas e àquelas relativas à saúde dos consumidores, como limites máximos permitidos de minerais tóxicos e de certas bactérias (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

Embora a maioria dos países ocidentais, incluindo o Brasil, não apresente tradição no consumo de algas marinhas, como acontece com os povos orientais, é possível utilizar o potencial existente com o objetivo de estabelecer uma aplicação futura. Entretanto, para que isso ocorra é necessário obter dados analíticos químicos e bioquímicos que mostrem que as algas marinhas e seus produtos são boas fontes de nutrientes essenciais. Assim, seria possível promover seu uso como alimento ou como ingrediente no enriquecimento de alimentos normalmente consumidos pela população.

Dada a importância dos carotenóides pró-vitamina A e da vitamina E, este estudo tem como objetivo determinar as espécies de macroalgas marinhas, coletadas na Praia do Pacheco, Caucaia – Ceará, que podem ser consideradas como fontes “excelentes” (alimentos que fornecem pelo menos $\frac{1}{2}$ da ingestão diária recomendada – IDR) ou “úteis” (aqueles que fornecem pelo menos $\frac{1}{6}$ da IDR) desses nutrientes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A utilização de algas marinhas para consumo humano está documentada desde 600 a.C. Elas têm sido usadas na alimentação do homem e de outros animais, assim como na fertilização de solos, como agentes fungicidas e herbicidas e como fontes de ficocolóides. Os povos orientais consomem algas marinhas principalmente como suplemento vitamínico ou aditivo alimentar, sendo comum a adição de algas cruas em diferentes preparos culinários. Entretanto, elas também podem ser salgadas, antes da comercialização. Em regiões costeiras, as algas marinhas têm sido diretamente utilizadas como ingrediente em ração animal com efeitos benéficos, que podem estar relacionados com o alto teor de vitaminas e minerais (ITO; HORI, 1989).

O cultivo de algas, fundamentado na pesquisa científica que elucida os ciclos de vida e as características de crescimento das espécies de interesse comercial, tornou-se uma importante indústria, principalmente na Ásia, e tem se expandido para a América do Sul e África (XIA; ABBOTT, 1987; ABBOTT, 1988; GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998; WIKFORS; OHNO, 2001; BURTIN, 2003; LUNING; PANG, 2003). A crescente necessidade por uma produção mais significativa nos últimos cinquenta anos foi o fundamento técnico para a utilização de algas cultivadas em substituição às coletadas na natureza. De acordo com WIKFORS; OHNO (2001), a produção mundial de algas marinhas provenientes da aquicultura está estimada em 5 a 6 bilhões de dólares americanos por ano, correspondendo a 10^7 toneladas de peso úmido.

Apesar da tradição dos orientais, os povos ocidentais ainda sabem pouco sobre o valor das algas como fonte de alimento. Na Europa, as algas são usadas principalmente nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de cosméticos e têxtil. Os polissacarídeos extraídos de algas marinhas são usados como agentes gelificantes e espessantes em vários alimentos industrializados como produtos lácteos, sucos de frutas, molhos, pudins, geléias e carnes enlatadas para alterar sua consistência (GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998). A França foi o primeiro país europeu a estabelecer um regulamento específico para o uso de algas na alimentação humana. Onze espécies de macroalgas (Phaeophyta: *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *F. serratus*, *Himanthalia elongata* e *Undaria pinnatifida*; Rhodophyta: *Porphyra umbilicalis*, *Palmaria palmata*, *Gracilaria verrucosa* e *Chondrus crispus*; e Chlorophyta: *Ulva* spp. e *Enteromorpha* spp.) e duas de microalgas (*Spirulina* sp. e *Odontella aurita*) receberam autorização para serem utilizadas como alimento vegetal e condimento (MABEAU; FLEURENCE, 1993; BURTIN, 2003).

A composição nutricional de algumas algas comestíveis tem sido publicada recentemente: *Palmaria palmata* da França (GALLAND-IRMOULI et al., 1999); *Gracilaria changgi* da Malásia (NORZIAH; CHING, 2000); *Hypnea charoides*, *H. japonica* e *Ulva lactuca* de Hong Kong (WONG; CHEUNG, 2001); vinte e duas espécies de macroalgas do Havaí (McDERMID; STUERCKE, 2003); *Monostroma undulatum* da Argentina (RISSO et al., 2003) e *Enteromorpha* spp. do México (AGUILERA-MORALES et al., 2005).

Mais pesquisas são necessárias, uma vez que outras espécies de algas marinhas podem ser utilizadas como alimento, sendo capazes de suplementar

àqueles produzidos na terra. Análises químicas e bioquímicas de algas “in natura” freqüentemente mostram que elas são boas fontes de importantes nutrientes como polissacarídeos e fibras dietárias, minerais, proteínas e aminoácidos, lipídios e ácidos graxos e vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis (MABEAU; FLEURENCE, 1993; FLEURENCE, 1999).

O teor de proteína presente nas algas difere com a espécie. Geralmente, a fração de proteína encontrada nas algas pardas é mais baixa (3-15% do peso seco) do que a das algas verdes ou vermelhas (10-47% do peso seco). A espécie de feofíceia *Undaria pinnatifida* (“wakame”) apresenta teor de proteína entre 11-24% de seu peso seco, enquanto outras algas pardas também exploradas industrialmente (*Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* e *Himanthalia elongata*) possuem quantidade de proteína inferior a 15% do peso seco. Em várias algas verdes pertencentes ao gênero *Ulva*, o teor de proteína oscila entre 10-26% de seu peso seco. O teor de proteína na *Ulva pertusa*, bastante consumida no Japão, varia de 20-26% de seu peso seco (FLEURENCE, 1999). A macroalga vermelha *Palmaria palmata* consiste em uma boa fonte de proteína (10-26% do peso seco), além de conter aminoácidos essenciais que representam de 26 a 50% do total de aminoácidos, quantidade semelhante à encontrada em clara de ovo (GALLAND-IRMOULI et al., 1999).

As algas marinhas possuem muitos polissacarídeos resistentes à hidrólise pelas enzimas endógenas do tubo digestivo, portanto são consideradas como fibras dietárias (MICHEL et al., 1996). O teor de fibras dietárias varia de 33 a 75% do peso seco das algas e consiste principalmente em polissacarídeos solúveis (entre 17 e 59%) (JIMENEZ-ESCRIG, CAMBRODON, 1999). As fibras de origem algal diferem química e físico-

quimicamente daquelas de plantas terrestres, podendo induzir efeitos fisiológicos diferentes. A farinha de *Ulva fasciata* é capaz de impedir o aumento dos níveis de colesterol sanguíneo mesmo sob dieta hipercolesterolemizante e de manter a gordura corporal baixa, representando uma fonte potencial de fibra solúvel da ordem de 34,52% (SOUSA, 2000). As algas *Undaria pinnatifida* e *Porphyra tenera* promovem efeitos na fisiologia do trato intestinal, através da redução da exposição intestinal a substâncias carcinogênicas mobilizando o bolo fecal (GUDIÉL-URBANO, GOÑI, 2002).

Como os outros alimentos de origem vegetal, as algas marinhas contêm todos os tipos de vitaminas e correspondem a uma fonte natural desses nutrientes para o homem. As quantidades de vitaminas e minerais encontrados em vegetais marinhos têm mostrado grandes benefícios à saúde. As algas possuem pró-vitamina A e vitaminas B e C tanto quanto frutas, verduras e legumes comestíveis, assim como a quantidade de minerais tem se mostrado maior que em outros alimentos, exibindo altos níveis de ferro e iodo (GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998). A macroalga *Gracilaria changgi* possui quantidade razoável de cálcio e teor moderado de ferro, quando comparados a outros minerais como zinco, cobre e cádmio presentes em pequenas quantidades em outros vegetais. Algas marinhas das divisões Phaeophyta (*Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata* e *Undaria pinnatifida*) e as Rhodophyta (*Chondrus crispus*, *Porphyra tenera*) podem ser usadas na suplementação alimentar como uma boa fonte de macrominerais e microminerais (NORZIAH; CHING, 2000; RUPÉREZ, 2002).

2.1. Carotenóides Pró-Vitamina A

Os carotenóides são compostos isoprenóides de 40 átomos de carbono, que consistem em oito unidades isopreno. Os carotenos são hidrocarbonetos lineares ou com ciclização em uma ou ambas as extremidades da molécula. Os derivados oxigenados dos carotenos são chamados xantofilas ou oxicarotenóides. A cadeia poliênica, consistindo em duplas ligações conjugadas, é responsável pela cor característica destes compostos e por suas propriedades fotoquímicas (GOODWIN, 1986).

Praticamente todos os carotenóides presentes nas membranas fotossintéticas existem na forma de um complexo constituído de clorofila-carotenóide-proteína, estando envolvidos na captação da luz, como pigmento acessório, e na fotoproteção, seqüestrando os radicais livres capazes de causar danos aos tecidos vegetais como as espécies de oxigênio singlet (1O_2) (HIRSCHBERG, 1999; VISHNEVETSKY et al., 1999).

Os carotenóides são sintetizados dentro dos plastídios a partir de um isoprenóide central, e esta via também é usada na síntese de outros compostos, tais como, terpenos, esqualeno, giberelinas, esteróis e fitol. Todos os isoprenóides são formados a partir de um composto com 5 átomos de carbono, o isopentenil difosfato, proveniente de duas fontes principais nos plastídios: o piruvato e o gliceraldeído-3-fosfato. O isopentenil difosfato é isomerizado enzimaticamente a dimetilalil difosfato. A adição em seqüência de 3 moléculas de isopentenil difosfato é catalisada pela geranylgeranyl difosfato sintetase, formando uma molécula com 20 átomos de carbono (C_{20} geranylgeranyl difosfato). A condensação cauda-a-cauda de duas dessas

moléculas resulta em um esqueleto carbônico (C_{40}), a partir do qual todas as variações individuais são derivadas (BAUERNFEIND, 1972; BRITTON, 1995).

O primeiro passo é a formação de fitoeno, catalisada pela fitoeno sintase. A introdução de 4 ligações duplas converte fitoeno em licopeno, realizada nas plantas por duas enzimas, a fitoeno dessaturase e a ζ -caroteno dessaturase, que se ligam ao flavina adenosina dinucleotídeo (FAD) e usam plastoquinona como doador de elétrons. Cada enzima catalisa duas etapas simétricas de desidrogenação para produzir ζ -caroteno e licopeno, respectivamente. Nesta via metabólica, a ciclização do licopeno é um passo importante. Uma rota leva à formação de β -caroteno e de seus derivados oxigenados – zeaxantina, violaxantina e neoxantina; e a outra, presente nas algas verdes e plantas superiores, leva à formação dos carotenóides com um anel β -ionona e outro ϵ -ionona, como o α -caroteno e a luteína (SANDMANN, 1994), que é a principal xantofila das folhas das plantas superiores. Todos os genes envolvidos na biossíntese dos carotenóides em plantas e algas estão codificados dentro do núcleo e seus produtos polipeptídicos são levados para os plastídios (HIRSCHBERG, 1999; BURNS et al., 2003).

A estrutura básica dos carotenóides é ilustrada na Figura 1A junto com o esquema de numeração normalmente utilizado. A ciclização de uma ou ambas as extremidades da molécula, alterações no nível de hidrogenação e adição de grupos funcionais contendo oxigênio modificam o esqueleto carbônico dando origem a sete grupos terminais diferentes (Figura 1B).

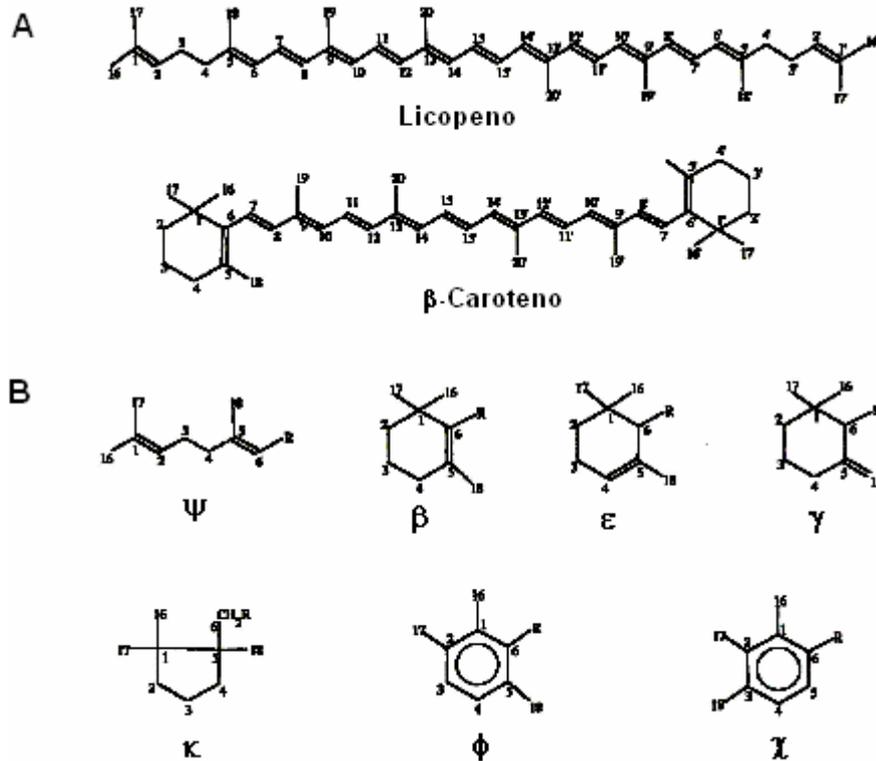


Figura 1. Estrutura e sistema de numeração dos carotenóides (BRITTON, 1995). A - Carotenóide acíclico (licopeno) e carotenóide dicíclico (β -caroteno); e B - Sete grupos terminais de diferentes carotenóides naturais.

Os carotenóides, importante grupo de pigmentos existentes na natureza, são encontrados predominantemente na forma *all-trans*. Devido à extraordinária facilidade de isomerização *cis-trans* nos carotenóides, a existência de isômeros *cis*, neste grupo, é mais difícil de ser revelada. Compreendem uma família de compostos naturais encontrados em vegetais, animais e microrganismos, dos quais mais de 600 foram descritos e caracterizados, mas somente cerca de 50 possuem atividade de vitamina A (OLSON; KRINSKY, 1995). Somente os vegetais, as bactérias, os fungos e as algas são capazes de sintetizar carotenóides; muitos animais os incorporam a partir de suas dietas, utilizando-os como antioxidantes e como fonte de vitamina A (STAHL; SIES, 2003).

A principal função fisiológica dos carotenóides nos animais é atuar como precursores de vitamina A (BRITTON et al., 1995). A maior parte do β -caroteno e de outros carotenóides pró-vitamina A absorvida é convertida a retinol, principalmente na mucosa intestinal, mas também no fígado e outros órgãos (OLSON, 1989; ARMSTRONG, HEARST, 1996; ARMSTRONG, 1997). A taxa de conversão é dependente do estado nutricional do indivíduo em termos de vitamina A e proteína, de modo que a quantidade de carotenóide absorvida e metabolizada no intestino varia de pessoa para pessoa (BENDICH, OLSON, 1989), e também a forma como são metabolizados depende da espécie animal (OLSON, 1994).

Segundo ROJAS-HIDALGO, OLMEDILLA (1993), os carotenóides são armazenados principalmente nos tecidos adiposo, hepático e muscular, mas também, em menor quantidade, nos rins, órgãos genitais e pele. Ao contrário da vitamina A, o β -caroteno não parece causar efeitos tóxicos quando ingerido em grandes quantidades. Um indivíduo em bom estado nutricional apresenta entre 100 e 150 mg de carotenóides em seu organismo, dos quais aproximadamente 1% encontra-se disponível, circulando na corrente sanguínea (BENDICH, OLSON, 1989). É importante enfatizar que nem todas as moléculas de β -caroteno ingeridas são convertidas em vitamina A e, além disso, a eficiência da absorção do β -caroteno sintético é inferior a da vitamina A. Dessa forma, a ingestão de uma pequena dose de vitamina A, com base no peso corporal, é aproximadamente 2 a 4 vezes mais eficaz do que uma pequena dose de β -caroteno (OLSON, 1991).

As rotas metabólicas utilizadas pelos mamíferos, particularmente os seres humanos, para a conversão de β -caroteno e outros carotenóides pró-

vitamina A em vitamina A ainda não foram totalmente elucidadas. Dois possíveis mecanismos têm sido propostos para a formação de retinol a partir de β -caroteno: fissão central e rompimento assimétrico, onde duas enzimas estão envolvidas: a primeira, β -caroteno-15,15'-dioxigenase divide a molécula na ligação dupla central (C-15,15') para produção de retinal (aldeído da vitamina A), e a segunda, retinal redutase, uma enzima NADPH-dependente converte retinal em retinol (GOODWIN, 1986). O retinal pode também ser oxidado a ácido retinóico em muitos tecidos (KRINSKY, 1994).

Embora alguns carotenóides sejam precursores da vitamina A, eles não são considerados micronutrientes essenciais e não existe uma Ingestão Diária Recomendada (IDR) específica para eles. Apesar disso, eles são levados em consideração no cômputo da atividade vitamina A dos alimentos, expressa em Retinol Equivalente (RE). O papel nutricional mais importante dos carotenóides, especialmente β -caroteno é como pró-vitamina A. O envolvimento do retinal como cromóforo dos pigmentos visuais é de importância fundamental no processo de visão (BRITTON, 1995). O 11-*cis*-retinal forma uma base de Schiff com o resíduo de lisina da opsina formando rodopsina, que absorve fortemente a luz na região visível do espectro. A absorção de um fóton de luz desencadeia uma série de eventos levando a excitação neural. O retinal excitado na rodopsina sofre isomerização para a forma *all-trans* e muitas mudanças conformacionais acontecem até a liberação do *all-trans*-retinal. Após a isomerização, o processo recomeça (MATHEWS; VAN HOLDE, 1995).

A ocorrência de xeroftalmia na córnea provocada por deficiência de vitamina A, estimulou a administração de suplementos dessa vitamina na dieta de crianças da Indonésia, Índia e África do Sul para reduzir a incidência da

doença nutricional e também diminuir a taxa de mortalidade (MAYNE, 1996). Como existe uma grande carência de alimentos de origem animal na dieta dos povos dos países mais pobres, o risco de deficiência em vitamina A aumenta, afetando principalmente crianças em idade pré-escolar (TEE, LIM, 1991). A inclusão de vegetais ricos em carotenóides na alimentação tem sido de grande importância para manter níveis adequados de vitamina A (BARTLEY, SCOLNIK, 1995; BRITTON et al., 1995).

Para que um composto tenha atividade de vitamina A, é essencial que ele possua o anel β -ionona insubstituível em sua estrutura; os principais carotenos cíclicos são β -caroteno e seus isômeros α , γ , δ e ϵ . O β -caroteno possui 2 anéis β -ionona insubstituíveis e ocupa lugar de destaque do ponto de vista nutricional não só por sua alta prevalência na natureza, como também por possuir a maior atividade de pró-vitamina A entre os carotenóides. Entretanto, α -caroteno e γ -caroteno também são pró-vitamina A, mas sua atividade é cerca de metade daquela do β -caroteno: o α -caroteno porque tem somente um anel β -ionona, o outro anel sendo do tipo α -ionona; e o γ -caroteno porque tem uma metade semelhante ao β -caroteno e a outra ao licopeno, que não tem atividade de vitamina A.

Os carotenóides que são derivados hidroxilados do β -caroteno nos dois anéis β -ionona insubstituíveis e do α -caroteno no anel β -ionona insubstituível, como a zeaxantina e a luteína, não apresentam atividade pró-vitamina A para o homem, pois não existe mecanismo redutor capaz de convertê-los em retinol (GOODWIN, 1986). Como apenas 50% dessa conversão acontece e como no homem a absorção média é estimada em $\frac{1}{3}$ da pró-vitamina ingerida, o aproveitamento total do β -caroteno é considerado como $\frac{1}{6}$ daquele do retinol

que é completamente absorvido. Outros carotenóides com atividade de vitamina A por possuírem apenas um anel β -ionona insubstituível (α -caroteno e β -criptoxantina) apresentam $1/12$ da atividade do retinol.

A quantidade recomendada de um determinado nutriente é expressa em termos de ingestão média diária em um período de tempo e considera variações individuais entre grupos de pessoas de uma população sadia. A Portaria Nº 33 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 1998) trata destas necessidades. A ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina A para o homem adulto é de 800 μg de retinol equivalentes (RE). Como a vitamina A e os carotenos existem em mais de uma forma química, que não são igualmente ativas, é normal usar o termo retinol para se referir à vitamina A pura. Assim, a quantidade total de vitamina A presente em um alimento, seu retinol equivalente, é determinado pelo teor de retinol ou substâncias químicas muito similares ao retinol, mas não tão ativos, e uma gama de carotenos de atividade variável. Desse modo, segundo OLSON (1993), 1 RE corresponde a 1 μg de retinol ou a 6 μg *all-trans* β -caroteno ou a 12 μg de outro carotenóide pró-vitamina A. Embora as razões sejam arbitrárias, a lógica é a seguinte: na conversão biológica de β -caroteno em vitamina A, 1 molécula de β -caroteno pode produzir 2 moléculas de retinol (Figura 2).

O conceito de que os carotenóides são efetivamente saudáveis tem se popularizado tendo em vista sua atividade antioxidante. A astaxantina, por exemplo, apresenta uma capacidade 250 vezes maior do que o α -tocoferol no combate aos radicais livres. Dentre todos os carotenóides conhecidos, a astaxantina é o que exhibe maior atividade antioxidante (MIKI, 1991).

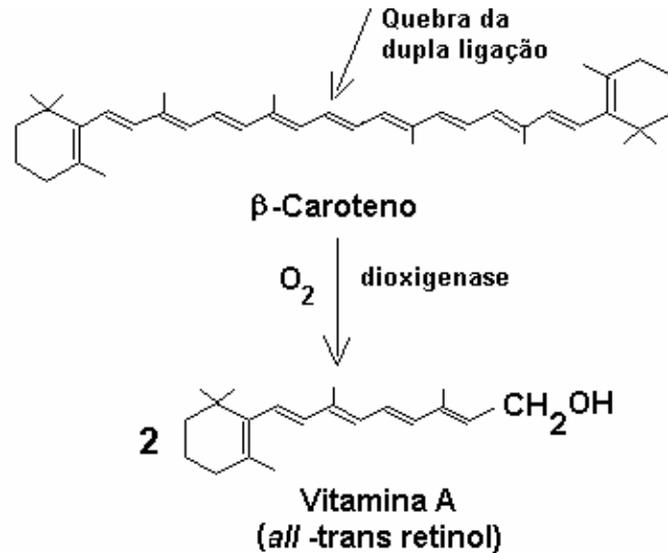


Figura 2. Biossíntese de vitamina A (MATHEWS; VAN HOLDE, 1995).

Durante as últimas duas décadas, a comunidade científica demonstrou um interesse crescente pelo estudo das vitaminas lipossolúveis, principalmente as pró-vitaminas A e as vitaminas A e E, na prevenção do câncer, na degeneração macular e catarata, na inibição do aparecimento de úlceras, na redução de ataques cardíacos e de doenças coronarianas (PETO et al., 1981; DRISKO et al., 2003;).

Várias dietas com diferentes nutrientes com propriedades antioxidantes associadas com carotenóides (licopeno, neoxantina, fucoxantina, fitoflueno, ζ -caroteno), retinóides, vitaminas A, E, C e D₃, fitoestrógenos (selênio, flavonóides), polifenóis e cálcio têm demonstrado significantes e complexos efeitos na regressão de câncer de próstata (WILLIS; WIANS JR., 2003).

Os carotenóides encontrados em muitas frutas e verduras possuem propriedades quimioprotetoras contra o câncer. SLATTERY et al. (2000) avaliaram alguns tipos de câncer de cólon em diferentes estágios e como eles são afetados pelos carotenóides. Alguns carotenóides presentes na dieta foram

avaliados e ficou comprovado que a luteína foi o carotenóide mais importante na modulação de câncer de cólon, especialmente em pessoas mais jovens. As principais fontes de luteína consumidas pelos pacientes do estudo incluíam espinafre, brócolis, alface, tomate, cenoura, laranja e seu suco, cereais, verduras e ovos. A luteína permanece estável mesmo após o cozimento em alguns alimentos como brócolis (SÁ; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003). O potente efeito antioxidante aparente da luteína foi atribuído ao seu poder de absorção das espécies reativas de oxigênio.

A ocorrência destes radicais livres refere-se ao oxigênio singlet (1O_2). Estas espécies reativas de oxigênio, geradas no curso do metabolismo normal, são intensificadas após exposição a xenobióticos, cujos efeitos maléficos incluem clivagem do DNA, peroxidação de lipídios insaturados, alteração da atividade enzimática e despolimerização de polissacarídeos, responsáveis pelo processo de envelhecimento e morte celular. Compostos naturais ricos em duplas ligações conjugadas atuam na destruição, seqüestro e/ou varredura dos radicais livres, devido ao seu efeito antioxidante. O seqüestro e a extinção de radicais livres têm sido considerados os efeitos mais benéficos que os carotenóides da dieta e/ou de formulações medicamentosas podem desempenhar no organismo humano ou animal (MIKI, 1991).

Estudos epidemiológicos e clínicos sugerem que uma dieta pobre em luteína e zeaxantina e/ou baixos níveis plasmáticos destes carotenóides em associação com a idade podem promover degeneração macular. Primatas submetidos à privação de luteína e zeaxantina apresentaram anormalidades na retina, de modo que ambos podem ser considerados essenciais na dieta dessas populações (SEMBA; DAGNELIE, 2003).

Os carotenóides encontrados em algas marinhas apresentam distribuição diferenciada. As Rhodophyta normalmente contêm α -caroteno e β -caroteno, assim como seus derivados hidroxilados, luteína e zeaxantina, respectivamente. As Phaeophyta apresentam fucoxantina como principal pigmento, mas também β -caroteno e violaxantina (ROWAN, 1989). HAUGAN; LIAAEN-JENSEN (1994) encontraram em 6 espécies de algas pardas (*Fucus serratus*, *F. vesiculosus*, *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata*, *Laminaria digitata* e *L. saccharina*) fucoxantina, violaxantina e luteoxantina, como principais xantofilas, e β -caroteno, como principal caroteno. Outros carotenóides minoritários também foram identificados. De acordo com HAUGAN, LIAAEN-JENSEN (1994), a fucoxantina ocorre em grandes quantidades em muitas algas pardas, sendo considerado o principal carotenóide das algas marinhas (HAUGAN et al., 1995), devido à ampla distribuição e grande biomassa de algas fucóides e de *Laminaria* spp. no mundo. As Chlorophyta comumente contêm anteraxantina, violaxantina e neoxantina derivadas do β -caroteno.

Outros carotenóides de ocorrência menos freqüentes nas algas marinhas pertencentes as divisões Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta são γ -caroteno, ε -caroteno, α -criptoxantina, β -criptoxantina, luroxantina, sifonaxantina, sifoneína, taraxantina, cantaxantina, astaxantina e equinenona (LIAAEN-JENSEN, 1977; ROWAN, 1989).

Na Tabela 1 estão apresentados os carotenóides presentes nas diferentes divisões de algas marinhas.

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

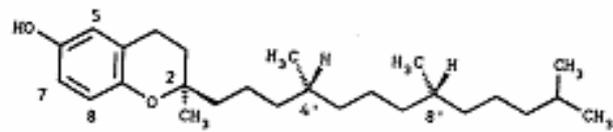
Divisão	Carotenóides		
	Comuns	Ocasionais	Outros
Chlorophyta	β -Caroteno	γ -Caroteno	Equinenona
	α -Caroteno	ε -Caroteno	4'-Hidroxi-equinenona
	Luteína	β -Criptoxantina	Cantaxantina
	Zeaxantina	α -Criptoxantina 5',6'epóxido	3-Hidroxi-cantaxantina
	Anteraxantina	Luteína epóxido	Astaxantina
	Violaxantina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

Nas células das algas, uma das funções aparentes do β -caroteno consiste em proteger o aparelho fotossintético contra a fotoxidação e os raios ultravioleta, desencadeados por qualquer excesso de luz (BRITTON et al., 1995; ARMSTRONG; HEARST, 1996; ARMSTRONG, 1997; HAVAUX, 1998).

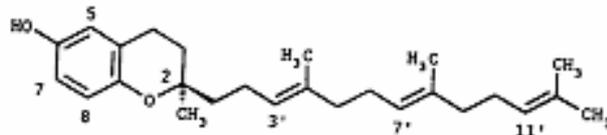
Na presença de luz forte, as clorofilas produzem níveis elevados de espécies reativas de oxigênio ($^1\text{O}_2$), que podem reagir com os lipídios das membranas, dando origem a radicais e peróxidos lipídicos. Estes produtos tóxicos, por sua vez, promovem reações de peroxidação em cadeia, que podem afetar inclusive o material genético das células. O β -caroteno reage com os radicais lipídicos gerados pelas espécies reativas de oxigênio, inibindo as reações de oxidação em cadeia. Este poder antioxidante protege as membranas celulares por impedir a ação dos radicais de oxigênio (TSUCHIHASHI et al., 1995; HAVAUX, 1998).

2.2. Vitamina E

Pelo menos oito compostos apresentam atividade de vitamina E com dois grupos lipossolúveis: os tocoferóis e os tocotrienóis. Todos eles possuem em sua estrutura um anel 6-cromanol polar e uma cadeia lateral prenil hidrofóbica. O primeiro grupo é derivado do tocol, que carrega uma cadeia lateral isoprenóide saturada composta de 16 átomos de carbono e três centros quirais com configuração R nas posições 2, 4' e 8'. Os membros do segundo grupo possuem cadeia lateral triplamente insaturada nas posições 3', 7' e 11'. Dentro de cada grupo, os membros são designados como α , β , γ e δ dependendo do número e da posição dos grupos metil ligados ao anel aromático (Figura 3).



Tocopherol



Tocotrienol

Posição dos grupos metil	Nomes vulgares (abreviaturas)	
	Tocoferóis	Tocotrienóis
5, 7, 8	α -tocoferol (α -T)	α -tocotrienol (α -T-3)
5, 8	β -tocoferol (β -T)	β -tocotrienol (β -T-3)
7, 8	γ -tocoferol (γ -T)	γ -tocotrienol (γ -T-3)
8	δ -tocoferol (δ -T)	δ -tocotrienol (δ -T-3)

Figura 3. Fórmulas dos oito membros das séries tocoferol e trocotrienol com atividade de vitamina E (MACHLIN, 1991).

O termo vitamina E deve ser usado como uma descrição genérica de todos os derivados tocóis e tocotrienóis que qualitativamente exibem atividade biológica de α -tocoferol (KWIATKOWSKA, 1988; MACHLIN, 1991; HIRSCHBERG, 1999). Os tocoferóis ocorrem naturalmente como benzopiranos fenólicos com atividade antioxidante “in vivo” e “in vitro”. A atividade do α -tocoferol “in vivo” é superior a das outras espécies, cerca de 10 vezes maior do que seu precursor imediato, o γ -tocoferol. Portanto, o valor nutricional dos tocoferóis, em termos de atividade de vitamina E, é determinado pela concentração de α -tocoferol. Este ocorre na natureza sob a forma de um isômero simples (R,R,R)- α -tocoferol, enquanto o α -tocoferol sintético, usado principalmente nos suplementos vitamínicos, é uma mistura racêmica dos oito

diferentes estereoisômeros, os quais são menos eficazes do que o isômero (R,R,R) (BRIGELIUS-FLOHÉ; TRABER, 1999; HIRSCHBERG, 1999).

Os tocoferóis são sintetizados por vegetais e microrganismos fotossintéticos, sendo o α -tocoferol a forma que predomina nos tecidos fotossintetizantes, localizados principalmente nos plastídios. A elevada quantidade de α -tocoferol encontrada na membrana dos cloroplastos provavelmente está relacionada com a capacidade dos tocoferóis de remover ou capturar as espécies reativas de oxigênio e os radicais peroxi dos lipídios por meios físicos ou químicos. Desse modo, o aparato fotossintético pode ser protegido da ação deletéria do oxigênio e da peroxidação lipídica (HOFIUS; SONNEWALD, 2003). Nos tecidos não-fotossintetizantes, o γ -tocoferol normalmente predomina e pode estar envolvido na prevenção da auto-oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados (MUNNE-BOSCH; ALEGRE, 2002; HOFIUS; SONNEWALD, 2003).

A vitamina E é predominantemente encontrada em amêndoas, óleos vegetais, espinafre, aspargo, cenoura, tomates, sementes, grãos integrais, abacate, maçã, gema de ovo, carne de gado e pescado (AZZI; STOCKER, 2000; BURNS et al., 2003; GÓMEZ-CORONADO et al., 2004).

A importância da vitamina E está relacionada com sua função antioxidante que mantém a integridade dos tecidos, além de desempenhar importantes papéis nos processos biológicos (HIRSCHBERG, 1999). O α -tocoferol também apresenta funções independentes da ação antioxidante. A absorção dos tocoferóis pelo organismo é seletiva; o α -tocoferol tem predominância sobre os demais (β , γ , e δ -tocoferol) que não são absorvidos ou o são apenas em pequenas proporções. Além disso, efeitos pró-oxidantes têm

sido atribuídos aos tocoferóis. Os mecanismos moleculares daqueles sem atividade antioxidante nem pró-oxidante têm sido descritos para α -, γ - e δ -tocoferol e para tocotrienóis, mas não para β -tocoferol (AZZI; STOCKER, 2000).

Os tocoferóis são sintetizados pela via isoprenóide, que fornece a extremidade hidrofóbica e por aquela da formação de ácido homogentísico. A via biossintética nas plantas foi elucidada há mais de 30 anos, mas muitos detalhes ainda permanecem obscuros por falta de descrição molecular. Entretanto, é inegável que um progresso significativo foi alcançado com relação à síntese e ao acúmulo de tocoferóis nos tecidos vegetais (HIRSCHBERG, 1999).

Produzido a partir do ácido *p*-hidroxifenilpirúvico através de uma complexa reação catalisada pela enzima ácido *p*-hidroxifenilpirúvico dioxigenase presente no citosol, o ácido homogentísico fornece o anel cromanol tanto para os tocoferóis quanto para as quinonas. Uma cadeia lateral fitil é adicionada ao ácido homogentísico simultaneamente através de uma reação de descarboxilação catalisada pela fitil/prenil transferase para formar o primeiro intermediário tocoferol, o 2-metil-6-fitilplasto-quinol. Essa transferase presente nos plastídios também catalisa a reação de prenilação que adiciona solanil pirofosfato ao ácido homogentísico na via biossintética da plastoquinona. O fitil pirofosfato é produzido a partir do geranilgeranil-difosfato por uma redução passo-a-passo catalisada pela geranilgeranil redutase. O geranilgeranil-difosfato é produzido a partir do isopentenil difosfato pela geranilgeranil-difosfato sintetase na via isoprenóide central. O passo seguinte na síntese do α -tocoferol envolve a metilação do 2-metil-6-fitilplastoquinol na posição 3, catalisada pela fitiltoluquinol metil transferase, para produzir 2,3-dimetil-6-fitilplastoquinol. Esta reação de metilação é seguida por uma

ciclização para formar d-7,8 dimetiltocol (γ -tocoferol). Finalmente, outro anel sofre metilação na posição 5 para dar origem ao α -tocoferol (Figura 4). Ainda não está claro como δ - e β -tocoferol são produzidos, mas suas sínteses têm início com o 2-metil-6-fetilplastoquinol (HIRSCHBERG, 1999).

Tendo em vista a sua hidrofobicidade, a vitamina E requer mecanismos especiais de transporte no plasma e nos fluidos tissulares e celulares. No homem, a vitamina E dietária é absorvida na porção proximal do intestino, dependendo da quantidade de lipídios, bile e esterases pancreáticas, sofrendo emulsificação junto com outros componentes lipossolúveis dos alimentos. A lipólise e a emulsificação das gotículas de lipídio formadas, levam à formação espontânea de micelas mistas, que são absorvidas na borda ciliada da membrana por transporte passivo (AZZI; STOCKER, 2000). Os tocoferóis, em conjunto com triglicerídios, fosfolipídios, colesterol e apolipoproteínas, são reagrupados em quilomícrons no complexo de Golgi das células da mucosa intestinal (BRIGELIUS-FLOHE; TRABER, 1999). Os quilomícrons são estocados sob a forma de pequenos grãos, que serão excretados por exocitose para o compartimento linfático, de onde alcançam a corrente sanguínea via ducto torácico (AZZI; STOCKER, 2000), sendo rapidamente levados para o parênquima do fígado, indicando que a degradação intravascular dos quilomícrons remanescentes, promovida pela lipase lipoprotéica (LPL) endotelial, consiste em um pré-requisito para a captação de tocoferóis pelo fígado (NAKAMURA et al., 1998).

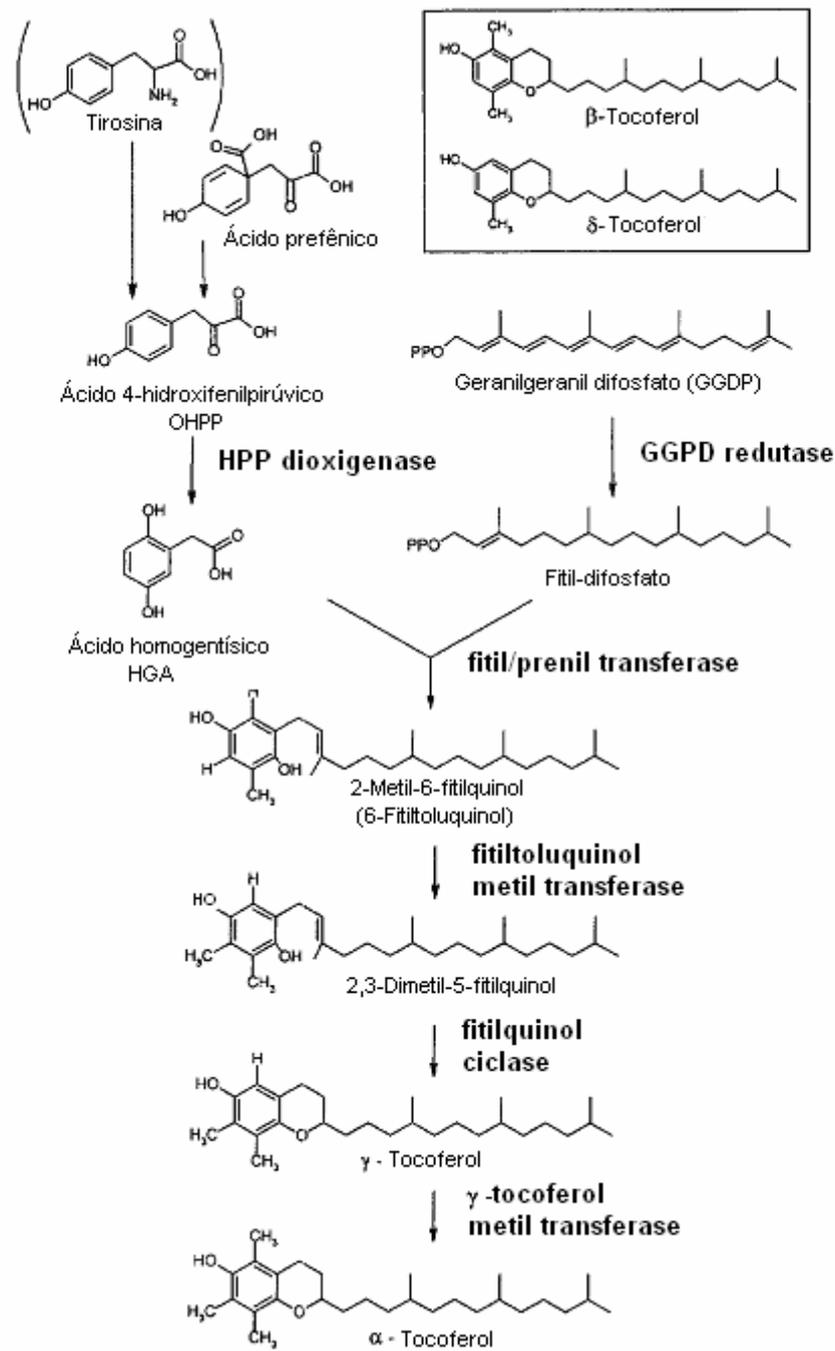
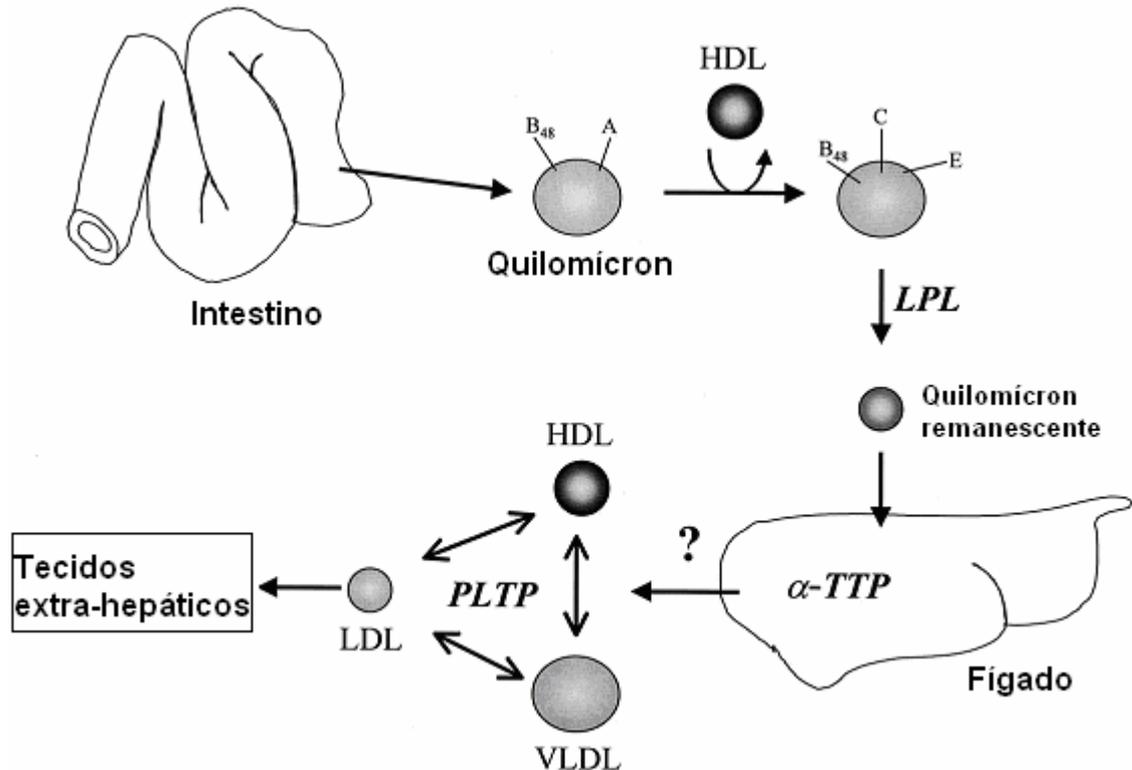


Figura 4. Biossíntese dos tocoferóis em vegetais (HIRSCHBERG, 1999).

Existem fortes evidências de que a troca entre as apolipoproteínas dos quilomícrons (tipos AI, AII e B₄₈) e as lipoproteínas de densidade alta (HDL - tipos C e E) funciona como gatilho para a formação dos quilomícrons remanescentes, favorecendo assim a rápida captação dos tocoferóis via receptores hepáticos de apo-E e apo-B (AZZI; STOCKER, 2000). A vitamina E hepática dos quilomícrons é transferida para lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) recém-sintetizadas, que são lançadas na circulação. Uma proteína hepática, a proteína transferidora de α -tocoferol (α -TTP), media a transferência de α -tocoferol, mas não de γ -tocoferol para VLDL. Por esta razão, α -tocoferol predomina no plasma sanguíneo (BRIGELIUS-FLOHE; TRABER, 1999; AZZI; STOCKER, 2000). A proteína plasmática transferidora de fosfolípidios (PLTP), que catalisa a troca de fosfolípidios e outros compostos anfipáticos entre as estruturas lipídicas, parece facilitar a troca de α -tocoferol entre HDL e lipoproteína de densidade baixa (LDL). A absorção, transporte e distribuição dos tocoferóis estão mostrados na Figura 5.

A identificação dos mecanismos de ação e o potencial metabólico dos tocoferóis têm sido estudados desde sua descoberta (ROSENAU et al., 1995; ROSENAU; HABICHER, 1997). As diferenças na distribuição e metabolismo das isoformas após sua absorção regulam a concentração de vitamina E nos tecidos. Estas diferenças podem exercer um importante papel na capacidade de uma dada isoforma de vitamina E funcionar como agente químico preventivo, considerando que a liberação adequada ao tecido-alvo é crítica para uma quimioprevenção eficiente (CAMPBELL et al., 2003).



HDL	lipoproteína de densidade alta
LPL	lipase lipoprotéica endotelial
α -TTP	proteína transferidora de tocoferol
VLDL	lipoproteína de densidade muito baixa
PLTP	proteína plasmática transferidora de fosfolípido
LDL	lipoproteína de densidade baixa

Figura 5. Absorção, transporte e distribuição dos tocoferóis (AZZI; STOCKER, 2000).

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

A ingestão diária recomendada (IDR) é a dose mínima que deve ser consumida por dia, para prevenir um quadro de deficiência grave. Segundo a Portaria Nº 33 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 1998), a IDR para a vitamina E (tocoferóis) é 10 mg α -tocoferol equivalente (α -TE). É importante lembrar que 1 α -TE é igual a 1 mg de d- α -tocoferol, que corresponde a 0,671 U.I. ou 0,671 mg de d-L- α -acetato de tocoferila. Nos Estados Unidos, a IDR é de 10 mg (300 U.I) para os homens e 8 mg para as mulheres. A dose normalmente aumenta consideravelmente quando este nutriente é usado terapeuticamente. Embora a toxicidade não seja facilmente alcançada, altas doses podem causar diarreia, náusea ou gases abdominais. Indivíduos tratados com medicamentos anticoagulantes não devem ingerir mais do que 1.200 U.I. por dia.

Um número relativamente pequeno de trabalhos tem abordado a ocorrência de vitamina E em algas marinhas (BROWN, 1953; JENSEN, 1969a; JENSEN, 1969b; JENSEN, 1969c; SAKER-SAMPAIO, 1997; LE TUTOUR et al., 1998; SÁNCHEZ-MACHADO et al., 2002).

Além de suas propriedades tecnológicas, as algas marinhas apresentam propriedades nutricionais originais e interessantes. Entretanto, muitas pesquisas ainda são necessárias para se estabelecer o valor nutricional das algas marinhas, que podem ser consideradas em uma fonte subexplorada de moléculas benéficas à saúde humana e com aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Algas

Trinta e duas espécies de algas marinhas (Chlorophyta: *Caulerpa cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera*, *C. racemosa*, *Cladophora prolifera*, *Codium decorticatum* e *Ulva fasciata*; Rhodophyta: *Acantophora specifera*, *Acantophora* sp., *Amansia multifida*, *Botryocladia occidentalis*, *Bryothamnion seaforthii*, *B. triquetrum*, *Corallina officinalis*, *Cryptonemia crenulata*, *Enantiocladia duperreyi*, *Eucheuma* sp., *Gracilaria* sp., *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. domingiensis*, *G. ferox*, *Hypnea cervicornis*, *H. musciformis*, *Osmundea obtusiloba*, *Pterocladia americana* e *Solieria filiformis*; e Phaeophyta: *Dictyota dichotoma*, *Dictyopteris delicatula*, *Lobophora variegata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum cymosum*) foram coletadas durante a maré baixa na Praia do Guajiru, Trairi-CE, em julho de 2004, e levadas para o laboratório.

O material coletado foi lavado em água corrente para remoção de impurezas e epífitas macroscópicas sendo, em seguida, colocado sobre papel absorvente para drenar o excesso de água. As algas foram estocadas a -20°C separadamente em sacos plásticos fechados e etiquetados.

3.2. Reagentes

Hidróxido de potássio foi obtido da Merck, Alemanha. β -Caroteno tipo I all *trans*, sintético aproximadamente 95% (C-9750) e acetato de α -tocoferol (Ephynal) foram obtidos da Sigma, Estados Unidos e Roche, Brasil, respectivamente.

Os solventes, metanol, *n*-hexano e tetrahydrofurano usados na preparação dos padrões e nas análises cromatográficas foram grau HPLC, obtidos da OmniSolv, Merck, Alemanha.

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

3.3. Curva padrão de β -caroteno e 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. Tendo em vista a existência de correlação linear entre área do pico e concentração de β -caroteno ($r = 0,9966$, $p < 0,05$) no intervalo de 10 a 100 μg , que corresponde a aproximadamente 0,1 a 1,0 μg na coluna (Figura 6), sua quantificação nas amostras de algas foi possível.

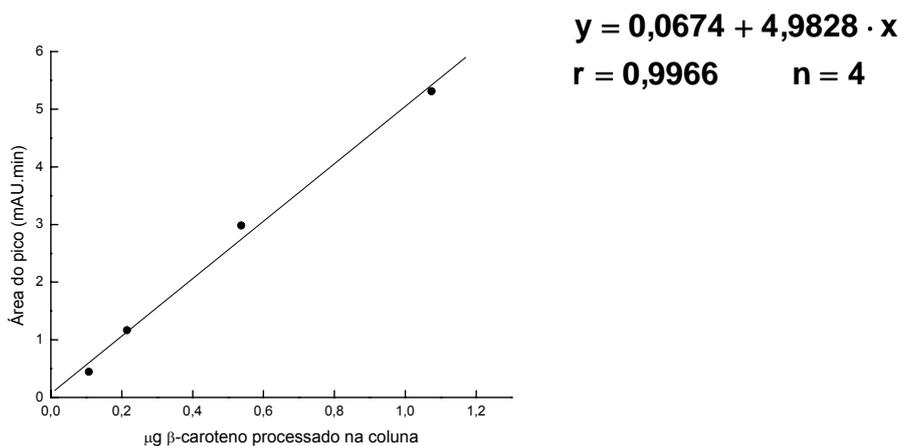


Figura 6. Curva padrão do β -caroteno (Sigma) processado.

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 acetato de

α -tocoferol processado (submetido ao processo de saponificação e partição). Tendo em vista a existência de correlação linear entre a área do pico e concentração de acetato de α -tocoferol ($r = 0,9909$, $p < 0,05$) no intervalo de 10 a 100 μg , que correspondeu a aproximadamente 5 a 500 μg na coluna (Figura 7), sua quantificação nas amostras de algas foi possível.

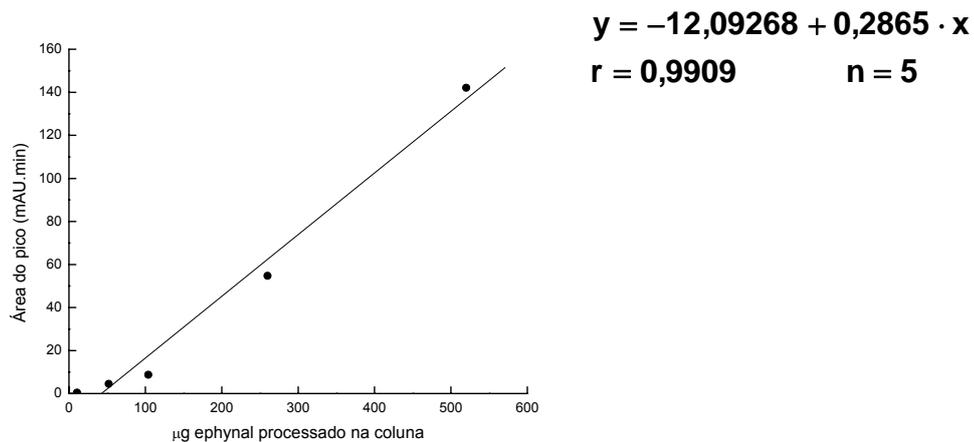


Figura 7. Curva padrão do acetato de α -tocoferol (Ephynal, Roche) processado.

3.4. Análise de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol

3.4.1. Extração

Aproximadamente 100 g de alga fresca foram manualmente cortados em pequenos pedaços e macerados em gral de aço inoxidável com auxílio de nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino, que foi utilizado para a preparação dos extratos.

3.4.2. Saponificação e partição

Três porções de 2 g foram pesadas em tubos de vidro graduados com tampa esmerilhada (20 x 150 mm) e 20 mL de metanol-água (90:10, v/v)

contendo 5% de hidróxido de potássio foram adicionados. Os tubos foram colocados em banho-maria Thermomix® BM modelo 18 BU (B. Braun Biotech International) a 70°C por 30 minutos.

Depois de resfriados à temperatura ambiente, 10 mL do extrato saponificado, 3 mL de água Milli-Q e 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.

Os tubos foram deixados na bancada para permitir a separação das fases. Da fase hexânica superior, 1 mL foi transferido para tubos de ensaio (10 x 75 mm) e deixados sob corrente de ar em banho-maria a aproximadamente 50°C para evaporação do solvente. O resíduo foi então suspenso em 500 µL da fase móvel no momento da análise cromatográfica.

Diariamente, uma solução padrão de β-caroteno (1 mg.mL⁻¹) foi preparada em tetrahidrofurano (THF) e diluída com metanol (MeOH) para 10 µg.mL⁻¹ de modo que 1,5 µg fosse injetado na coluna. A concentração da solução padrão de β-caroteno foi determinada a partir de sua absorbância em 450 nm, sendo sua capacidade de absorção de luz (“absorptivity”) considerada igual a 0,2592 µg⁻¹.mL⁻¹ de acordo com SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS (1972). A absorbância de 450 nm foi determinada a partir do espectro de absorção na faixa de 350 a 700 nm.

Da mesma forma, uma solução padrão de acetato de α-tocoferol foi preparada diariamente em THF e diluída em MeOH, de modo que aproximadamente 70 µg fossem injetados na coluna.

Um padrão constituído de β-caroteno e acetato de α-tocoferol foi processado (submetido ao processo de saponificação e partição)

separadamente e em combinação com 2 g de alga. Esse procedimento assegurou a detecção de β -caroteno e α -tocoferol onde eles eram adicionados intencionalmente.

3.4.3. Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa

O sistema cromatográfico consistiu em uma coluna Waters Spherisorb S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) e uma fase móvel constituída de metanol, com fluxo de 2 mL.min⁻¹, usando uma bomba (AKTAbasic 10) modelo P-900, Amersham. Alíquotas de 100 μ L do resíduo suspenso na fase móvel foram injetadas manualmente usando um injetor de amostras Rheodyne 7210 (Hamilton Co.). O monitor (AKTAbasic UV-900) foi ajustado em 450 nm e 285 nm, para a leitura simultânea de carotenóides e α -tocoferol, respectivamente. Os cromatogramas foram registrados através do sistema de controle UnicornTM, versão 5.0.

3.4.4. Cálculo do teor de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol nas algas

A concentração de β -caroteno nos extratos de alga foi calculada com base no padrão de 10 μ g de β -caroteno processado. O cálculo foi procedido usando-se a área do pico obtido para a solução padrão de β -caroteno e a área do pico referente ao β -caroteno no extrato de alga.

A concentração de α -caroteno nos extratos das algas analisadas foi calculada com base na solução padrão de β -caroteno. O uso do β -caroteno como padrão para a quantificação de α -caroteno é válida porque as áreas dos picos correspondentes a 10 μ g de α -caroteno e β -caroteno não apresentaram 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 70 μg de acetato de α -tocoferol processado. O cálculo foi procedido usando-se a área do pico obtido para a solução padrão de acetato de α -tocoferol e a área do pico com mesmo tempo de retenção presente no extrato de alga.

A quantificação de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol foi determinada em alga fresca. As algas e os padrões foram processados (submetidos ao processo de saponificação e partição) de forma idêntica considerando volume de reagentes e alíquotas transferidas entre etapas do procedimento. Além disso, a recuperação do β -caroteno e do acetato de α -tocoferol processados isoladamente ou em conjunto com a alga foi a mesma.

A fórmula abaixo foi utilizada para o cálculo dos teores de α - e β -caroteno e α -tocoferol em $\mu\text{g/g}$ de alga fresca:

$$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} = \frac{\text{área amostra}}{\text{área padrão}} \times \mu\text{g padrão} \times \text{fator de diluição} \times \frac{1 \text{ g}}{\text{g alga}}$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A separação e quantificação de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol em trinta e duas espécies de algas marinhas pertencentes às divisões Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa através de um sistema isocrático, desenvolvido para a análise simultânea desses compostos, considerando os tempos de retenção das amostras e dos padrões e a co-cromatografia com padrões autênticos.

4.1. Carotenóides pró-vitamina A

O tempo de retenção da solução padrão de β -caroteno processado (submetido a saponificação e partição) foi de $16,41 \pm 0,87$ min ($n = 31$). Um cromatograma típico desse padrão está apresentado na Figura 8. Os tempos de retenção do α -caroteno e do β -caroteno detectados nos extratos de alga foram $14,63 \pm 0,89$ min ($n = 18$) e $16,58 \pm 0,94$ min ($n = 32$), respectivamente. A diferença entre estes tempos de retenção foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A identificação de compostos feita através da comparação dos tempos de retenção é um procedimento utilizado por muitos pesquisadores (HEGAZI et al., 1998; GIMENO et al., 2000; NORZIAH, CHING, 2000), embora AZEVEDO-MELEIRO, RODRIGUES-AMAYA (2004) considerem que a identificação conclusiva dos carotenóides deva ser feita através da combinação de critérios, incluindo os espectros UV-visível e de massa, além dos habituais como tempo

de retenção e co-cromatografia com padrões de procedência garantida. Entretanto, essas facilidades são encontradas apenas em laboratórios muito bem equipados.

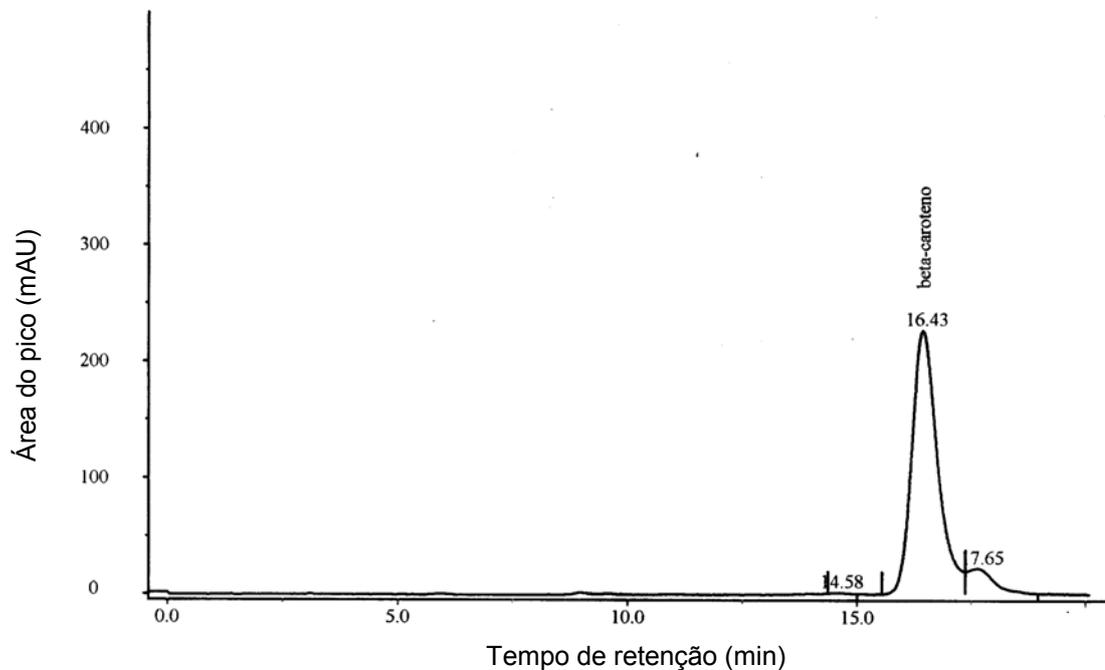


Figura 8. Cromatograma típico obtido do padrão submetido a saponificação e partição com 1,5 μg de β -caroteno na coluna (C9750 Sigma).

Normalmente as algas verdes e vermelhas contêm tanto α -caroteno como β -caroteno junto com seus derivados hidroxilados, luteína e zeaxantina, respectivamente. Além desses, as clorofitas comumente contêm também violaxantina, anteraxantina e neoxantina. Espécies de alga vermelha do gênero *Porphyra* contêm quantidades de β -caroteno mais elevadas do que os vegetais verdes e amarelos, variando de 22 a 25 mg por 100 g peso seco (HAUGAN, LIAAEN-JENSEN, 1994). Segundo MABEAU, FLEURENCE (1993), a maioria das algas vermelhas contêm grandes quantidades de carotenóides pró-vitamina A. As algas pardas contêm β -caroteno e acumulam como principais

derivados violaxantina e fucoxantina, mas não apresentam α -caroteno (HAUGAN, LIAAEN-JENSEN, 1994; BURTIN, 2003).

No presente trabalho, todas as Chlorophyta apresentaram α -caroteno e β -caroteno. A Figura 9 ilustra um cromatograma típico dos extratos das clorófitas. A quantidade de α -caroteno variou de $0,814 \pm 0,256$ a $71,378 \pm 3,550 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco, sendo mais elevado nas algas do gênero *Caulerpa* (*C. cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera* e *C. racemosa*) e mais baixo em *Codium decorticatum*. A quantidade de β -caroteno variou entre $2,322 \pm 0,736$ e $26,705 \pm 7,398 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco, sendo mínimo em *Caulerpa mexicana* e máximo em *Ulva fasciata* (Tabela 2).

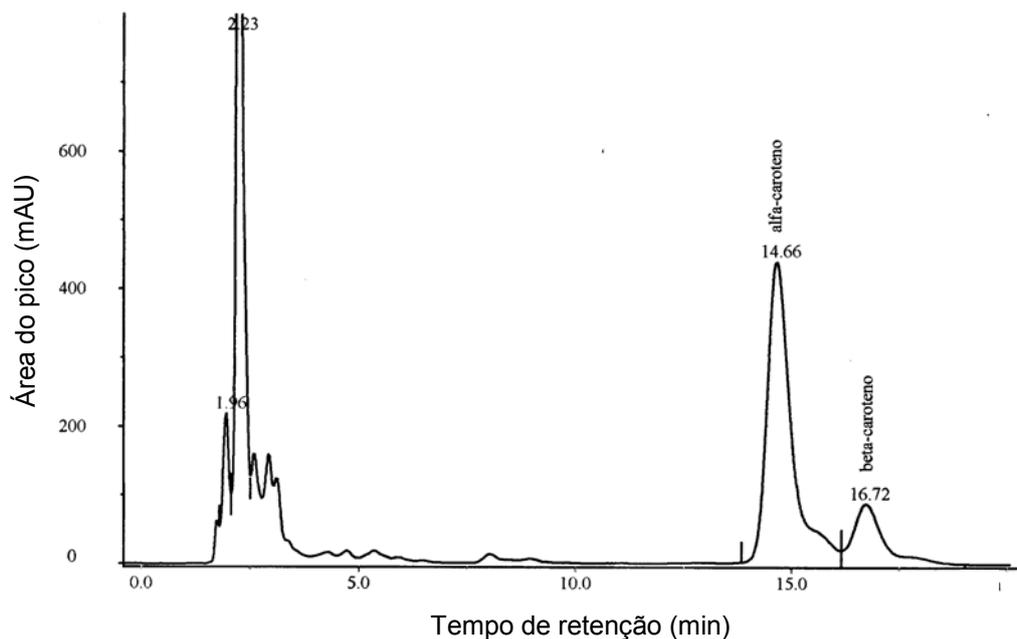


Figura 9. Cromatograma típico do extrato das Chlorophyta, contendo α -caroteno e β -caroteno, representadas pela *Caulerpa prolifera*.

As espécies do gênero *Caulerpa* apresentaram teor de α -caroteno de 1,2 a 4,5 vezes maior que o de β -caroteno. Para as outras espécies de algas verdes estudadas, esse fato não foi observado, e a quantidade de β -caroteno

foi de 7,8 a 15,8 vezes maior que a de α -caroteno. Segundo SENGHER et al. (1993), o padrão de carotenóides presentes nas algas verdes é fortemente influenciado pela intensidade de luz e seu comprimento de onda e pela duração da exposição. Além disso, o ciclo de vida também exerce enorme importância sobre os carotenóides presentes tanto nas algas como nas plantas superiores.

Tabela 2. Conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nas algas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.

Espécies de alga	α -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	β -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
<i>Caulerpa cupressoides</i>	10,412 \pm 3,600	8,711 \pm 2,771	2,320 \pm 0,761
<i>C. mexicana</i>	6,905 \pm 1,822	2,322 \pm 0,736	0,962 \pm 0,256
<i>C. prolifera</i>	71,378 \pm 3,550	18,393 \pm 0,998	9,014 \pm 0,442
<i>C. racemosa</i>	39,661 \pm 19,776	8,856 \pm 4,535	4,781 \pm 2,404
<i>Cladophora prolifera</i>	1,077 \pm 0,564	17,050 \pm 5,499	2,931 \pm 0,903
<i>Codium decorticatum</i>	0,814 \pm 0,256	9,277 \pm 2,181	1,614 \pm 0,383
<i>Ulva fasciata</i>	3,443 \pm 1,047	26,705 \pm 7,398	4,738 \pm 1,320

Com relação ao retinol equivalente, as algas verdes apresentaram mínimo para *C. mexicana* (0,962 \pm 0,256 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e máximo para *C. prolifera* (9,014 \pm 0,442 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Considerando, a ingestão de 100 g de alga fresca por dia, uma porção de *C. prolifera* forneceria a IDR, enquanto a *C. mexicana* seria responsável por $\frac{1}{8}$ da IDR. MACIEL DA SILVA (2003) também encontrou duas espécies do gênero *Caulerpa* (*C. mexicana* e *C. racemosa*) como fontes ricas e úteis, respectivamente de vitamina A, quando a porção consumida foi 100 g de peso seco.

As algas verdes do gênero *Enteromorpha* são recomendadas para consumo humano por possuírem vários componentes benéficos tais como

minerais, principalmente cálcio e fósforo, proteína, aminoácidos e ácidos graxos essenciais e fibra, além de conter quantidades aceitáveis de hemiceluloses, que acentuam a produção de bile, favorecendo a digestão dos lipídios. Além disso, não apresentam nenhum fator antinutricional (AGUILERA-MORALES et al., 2005).

DENERY et al. (2004) encontraram luteína nas microalgas verdes *Haematococcus pluvialis* e *Dunaliella salina*. Astaxantina só foi detectada em *H. pluvialis* e β -caroteno ocorreu apenas em *D salina* cujo teor foi de $1,6 \pm 0,1$ e $2,7 \pm 0,3 \text{ mg.g}^{-1}$, quando a extração foi procedida, respectivamente, com 1 e 25 g de alga liofilizada.

HEGAZI et al. (1998) detectaram dezoito pigmentos diferentes em *Caulerpa prolifera*, dentre os quais, a sifonoxantina foi o caroteno predominante. Outros carotenóides como α -caroteno, β -caroteno, luteína, neoxantina e violaxantina também foram encontrados.

LI, CHEN (2001) extraíram astaxantina da microalga verde *Chlorococcum* sp. com solventes orgânicos, que foi isolada e purificada através de cromatografia por contracorrente de alta velocidade, sem matriz sólida, que é considerada uma excelente ferramenta para separação e purificação de substâncias biologicamente ativas.

Dentre as Rhodophyta estudadas, nove espécies (*Acantophora specifera*, *Acantophora* sp, *Bryothamnion seaforthii*, *Corallina officinalis*, *Gracilaria birdiae*, *G. caudata*, *G. domingiensis*, *G. ferox* e *Gracilaria* sp.) não apresentaram α -caroteno. Nas outras onze espécies de algas vermelhas, α -caroteno foi identificado e seu conteúdo oscilou entre $0,487 \pm 0,267$ e $3,055 \pm 0,278 \text{ }\mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco, em *Solieria filiformis* e *Botryocladia*

occidentalis, respectivamente. β -Caroteno foi encontrado em todas as espécies de algas vermelhas com valor máximo de $4,284 \pm 0,607 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco em *Bryothamnion triquetrum* e mínimo de $0,336 \pm 0,209 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco em *Gracilaria caudata* (Tabela 3). Os cromatogramas representativos dos extratos das rodofíceas que contêm tanto α -caroteno quanto β -caroteno e daquelas que apresentaram apenas β -caroteno estão ilustrados nas Figuras 10 e 11, respectivamente.

Tabela 3. Conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nas algas marinhas pertencentes à divisão Rhodophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.

<i>Espécies de alga</i>	α -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	β -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
<i>Acantophora specifera</i>	-	$1,421 \pm 0,503$	$0,237 \pm 0,084$
<i>Acantophora sp.</i>	-	$1,322 \pm 0,225$	$0,220 \pm 0,038$
<i>Amansia multifida</i>	$2,319 \pm 0,494$	$1,925 \pm 0,421$	$0,514 \pm 0,111$
<i>Botryocladia occidentalis</i>	$3,055 \pm 0,278$	$0,479 \pm 0,139$	$0,334 \pm 0,022$
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	-	$3,981 \pm 0,661$	$0,663 \pm 0,110$
<i>B. triquetrum</i>	$0,596 \pm 0,104$	$4,284 \pm 0,607$	$0,764 \pm 0,109$
<i>Corallina officinalis</i>	-	$1,219 \pm 0,536$	$0,203 \pm 0,089$
<i>Cryptonemia crenulata</i>	$0,899 \pm 0,171$	$0,338 \pm 0,179$	$0,131 \pm 0,039$
<i>Enantiocladia duperreyi</i>	$2,410 \pm 0,618$	$3,053 \pm 0,671$	$0,710 \pm 0,162$
<i>Eucheuma sp.</i>	$2,315 \pm 0,812$	$1,266 \pm 0,461$	$0,404 \pm 0,144$
<i>Gracilaria birdiae</i>	-	$3,018 \pm 0,268$	$0,503 \pm 0,045$
<i>G. caudata</i>	-	$0,336 \pm 0,209$	$0,056 \pm 0,035$
<i>G. domingiensis</i>	-	$0,784 \pm 0,188$	$0,131 \pm 0,031$
<i>G. ferox</i>	-	$0,978 \pm 0,196$	$0,163 \pm 0,033$
<i>Gracilaria sp.</i>	-	$2,897 \pm 1,271$	$0,483 \pm 0,212$
<i>Hypnea cervicornis</i>	$0,488 \pm 0,319$	$0,704 \pm 0,458$	$0,158 \pm 0,103$
<i>H. musciformis</i>	$2,770 \pm 1,121$	$2,406 \pm 1,068$	$0,632 \pm 0,271$
<i>Osmundea obtusiloba</i>	$1,491 \pm 0,481$	$1,949 \pm 0,485$	$0,449 \pm 0,119$
<i>Pterocladia americana</i>	$0,904 \pm 0,643$	$2,040 \pm 1,495$	$0,415 \pm 0,303$
<i>Solieria filiformis</i>	$0,487 \pm 0,267$	$1,169 \pm 0,459$	$0,235 \pm 0,098$

Com relação ao retinol equivalente, as rodofíceas apresentaram mínimo para *Gracilaria caudata* ($0,056 \pm 0,035 \mu\text{g.g}^{-1}$) e máximo para *Bryothamnion triquetrum* ($0,764 \pm 0,109 \mu\text{g.g}^{-1}$). Considerando a ingestão de 100 g de alga fresca por dia, uma porção de *Bryothamnion triquetrum* forneceria um pouco mais de $1/10$ da ingestão diária recomendada (IDR).

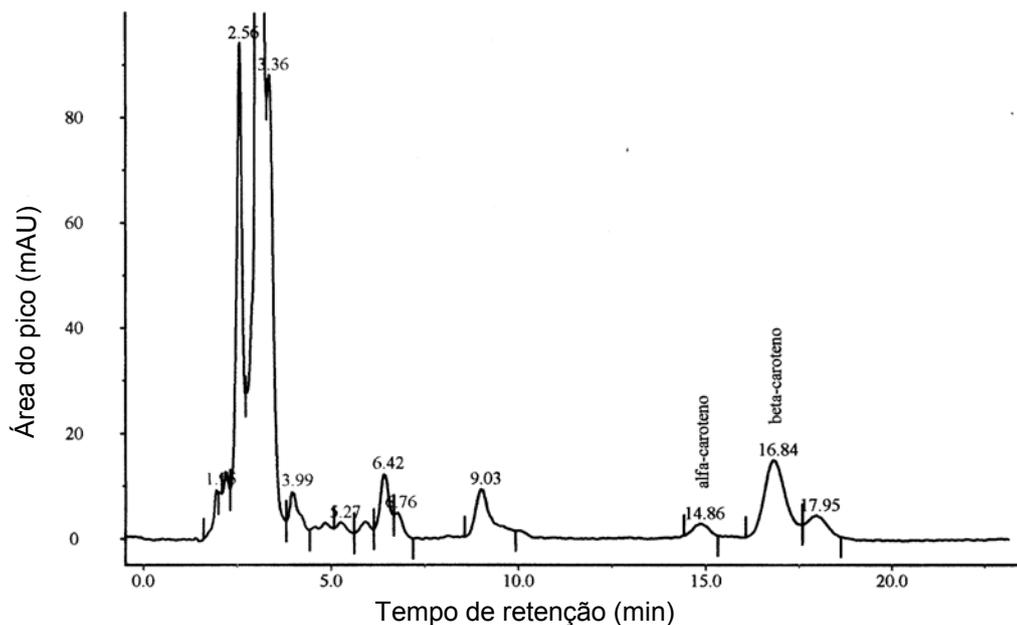


Figura 10. Cromatograma típico dos extratos das Rhodophyta contendo α -caroteno e β -caroteno, representadas pela *Bryothamnion triquetrum*.

MACIEL DA SILVA (2003) considerou a alga vermelha *Hypnea cervicornis* uma fonte útil de vitamina A, se a porção consumida for 100 g de peso seco, o que não coincidiu com os resultados obtidos neste trabalho. Isso pode ser explicado com base no fato de que o perfil de vitaminas nas algas marinhas varia de acordo com fatores endógenos e exógenos.

NORZIAH, CHING (2000) quantificaram β -caroteno em *Gracilaria changgi*, utilizada como matéria-prima para extração de agar ou carragenana, e

encontraram $5,2 \pm 0,4$ mg/100 g peso seco. Este valor foi semelhante ao encontrado em *Gracilaria* sp. e *G. birdiae* estudadas neste trabalho.

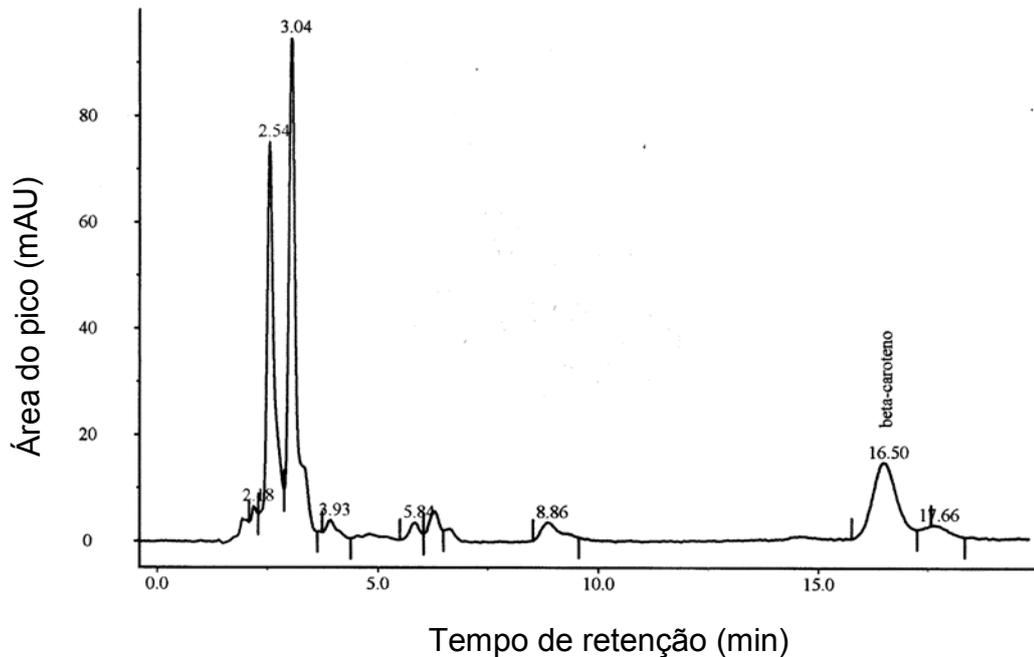


Figura 11. Cromatograma típico dos extratos das Rhodophyta, contendo apenas β -caroteno, representadas pela *Gracilaria* sp.

A ocorrência de fucoxantina em algas vermelhas ainda não está bem estabelecida e sua presença tem sido atribuída a contaminantes biológicos, principalmente diatomáceas e crisofíceas. BJORNLAND, AGUILAR-MARTINEZ (1976) detectaram fucoxantina em algas vermelhas coletadas na natureza, *Bangia fuscopurpurea*, *Ceramium rubrum* e *Polysiphonia brodiaei*, em quantidades semelhantes àquelas das diatomáceas epífitas pertencentes aos gêneros *Cocconeis* e *Licmophora*. Como a fucoxantina não foi detectada nas algas cultivadas sob condições controladas, *B. fuscopurpurea* e *C. rubrum*, os autores consideraram que nenhuma das três espécies (*B. fuscopurpurea*, *C. rubrum* e *P. brodiaei*) era capaz de sintetizá-la. Entretanto, a quantidade de

fucoxantina encontrada na alga *Nemalion helminthoides* foi quase 400 vezes maior do que a quantidade que poderia ser atribuída às diatomáceas presentes, resultado que, segundo os autores, precisa ser investigado com mais cuidado.

Mais tarde, três espécies de algas vermelhas (*Corallina officinalis*, *C. elongata* e *Jania* sp.), estudadas por PALERMO et al. (1991), apresentaram quase o mesmo perfil de carotenóides, sendo β -caroteno o mais abundante, como esperado, e variando de 12,2 a 20,9 mg/100 g peso seco, enquanto zeaxantina foi isolada em pequena quantidade (0,6 a 1,5 mg/100 g peso seco). Além desses dois carotenóides típicos de algas vermelhas, a presença de fucoxantina (2,0 a 8,4 mg/100 g peso seco) foi determinada. As algas provenientes de diferentes coletas foram examinadas microscopicamente e nenhuma revelou a presença de diatomácea ou qualquer outro contaminante em quantidade suficiente para produzir teores relativamente elevados de fucoxantina e fucoxantíol nas três espécies. Outro trabalho (HEGAZI et al., 1998) também identificou fucoxantina e fucoxantíol na alga vermelha *Jania rubens* e os autores asseguraram que sua presença não foi devido ao epifitismo de diatomáceas.

Os carotenóides pró-vitamina A (α -caroteno e β -caroteno) foram encontrados em amostras frescas e secas da alga vermelha *Palmaria palmata* durante todos os meses do ano (SAKER-SAMPAIO, 1997). Os níveis no material seco permitiram considerá-la uma fonte de vitamina A “útil” e, algumas vezes, “excelente” particularmente quando o material foi desidratado por liofilização. Aparentemente houve perdas quando a alga foi seca a 30 e 45°C, mas é provável que as condições de secagem possam ser melhoradas para

prevenir ou pelo menos minimizar tais perdas. Com base no conteúdo de pró-vitamina A, *P. palmata* pode muito bem ser promovida como alimento humano. Além de α -caroteno e β -caroteno, a luteína também esteve presente.

As espécies de Phaeophyta estudadas neste trabalho apresentaram apenas β -caroteno. Os valores mínimo e máximo foram encontrados em *Dictyopteris delicatula* e *Padina gymnospora*, variando de $0,266 \pm 0,198$ a $12,230 \pm 2,859 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco, respectivamente (Tabela 4). O cromatograma representativo dos extratos das feofíceas com apenas β -caroteno encontra-se ilustrado na Figura 12.

As algas pardas com relação ao retinol equivalente apresentaram conteúdo mínimo para *Dictyopteris delicatula* ($0,044 \pm 0,033 \mu\text{g.g}^{-1}$) e máximo para *Padina gymnospora* ($2,038 \pm 0,476 \mu\text{g.g}^{-1}$). Considerando a ingestão de 100 g de alga fresca por dia, uma porção de *Dictyopteris delicatula* não forneceria a IDR, enquanto a *Padina gymnospora* seria responsável por $1/4$ da quantidade recomendada.

Tabela 4. Conteúdo de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nas algas marinhas pertencentes à divisão Phaeophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.

Espécies de alga	β -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
<i>Dictyopteris delicatula</i>	$0,266 \pm 0,198$	$0,044 \pm 0,033$
<i>Dictyota dichotoma</i>	$4,721 \pm 1,748$	$0,787 \pm 0,291$
<i>Lobophora variegata</i>	$4,185 \pm 1,559$	$0,697 \pm 0,260$
<i>Padina gymnospora</i>	$12,230 \pm 2,859$	$2,038 \pm 0,476$
<i>Sargassum cymosum</i>	$6,651 \pm 1,275$	$1,109 \pm 0,213$

A fucoxantina ocorre em grandes quantidades na maioria das algas pardas fucóides e em espécies de *Laminaria* (HAUGAN, LIAAEN-JENSEN, 1994). Devido a enorme biomassa e ampla distribuição dessas algas no mundo todo, a fucoxantina é o principal carotenóide das algas marinhas (HAUGAN et al., 1995). Em *Padina pavonica*, HEGAZI et al. (1998) relataram a presença de fucoxantina, flavoxantina, diatoxantina, zeaxantina, violaxantina, fucoxantol e anteraxantina, sendo os quatro primeiros os mais abundantes.

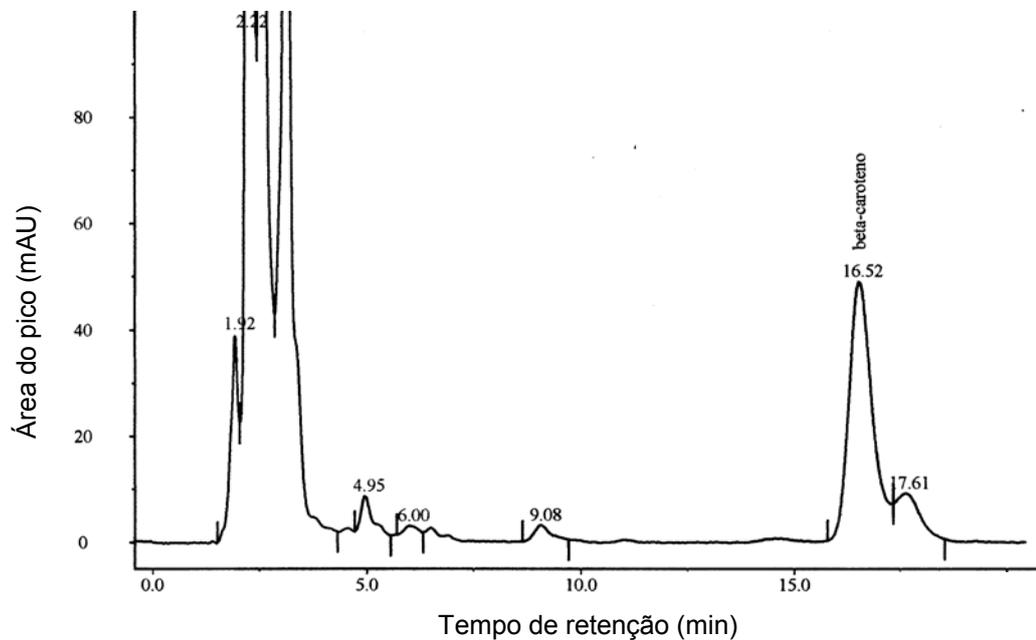


Figura 12. Cromatograma típico dos extratos das Phaeophyta, contendo β -caroteno, representadas pela *Padina gymnospora*.

A alga parda *Laminaria digitata* apresentou β -caroteno em níveis que permitiram classificá-la como uma fonte “útil” de vitamina A. Nenhuma das amostras mensais apresentou α -caroteno (SAKER-SAMPAIO, 1997).

Além de α -caroteno e β -caroteno nas algas verdes e vermelhas e de β -caroteno nas algas pardas estudadas neste trabalho, outros carotenóides mais polares, com eluição antes de 5 min, também foram observados. Embora,

eles não tenham sido identificados nem quantificados pelo fato de não apresentarem importância nutricional, é muito provável que entre eles estejam presentes zeaxantina e luteína. Apesar de não serem precursores de vitamina A, esses carotenóides podem ter efeitos benéficos atuando como antioxidantes no processo de envelhecimento e anticancerígenos (GOODWIN, 1986; DRISKO et al., 2003; STAHL, SIES, 2003). As pesquisas sobre carotenóides têm focalizado a ação desses compostos como potentes antioxidantes e seqüestradores de radicais livres, mas até recentemente o interesse dos pesquisadores limitava-se ao aspecto nutricional do β -caroteno como precursor de vitamina A (GRASSMAN et al., 2002).

Os carotenóides com atividade de vitamina A têm sido quantificados em muitos vegetais.

Os carotenóides encontrados em algas marinhas ocorrem em quantidades semelhantes àsquelas da maioria dos vegetais comestíveis. O teor de α -caroteno detectado na alga verde *Caulerpa prolifera* (Tabela 2) foi superior àquele encontrado na cenoura (HART, SCOTT, 1995; KONINGS, ROOMANS, 1997), conforme mostrado na Tabela 5. A quantidade de β -caroteno encontrada nas algas verdes *Ulva fasciata*, *Caulerpa prolifera* e *Cladophora prolifera* (Tabela 2) foi inferior à do agrião, brócolis, cenoura e salsa, mas superior à do alface, aspargo, couve-flor e muitas frutas (Tabela 5).

CAMPOS et al. (2003) não encontraram α -caroteno em nenhum dos vegetais analisados, mas β -caroteno foi detectado em todos eles, sendo que o teor máximo foi encontrado em agrião ($52,6 \pm 6,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) e o mínimo em alface ($12,6 \pm 1,3 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco). De um modo geral, os vegetais superiores são pobres em α -caroteno (SENGER 1993).

As algas verdes (Tabela 2) apresentaram quantidades de retinol equivalente (RE) semelhantes às encontradas em vegetais folhosos como brócolis, alface e agrião, que são considerados boas fontes de RE. A alga que apresentou o menor conteúdo de RE foi a *Caulerpa mexicana* e, mesmo assim, essa quantidade foi similar à encontrada no aspargo (Tabela 5).

Tabela 5. Conteúdo de carotenóides pró-vitamina A ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) em vegetais normalmente consumidos

Vegetais	α -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	β -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Agrião	-	33,9 - 52,6 ⁶	5,65 - 8,8 ⁶
Aipo	-	0 - 29,0 ³	0 - 4,8 ³
Alface	-	12,6 - 17,8 ⁶	2,1 - 3,0 ⁶
		9,8 - 14,5 ³	1,6 - 2,4 ³
		0,91 ⁴	0,15 ⁴
Aspargo	0 - 0,17 ³	3,17 - 5,81 ³	0 - 0,98 ³
Banana	0 - 0,12 ³	0 - 0,14 ³	0 - 0,03 ³
		19,1 - 26,2 ⁶	3,2 - 4,4 ⁶
Brócolis	0 - 0,73 ³	4,8 - 10,8 ³	0,8 - 1,9 ³
		8,0 ⁴	1,3 ⁴
Cebolinha	-	20,8 - 23,1 ⁶	3,5 - 3,8 ⁶
		5,3 - 85,0 ³	3,5 - 31,6 ³
Cenoura	20,0 - 59,0 ²	46,0 - 125,0 ²	9,4 - 25,7 ²
		48,7 ⁵	25,7 ⁵
		26,6 ⁴	16,6 ⁴
Couve-flor	-	0 - 4,3 ³	0 - 0,7 ³
Damasco	-	6,15 - 64,33 ³	1,0 - 10,7 ³
Espinafre	-	9,0 ⁵	1,5 ⁵
		40,21 ⁴	6,7 ⁴
Goiaba	-	4,35 - 11,9 ³	0,7 - 2,0 ³
Laranja	0 - 4,0 ³	0 - 0,5 ³	0 - 0,4 ³

Continuação...

Vegetais	α -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	β -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Maçã		0,12 – 0,39 ³	0,02 – 0,06 ³
Mamão	0 – 0,34 ³	0,38 – 1,60 ³	0,06 – 0,30 ³
Manga	-	0,23 – 37,0 ³ 2,98 ⁴	0,04 – 6,17 ³ 0,49 ⁴
Milho verde	0,6 ⁴	0,5 ⁵ 0,59 ⁴	0,08 ⁵ 0,14 ⁴
Pepino	0 – 0,009 ³	0 – 1,30 ³ 2,95 ⁴	0 – 0,22 ³ 0,49 ⁴
Pimentão verde	-	0,81 – 2,76 ³	0,13 – 0,46 ³
Repolho de Bruxelas	0 – 0,11 ³	3,4 – 11,0 ³	0,57 – 1,84 ³
Salsa	-	38,2 – 45,3 ⁶ 1,15 – 6,60 ³	6,4 – 7,55 ⁶ 0,19 – 1,10 ³
Tomate	-	3,77 ⁵ 4,39 ⁴ 1,22 ¹	0,63 ⁵ 0,73 ⁴ 0,20 ¹

1- ZAKARIA et al. (1979); 2- BUSHWAY; WILSON (1982); 3- MANGELS et al. (1993); 4- HART; SCOTT (1995); 5- KONINGS; ROOMANS (1997); 6-CAMPOS et al. (2003).

Embora as algas vermelhas, analisadas neste trabalho, tenham apresentado baixo conteúdo de α -caroteno e β -caroteno, estas quantidades são semelhantes a de muitos vegetais como pepino e pimentão verde (Tabela 5). O menor conteúdo de β -caroteno entre as algas vermelhas ocorreu em *Gracilaria caudata* (Tabela 3) e essa quantidade pode ser comparada à de algumas frutas como maçã e mamão (Tabela 5). A quantidade de β -caroteno registrado em *Bryothamnion triquetrum*, máximo entre as algas vermelhas, foi semelhante àquela encontrada em brócolis e couve-flor (Tabela 5).

A quantidade de retinol equivalente encontrada nas algas vermelhas (Tabela 3) foi superior à de algumas frutas como banana, laranja, maçã e mamão, mas semelhante à de vegetais como brócolis, couve-flor e tomate

(Tabela 5) (HART, SCOTT, 1995; KONINGS, ROOMANS, 1997; MANGELS et al., 1993).

AZEVEDO-MELEIRO, RODRIGUEZ-AMAYA (2004) confirmaram e identificaram carotenóides em frutas tropicais. Em acerola o carotenóide preponderante foi o β -caroteno, seguido de pequenas quantidades de luteína, violaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno e neoxantina. Na fruta amazônica da família Myrtaceae, conhecida popularmente como camu-camu ou araçá-d'água, a luteína foi o principal carotenóide, seguido de β -caroteno e zeaxantina. Os carotenóides encontrados em pequi e pitanga foram predominantemente, violaxantina e luteína, respectivamente.

O conteúdo de β -caroteno encontrado nas algas pardas foi semelhante ao teor encontrado no couve-flor e tomate, no entanto a espécie *Padina gymnospora* (Tabela 4) apresentou quantidade quatro vezes maior que o pimentão verde e o pepino, conforme apresentado na Tabela 5.

As algas pardas apresentaram quantidade de retinol equivalente (RE) semelhante ou superior a encontrada em tomate e repolho de Bruxelas (Tabela 5). O conteúdo máximo de RE encontrado no tomate correspondeu ao encontrado neste trabalho para a espécie *Sargassum cymosum*.

A determinação de carotenóides por HPLC foi observada em vegetais folhosos chineses por WILLS, RANGGA (1996). Interessantemente apenas quatro carotenóides presentes representaram 80% do total. A luteína foi o principal carotenóide encontrado, variando de 20 a 36% do total, enquanto o β -caroteno representou de 14 a 23% do total, ficando em segundo lugar. Em seguida, vieram violaxantina (4-23%), neoxantina (2-18%) e zeaxantina (5-11%).

A presença de carotenóides em vegetais (brócolis, couve, chicória e feijão verde) crus e submetidos ao calor foi descrita por SÁ, RODRIGUES-AMAYA (2003 e 2004). Os autores encontraram β -caroteno ($\mu\text{g/g}$) em brócolis cru ($15,6 \pm 3,42$), cozido ($12,9 \pm 2,56$) e frito ($16,4 \pm 2,78$); em couve cru ($37,3 \pm 7,96$) e frito ($50,2 \pm 9,86$); em chicória crua ($13,6 \pm 2,12$) e frita ($15,25 \pm 2,33$); e em feijão verde cru (1,1), cozido (1,8) e frito (1,9). As diferenças observadas na concentração de β -caroteno nos vegetais crus e cozidos devem-se as alterações que ocorrem durante o cozimento, incluindo variações de peso por ganho ou perda de água, perda de sólidos e absorção de gordura.

A composição de carotenóides em frutas e verduras normalmente consumidas tem sido bem estudada. BURNS et al. (2003) quantificou carotenóides em frutas e vegetais comumente consumidos como manga, alface, brócolis, pimentão vermelho, pimentão amarelo, pimentão verde, cenoura, nabo, batata-doce e tomate. Com exceção do nabo, todos apresentaram β -caroteno. No entanto, α -caroteno foi detectado apenas em pimentão vermelho e amarelo e em cenoura. A batata-doce apresentou a maior quantidade de carotenóides ($110,43 \pm 51,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco), enquanto a menor quantidade foi observada em brócolis ($1,2 \pm 0,2 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco). Os carotenóides encontrados em maior quantidade foram β -caroteno, luteína, violaxantina e, quando presente, o licopeno. Outros carotenóides, dentre os quais neoxantina, violaxantina, zeaxantina e a criptoxantina também foram encontrados.

As vitaminas lipossolúveis integram um grupo de substâncias orgânicas com estrutura variada, que são solúveis em solventes orgânicos e não exibem

valor energético, e que o organismo não é capaz de sintetizar ou o faz em quantidade insuficiente. Por esse motivo e por serem necessárias em quantidades mínimas, essas substâncias devem aportar no organismo através da ingestão dos alimentos.

Muitos carotenóides também são utilizados como corantes de alimentos ou de rações. Seu uso vem se generalizando tendo em vista sua inocuidade, facilidade de metabolização e garantia de reprodutibilidade de cor, além de serem efetivamente saudáveis (BRITTON, 1995).

A cor é um importante atributo sensorial, podendo ter efeito direto no preço de alimentos marinhos. Um exemplo típico consiste na relação entre preço de mercado e intensidade da coloração do salmão (METUSALACH et al., 1997). Nos animais, a concentração de carotenóides em determinados tecidos (pele, plumas, carapaça), além da proteção antioxidante, integra a complexa rede de sinais de comunicação envolvidos na atração, advertência e camuflagem (BRITTON, 1995).

4.2. α -Tocoferol

Os vegetais e os alimentos de origem vegetal normalmente contêm substâncias quimicamente relacionadas que exibem atividade de vitamina E, os tocoferóis e os tocotrienóis, em diferentes graus. O α -tocoferol é o mais potente e usado como referencial para estabelecer a atividade dos demais isômeros.

Alguns isômeros de α -tocoferol com atividade de vitamina E têm sido relatados em algas, sendo comum a presença de dois ou mais isômeros com atividades biológicas diferentes. Existem relativamente poucos trabalhos sobre

a quantidade de tocoferol em macroalgas marinhas da Europa (JENSEN, 1969a, 1969b e 1969c; SAKER-SAMPAIO, 1997; SÁNCHEZ-MACHADO et al., 2002), Ásia (JAYASREE et al., 1985; MIYASHITA, TAKAGI, 1987) e América do Norte (McDERMID, STUERCKE, 2003). De acordo com ITO, HORI (1989), as quantidades das vitaminas A (carotenóides), E, B₁₂ e C não são inferiores àquelas encontradas nos vegetais superiores.

Um cromatograma típico obtido para um padrão de 70 µg de α-tocoferol está mostrado na Figura 13, cujo tempo de retenção foi de 3,89 ± 0,10 min (n = 31). O tempo de retenção do α-tocoferol detectado nos extratos de alga foi de 3,89 ± 0,09 min (n = 23). Os tempos de retenção do α-tocoferol padrão e do composto presente nos extratos de alga eluído em aproximadamente 3,90 min não apresentaram diferença estatisticamente significativa (p ≥ 0,05).

Dentre as sete espécies de algas analisadas, pertencente a divisão Chlorophyta, apenas *Cladophora prolifera* não apresentou α-tocoferol. O teor mais elevado (383,047 ± 85,254 µg.g⁻¹ peso fresco) foi observado no extrato de *Caulerpa prolifera* e o mais baixo (15,650 ± 2,634 µg.g⁻¹ peso fresco) no de *Codium decorticatum* (Tabela 6). A Figura 14 ilustra um cromatograma típico dos extratos de uma clorófitcea contendo α-tocoferol.

Com relação ao tocoferol equivalente (TE), a ingestão diária de 100 g de *Caulerpa prolifera* fresca forneceria quase quatro vezes mais que a IDR, enquanto a mesma porção de *Codium decorticatum* seria responsável por apenas 1/6 da IDR.

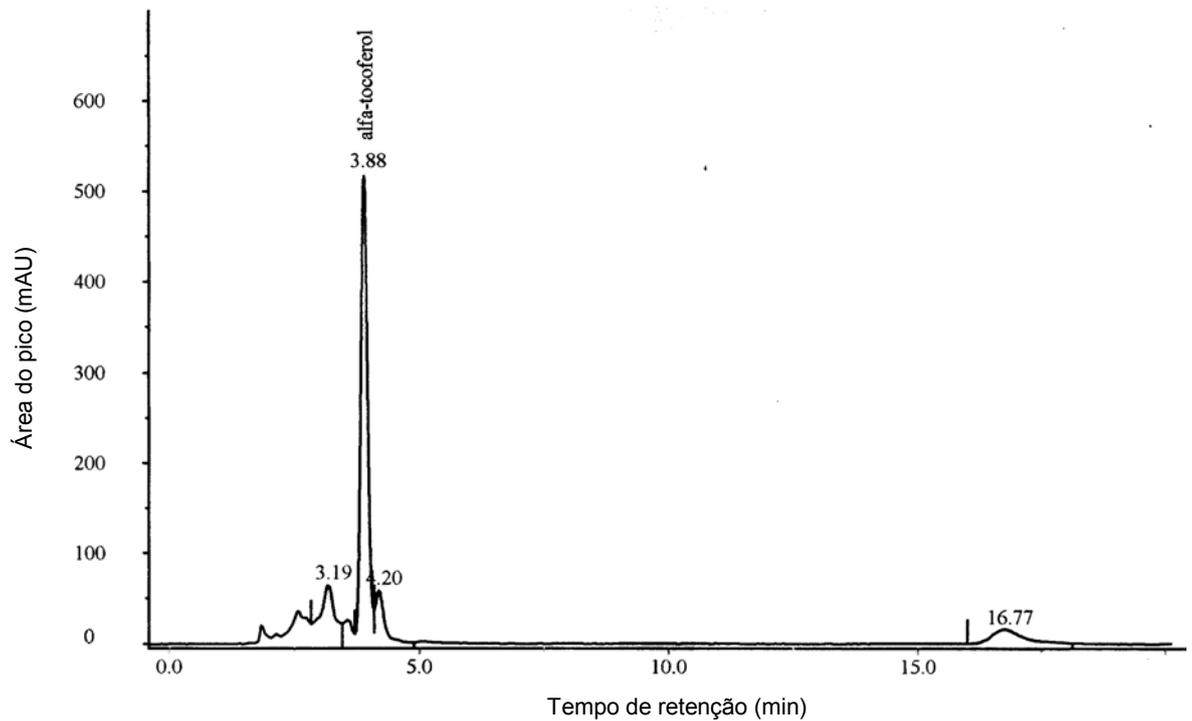


Figura 13. Cromatograma típico obtido para 70 μg de α -tocoferol na coluna submetido a saponificação e partição.

Tabela 6. Conteúdo de α -tocoferol nas algas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi-CE.

Espécies de alga	α -Tocoferol ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
<i>Caulerpa cupressoides</i>	224,177 \pm 35,051
<i>C. mexicana</i>	60,938 \pm 20,052
<i>C. prolifera</i>	383,047 \pm 85,254
<i>C. racemosa</i>	246,605 \pm 122,033
<i>Cladophora prolifera</i>	-
<i>Codium decortcatum</i>	15,650 \pm 2,634
<i>Ulva fasciata</i>	31,258 \pm 6,060

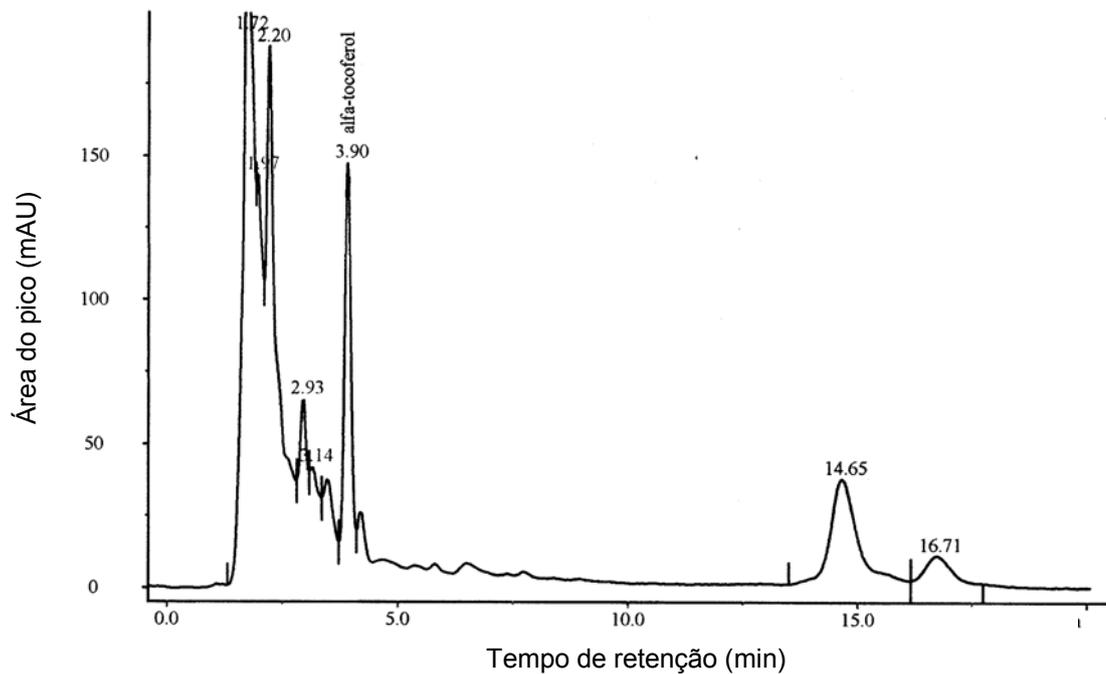


Figura 14 Cromatograma típico dos extratos das Chlorophyta, contendo α -tocoferol, representadas pela *Caulerpa prolifera*

Nas Rhodophyta estudadas, oito espécies (*Acantophora specifera*, *Botryocladia occidentalis*, *Corallina officinalis*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria* sp., *Hypnea cervicornis*, *H. musciformis* e *Solieria filiformis*) não apresentaram α -tocoferol. Nas outras doze espécies de algas vermelhas, o α -tocoferol foi identificado e seu conteúdo oscilou entre $4,809 \pm 1,058$ e $31,872 \pm 5,883 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco, em *Gracilaria ferox* e *Enantiocladia duperreyi*, respectivamente (Tabela 7).

Em relação ao tocoferol equivalente (TE), a ingestão diária de 100 g da alga *E. duperreyi* fresca forneceria cerca de $\frac{1}{3}$ da IDR, enquanto que a *G. ferox* forneceria uma quantidade muito menor, correspondente a $\frac{1}{20}$ da IDR. A Figura 15 ilustra um cromatograma típico dos extratos de uma rodofícea contendo α -tocoferol.

Tabela 7. Conteúdo α -tocoferol nas algas marinhas pertencentes à divisão Rhodophyta, coletadas na praia de Guajiru, Trairi-CE.

Espécies de Alga	α -Tocoferol ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
<i>Acantophora specifera</i>	-
<i>Acantophora sp.</i>	13,508 \pm 3,543
<i>Amansia multifida</i>	9,477 \pm 3,829
<i>Botryocladia occidentalis</i>	-
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	6,458 \pm 0,279
<i>B. triquetrum</i>	15,538 \pm 5,684
<i>Corallina officinalis</i>	-
<i>Cryptonemia crenulata</i>	25,896 \pm 7,348
<i>Enantiocladia duperreyi</i>	31,872 \pm 5,883
<i>Eucheuma sp.</i>	7,255 \pm 3,245
<i>Gracilaria birdaea</i>	15,383 \pm 1,371
<i>G. caudata</i>	-
<i>G. domingiensis</i>	5,654 \pm 2,777
<i>G. ferox</i>	4,809 \pm 1,058
<i>Gracilaria sp.</i>	-
<i>Hypnea cervicornis</i>	-
<i>H. musciformis</i>	-
<i>Osmundea obtusiloba</i>	6,229 \pm 1,730
<i>Pterocladia americana</i>	12,946 \pm 6,174
<i>Solieria filiformis</i>	-

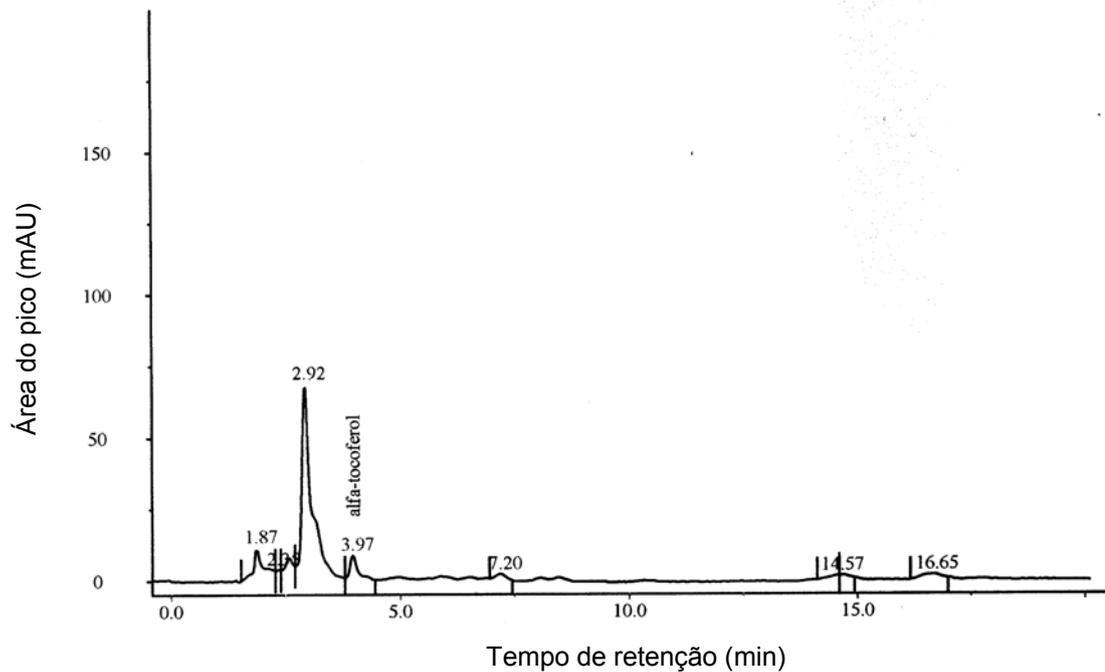


Figura 15. Cromatograma típico dos extratos das Rhodophyta, contendo α -tocoferol, representadas pela *Enantiocladia duperreyi*.

As cinco espécies de Phaeophyta analisadas apresentaram α -tocoferol, apresentando valor máximo de $42,817 \pm 31,012 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco em *Dictyota dichotoma* e mínimo de $4,722 \pm 2,062 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco em *Lobophora variegata* (Tabela 8). A. Figura 16 ilustra um cromatograma típico dos extratos de uma feofíceia com α -tocoferol.

Considerando a ingestão de 100 g de alga fresca por dia, uma porção de *Dictyota dichotoma* forneceria $1/2$ da IDR de tocoferol equivalente (TE), enquanto a *Lobophora variegata* seria responsável por aproximadamente $1/20$ da IDR, ou seja, dez vezes menos.

Tabela 8. Conteúdo de α -tocoferol nas algas marinhas pertencentes à divisão Phaeophyta, coletadas na Praia do Guajiru, Trairi-CE.

Espécies de alga	α -Tocoferol ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
<i>Dictyopteris delicatula</i>	26,562 \pm 3,627
<i>Dictyota dichotoma</i>	42,817 \pm 31,012
<i>Lobophora variegata</i>	4,722 \pm 2,062
<i>Padina gymnospora</i>	13,224 \pm 4,490
<i>Sargassum cymosum</i>	5,110 \pm 2,323

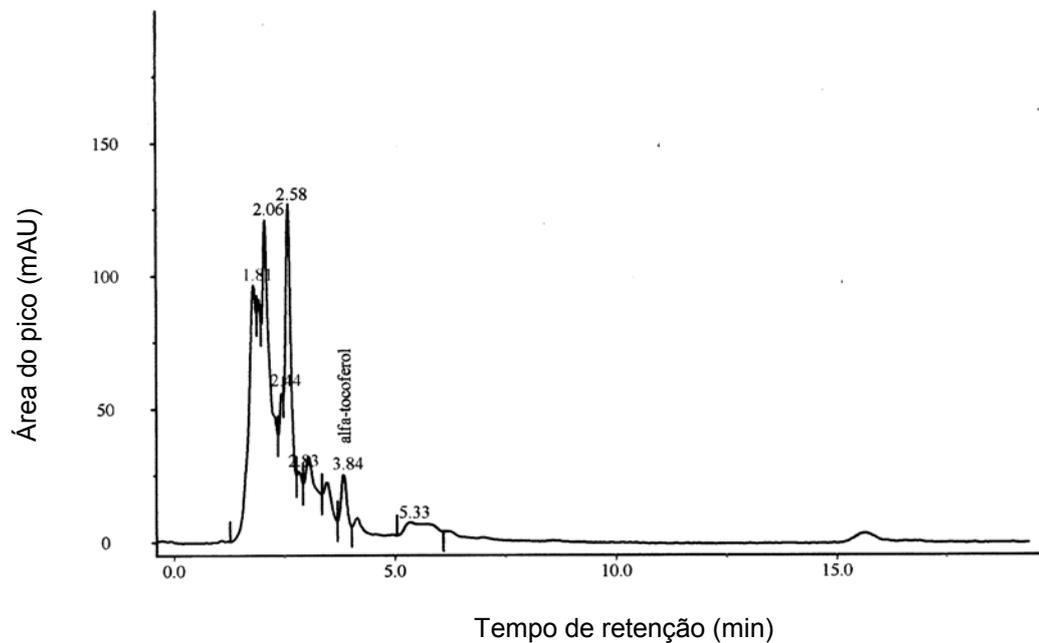


Figura 16. Cromatograma típico dos extratos das Phaeophyta, contendo α -tocoferol, representadas pela *Dictyota dichotoma*.

As algas pardas contêm níveis de vitamina E superiores aos encontrados nas algas verdes e vermelhas (BURTIN, 2003). Contrariamente ao reportado por esse autor, entre as algas analisadas neste trabalho, as verdes foram as que apresentaram maior teor de α -tocoferol, seguidas das pardas e vermelhas (Tabelas 6, 7 e 8).

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

Os homólogos α -, γ - e δ -tocoferol foram quantificados nas algas pardas (LETUTOUR et al., 1998). Dentre eles, o α -tocoferol foi predominante e seu teor foi várias vezes maior do que o encontrado por JENSEN (1969a, 1969b e 1969c). Em *Ascophyllum nodosum*, *Fucus serratus*, *F. vesiculosus*, *Laminaria digitata* e *Himanthalia elongata* os teores de α -tocoferol foram iguais a 3.420, 2.230, 4.300, 5 e 52 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, respectivamente.

As algas vermelha *Palmaria palmata* e parda *Laminaria digitata* apresentaram α -tocoferol em todos os meses do ano. Em *P. palmata*, a variação foi pequena ($0,6$ a $1,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) em onze meses, e apenas uma amostra, coletada em janeiro, exibiu um teor igual a $4,1 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco. O nível de α -tocoferol em *L. digitata* também foi relativamente consistente, oscilando de $0,6$ a $2,6 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco durante dez meses do ano. Valores

um pouco mais elevados foram registrados em agosto ($3,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) e em setembro ($4,4 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) (SAKER-SAMPAIO, 1997).

SÁNCHEZ-MACHADO et al. (2002) determinaram α -tocoferol por HPLC em três espécies de algas pardas: *Himanthalia elongata* enlatada e desidratada, *Laminaria ochroleuca* desidratada e *Saccorhiza polychides* enlatada. As algas *H. elongata* e *L. ochroleuca* desidratadas apresentaram conteúdo de α -tocoferol igual a $33,3 \pm 4,2$ e $8,9 \pm 2,1 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, respectivamente, enquanto as algas *H. elongata* e *S. polychides* enlatadas apresentaram quantidades inferiores e iguais a $12,0 \pm 2,0$ e $5,7 \pm 1,3 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, respectivamente.

O interesse em determinar os níveis de vitamina E nas microalgas usadas como alimento no cultivo de peixes e camarões tem crescido recentemente. Alguns pesquisadores têm testado diferentes condições de cultivo de microalgas para eleger as mais favoráveis à produção de α -tocoferol (BANDARRA et al., 2003; CARBALLO-CÁRDENAS et al., 2003; DONATO et al., 2003). Isso se deve ao fato de que o desenvolvimento e a saúde dos organismos cultivados devem ser assegurados. Entre outros aspectos que contribuem para o sucesso da aquicultura, o emprego de alimentos capazes de suprir os requerimentos energéticos e nutricionais (macronutrientes e micronutrientes) é de fundamental importância.

A Bacillariophyta do gênero *Chaetoceros* apresentou $163 \mu\text{g}$ α -tocoferol.g⁻¹ peso seco e $57 \mu\text{g}$ γ -tocoferol.g⁻¹ peso seco. As Chlorophyta *Tetraselmis* e *Dunaliella* exibiram 259 e $228 \mu\text{g}$ α -tocoferol.g⁻¹ peso seco e 21 e $35 \mu\text{g}$ γ -tocoferol.g⁻¹ peso seco, respectivamente (HUO et al., 1997).

Nas Chlorophyta, *Tetraselmis* sp. e *Stichococcus* sp., na Haptophyta *Pavlova pinguis* e na Chromophyta *Nannochloropsis* sp., as quantidades de α -tocoferol foram estimadas em 70, 160, 140 e de 180 a 350 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente (BROWN et al., 1999). Outra cianophyta, *Spirulina platensis*, apresentou uma quantidade de α -tocoferol (13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) inferior as supracitadas, e γ -tocoferol não foi detectado nas amostras (GOMEZ-CORONADO et al., 2004).

Os níveis de tocoferol na microalga Prymnesiophyta *Diacronema vlkianum* foram mais elevados quando comparados com alimentos convencionais conhecidos como ricos em vitamina E. Grandes quantidades de α -tocoferol foram detectadas na fase de declínio do cultivo dessa microalga (DONATO et al., 2003). Na Haptophyta, *Isochrysis galbana*, a biossíntese de α -tocoferol e outros esteróis está diretamente relacionada com a duração do fotoperíodo (BANDARRA et al., 2003).

O perfil de vitaminas nas algas marinhas varia de acordo com a espécie, estação do ano, estágio de desenvolvimento da planta e parâmetros ambientais. A maioria das algas vermelhas exhibe grandes quantidades de pró-vitamina A e quantidades significativas das vitaminas B₁ (tiamina) e B₂ (riboflavina). A vitamina B₁₂ (cobalamina) também é encontrada em rodofíceas como *Palmaria palmata* e *Porphyra tenera* e em algumas espécies de algas verdes (MABEAU, FLEURENCE, 1993). O elevado teor dessa vitamina em algas marinhas é especialmente importante, tendo em vista que ela não ocorre em vegetais terrestres (ITO, HORI, 1989). Entretanto, McDERMID, STUERCKE (2003) examinaram vinte e duas espécies de algas havaianas, nas quais tiamina, riboflavina, niacina e niacinamida foram raramente detectáveis.

O sistema HPLC usando fase reversa não é capaz de separar os isômeros β - e γ -tocoferol nem β - e γ -tocotrienol. Nesse sistema, a ordem de eluição é δ -tocotrienol, β - + γ -tocotrienol, α -tocotrienol, δ -tocoferol, β - + γ -tocoferol e α -tocoferol (SHEARER, 1987). Os cromatogramas dos extratos das algas estudadas (Figuras 14, 15 e 16) apresentaram outros picos, além do referente ao α -tocoferol, que não foram identificados.

O α -tocoferol tem sido quantificado em muitos vegetais, óleos e produtos alimentícios normalmente consumidos. As quantidades são variáveis, sendo mais elevadas em farelo de arroz, raiz de Zulooh, louro e óleo de girassol, e mais baixos em endro, manjerição e hortelã (Tabela 9).

As algas verdes *Caulerpa cupressoides*, *C. prolifera* e *C. racemosa* apresentaram valores semelhantes ou superiores a vários vegetais normalmente consumidos como alecrim, manjerona, salva, tomilho e alguns óleos como os de amendoim, milho e soja e no azeite de oliva (Tabela 9).

As algas vermelhas apresentaram o menor conteúdo de α -tocoferol dentre as divisões estudadas. Mesmo assim, a espécie *Enantiocladia duperreyi* apresentou um teor apenas ligeiramente inferior a alguns vegetais como endro, hortelã e manjerição (Tabela 9).

Entre as algas pardas, *Dictyota dichotoma* apresentou o maior conteúdo de α -tocoferol (Tabela 8). Esse teor é semelhante ao encontrado em endro e manjerição, mas inferior a outros vegetais e óleos (Tabela 9).

BURNS et al. (2003) quantificaram α -tocoferol em manga, alface, batata-doce, brócolis, cenoura, nabo, tomate, pimentão vermelho, amarelo e verde usando cromatografia líquida de alta eficiência. Dentre os vegetais analisados, apenas nabo e batata-doce não apresentaram α -tocoferol. O teor máximo foi

observado em pimentão vermelho e amarelo ($0,6 \pm 0,2 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco) e o teor mínimo em brócolis ($0,003 \pm 0,001 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco). Entretanto, o γ -tocoferol foi encontrado apenas em alface, brócolis, pimentão vermelho e tomate.

RYYNÄNEN et al. (2004) determinaram a quantidade dos diferentes tocoferóis presentes em dez variedades de centeio, tendo verificado que o α -tocoferol oscilou de 10,0 e 16,3 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco.

Tabela 9. Conteúdo de α -tocoferol ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco) em vegetais, óleos e produtos alimentícios normalmente consumidos.

Vegetais, Óleos e Produtos Alimentícios	α -Tocoferol ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco)
Alecrim	316,20 ²
Azeite de oliva	160,78 ¹
Coentro	76,00 ²
Endro	34,20 ²
Farelo de arroz	66.000 – 74.400 ⁴
Hortelã	49,20 ²
Louro	1.322,00 ²
Manjerição	40,50 ²
Manjerona	323,40 ²
Óleo de amendoim	100,16 ¹
Óleo de girassol	591,25 ¹
Óleo de milho	203,78 ¹
Óleo de soja	153,43 ¹
Orégano	79,40 ²
Raiz de Zalloh (<i>Ferula hermonis</i>)	5.000,00 ³
Salsa	51,40 ²
Salva	264,80 ²
Tomilho	206,10 ²

1- GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, SIKORSKA (2004); 2- GÓMEZ-CORONADO et al. (2004); 3- AOUN et al. (2005); 4- CHEN, BERGMAN (2005);

5. CONCLUSÕES

Os extratos de todas as algas verdes analisadas neste trabalho apresentaram α -caroteno e β -caroteno.

Na divisão Chlorophyta, a quantidade de α -caroteno foi maior em *Caulerpa prolifera* e menor em *Codium decorticatum*, enquanto a quantidade de β -caroteno foi máxima em *Ulva fasciata* e mínima em *Caulerpa mexicana*.

Dentre as Rhodophyta estudadas, nove espécies (*Acantophora specifera*, *Acantophora* sp., *Bryothamnion seaforthii*, *Corallina officinalis*, *Gracilaria birdiae*, *G. caudata*, *G. domingiensis*, *G. ferox* e *Gracilaria* sp.) não apresentaram α -caroteno. Nas outras onze espécies de algas vermelhas, o teor de α -caroteno foi menor em *Solieria filiformis* e maior em *Botryocladia occidentalis*. β -Caroteno foi encontrado em todas as espécies de algas vermelhas estudadas, com valor máximo em *Bryothamnion seaforthii* e mínimo em *Gracilaria caudata*.

Todas as espécies de Phaeophyta estudadas neste trabalho apresentaram β -caroteno, mas não α -caroteno. Os conteúdos mínimo e máximo foram encontrados em *Dictyopteris delicatula* e *Padina gymnospora*, respectivamente.

Em relação ao α -tocoferol, dentre as sete espécies de algas pertencentes a divisão Chlorophyta, apenas *Cladophora prolifera* não apresentou α -tocoferol.

O teor de α -tocoferol mais elevado foi observado em *Caulerpa prolifera* e o mais baixo em *Codium decorticatum*.

Nas Rhodophyta estudadas, oito espécies (*Acantophora specifera*, *Botryocladia occidentalis*, *Corallina officinalis*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria* sp., *Hypnea cervicornis*, *H. musciformis* e *Solieria filiformis*) não apresentaram α -tocoferol. Nas outras doze espécies, α -tocoferol foi identificado e seu conteúdo foi maior em *Gracilaria ferox* e menor em *Enantiocladia duperreyi*.

As cinco espécies de Phaeophyta analisadas apresentaram α -tocoferol, apresentando valor máximo em *Dictyota dichotoma* e mínimo em *Lobophora variegata*.

Dentre as algas verdes estudadas neste trabalho as algas *Caulerpa prolifera*, *C. racemosa* e *Ulva fasciata* apresentaram retinol equivalente em níveis que permitiram classificá-las como uma fonte “excelente” de vitamina A. Já as algas *Caulerpa cupressoides*, *Cladophora prolifera* e *Codium decorticatum* apresentaram retinol equivalente em níveis que permitiram classificá-las como uma fonte “útil” de vitamina A.

As algas vermelhas estudadas neste trabalho, não podem ser consideradas como fontes “excelentes” (alimentos que fornecem pelo menos $\frac{1}{2}$ da ingestão diária recomendada – IDR) ou “úteis” (aqueles que fornecem pelo menos $\frac{1}{6}$ da IDR) de vitamina A.

Dentre as algas pardas estudadas neste trabalho apenas *Padina gymnospora* apresentou retinol equivalente em níveis que permitiram classificá-la como uma fonte “útil” de vitamina A.

Dentre as algas verdes apresentadas neste trabalho, as algas pertencentes ao gênero *Caulerpa* apresentaram níveis de tocoferol equivalente que permitiram classificá-las como fonte “excelente” de vitamina E. Já as algas *Codium decorticatum* e *Ulva fasciata* apresentaram tocoferol equivalente em níveis que permitiram classificá-las como fonte útil de vitamina E.

Dentre as algas vermelhas estudadas, as algas *Cryptonemia crenulata* e *Enantiocladia duperreyi* apresentaram tocoferol equivalente em níveis que permitiram classificá-las como fonte “útil” de vitamina E.

Dentre as algas pardas estudadas, as algas *Dictyopteris delicatula* e *Dictyota dichotoma* apresentaram tocoferol equivalente em níveis que permitiram classificá-las como fonte “útil” de vitamina E.

O método cromatográfico desenvolvido no presente trabalho foi adequado para a identificação simultânea de α -caroteno, β -caroteno e α -tocoferol.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

AOUN, E.; RIMA, J.; CHIDIAC, G.; HANNA, K. High-performance liquid chromatographic and spectrofluorometric determination of α -tocopherol in a natural plant: *Ferula hermonis* (Zaloooh root). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.18, p.607-615, 2005.

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

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

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

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

BANDARRA, N.M.; PEREIRA, P.A.; BATISTA, I.; VILELA, M.H. Fatty acids, sterols and α -tocoferol in *Isochrysis galbana*. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.10, n.1, p.25-34, Apr 2003.

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.

BAUERNFEIND, J.C. Carotenoid vitamin-A precursors and analogs in foods and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.20, n.3, p.456-473, May 1972.

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

BJORNLAND, T.; AGUILAR-MARTINEZ, M. Carotenoids in red algae. **Phytochemistry**, Oxford, v.15, n.2, p.291-296, 1976.

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

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

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

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

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

BRITTON, G. LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. Carotenoids today and challenges for the future. In: _____ **Carotenoids: isolation and analysis**. Switzerland: Birkhauser Verlag., 1995. vol.1A, chapter 2, p.13-26.

BROWN, F. The occurrence of delta-tocopherol in seaweed. **Chemistry & Industry**, London, n.8, p.174, 1953.

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

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

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

BUSHWAY, R.J.; WILSON, A.M. Determination of α - and β -carotene in fruit and vegetables by high performance liquid chromatography. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, Ottawa, v.15, n.3, p.165-169, 1982.

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

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**, cidade, v.6, n.2, p.163-169, jul/dez 2003.

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

CHEN, M.H.; BERGMAN, C.J. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.18, n.4, p.319-331, Jun 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.

DONATO, M.; VILELA, M.H.; BANDARRA, N.M. Fatty acids, sterols, α -tocopherol and total carotenoids composition of *Diacronema vlkianum*. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.10, n.4, p.267-276, Nov 2003.

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.

FARIAS, W.R.L.; VALENTE, A.P.; PEREIRA, M.S.; MOURÃO, P.A.S. Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans - Isolation of a unique sulfated galactan from the red algae *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans from invertebrates. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.275, n.38, p.29299-29307, Sep 2000.

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

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

GALLAND-IRMOULI, A.V.; FLEURENCE, J.; LAMGHARI, R.; LUCON, M.; ROUXEL, C.; BARBAROUX, O.; BRONOWICKI, J.P.; VILLAUME, C.; GUEANT, 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.

GIMENO, E.; CALERO, E.; CASTELLOTE, A.I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M.; TORRE, M.C.; LÓPEZ-SABATER, M.C. Simultaneous determination of α -

tocopherol and β -carotene in olive oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.881, n.1-2, p.255-259, Jun 2000.

GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A.; SIKORSKA, E. Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1048, n.2, p.195-198, Sep 2004.

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

GOODWIN, T.W. Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.6, p.273-297, 1986.

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.

GUDIÉL-URBANO, M.; GOŃI, I. Effect of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats. **Nutrition Research**, Oxford, v.22, n.3, p.323-331, Mar 2002.

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. 18-822, 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.

HAVAUX, M. carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.3, n.4, p.147-151, Apr 1998.

HAUGAN, J.A.; AAKERMAN, T.; LIAAEN-JENSEN, S. Example 2: macroalgae and microalgae. In: BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. **Carotenoids: isolation and analysis**. Switzerland: Birkhauser Verlag, 1995. vol. 1A, chapter 7, p. 215-226.

HAUGAN, J.A.; LIAAEN-JESEN, 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.

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

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

HUO, J.Z.; NELIS, H.J.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P.; DE LEENHEER, A. Determination of E vitamers in microalgae using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.782, n.1, p.63-68, Oct 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 uses. **Food Reviews International**, New York, v.5, n.1, p.101-144, 1989.

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

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

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

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

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

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.

KONINGS, E.J.M.; ROOMANS, H.H.S. Evaluation and validation of an LC method for the analysis of carotenoids in vegetables and fruit. **Food Chemistry**, Oxford, v.59, n.4, p.599-603, Aug 1997.

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

KRINSKY, N.I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, New York, v.17, n.10, p.815-817, Oct 2001.

KWIATKOWSKA, J. Nomenclature of tocopherols and related compounds. **Postepy Biochemii**, Warsaw, v.34, n.4, p. 461-465, 1988.

LE TOUTOUR, 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.

LI, H.B.; CHEN, F. Preparative isolation and purification of astaxanthin from the microalga *Chlorococcum* sp. by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.925, n.1-2, p.133-137, Aug 2001.

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.

LIAAEN-JENSEN, S.; RENSTROM, B.; RAMDAHL, T.; HALLENSTVET, M.; BERGQUIST, P. Carotenoids of marine sponges. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v.10, n.2, p.167-174, 1982.

LIMA, H.C.; COSTA, F.H.F.; SAMPAIO, A.H.; NEVES, S.A.; BENEVIDES, N.M.B.; TEIXEIRA, D.I.A.; ROGERS, D.J.; FREITAS, A.L.P. Induction and inhibition of human lymphocyte transformation by the lectin from the red marine alga *Amansia multifida*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.10, n.2, p.153-162, 1998.

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

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 Science & Technology**, Oxford, v.4, n.4, p.103-107, Apr 1993.

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

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

MANGELS, A.R.; HOLDEN, J.M.; BEECHER, G.R.; FORMAN, M.R. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytical data. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v.93, n.3, p.284-296, Mar 1993.

MATHEWS, C.K.; VAN HOLDE, K.E. Lipid metabolism II: Membrane lipids, steroids, isoprenoids, and eicosanoids. In: _____ **Biochemistry**. 2. ed. Menlo Park CA: The Benjamin/Cummings Publishing Co. 1995. p. 659-697.

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.

METUSALACH, BROWN, J.A.; SHAHIDI, F. Effects of stocking density on colour characteristics and deposition of carotenoids in cultured Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). **Food Chemistry**, Oxford, v. 59, n. 1, p. 107-114, May 1997.

MICHEL, C.; LAHAYE M.; BONNET C.; MABEAU S.; BARRY, JL. In vitro fermentation by human faecal bacterial of total and purified dietary fibres from brown seaweeds. **British Journal of Nutrition**, New York, v.75, n.2, p.263-280, Feb 1996.

MIKI, W. Biological functions and activities of animal carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v.63, n.1, p.141-146, Jan 1991.

MIKI, W.; OTAKI, N.; YOKOYAMA, A.; KUSUMI, T. Possible origin of zeaxanthin in the marine sponge, *Reniera japonica*. **Experientia**, Basel, v.52, n.1, p. 93-96, Jan 1996.

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.

MONTENEGRO, M.A.; NAZARENO, M.A.; DURANTINI, E.N.; BORSARELLI, C.D. Singlet molecular oxygen quenching ability of carotenoids in a reverse-micelle membrane mimetic system. **Photochemistry and Photobiology**, Augusta, v.75, n.4, p.353-361, Apr 2002.

MUNNE-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.

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

OLSON, J.A. Provitamin-A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin-A. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.119, n.1, p.105-108 Jan 1989.

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

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. chapter 16, p.287-307.

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.; 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.

PETO, R.; DOLL, R.; BUCKLEY, J.D.; SPORN, M.B. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? **Nature**, London, v. 290, n.5803, p.201-208, Mar 1981.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. Protista II: Algas vermelhas, pardas e verdes. In: _____. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap. 14, p. 248-275.

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.

ROCCHI, E.; CASALGRANDI, G.; RONZONI, A.; ROSA, M.C.; CIONI, G.; MARAZZI, A.; MANENTI, A.; MARCHINI, S.; VENTURA, E. Antioxidant liposoluble vitamins and carotenoids in chronic hepatitis. **European Journal of Internal Medicine**, v.12, n.2, p. 116-121, Apr 2001.

ROJAS-HIDALGO, E.; OLMEDILLA, B. Carotenoids. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v.63, n.4, p.265-269, 1993.

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

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

ROWAN, K.S. The carotenoids. In: _____ **Photosynthetic pigments of algae**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. chapter 4, p. 112-165.

RYYNANEN, M.; LAMPI, A.M.; SALO-VAANANEN, P.; OLLILAINEN, V.; PIIRONEN, V. A small-scale sample preparation method with HPLC analysis for determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. **Journal of Food Composition and Analysis**, Diego, v.17, n.6, p.749-765, Dec 2004.

RUPÉREZ, P. Mineral content of edible marine seaweeds. **Food Chemistry**, Oxon, v.79, n.1, p.23-26, Oct 2002.

SÁ, M.C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. **Food Chemistry**, Oxford, v.83, n.4, p.595-600, Dec 2003.

SÁ, M.C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Optimization of HPL quantification of carotenoids in cooked green vegetables: comparison of analytical and calculated data. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.17, n.1, p.37-51, Feb 2004.

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.

SANDMANN, G. Carotenoid biosynthesis in microorganisms and plants. **European Journal of Biochemistry**, New York, v.223, n.1, p.7-24, Jul 1994.

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

SEMBA, R.D.; DAGNELIE, G. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health? **Medical Hypotheses**, Maryland, v.1, n.4, p.465–472, Oct 2003.

SENGER, H.; WAGNER, C.; HERMSMEIER, D.; HOHL, N.; URBIG, T.; BISHOP, N.I. The influence of light intensity and wavelength on the contents of α - and β -carotene and their xanthophylls in green algae. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v.18, n.2-3, p.273-279, May 1993.

SHEARER, M.J. Vitamins. In: LIM, C.K. **HPLC of small molecules: A practical approach**. Washington, Oxford: IRL Press, 1987. chapter 8, p. 157-219.

SHIMIDZU, N.; GOTO, M.; MIKI, W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. **Fisheries Science**, Tokyo, v.62, n.1, p.134-137, Feb 1996.

SLATTERY, M.L.; BENSON, J.; CURTIN, K.; MA, K.N.; SCHAEFFER, D.; POTTER, J.D. Carotenoids and colon cancer. **American Journal for Clinical Nutrition**, Bethesda, v.71, p.575-582, Feb 2000.

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.

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

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

TSUCHIHASHI, H.; KIGOSHI, N.; IWATSUKI, M.; NIKI, E. Action of beta-carotene as an antioxidant against lipid-peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v.323, n.1, p.137-147, Oct 1995.

TEE, E.S.; LIM, C.L. Carotenoid composition and content of Malaysian vegetables and fruits by the AOAC AND HPLC methods. **Food Chemistry**, Oxford, v.41, n.3, p.309-339, 1991.

VISHNEVETSKY, M.; OVADIS, M.; VAINSTEIN, A. carotenoid sequestration in plants: the role of carotenoid-associated proteins. **Trends in Plant Science**, London, v.4, n.6, p.232-235, Jun 1999.

WAN, P.J.; ZHANG, F.; HRON, R.J. Extraction, composition, and stability of pigments from crawfish shell waste. In: _____ **Nutr. Util. Technology Aquaculture**, New Orleans, 1995. chapter 19, p.255-277.

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

WILLS, R.B.H.; RANGGA, A. Determination of carotenoids in Chinese vegetables. **Food Chemistry**, Oxford, v.56, n.4, p.451-455, Aug 1996.

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.

ZAKARIA, M.; SIMPSON, K.; KRSTULOVIC, A. Use of reversed-phase high-performance liquid chromatography analysis for the determination of provitamin A carotenes in tomatoes. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.176, n.1, p.109-117, 1979.