



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

**VARIAÇÃO SAZONAL DE CAROTENÓIDES PROVITAMINA A ( $\alpha$ - E  
 $\beta$ -CAROTENO) E VITAMINA E ( $\alpha$ - E  $\delta$ -TOCOFEROL) EM DUAS ESPÉCIES  
DE MACROALGAS MARINHAS PERTENCENTES AO GÊNERO  
*Cryptonemia***

**RÔMULO MALTA NASCIMENTO**

**FORTALEZA-CEARÁ-BRASIL  
SETEMBRO / 2009**

**VARIAÇÃO SAZONAL DE CAROTENÓIDES PROVITAMINA A ( $\alpha$ - E  $\beta$ -CAROTENO) E VITAMINA E ( $\alpha$ - E  $\delta$ -TOCOFEROL) EM DUAS ESPÉCIES DE MACROALGAS MARINHAS PERTENCENTES AO GÊNERO *Cryptonemia***

**RÔMULO MALTA NASCIMENTO**

**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  
SETEMBRO / 2009**

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.

---

Rômulo Malta Nascimento

DISSERTAÇÃO APROVADA EM \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Prof<sup>ª</sup> Silvana Saker Sampaio, Ph.D.  
Orientadora da Dissertação  
Presidente

---

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

---

Prof. Francisco Arnaldo Viana, D.Sc.  
Conselheiro

À minha família pelo apoio  
incondicional ao longo da minha  
vida acadêmica.

Dedico este trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvana Saker Sampaio pela amizade, dedicação, profissionalismo e excelente orientação.

Aos professores Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias, do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, e Dr. Francisco Arnaldo Viana, do Departamento de Química da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, pelas valiosas contribuições.

Aos Engenheiros de Pesca Alessandra Cristina da Silva, Daniel Barroso Alencar e Kelma Maria dos Santos Pires Cavalcante e a Bióloga Márcia Barbosa de Sousa, pela ajuda fundamental na produção deste trabalho.

Aos Engenheiros de Pesca Filipe Oliveira Nepomuceno, Jefferson Pablo de Sousa Sabóia e Jonas Guarany Santiago pelo incentivo e ajuda durante a execução dos trabalhos em laboratório.

A Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa – FUNCAP e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por terem me concedido bolsas de pesquisa durante todo o meu curso de mestrado.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	Página vii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	ix
<b>RESUMO</b>	x
<b>ABSTRACT</b>	xi
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	5
2.1 Macroalgas marinhas	5
2.2 Carotenóides	8
2.2.1 Ocorrência e Fontes alimentares	11
2.2.2 Carotenóides provitamina A	13
2.2.3 Funções e Atividade biológica dos carotenóides	15
2.2.4 Deficiência em vitamina A	18
2.2.5 Ingestão Diária Recomendada (IDR)	18
2.3 Vitamina E	19
2.3.1 Ocorrência e Fontes alimentares	20
2.3.2 Funções e Atividade biológica da vitamina E	22
2.3.3 Deficiência de vitamina E	24
2.3.4 Ingestão Diária Recomendada	25
2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	26
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	28
3.1. Coleta das algas e Tratamento das amostras	28
3.2 Reagentes e padrões	28
3.3 Preparação dos extratos de algas	29
3.4 Soluções de $\beta$ -caroteno e de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol	30
3.5 Condições cromatográficas	31
3.6 Cálculo dos teores de $\alpha$ - e $\beta$ -caroteno e de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol	31
3.7 Análises estatísticas	32
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	34
4.1 Curvas padrão de $\beta$ -caroteno e de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol	34
4.2 Carotenóides provitamina A	36
4.3 Vitamina E	46
4.4 Análise de agrupamento	57
<b>5 CONCLUSÕES</b>	60
<b>6 REFERÊNCIAS</b>	62

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Estruturas químicas de alguns pigmentos carotenóides (ROWAN, 1989).	10
Figura 2 - Estruturas químicas de tocoferóis e tocotrienóis (ZINGG, 2007).	20
Figura 3 - Curva padrão do $\beta$ -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.	34
Figura 4 - Curva padrão do $\alpha$ -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.	35
Figura 5 - Curva padrão do $\delta$ -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.	35
Figura 6 - Teores de $\alpha$ -caroteno em <i>Cryptonemia luxurians</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	38
Figura 7 - Teores de $\beta$ -caroteno em <i>Cryptonemia luxurians</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	39
Figura 8 - Teores de $\alpha$ -caroteno em <i>Cryptonemia crenulata</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	39
Figura 9 - Teores de $\beta$ -caroteno em <i>Cryptonemia crenulata</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	40
Figura 10 - Teores de $\alpha$ -tocoferol em <i>Cryptonemia luxurians</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	48
Figura 11 - Teores de $\delta$ -tocoferol em <i>Cryptonemia luxurians</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	48
Figura 12 - Teores de $\alpha$ -tocoferol em <i>Cryptonemia crenulata</i> coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.	49

- Figura 13 - Teores de  $\delta$ -tocoferol em *Cryptonemia crenulata* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas. 50
- Figura 14 - Dendograma para análise hierárquica de agrupamentos das estações do ano pelo método de Ward e agrupamento das espécies de macroalgas pertencentes ao gênero *Cryptonemia* utilizando a análise de agrupamento do tipo k médias. 58

**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela 1 - Teores de $\alpha$ - e $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) por mês e por estação do ano, nas espécies do gênero <i>Cryptonemia</i> coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007, e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas.	37
Tabela 2 - Teores de retinol equivalente e porções para que as espécies de <i>Cryptonemia</i> coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas, sejam consideradas fonte excelente ou útil.	45
Tabela 3 - Teores de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) por mês e por estação do ano, nas espécies do gênero <i>Cryptonemia</i> coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007, e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas.	47
Tabela 4 - Teores de tocoferol equivalente e porções para que as espécies de <i>Cryptonemia</i> coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas, sejam consideradas fonte excelente ou útil.	56

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi investigar a existência de variação sazonal nos conteúdos de carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) e vitamina E ( $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol) em duas espécies de macroalgas marinhas vermelhas, *Cryptonemia luxurians* e *C. crenulata*. As algas foram coletadas mensalmente de janeiro a dezembro de 2007, durante as marés baixas na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará. Em laboratório as algas foram desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas. O material desidratado foi triturado até a obtenção de um pó fino e, em seguida, submetido aos procedimentos de extração com metanol, saponificação com hidróxido de potássio e partição em *n*-hexano. Para a análise simultânea de carotenóides e tocoferóis, por cromatografia líquida de alta eficiência, uma coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS-2 (4,6 x 250 mm) e fase móvel de MeOH: THF (95:5, v/v), com fluxo de 1,5 mL min<sup>-1</sup> foram utilizadas, com detecção em 450 nm e 292 nm, respectivamente. Em ambas as espécies pertencentes ao gênero *Cryptonemia* foram detectados  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno ao longo dos meses de coleta. De uma maneira geral, as duas espécies apresentaram maiores teores de  $\beta$ -caroteno que  $\alpha$ -caroteno. Apesar de as macroalgas analisadas pertencerem ao mesmo gênero, foi possível verificar uma variação nos teores de carotenóides provitamina A ao longo do ano entre as espécies. *C. luxurians* pode ser eleita como melhor fonte de vitamina A que *C. crenulata*. Dentre os isômeros da vitamina E,  $\alpha$ -tocoferol apresentou as maiores concentrações. *C. luxurians* exibiu os maiores teores de ambos os tocoferóis. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, as macroalgas marinhas *C. luxurians* e *C. crenulata* desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas possivelmente são melhores fontes de vitamina E do que de vitamina A. Para avaliar o comportamento sazonal dos teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol, foi utilizada a análise de agrupamentos. A partir dessa análise constatou-se que os teores de tocoferóis apresentaram variação mais proeminente, tanto entre as estações do ano como entre as espécies, quando comparados com os carotenóides provitamina A, os quais demonstraram maior estabilidade nos teores por espécie e por estação do ano. Entretanto, somente a partir de estudos posteriores será possível determinar quais fatores e sua influência na variação dos teores de carotenóides provitamina A e vitamina E das espécies analisadas.

## ABSTRACT

The objective of this research project was to investigate the existence of seasonal variation of both provitamin A carotenoids ( $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene) and vitamin E ( $\alpha$ - and  $\delta$ -tocopherol) in two species of red marine macroalgae, *Cryptonemia luxurians* and *C. crenulata*. The alga samples were collected monthly from January to December of 2007, during the low tides of Pacheco Beach, Caucaia, Ceará. The alga samples were dehydrated at 40°C for 15 h. The dried alga material was crushed into a fine powder and then submitted into the procedures of extraction with methanol, saponification with potassium hydroxide and partition with *n*-hexane. For simultaneous analyses of carotenoids and tocopherols the HPLC system consisted of a Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS-2 (4.6 x 250 mm) column and a mobile phase of MeOH: THF (95:5, v/v), delivered at 1.5 mL min<sup>-1</sup>, with detection at 450 nm and 292 nm, respectively. In both species belonging to the genre *Cryptonemia* were detected  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene throughout all the sampling months. In general, both species contained larger concentrations of  $\beta$ -carotene than  $\alpha$ -carotene. Despite the macroalgae analyzed belonged to the same genre, it was possible to verify a variation in the concentrations of provitamin A carotenoids throughout the year. *C. luxurians* was elected as a better source of vitamin A than *C. crenulata*. Among the isomers of vitamin E,  $\alpha$ -tocopherol showed the higher concentrations. *C. luxurians* showed the highest levels of both tocopherols. According to these results, *C. luxurians* and *C. crenulata* oven-dried at 40°C for 15 h are possibly better sources of vitamin E than vitamin A. To verify the seasonal behavior of the concentrations of provitamin A carotenoids and vitamin E, grouping analysis was utilized. Based upon the results of this analysis it was established that tocopherol concentrations showed a more substantiated variation in the macroalgae within the seasons of the year as well as among the two species. On the other hand, the provitamin A carotenoids, exhibited more stable concentrations considering the species and the seasons. Nevertheless, only with subsequent studies it will be possible to determine the factors and its influence on the variation of provitamin A carotenoids and vitamin E contents of the analyzed species.

## 1 INTRODUÇÃO

As algas são organismos fotossintéticos de grande diversidade de formatos e tamanhos, abrangendo desde pequenas formas unicelulares (microalgas) a espécies multicelulares de dimensões maiores conhecidas como macroalgas (RAVEN, EVERT; EICHHORN, 2001). Além da grande importância ecológica, esses organismos pertencentes a uma imensa variedade de nichos ecológicos, apresentam relevante valor nutricional tanto para os seres humanos como para várias espécies de organismos aquáticos cultivados (ITO; HORI, 1989; McHUGH, 2003), sendo considerados importantes fontes de vitaminas, fibras, minerais e proteínas, além de produzirem vários compostos amplamente utilizados como matéria-prima nas indústrias alimentícia, farmacêutica, têxtil e cosmética (CHANDINI; GANESAN; BHASKAR, 2008; LEE et al., 2008).

Ao longo das últimas décadas, a comunidade científica tem demonstrado atenção crescente pelo estudo das algas marinhas como fonte de compostos benéficos à saúde humana (ITO; HORI, 1989; JENSEN, 1993; SAKER-SAMPAIO, 1997; BURTIN, 2003; MACIEL DA SILVA, 2003; PIRES et al., 2008; SOUSA et al., 2008). Dentre os inúmeros compostos de interesse presentes nestes organismos, destacam-se ácidos graxos, vitaminas hidrossolúveis, pigmentos carotenóides e diferentes isômeros da vitamina E (JENSEN, 1969; MYASHITA; TAKAGI, 1987; HAUGAN; LIAAEN-JENSEN, 1994; BURTIN, 2003; CHANDINI; GANESAN; BHASKAR, 2008).

Os carotenóides, amplamente distribuídos entre vegetais, animais e micro-organismos, compreendem a maior classe de pigmentos naturais responsáveis pela grande variedade de cores na natureza (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPES, 2000; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Apresentam grande diversidade estrutural e funcional, sendo utilizados principalmente como corantes e agentes antioxidante nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e de rações para nutrição animal (SZE, 1997; SQUINA; MERCADANTE, 2003; BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 2008). Estima-se que na natureza sejam produzidas mais de 100 milhões de toneladas de carotenóides por ano, a maior parte, na forma de fucoxantina, presente em algas marinhas pardas (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004; HOSAKAWA et al., 2006).

O crescente interesse pelo estudo desses pigmentos tem sido atribuído aos efeitos benéficos à saúde humana; através da comprovada atividade provitamínica A de alguns destes compostos, principalmente o  $\beta$ -caroteno, e pela evidência de propriedades antioxidantes no tratamento e/ou prevenção de diversos tipos de câncer, doenças degenerativas, cardiovasculares e oftalmológicas (OLSON; KRINSKY, 1995; RONCADA, 2000; BARROS et al., 2008; BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 2008).

A vitamina E compreende dois grupos de substâncias biologicamente ativas, os tocoferóis e os tocotrienóis, sintetizadas exclusivamente por organismos fotossintetizantes e micro-organismos (TRABER; ATKINSON, 2007; BRIGELIUS-FLOHÉ, 2009). Nas algas, estes compostos apresentam distribuição diferenciada, sendo encontrados em maior quantidade

principalmente nas algas pardas (JENSEN, 1969; MIYASHITA; TAKAGI, 1987; BURTIN, 2003). Dentre os vários isômeros da vitamina E, o  $\alpha$ -tocoferol se destaca como mais potente antioxidante lipossolúvel presente em membranas celulares, além de ser o único composto capaz de combater os sintomas da deficiência em vitamina E (TRABER; ATKINSON, 2007). Dessa forma, o valor nutricional em termos de atividade de vitamina E é determinado exclusivamente pela concentração de  $\alpha$ -tocoferol presente nos alimentos (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Apesar de a maioria das investigações científicas priorizarem o estudo do  $\alpha$ -tocoferol, os demais isômeros da vitamina E apresentam grande potencial biológico, sendo amplamente utilizados pelas indústrias alimentícia e de cosméticos (SALDEEN; SALDEEN, 2005; MORGANTI, 2009).

O interesse cada vez maior pelo estudo dos diversos análogos da vitamina E é devido, especialmente, às funções que estes compostos desempenham no organismo, como agentes antioxidantes contra o fotoenvelhecimento da pele, na prevenção de doenças neurodegenerativas (Parkinson e Alzheimer), câncer e doenças cardiovasculares (ETMINAN; GILL; SAMII, 2005; MIYAZAWA et al., 2009; BRIGELIUS-FLOHÉ, 2009). Entretanto, além do potencial antioxidante, são investigadas diversas propriedades não relacionadas com a ação antioxidante desses compostos (RIZZO et al., 2008; MIYAZAWA et al., 2009).

Apesar de se saber que as algas marinhas são consideradas uma fonte rica em vários nutrientes (ITO; HORI, 1989; BURTIN, 2003), pouca atenção tem sido direcionada ao estudo da variação sazonal de vitaminas lipossolúveis e carotenóides provitamina A presentes nestes organismos. Assim, esta pesquisa tem como objetivo verificar a existência de variação sazonal de

carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) e vitamina E ( $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol) em duas espécies de macroalgas marinhas pertencentes ao gênero *Cryptonemia*.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Macroalgas marinhas**

As macroalgas pertencem a um grupo diversificado de organismos fotossintéticos classificados no Reino Plantae (PÁDUA; FONTOURA; MATHIAS, 2004). Apresentam grande importância ecológica, pois constituem os produtores primários que sustentam o funcionamento normal dos ecossistemas, sendo responsáveis pela produção de oxigênio e importantes no ciclo de dissolução de substâncias orgânicas e inorgânicas (RAVEN, EVERT; EICHHORN, 2001). Em relação a sua ocorrência, encontram-se amplamente distribuídas em diferentes habitats: oceanos, corpos de água doce e rochas, desde que disponham de condições favoráveis para o seu desenvolvimento (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

Segundo Raven; Evert; Eichhorn (2001), as macroalgas são classificadas em quatro divisões: Cyanophyta (algas azuis), Chlorophyta (algas verdes), Phaeophyta (algas pardas) e Rhodophyta (algas vermelhas). Essa classificação tem como base a grande variação de características como a captação de luz para a fotossíntese, presença de polissacarídeos de reserva, organização celular, filogenia molecular, ciclo de vida, morfologia e ecologia.

As algas vermelhas compreendem um grupo com cerca de seis mil espécies, predominantemente pluricelulares e marinhas (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004). A principal característica dessas algas é a presença de ficoeritrina, pigmento que lhes confere uma coloração avermelhada (RAVEN,

EVERT; EICHHORN, 2001). A região costeira que se estende do Ceará ao Norte do Rio de Janeiro abriga a flora algal mais diversificada do Brasil, entretanto a maior diversidade e abundância das algas vermelhas ocorre na costa Nordeste do País (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

Em comparação com as plantas comumente utilizadas na agricultura, as algas podem apresentar certas vantagens em relação à produção com propósitos econômicos, como por exemplo, a alta eficiência na utilização da energia solar para a produção de matéria orgânica e a capacidade de acumular certos compostos de interesse comercial como carboidratos, proteínas, ácidos graxos, amido, glicerol e pigmentos naturais (VINATEA, 2004). Tais compostos apresentam elevado valor, principalmente por serem produtos naturais amplamente utilizados pela indústria alimentícia (MAMATHA et al., 2007), como ingredientes em cosméticos e fertilizantes (CHAN; HO; PHANG, 2006), na indústria farmacêutica e na produção de hidrocolóides (CHANDINI; GANESAN; BHASKAR, 2008).

A produção mundial de algas marinhas já ultrapassou 16 milhões de toneladas (FAO, 2009). Como a demanda pelos produtos produzidos a partir desses vegetais tem crescido rapidamente, os estoques naturais não têm sido capazes de suprir os requerimentos do mercado, conseqüentemente, mais de 90% das espécies de macroalgas marinhas usadas comercialmente são oriundas de cultivos (McHUGH, 2003).

De acordo com Risso et al. (2003), as algas marinhas são consideradas um alimento tradicional na dieta de diferentes povos, principalmente nos países orientais. Japão, China e República da Coreia são os principais consumidores de algas como alimento (McHUGH, 2003). Entretanto, a tradição do consumo

desses vegetais como alimento foi difundida para vários outros países devido aos imigrantes orientais (OLIVEIRA, 1997).

Segundo Watanabe; Nishizawa (1984), várias espécies de macroalgas marinhas são utilizadas no preparo de alimentos, como a rodofíceia *Porphyra* sp. conhecida como “nori”, e as feofíceas dos gêneros *Laminaria* e *Undaria*, submetidas à desidratação ou cozimento e comercializadas como “kombu” e “wakame”, respectivamente. Na Índia, diferentes espécies de *Enteromorpha* são processadas e utilizadas na fabricação de biscoitos, sopas e coberturas para doces (MAMATHA et al., 2007).

As macroalgas marinhas verdes pertencentes aos gêneros *Ulva* e *Enteromorpha* são consumidas principalmente nos países asiáticos e, na França, receberam autorização para o consumo humano (QUEMENER; LAHAYE; BOBIN-DUBIGEON, 1997). Algumas espécies de *Ulva* já são comercializadas em países europeus sob a forma de produto desidratado (LAHAYE; BRUNEL; BONNIN, 1997), mas nos países ocidentais, a utilização de algas marinhas ocorre predominantemente como fonte de ficocolóides (LEE et al., 2008).

Em relação ao valor nutricional das algas, Lee et al. (2008) afirmaram que esses vegetais representam uma excelente fonte de vitaminas, proteínas, fibras e minerais. Segundo Burtin (2003), as algas marinhas são consideradas uma das fontes vegetais mais ricas em cálcio e iodo, presentes principalmente nas espécies *Fucus vesiculosus* e *Laminaria* sp. Além desses, outros minerais como sódio, potássio e magnésio são comumente encontrados nas algas (YOUJIM et al., 2000).

O teor protéico das algas marinhas varia entre as diferentes espécies: as algas pardas geralmente apresentam baixo teor, entre 5 e 15% do peso seco, enquanto as algas verdes e vermelhas chegam a apresentar de 10 a 30% de proteína. Em algumas espécies de macroalgas vermelhas, como *Porphyra columbina*, *Palmaria palmata* e *Porphyra tenera*, os níveis protéicos correspondem a 28, 35 e 47% da matéria seca, respectivamente. Esses níveis são similares aos encontrados em vegetais como a soja (YOUUDIM et al., 2000; BURTIN, 2003).

As macroalgas marinhas são ricas em vitaminas do complexo B (YOUUDIM et al., 2000), especialmente a vitamina B12, recomendada no tratamento dos efeitos do envelhecimento, na síndrome da fadiga crônica e na anemia perniciosa (WATANABE et al., 1999). Em relação ao teor de vitamina C, as algas pardas e verdes contêm de 500 a 3.000 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca, níveis comparáveis aos encontrados em salsa, pimenta, alface e tomate, enquanto as algas vermelhas apresentam níveis mais baixos, entre 100 e 800 mg kg<sup>-1</sup> (NORZIAH; CHIANG, 2000; BURTIN, 2003).

Além das vitaminas B e C, as algas contêm outros micronutrientes de grande relevância para a saúde humana (YOUUDIM et al., 2000), como carotenóides (PIRES et al., 2008) e vitamina E (SOUSA et al., 2008).

## **2.2 Carotenóides**

O termo carotenóides se refere a maior classe de pigmentos naturais de cor amarela a vermelha, responsáveis pela grande variedade de cores na natureza (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPES, 2000). Esses

compostos têm sido objeto de inúmeros estudos desde 1831, quando Wackenroder isolou um pigmento da cenoura, para o qual deu o nome de caroteno (OLVERA-RAMÍREZ; RÍOS-LEAL; VICENTE-GARCÍA, 2003).

Os carotenóides (Figura 1), geralmente são compostos tetraterpenóides constituídos de oito unidades de isopreno formando uma cadeia poliênica que pode conter de duas a quinze duplas ligações conjugadas (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006). A grande diversidade de estruturas desses compostos decorre de modificações em seu esqueleto isoprenóide C<sub>40</sub> (ROWAN, 1989; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004; BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 2008).

De acordo com os elementos químicos presentes em suas moléculas, os carotenóides são classificados em dois grandes grupos: os carotenos e as xantofilas (OLSON; KRINSKY, 1995). Os carotenos são hidrocarbonetos poliênicos com variados graus de insaturação e constituídos apenas por átomos de carbono e hidrogênio. Nesse grupo destacam-se  $\beta$ -caroteno e licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUEZ; AMAYA-FARFAN, 2006). As xantofilas, também conhecidas como oxicarotenóides, possuem além da estrutura característica dos carotenos (carbono e hidrogênio), átomos de oxigênio na forma de álcoois, aldeídos, cetonas, epóxidos, ésteres, dentre outros grupos funcionais (MORAES; COLLA, 2006). Cantaxantina, luteína, zeaxantina,  $\alpha$ -criptoxantina e  $\beta$ -criptoxantina são integrantes desse grupo de compostos (FRASER; BRAMLEY, 2004).

Por apresentarem maior estabilidade na natureza, as configurações geométricas dos carotenóides ocorrem predominantemente como isômeros *all-trans* (RAO; RAO, 2007). No plasma sanguíneo de seres humanos, alguns

carotenóides podem exibir mais de 50% de isômeros com configuração *cis* (KHACHIK et al., 2002).

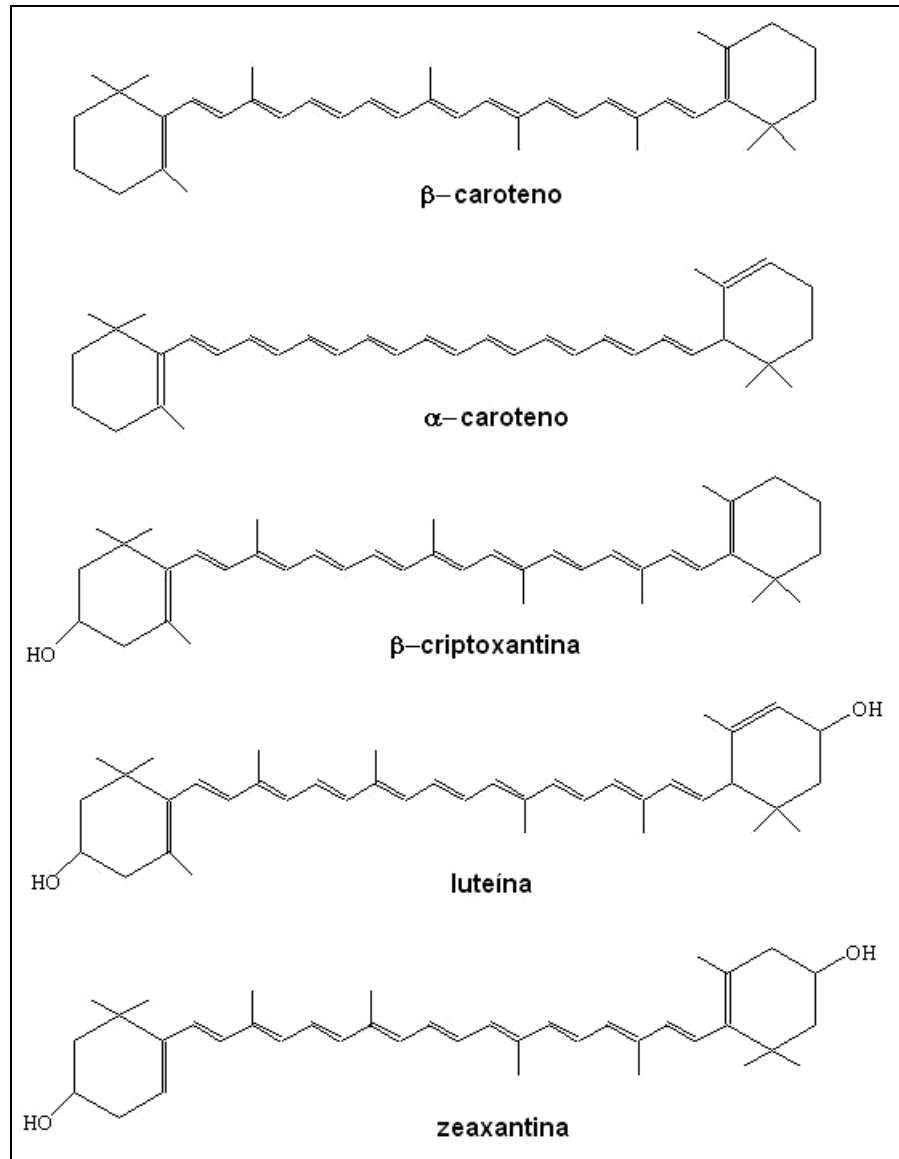


Figura 1 - Estruturas químicas de alguns pigmentos carotenóides (ROWAN, 1989).

A isomerização dos carotenóides da forma *trans* para a *cis* pode ocorrer através da ação da luz, calor ou ácidos (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006), consequentemente ocasionando alterações na coloração, biodisponibilidade e perda da atividade provitamínica A (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008).

### 2.2.1 Ocorrência e Fontes alimentares

Os pigmentos carotenóides encontram-se amplamente distribuídos entre os seres vivos (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004), sendo sintetizados por todos os organismos fotossintéticos, incluindo as algas, e eventualmente pelas bactérias não fotossintéticas e líquens (RODRIGUEZ-AMAYA; RODRIGUEZ; AMAYA-FARFAN, 2006). No meio marinho, são sintetizados pelo fitoplâncton (microalgas e outros organismos autótrofos) e pelas macrófitas (GONZÁLEZ, 2000).

Os vegetais apresentam a maior concentração e diversidade de pigmentos carotenóides, os quais se localizam nos cloroplastos dos tecidos fotossintéticos, junto às clorofilas, assim como em tecidos vegetais não fotossintéticos, como componentes de cromoplastos (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004).

Os carotenóides mostram uma grande diversidade em sua distribuição, estrutura e funções (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Nas verduras, o conteúdo de carotenóides segue o modelo geral das plantas superiores sendo encontradas maiores quantidades de  $\beta$ -caroteno, violaxantina, licopeno e flavoxantina. Em pequenas quantidades são encontradas anteraxantina,  $\beta$ -criptoxantina e zeaxantina. Nos frutos, as xantofilas aparecem em maior proporção, embora em alguns casos, os pigmentos predominantes sejam os carotenos, como o licopeno encontrado principalmente em tomates (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004).

Nas algas, os carotenóides apresentam ampla distribuição entre as espécies, entretanto a maior diversidade desses pigmentos ocorre nas algas verdes ou clorofíceas (GONZÁLEZ, 2000). Entre os principais carotenóides

sintetizados pelas algas verdes destacam-se: anteraxantina,  $\beta$ -caroteno, luteína, neoxantina, violaxantina e zeaxantina. Além dos carotenóides de ocorrência comum, determinadas microalgas clorófitas podem conter prasinoxantina como carotenóide majoritário (GOODWIN, 1980).

$\beta$ -Caroteno, luteína, zeaxantina e criptoxantina são comumente encontrados nas algas vermelhas ou rodofíceas. A espécie *Gracilaria tenuistipitata* contém  $\beta$ -caroteno, luteína e zeaxantina (majoritário), entretanto não apresenta as xantofilas anteroxantina e zeaxantina (CARNICAS; JIMÉNEZ; NIELL, 1999). As algas pardas ou feofíceas são ricas em carotenóides, especialmente fucoxantina,  $\beta$ -caroteno e violaxantina (YAN et al., 1999; BURTIN, 2003). Segundo HAUGAN; LIAAEN-JENSEN (1994), a fucoxantina é o principal pigmento carotenóide das algas marinhas pardas.

Todos os carotenóides de origem animal procedem de carotenóides vegetais ingeridos em algum ponto da cadeia alimentar, e que uma vez incorporados, sofrem processos de oxidação ou redução para originar outros carotenóides (GONZÁLEZ, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Segundo OLSON (1994), os carotenóides encontram-se amplamente distribuídos em quase todos os tecidos animais, principalmente fígado e tecido adiposo.

Em animais marinhos, os processos metabólicos que atuam na transformação dos carotenóides são altamente especializados devido à importância desses compostos no processo de camuflagem, comportamento de cortejo, ataque ou defesa (LIAAEN-JENSEN, 1990). Nos peixes, a distribuição dos carotenóides se dá principalmente em função do regime de alimentação, da fase de desenvolvimento e crescimento em que se encontra o organismo (GONZÁLEZ, 2000).

Segundo Rodriguez-Amaya (2001), a astaxantina é o principal carotenóide responsável pela coloração de peixes como salmão e truta, estando presente também em crustáceos como camarões, lagostas e caranguejos. Por outro lado, a tunaxantina também ocorre em grande quantidade em outras espécies de peixes, enquanto os carotenos, ecnenona e cantaxantina, encontrados em menor quantidade, são provenientes de transformações intermediárias na dieta desses animais.

A presença de carotenóides em esponjas ocorre devido à acumulação de fitoplâncton ou zooplâncton rico em carotenóides; alguns pigmentos como a diatoxantina, astaxantina e zeaxantina podem ser obtidos através da acumulação de diatomáceas, fungos e bactérias fotossintéticas, bem como pelo metabolismo de outros pigmentos (JOHNSON; AN, 1991). Nos répteis, em especial nas tartarugas, a astaxantina é encontrada principalmente na carapaça e na retina, em combinação com outros carotenóides como  $\beta$ -caroteno e luteína (GONZÁLEZ, 2000).

### **2.2.2 Carotenóides provitamina A**

A principal classificação dos carotenóides relaciona-se com a atividade vitamínica que esses compostos exercem. Dessa forma os carotenóides podem ser classificados como carotenóides provitamina A e sem atividade de vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA 1989; OLSON; KRINSKY, 1995).

A vitamina A é a denominação genérica utilizada para referir-se a dois grupos de substâncias amplamente consumidas na alimentação: os retinóides e os carotenóides provitamina A (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Os retinóides são micronutrientes encontrados exclusivamente em alimentos de

origem animal, enquanto os carotenóides provitamina A encontram-se distribuídos principalmente nos vegetais, embora alimentos como o leite e a margarina possam conter tanto a vitamina A como carotenóides provitamina A (CARVALHO, 1996).

Para que um carotenóide seja considerado provitamina A é necessário que sua estrutura apresente pelo menos um anel  $\beta$ -ionona insubstituível, com cadeia lateral poliênica com mínimo de onze átomos de carbono (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Inserem-se nesse grupo  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina e  $\gamma$ -criptoxantina. Entretanto, a astaxantina, fitoflueno,  $\xi$ -caroteno, luteína, violaxantina zeaxantina, zeinoxantina não são considerados precursores da vitamina A, pois apresentam substituições nos anéis  $\beta$ -ionona (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Das diversas espécies de carotenóides, os cinco mais comumente encontrados no plasma humano são  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína e licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002). Entre esses, o  $\beta$ -caroteno apresenta maior atividade de vitamina A (100% de bioatividade), sendo considerado sua principal fonte para muitos animais e humanos (BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 1995).

Na natureza existem mais de 750 pigmentos carotenóides já caracterizados (BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 2008). Cerca de cinquenta a sessenta estão presentes na dieta humana (PACKER et al., 2005). Entretanto, dados sobre a composição em alimentos encontram-se disponíveis apenas para  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006), considerados os principais carotenóides precursores da vitamina A em seres humanos (CAMPOS; ROSADO, 2005).

### 2.2.3 Funções e Atividade biológica dos carotenóides

De acordo com Olson (1991), uma das principais funções fisiológicas desempenhadas pelos pigmentos carotenóides é a atuação como precursores da vitamina A. Entretanto, independentemente da atividade pró-vitamínica A os carotenóides também são responsáveis por vários efeitos benéficos para a saúde humana (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002; OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006), principalmente na redução do risco de desenvolvimento de certos tipos de câncer (GOMES, 2007); doenças cardiovasculares (KOPSELL; KOPSELL, 2006); diabetes (COYNE et al., 2005); doença de Parkinson (ETMINAN; GILL; SAMII, 2005) e de Alzheimer (CHRISTEN, 2000); no aumento da resposta imunológica (PORRINI et al., 2005); na modulação do metabolismo, expressão gênica, inibição da proliferação celular e na comunicação celular (STAHL; SIES, 2003).

Em sistemas biológicos, a exposição à luz acarreta a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), incluindo os radicais livres, como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), os radicais hidroxila (OH), peroxila ( $RO_2$ ) e hidroperoxila ( $HRO_2^-$ ), assim como as espécies que não possuem radicais livres, mas que são agentes oxidantes e podem gerar radicais, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Essas espécies provocam danos nas biomoléculas (proteínas, DNA, fosfolipídios e glicoproteínas) e afetam a estabilidade das estruturas celulares, conseqüentemente favorecendo ao desenvolvimento de várias doenças relacionadas com o estresse oxidativo (HALLIWELL, 2007).

Nesse contexto, os carotenóides são considerados potentes antioxidantes não enzimáticos, atuando eficientemente no combate as ERO,

funcionando como sequestradores do oxigênio singlete e removendo os radicais peróxidos (STAHL; SIES, 2003). Carotenóides como  $\beta$ -caroteno, licopeno, zeaxantina e luteína exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, combatendo de maneira eficiente os radicais livres que danificam as membranas celulares (SIES; STAHL, 1995).

Os carotenóides podem reduzir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares através da proteção das lipoproteínas de baixa densidade. Estudos recentes estabeleceram relação direta entre o aumento da ingestão de frutas, verduras e legumes com a diminuição da incidência de mortalidade em decorrência dessas enfermidades. Essa diminuição pode ser atribuída principalmente ao aumento da ingestão de carotenóides, em especial,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina (KOPSELL; KOPSELL, 2006).

Segundo Cho et al. (2008), os efeitos protetores dos carotenóides na prevenção e no tratamento de doenças oftalmológicas têm sido amplamente estudados. Pigmentos carotenóides como luteína e zeaxantina são responsáveis pela coloração e proteção contra danos fotooxidativos da região conhecida como lúteo macular da retina, considerada a área de máxima acuidade visual (STAHL; SIES, 2003). Landrum; Bone (2001) enfatizaram que esses compostos apresentam grande eficiência de filtração de luz, inclusive superior ao  $\beta$ -caroteno e licopeno.

Resultados obtidos em estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que os carotenóides atuam eficientemente na prevenção de danos oxidativos e na proteção da pele. O uso tópico de  $\beta$ -caroteno isoladamente ou em combinação com  $\alpha$ -tocoferol promoveu a diminuição da formação de lesões na pele conhecidas como eritemas. Os mesmos efeitos protetores também foram

atingidos através da suplementação dietética de alimentos ricos em carotenóides (STAHL; SIES, 2003; STAHL; SIES, 2005).

O  $\alpha$ -caroteno apresenta efeito supressor sobre a formação de tumores na pele, pulmão, fígado e cólon, além de promover a interrupção do ciclo de multiplicação celular, demonstrando, inclusive, atividade de supressão superior à promovida pelo  $\beta$ -caroteno (DONALDSON, 2004). Efeitos anticarcinogênicos similares também foram observados através da suplementação de luteína contra a incidência de câncer de pele (NISHINO et al., 2002).

Carotenóides como  $\beta$ -criptoxantina, fucoxantina, capsantina e fitoeno, têm sido pouco investigados, apesar de demonstrarem potencial promissor para a saúde humana (HEBER; LU, 2002). O mesmo pode ser dito em relação a zeaxantina, cujas propriedades supressoras e antimetastáticas já foram descritas. Zeaxantina e luteína apresentam elevado potencial antioxidante, especialmente em meios lipossolúveis (LIU, 2004).

Além das implicações para a saúde humana, os carotenóides desempenham diversas funções vitais nos organismos fotossintéticos, atuando como pigmentos acessórios da fotossíntese, na proteção contra a fotoxidação e na biossíntese de hormônios relacionados com o crescimento ou estresse (AULDRIDGE; McCARTY; KLEE, 2006). Nas algas os carotenóides são responsáveis pela absorção da luz e transferência da energia luminosa para a clorofila *a*, além de protegerem os ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas algais contra danos oxidativos (SZE, 1997; MATSUKAWA et al., 1997).

#### **2.2.4 Deficiência em vitamina A**

A vitamina A é um micronutriente lipossolúvel essencial ao ser humano. Atua no metabolismo intermediário, síntese de proteínas, enzimas e RNA, diferenciação celular, expressão gênica, reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento, resposta imunológica e fisiologia do sistema visual (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2004).

A deficiência da vitamina A é considerada um dos principais problemas nutricionais em países em desenvolvimento, incluindo o Brasil (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006), pois pode levar a cegueira noturna, xeroftalmia, xerodermia e hiperqueratose folicular (NELSON; COX, 2006).

Estudos realizados em vários países têm demonstrado que a deficiência da vitamina A ainda está associada ao desmame precoce, ao consumo inadequado de alimentos ricos em vitamina A ou carotenóides, à pobreza e aos tabus alimentares (SOUZA; VILAS BOAS, 2002). No Brasil, embora haja grande disponibilidade de frutas, verduras e legumes, que são fontes naturais de carotenóides, existe, em contradição, um elevado número de crianças com hipovitaminose A (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006).

#### **2.2.5 Ingestão diária recomendada (IDR)**

A contribuição dos carotenóides provitamina A para a ingestão diária de vitamina A, depende dos hábitos dietéticos e fontes alimentares disponíveis. Estudos demonstraram que os carotenóides provenientes de frutas e verduras são responsáveis por mais de 70% da ingestão de vitamina A nos países de terceiro mundo, entretanto para os países desenvolvidos essa contribuição é menos significativa (STAHL; SIES, 2005).

Embora evidências epidemiológicas sugiram que o consumo de frutas e verduras ricas em carotenóides esteja associado à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, ainda não foi estabelecida a IDR para os carotenóides (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Entretanto, esses micronutrientes são levados em consideração no cômputo da atividade de vitamina A dos alimentos, expressa em retinol equivalente (RE) (RONCADA, 2000).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 269, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), a IDR de vitamina A consiste em 600 µg de RE para adultos. Cada 1 µg de β-caroteno corresponde a 0,167 µg de RE e cada 1 µg de outros carotenóides provitamina A, a 0,084 µg de RE. A partir dos valores estabelecidos para a IDR é possível classificar os alimentos como fontes excelentes ou úteis de um nutriente em particular. Para que um determinado alimento seja considerado uma fonte excelente de vitamina A, a ingestão de uma porção desse alimento deve fornecer  $\frac{1}{2}$  da IDR. Quando a ingestão de uma porção desse alimento for responsável por  $\frac{1}{6}$  da IDR, o alimento pode ser considerado uma fonte útil (RICHARDSON, 1993).

### 2.3 Vitamina E

A vitamina E foi descoberta em 1922 por pesquisadores da Universidade da Califórnia como um fator lipossolúvel necessário para a reprodução em roedores. Anos mais tarde após seu isolamento e identificação química, recebeu o nome tocoferol, derivado do grego *tokos* (nascimento), *phero* (trazer)

e *ol* (por se tratar de um fenol) (SALDEEN; SALDEEN, 2005). O termo vitamina E se refere a uma família de oito compostos lipossolúveis classificados em dois grupos, os tocoferóis e os tocotrienóis, denominados coletivamente como tococromanóis (MIYAZAWA et al., 2009).

Estruturalmente os tococromanóis caracterizam-se pela presença do anel cromanol com uma cadeia alifática lateral e diferem entre si pelo número e posição do grupo metila no anel cromanol (SALDEEN; SALDEEN, 2005; RYYNANEN et al., 2007). Os tocoferóis apresentam uma cadeia lateral saturada em sua estrutura, enquanto os tocotrienóis possuem uma cadeia lateral insaturada com três duplas ligações (MUNTEANU; ZINGG; AZZI, 2004; ZINGG, 2007; MIYAZAWA et al., 2009) (Figura 2).

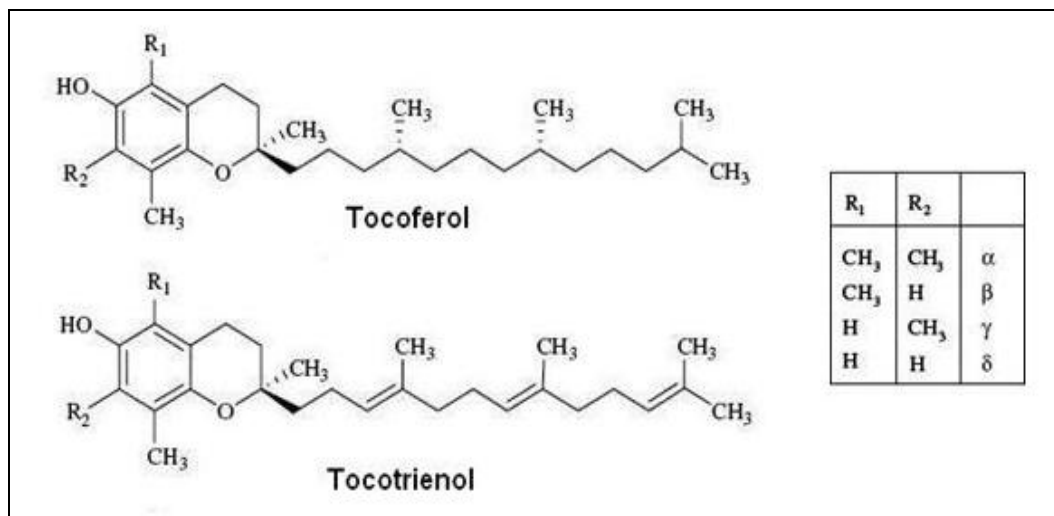


Figura 2 - Estruturas químicas de tocoferóis e tocotrienóis (ZINGG, 2007).

### 2.3.1 Ocorrência e Fontes alimentares

A vitamina E é encontrada naturalmente nos alimentos de origem vegetal, principalmente naqueles folhosos de coloração verde escura, nas sementes oleaginosas, nos óleos vegetais e no gérmen de trigo (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007; RIGOTTI, 2007). Dependendo do tipo

de alimento, as proporções de tocoferóis e tocotrienóis podem ser muito variáveis (LINS, 2006).

Os óleos vegetais são considerados a fonte mais rica de vitamina E para a dieta humana. Os óleos de oliva e girassol são ricos em  $\alpha$ -tocoferol, enquanto que os óleos de semente de algodão, milho e o óleo de palmeira contêm principalmente  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol (ZINGG; AZZI, 2004).  $\gamma$ -Tocoferol é encontrado em grandes quantidades nos óleos de soja e milho. Já os tocotrienóis são encontrados em grande quantidade principalmente no óleo de palmeira (SEN; KHANNA; ROY, 2007). Nos vegetais, o  $\alpha$ -tocoferol é a forma da vitamina E encontrada em maior quantidade nos tecidos fotossintetizantes, enquanto que nos tecidos não fotossintetizantes e nas sementes, são encontrados principalmente  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol (DELLAPENNA, 2005).

A maioria dos alimentos de origem vegetal, especialmente frutas, verduras e legumes, contém relativamente baixas concentrações de vitamina E (TRABER; ATKINSON, 2007). Entretanto, devido à abundância desses alimentos na dieta humana, eles funcionam como uma fonte significativa e consistente de vitamina E (CHUN et al., 2006). Entre os tocoferóis,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol, são comumente encontrados nos alimentos (SALDEEN; SALDEEN, 2005).

Além de estar presente em alimentos de origem vegetal, a vitamina E também é encontrada em alimentos de origem animal, como gema de ovo e fígado (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007), entretanto nesses alimentos são encontradas baixas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol (RONCADA, 2000).

### **2.3.2 Funções e Atividade biológica da vitamina E**

A principal função fisiológica da vitamina E é atuar como antioxidante lipídico (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Nos vegetais, a vitamina E atua na proteção dos ácidos graxos das membranas fotossintéticas contra os danos ocasionados pela ação de radicais livres (MAEDA; DELLAPENNA, 2007); na preservação da oxidação lipídica durante a estocagem e germinação de sementes (SATTLER et al., 2004); na prevenção do estresse foto-oxidativo e na adaptação a baixas temperaturas (MAEDA et al., 2006). De acordo com Buckley; Morrissey; Gray (1995) e Ng; Bahurmiz (2009), a ação antioxidante da vitamina E evita que os lipídios presentes nos alimentos sofram lipoperoxidação, preservando suas propriedades nutricionais e sensoriais.

Embora desempenhe funções biológicas importantes nos animais, vegetais e em seres humanos, a vitamina E é sintetizada apenas pelos organismos fotossintéticos, incluindo algas e cianobactérias, e algumas plantas não fotossintéticas, como os cogumelos (SATTLER; CHENG; DELLAPENNA, 2004; DÖRMANN, 2007; MAEDA; DELLAPENNA, 2007).

A vitamina E é um dos mais ativos e o principal antioxidante lipossolúvel encontrado na natureza (RIGOTTI, 2007; TRABER; ATKINSON, 2007), pois desempenha papel fundamental na preservação de sistemas biológicos como plasma, membranas e tecidos (SANAGI et al., 2005; BRIGELIUS-FLOHÉ, 2009). A presença desta vitamina nas membranas é de extrema importância para o funcionamento do organismo, pois ela evita que ocorra extravasamento de material intracelular (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007), alterações na permeabilidade, perdas da seletividade na troca iônica e formação de produtos tóxicos (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Entre os tococromanóis,  $\alpha$ -tocoferol apresenta maior atividade de vitamina E, enquanto  $\alpha$ -tocotrienol apresenta aproximadamente  $\frac{1}{3}$  da atividade do  $\alpha$ -tocoferol. Independentemente deste fato, todas as formas de tococromanóis são capazes de apresentar função antioxidante e atuar como agentes protetores contra a peroxidação lipídica em membranas biológicas (MIYAZAWA et al., 2009).

Antioxidantes naturais como os tocoferóis e os pigmentos carotenóides têm recebido destaque em decorrência do potencial no combate a doenças relacionadas com o estresse oxidativo (BARROS et al., 2008). Nos últimos anos, várias pesquisas têm enfatizado as propriedades benéficas da vitamina E, principalmente no retardo e prevenção de enfermidades como arteriosclerose (KATSIKI; MANES, 2009), câncer (STOLZENBERG-SOLOMON, 2009), diabetes (KUHAD; CHOPRA, 2009), Parkinson (MORRIS et al., 2005) e Alzheimer (RICCIARELLI et al., 2007).

Os tocotrienóis são menos estudados que os tocoferóis, mas também possuem propriedades benéficas (neuroprotetoras, anticancerígenas, antidiabéticas), as quais não estão relacionadas com suas propriedades antioxidantes (SEN; KHANNA; ROY, 2007; KUHAD; CHOPRA, 2009; MIYAZAWA et al., 2009).

Segundo Munteanu; Zingg; Azzi (2004), os mecanismos protetores da vitamina E, em especial do  $\alpha$ -tocoferol, não estão correlacionados somente com sua função antioxidante. Os mesmos autores enfatizam que a vitamina E atua em nível celular, inibindo a proliferação de células musculares lisas das artérias, a agregação plaquetária, a adesão dos monócitos à parede do endotélio e a produção de citocinas.

Além dessas propriedades destacam-se a atividade anti-inflamatória do  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol (RIZZO et al., 2008), a ação do  $\gamma$ -tocoferol na prevenção da hipertensão através da proteção do sistema cardiovascular e da diminuição da pressão sanguínea (STOCKER, 2007), a atuação da vitamina E como reguladora da atividade enzimática (BRIGELIUS-FLOHÉ, 2009) e na modulação dos mecanismos de sinalização celular e expressão gênica (MIYAZAWA et al., 2009).

A vitamina E também é comumente utilizada na formulação de cosméticos e produtos destinados ao cuidado da pele, em decorrência de suas propriedades fotoprotetoras, antitumorgênicas, além de atuar contra o envelhecimento precoce da pele (MORGANTI, 2009).

### **2.3.3 Deficiência em vitamina E**

A deficiência de vitamina E é rara (TRABER, 2001). Em seres humanos, a deficiência da vitamina E ocorre principalmente em crianças prematuras de baixo peso, em indivíduos acometidos por síndromes de má absorção de gorduras, portadores de anomalias genéticas na proteína transportadora de  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TTP), assim como consequência do desequilíbrio da relação energia-proteína consumida na dieta (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

Somente o  $\alpha$ -tocoferol é capaz de suprir as necessidades nutricionais de vitamina E para os seres humanos. Outras formas naturais como  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol e os tocotrienóis não contribuem para o preenchimento das necessidades de vitamina E. Embora esses compostos possam ser absorvidos, eles não são convertidos para  $\alpha$ -tocoferol no organismo humano, além de serem fracamente reconhecidos pela  $\alpha$ -TTP (IOM, 2000).

Os principais sinais e sintomas da deficiência da vitamina E incluem: neuropatia, ataxia, miopatia, retinopatia, aumento da fragilidade dos eritrócitos, aumento da produção de etano e pentano (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Em crianças prematuras a deficiência de vitamina E provoca a redução da vida média dos eritrócitos e anemia hemolítica. Deficiências genéticas na apolipoproteína B (apo-B) ou na  $\alpha$ -TTP causam a síndrome de deficiência grave, cujos sintomas incluem perda dos reflexos dos tendões, ataxia cerebelar, disartria, miopatia do esqueleto, retinite pigmentosa e retardo mental (TRABER; ATKINSON, 2007).

Em animais experimentais, a deficiência de vitamina E provoca danos renais e hepáticos, anomalias neurológicas, além de poder afetar o desenvolvimento fetal em fêmeas e acarretar atrofia testicular em machos culminando em falha reprodutiva. Entretanto, não há evidências de que a deficiência de vitamina E tenha qualquer efeito similar sobre a fertilidade humana (COZZOLINO, 2007).

#### **2.3.4 Ingestão diária recomendada (IDR)**

A IDR de vitamina E consiste em 10 mg de  $\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\alpha$ -TE) para adultos, considerando que 1 mg de d- $\alpha$ -tocoferol corresponde a 1,49 U.I. (BRASIL, 2005). Essa recomendação considera apenas o  $\alpha$ -tocoferol entre os oito isômeros da vitamina E, por ser o único composto que mantém sua concentração no plasma humano (IOM, 2000). É importante salientar que a IDR para a vitamina E foi determinada de acordo com a quantidade necessária para evitar a deficiência desse nutriente, não levando em consideração suas propriedades antioxidantes (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

## 2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia (do grego “*chroma*” cor e “*graphe*” escrever) é um método físico-químico utilizado para a separação dos componentes de uma amostra. O método foi desenvolvido em 1906 pelo botânico Mikhail Tswett, para a separação de pigmentos vegetais. Basicamente, o processo de separação cromatográfica consiste na distribuição dos componentes entre uma fase estacionária e uma fase móvel (CIOLA, 2003).

Dentre os diversos tipos de métodos cromatográficos utilizados, destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), o qual emprega pequenas colunas fechadas, preenchidas por materiais sólidos rígidos principalmente a base de sílica, os quais são especialmente preparados, e uma fase móvel que sofre eluição sob altas pressões (CIOLA, 2003). Na CLAE de fase normal, a fase estacionária é mais polar que a fase móvel, enquanto que na modalidade de fase reversa, a fase estacionária apresenta menor polaridade que a fase móvel. Estima-se que mais de 90% dos laboratórios de análises espalhados pelo mundo utilizam pelo menos um método que aplica a modalidade de cromatografia líquida em fase reversa (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

A CLAE exhibe vantagens como o uso de fases móveis menos tóxicas e de menor custo, rápido equilíbrio da coluna após a mudança da fase móvel e, principalmente, alta capacidade de separar e analisar quantitativamente uma grande quantidade de compostos, com rapidez, precisão, alta resolução e sensibilidade (RODRIGUEZ-AMAYA, 1989; TONHI et al., 2002). Independentemente da limitação proporcionada pela volatilidade ou estabilidade técnica, esta técnica requer somente que a amostra seja solúvel

na fase móvel. Assim, a CLAE é considerada ideal para a separação de espécies iônicas, macromoléculas de interesse biológico, produtos naturais lábeis, bem como uma imensa variedade de outros compostos de massa molar alta e/ou baixa estabilidade térmica (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta das algas e tratamento das amostras

As macroalgas marinhas vermelhas *Cryptonemia luxurians* (C. Agardh) J. Agardh e *Cryptonemia crenulata* (J. Agardh) J. Agardh foram coletadas mensalmente, de janeiro a dezembro de 2007, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, durante a maré baixa. O material coletado foi armazenado em sacos plásticos e transportado para o laboratório, onde foi cuidadosamente separado e submetido à lavagem em água corrente para remoção de impurezas, microcrustáceos e epífitas macroscópicas, sendo, em seguida, colocado sobre papel absorvente para drenar o excesso de água. Após este procedimento as macroalgas foram embaladas em sacos plásticos devidamente etiquetados e estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da secagem.

O processo de desidratação das algas foi realizado em estufa (Fanem 315 SE, São Paulo, Brasil) a  $40^{\circ}\text{C}$  por 15 horas. Posteriormente, o material desidratado foi cortado manualmente em pequenos pedaços e armazenado à temperatura ambiente em sacos plásticos revestidos com papel laminado para evitar o contato com a luz.

#### 3.2 Reagentes e padrões

Todos os reagentes utilizados com as amostras de alga e com os padrões comerciais foram grau CLAE: metanol, *n*-hexano e tetrahidrofurano,

obtidos da J. T. Baker, Estados Unidos, e hidróxido de potássio, obtido da Merck, Alemanha.

Os padrões comerciais  $\beta$ -caroteno tipo I sintético *all-trans* (C-9750),  $\alpha$ -tocoferol sintético (T-3251) e  $\delta$ -tocoferol (T-2028) foram obtidos da Sigma, Estados Unidos. O sistema Milli-Q (Millipore, Estados Unidos) foi utilizado para obtenção de água ultrapura utilizada no preparo de todas as soluções.

### **3.3 Preparação dos extratos de algas**

Para o preparo dos extratos, as macroalgas desidratadas foram trituradas em processador até a obtenção de um pó fino. Três porções de aproximadamente 0,5 g do pó foram pesadas e transferidas para tubos graduados de vidro com tampa esmerilhada (20 x 150 mm), onde foram adicionados 10 mL de metanol-água (90:10, v/v) contendo 5% de hidróxido de potássio. Em seguida, os tubos foram levados ao banho-maria a 70°C por 30 min para saponificação da amostra. Após a saponificação, os extratos foram resfriados à temperatura ambiente, transferidos para tubos de ensaio (15 x 120 mm) e centrifugados a 2.000 x *g*. por 5 min.

O procedimento de partição realizou-se a partir da transferência de 5 mL dos extratos saponificados, 1,5 mL de água Milli-Q e 2,5 mL de *n*-hexano para tubos de vidro com tampa rosqueada (15 x 100 mm), os quais foram colocados em uma plataforma misturadora por 10 min. Em seguida, as amostras foram transferidas para tubos de ensaio e centrifugadas a 2.000 x *g* por 5 min.

Um volume correspondente a 1 mL da fase hexânica de cada tubo foi transferido para tubos de ensaio (10 x 75 mm), os quais foram deixados sob

corrente de ar em banho-maria a aproximadamente 50°C para evaporação do solvente. Em seguida, o resíduo foi suspenso em 1 mL de metanol (MeOH), que foi filtrado em membrana PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$  (Acrodisc Syringe Filter, Gelman Laboratory). Alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  foram injetadas manualmente no sistema cromatográfico.

### 3.4 Soluções de $\beta$ -caroteno e de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol

Uma solução padrão de  $\beta$ -caroteno (1 mg mL<sup>-1</sup>) em tetrahidrofurano (THF) foi preparada diariamente e diluída com MeOH para 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , de modo que 0,5  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno fosse injetado na coluna. A concentração verdadeira da solução padrão diluída foi determinada pela leitura da absorbância em 450 nm (SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS, 1972). Da mesma forma, diariamente as soluções padrão de  $\alpha$ -tocoferol e  $\delta$ -tocoferol (ambas com 1 mg mL<sup>-1</sup>) foram preparadas separadamente e diluídas para 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  com MeOH, de modo que 5  $\mu\text{g}$  de cada um desses compostos fossem injetados na coluna. As soluções diluídas foram denominadas soluções padrão de trabalho.

A cada dia, uma solução padrão de trabalho contendo 10  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno + 100  $\mu\text{g}$  de  $\alpha$ -tocoferol + 100  $\mu\text{g}$  de  $\delta$ -tocoferol por mililitro foi saponificada e particionada separadamente e em conjunto com 0,5 g de alga desidratada, de forma idêntica aos extratos de algas desidratadas. Esse procedimento denominado co-cromatografia, assegurou a detecção dos compostos de interesse.

### 3.5 Condições cromatográficas

A análise baseou-se nas condições cromatográficas desenvolvidas por Pires et al. (2008) e Sousa et al. (2008), com algumas modificações. O sistema cromatográfico, ÅKTA Basic 10 P-900 (Amersham) consistiu em injetor manual Rheodyne 7210 (Hamilton Co.), com *loop* de 100  $\mu\text{L}$ ; coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS-2 (4,6 x 250 mm); monitor ÅKTAbasic UV-900, ajustado para a leitura simultânea de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno em 450 nm e de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol em 292 nm; fase móvel constituída de MeOH: THF (95:5, v/v), com fluxo de 1,5 mL  $\text{min}^{-1}$  e sistema de controle Unicorn<sup>TM</sup>, versão 5.0 para o registro dos cromatogramas.

### 3.6 Cálculo das concentrações de $\alpha$ - e $\beta$ -caroteno e de $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol

As concentrações de carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) presentes nos extratos das algas foram calculadas com base no padrão de 10  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno submetido à saponificação e à partição. Os cálculos foram realizados usando-se a área do pico obtido para a solução padrão de  $\beta$ -caroteno e as áreas dos picos referentes ao  $\alpha$ -caroteno ou ao  $\beta$ -caroteno nos extratos de alga.

De acordo com Saker-Sampaio (1997), a utilização do  $\beta$ -caroteno como padrão para a quantificação de  $\alpha$ -caroteno é considerada válida, pois as áreas dos picos correspondentes a 10  $\mu\text{g}$  de  $\alpha$ -caroteno e a 10  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno não apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p \geq 0,05$ ).

Em relação ao cálculo das concentrações de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol nos extratos de alga, foram utilizadas soluções padrão de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , submetidas à saponificação e partição. Os cálculos foram procedidos usando-se a área do pico obtido para as soluções padrão de  $\alpha$ -tocoferol ou de  $\delta$ -tocoferol e a área do pico referente ao tocoferol presente no extrato.

A fórmula abaixo foi utilizada para calcular as concentrações de carotenóides provitamina A e tocoferóis nos extratos preparados com algas desidratadas, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco.

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

Os teores de retinol equivalente (RE) e tocoferol equivalente (TE) foram calculados com base na legislação brasileira (BRASIL, 2005), e foram utilizados para classificar as algas em fontes excelentes ( $1/2$  da IDR) ou úteis ( $1/6$  da IDR).

### 3.7 Análises estatísticas

Para avaliar o comportamento sazonal dos teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol encontrados nas duas espécies de macroalgas marinhas vermelhas estudadas (*C. luxurians* e *C. crenulata*), foi utilizada a análise de agrupamentos, que consiste em uma das técnicas de interdependência multivariada, cuja finalidade é agregar objetos com base nas características que eles possuem. Assim, se a classificação dos agrupamentos resultantes for

bem sucedida, os objetos exibirão elevada homogeneidade interna (dentro dos agrupamentos) e elevada heterogeneidade externa (entre agrupamentos). Essa análise é uma ferramenta útil para avaliar a estrutura dos dados através da redução das variáveis, onde se é possível ter uma descrição mais concisa e compreensível das observações (HAIR et al., 2005).

Inicialmente os dados mensais da quantidade dos compostos ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol) analisados foram agrupados de acordo com as quatro estações do ano para o Hemisfério Sul: verão – dezembro a fevereiro; outono – março a maio; inverno – junho a agosto e primavera – setembro a novembro (MENDONÇA; DANNI-OLIVEIRA, 2007).

Os dados foram reorganizados em uma matriz 4 x 8 sendo, quatro variáveis (estações do ano) e oito amostras (composto por alga). Para minimizar qualquer efeito dos valores absolutos que pudesse distorcer a análise de agrupamento, já que ela é bastante sensível a diferentes magnitudes entre as variáveis, os dados foram transformados para  $\log(x + 1)$  e posteriormente padronizados.

Usando o agrupamento hierárquico foi utilizado o método de ligação de Ward e a distância euclidiana para a construção do dendograma a partir da matriz de similaridade. Em seguida, para avaliar um possível agrupamento das amostras (composto por alga) foi utilizada a análise não-hierárquica de agrupamento (k-médias), em que houve a especificação dos agregados em três grupos por nível de quantidade dos compostos: “grupo 1” ( $> 140 \mu\text{g g}^{-1}$ ); “grupo 2” ( $12 \text{ a } 90 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e “grupo 3” ( $0 \text{ a } 2 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

Todas as análises foram realizadas no programa estatístico MINITAB (versão 13.1).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Curvas padrão de $\beta$ -caroteno, $\alpha$ - e $\delta$ -tocoferol

A quantificação do  $\beta$ -caroteno presente nos extratos de alga foi possível devido a existência de correlação ( $r = 0,9983$ ,  $p < 0,05$ ) entre a área do pico e a concentração da solução padrão de  $\beta$ -caroteno processado, ou seja, submetido ao processo de saponificação e partição (Figura 3).

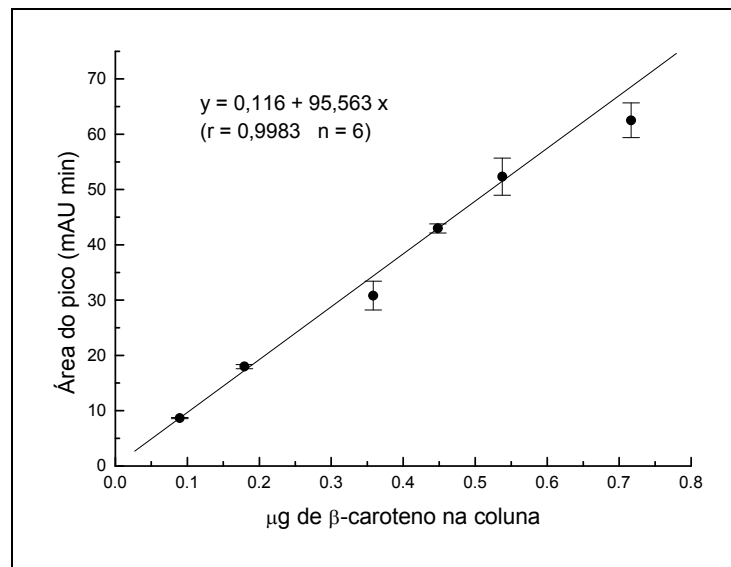


Figura 3 - Curva padrão do  $\beta$ -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de 0,1 a 0,8  $\mu\text{g}$  em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (95:5), fluxo  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$  e detecção em 450 nm.

A relação entre as áreas dos picos e as quantidades de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol aplicadas na coluna foi estabelecida de forma idêntica para as soluções padrões de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol processadas. A existência de correlação entre as áreas dos picos e as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol processado ( $r = 0,9994$ ,

$p < 0,05$ ) (Figura 4 ) e de  $\delta$ -tocoferol processado ( $r = 0,9971$ ,  $p < 0,05$ ) (Figura 5), permitiu a quantificação desses compostos nos extratos de alga.

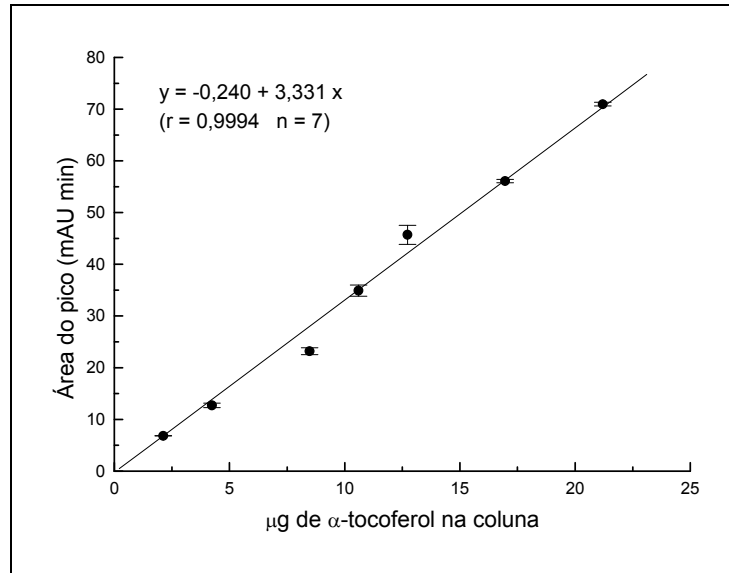


Figura 4 - Curva padrão do  $\alpha$ -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de 2,0 a 25,0  $\mu\text{g}$  em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (95:5), fluxo  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$  e detecção em 292 nm.

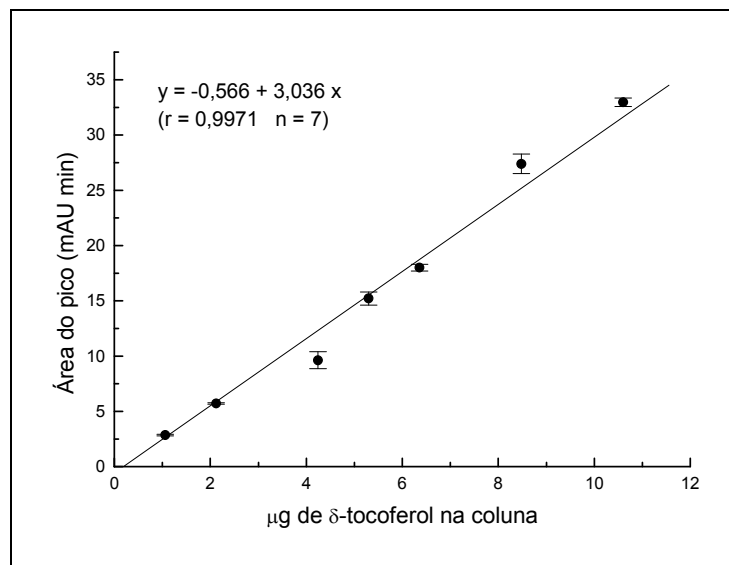


Figura 5 - Curva padrão do  $\delta$ -tocoferol (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Injeção de 1,0 a 12,0  $\mu\text{g}$  em coluna Waters Spherisorb-Hichrom S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) com fase móvel constituída de MeOH:THF (95:5), fluxo  $1,5 \text{ mL min}^{-1}$  e detecção em 292 nm.

## 4.2 Carotenóides provitamina A

A identificação e a quantificação dos carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) nas espécies de algas do gênero *Cryptonemia* (*C. luxurians* e *C. crenulata*) foram realizadas comparando-se os tempos de retenção das soluções padrões de  $\beta$ -caroteno, com o tempo de retenção dos mesmos compostos presentes nos extratos das algas e através da co-cromatografia.

A solução padrão de  $\beta$ -caroteno apresentou tempo de retenção igual a  $14,21 \pm 0,55$  min ( $n = 24$ ), enquanto o composto identificado como  $\beta$ -caroteno presente nos extratos das algas apresentou tempo de retenção igual a  $14,28 \pm 0,57$  min ( $n = 166$ ). Os tempos de retenção do  $\beta$ -caroteno padrão e do composto presente nos extratos de alga eluído em 14,28 min não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p \geq 0,05$ ).

Devido à dificuldade de aquisição do padrão comercial de  $\alpha$ -caroteno e o uso de sistema cromatográfico em que o  $\alpha$ -caroteno foi eluído da coluna antes do  $\beta$ -caroteno, fizeram com que, neste trabalho, o composto eluído da coluna com tempo de retenção de  $13,34 \pm 0,51$  min ( $n = 139$ ) fosse considerado  $\alpha$ -caroteno. Esse tempo de retenção foi comparado com aquele referente ao do  $\beta$ -caroteno através do teste  $t$  de Student ( $p < 0,05$ ).

Na Tabela 1 estão apresentados os teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno em *C. luxurians* e *C. crenulata* por mês e por estação do ano.

Tabela 1 - Teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) por mês e por estação do ano, nas espécies do gênero *Cryptonemia* coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007, e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas.

Meses	Estações do ano	<i>C. luxurians</i>		<i>C. crenulata</i>	
		$\alpha$ -caroteno	$\beta$ -caroteno	$\alpha$ -caroteno	$\beta$ -caroteno
Dez		0,753 $\pm$ 0,203	0,901 $\pm$ 0,277	0,588 $\pm$ 0,163	0,497 $\pm$ 0,223
Jan	Verão	1,380 $\pm$ 0,122	2,443 $\pm$ 0,296	0,284 $\pm$ 0,011	0,594 $\pm$ 0,141
Fev		1,755 $\pm$ 0,116	2,544 $\pm$ 0,148	0,452 $\pm$ 0,057	1,193 $\pm$ 0,131
	$\bar{x} \pm s$	<b>1,272 <math>\pm</math> 0,545</b>	<b>2,017 <math>\pm</math> 0,827</b>	<b>0,441 <math>\pm</math> 0,152</b>	<b>0,762 <math>\pm</math> 0,377</b>
Mar		1,036 $\pm$ 0,192	1,680 $\pm$ 0,292	0,364 $\pm$ 0,069	0,850 $\pm$ 0,116
Abr	Outono	2,042 $\pm$ 0,068	2,095 $\pm$ 0,099	0,476 $\pm$ 0,084	0,873 $\pm$ 0,694
Mai		1,597 $\pm$ 0,123	1,849 $\pm$ 0,093	0,263 $\pm$ 0,074	0,440 $\pm$ 0,214
	$\bar{x} \pm s$	<b>1,559 <math>\pm</math> 0,504</b>	<b>1,874 <math>\pm</math> 0,209</b>	<b>0,367 <math>\pm</math> 0,106</b>	<b>0,573 <math>\pm</math> 0,240</b>
Jun		1,221 $\pm$ 0,136	1,508 $\pm$ 0,288	0,334 $\pm$ 0,118	0,386 $\pm$ 0,084
Jul	Inverno	1,508 $\pm$ 0,110	1,133 $\pm$ 0,175	0,693 $\pm$ 0,117	1,238 $\pm$ 0,154
Ago		1,508 $\pm$ 0,074	2,246 $\pm$ 0,114	0,423 $\pm$ 0,119	0,641 $\pm$ 0,276
	$\bar{x} \pm s$	<b>1,262 <math>\pm</math> 0,228</b>	<b>1,629 <math>\pm</math> 0,566</b>	<b>0,483 <math>\pm</math> 0,187</b>	<b>0,755 <math>\pm</math> 0,437</b>
Set		0,810 $\pm$ 0,255	1,532 $\pm$ 0,290	0,330 $\pm$ 0,178	0,673 $\pm$ 0,128
Out	Primavera	0,691 $\pm$ 0,052	0,730 $\pm$ 0,133	0,691 $\pm$ 0,117	0,569 $\pm$ 0,171
Nov		1,018 $\pm$ 0,334	1,269 $\pm$ 0,503	0,424 $\pm$ 0,042	1,098 $\pm$ 0,147
	$\bar{x} \pm s$	<b>0,800 <math>\pm</math> 0,104</b>	<b>1,113 <math>\pm</math> 0,403</b>	<b>0,480 <math>\pm</math> 0,188</b>	<b>0,780 <math>\pm</math> 0,280</b>

Ambas as espécies pertencentes ao gênero *Cryptonemia* apresentaram  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno com distribuição mensal distinta ao longo dos meses de coleta.

Os teores mensais de  $\alpha$ -caroteno em *C. luxurians* variaram de  $0,691 \pm 0,052$  a  $2,042 \pm 0,068 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 1, Figura 6). As quantidades de  $\beta$ -caroteno em *C. luxurians* variaram entre  $0,730 \pm 0,133$  e  $2,544 \pm 0,148 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco. Os maiores valores foram encontrados em fevereiro ( $2,544 \pm 0,148$ ), janeiro ( $2,443 \pm 0,296$ ), agosto ( $2,246 \pm 0,114$ ) e abril ( $2,095 \pm 0,099$ ). Nos demais meses, os teores de  $\beta$ -caroteno foram inferiores a  $2 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 1, Figura 7).

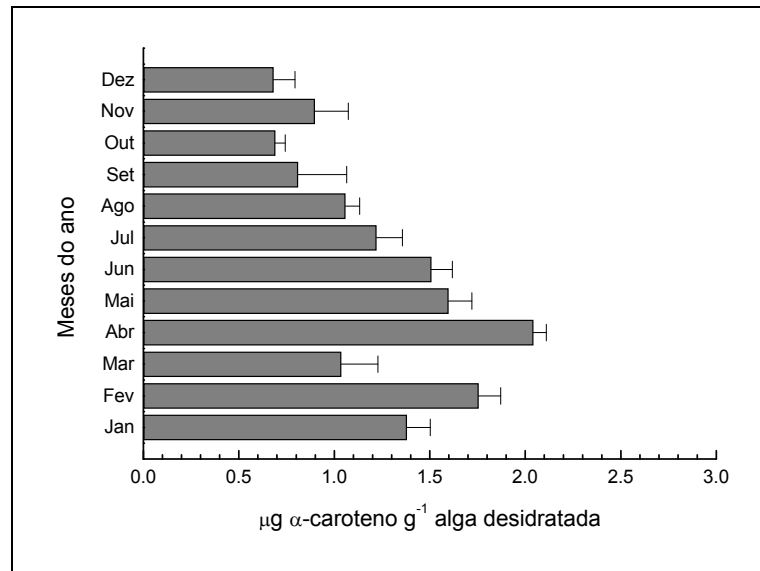


Figura 6 - Teores de  $\alpha$ -caroteno em *Cryptonemia luxurians* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a  $40^{\circ}\text{C}$  por 15 horas.

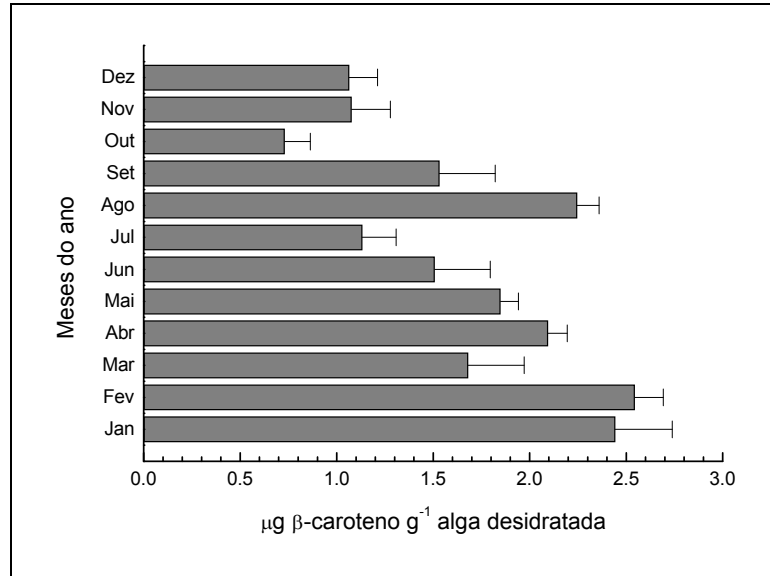


Figura 7 - Teores de  $\beta$ -caroteno em *Cryptonemia luxurians* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

Em *C. crenulata* os teores de  $\alpha$ -caroteno variaram de  $0,263 \pm 0,074$  a  $0,639 \pm 0,117 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco. As maiores concentrações foram observadas em julho ( $0,693 \pm 0,117$ ), outubro ( $0,691 \pm 0,117$ ) e dezembro ( $0,588 \pm 0,163$ ) (Tabela 1, Figura 8).

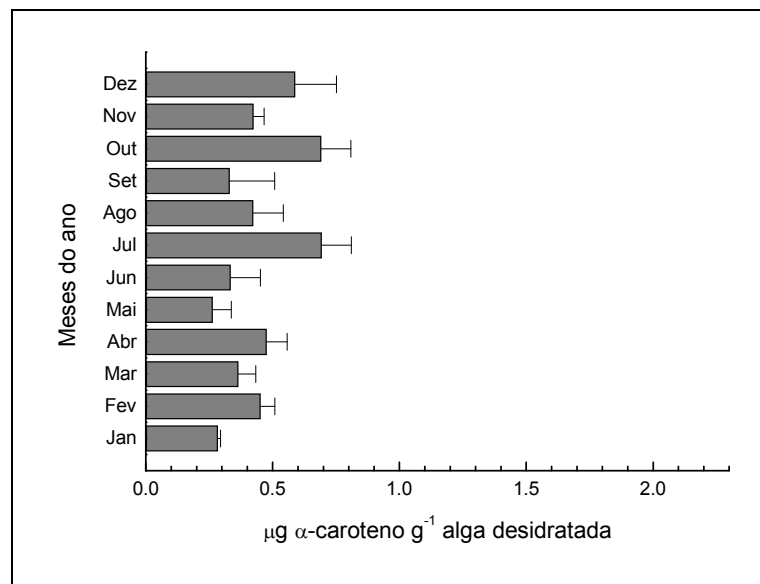


Figura 8 - Teores de  $\alpha$ -caroteno em *Cryptonemia crenulata* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

Os teores de  $\beta$ -caroteno em *C. crenulata* permaneceram dentro do intervalo de  $0,386 \pm 0,084$  a  $1,238 \pm 0,154 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 1, Figura 9).

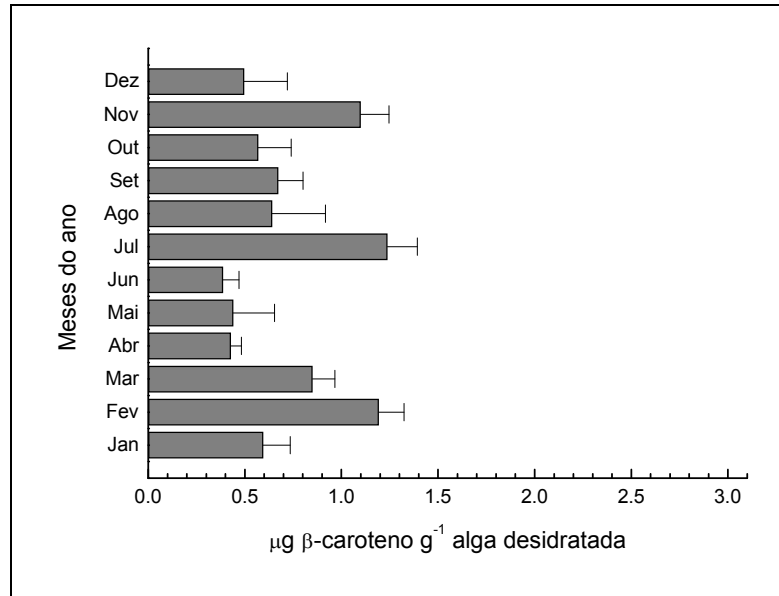


Figura 9 - Teores de  $\beta$ -caroteno em *Cryptonemia crenulata* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a  $40^{\circ}\text{C}$  por 15 horas.

Os teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno encontrados em ambas as espécies estudadas neste trabalho foram inferiores aos observados nas rodófitas *Amansia multifida*, *Champia feldmanii* e *Solieria filiformis* (MACIEL DA SILVA, 2003), assim como na alga vermelha *Antithamnion plumula* (BJORNLAND, 1983). Entretanto, os teores máximos de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno detectados em *C. luxurians* foram superiores aos encontrados em outras macroalgas vermelhas, como *Enantiocladia duperreyi* e *Bryothamnion triquetrum*; e nas clorófitas *Caulerpa cupressoides* e *Codium isthmocladum* (PIRES et al., 2008).

Sousa et al. (2008) analisaram *C. crenulata* sob a forma *in natura* e encontraram teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno maiores que os valores máximos reportados neste trabalho. De maneira semelhante, Nepomuceno (2008)

também encontrou nas rodofíceas *Amansia multifida* e *Pterocladia americana* teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno superiores.

Pires (2007) realizou estudo sobre a variação de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno em macroalgas pertencentes ao gênero *Caulerpa* nas formas *in natura* e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas. Tendo constatado que a variação dos pigmentos carotenóides ao longo do ano não obedeceu a um padrão único nas cinco espécies desse gênero.

Uma das principais causas da perda de carotenóides e vitamina A em um alimento está relacionada com o tratamento térmico ao qual este é submetido. Qualquer que seja o método de processamento escolhido, a degradação de carotenóides aumenta conforme o tempo, a temperatura e a desintegração das partículas do alimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1993). Além desses fatores, a estabilidade dos carotenóides também pode ser afetada durante a estocagem em temperaturas elevadas e sob a influência da luz (LIN; CHEN, 2005). De acordo com Olson (1991), tanto a vitamina A pré-formada, quanto os carotenóides provitamina A são suscetíveis à destruição pelo calor, luz e oxigênio.

Com base nas afirmações supracitadas, é possível inferir que o tratamento ao qual as espécies estudadas neste trabalho foram submetidas (desidratação em estufa a 40°C por 15 horas) pode ter ocasionado perdas nos teores de carotenóides. Essa hipótese também foi avaliada por Pires et al. (2008), que investigaram os teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno em macroalgas marinhas também desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas e observaram grandes perdas, principalmente nas clorófitas *Caulerpa cupressoides* e *C. racemosa*.

Fan et al. (2005) observaram que o processo de secagem a 45°C da macroalga vermelha *Porphyra* provocou uma redução da ordem de 80% no teor de carotenóides, enquanto nenhuma perda significativa foi observada no material submetido à liofilização. Similarmente, Saker-Sampaio (1997) comparou os teores de carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) na macroalga vermelha *Palmaria palmata* nas formas *in natura* e desidratada e observou que nas algas liofilizadas os teores desses carotenóides eram maiores do que nas algas desidratadas em estufa a 30°C e a 45°C.

Embora seja conhecido que a distribuição das algas marinhas no ambiente ocorra em função das marés, as variações nas composições química e nutricional desses organismos estão diretamente relacionadas com a distribuição geográfica da espécie, estação do ano, temperatura da água, salinidade, luz e nutrientes (JENSEN, 1993; DAWES, 1998). Consequentemente, a variação dos parâmetros ambientais ao longo das estações do ano favorece e/ou inibe a biosíntese de vários compostos (LORBAN; HARRISON; DUNCAN, 1985), inclusive os pigmentos carotenóides (SENGER et al., 1993).

As diferenças observadas nas quantidades de carotenóides em *C. luxurians* e *C. crenulata* poderiam ser explicadas também pelo fato de que a distribuição e o teor dos pigmentos carotenóides nos vegetais variam de acordo com a espécie analisada, estágio de maturação do vegetal, estágio do ciclo de vida, localização do cultivo, efeitos climáticos, manipulação na colheita e pós-colheita e condições de processamento e armazenamento (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008).

De acordo com Rodriguez-Amaya (1993), o processo de maturação nos vegetais geralmente é acompanhado pelo aumento da produção de carotenóides, conhecida como carotenogênese. Em vegetais como a couve e a alface, por exemplo, o teor de carotenóides aumenta significativamente durante a maturação. Entretanto, essa tendência não é observada no espinafre da Nova Zelândia, pois as folhas mais jovens desse vegetal apresentam níveis de carotenóides levemente superiores aos das folhas maduras (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2005). A partir dessas observações é possível hipotetizar que a variação do conteúdo de carotenóides entre as espécies *C. luxurians* e *C. crenulata* também pode ter sido atribuída à coleta de macroalgas em diferentes estágios de desenvolvimento, ou seja, pode ter ocorrido alternância entre algas jovens e adultas coletadas ao longo dos doze meses de pesquisa.

Os teores de carotenóides provitamina A, retinol equivalente (RE) e as porções para que as duas espécies de *Cryptonemia* (*C. luxurians* e *C. crenulata*) desidratadas a 40°C durante 15 horas, analisadas neste trabalho, sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina A estão apresentados na Tabela 2.

Em *C. luxurians*, RE variou de  $0,180 \pm 0,027$  a  $0,572 \pm 0,063 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  peso seco. Para que *C. luxurians* fosse considerada fonte excelente ou útil de vitamina A, as porções a serem ingeridas deveriam ser de no mínimo 524 g ou 175 g, em fevereiro, respectivamente. Estes resultados foram similares aos obtidos para as macroalgas *Bryothamnion seaforthii* (PIRES et al.; 2008) e *Hypnea cervicornis* (MACIEL DA SILVA, 2003), entretanto, maiores que os observados nas algas vermelhas *Corallina officinalis*, *C. elongata* e *Jania* sp.

(PALERMO; GROS; SELDES, 1991) e *Gracilaria changgi* (NORZIAH; CHIANG, 2000).

O RE em *C. crenulata* permaneceu dentro do intervalo de  $0,093 \pm 0,024$  a  $0,265 \pm 0,036 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  peso seco. Para que *C. crenulata* fosse considerada fonte excelente ou útil de vitamina A, as porções ingeridas dessa alga deveriam ser muito grandes, 1.132 g ou 377 g, entretanto estas porções foram menores que aquelas obtidas em *Acantophora specifera*, *Gracilaria domingensis* e *Amansia multifida* (NEPOMUCENO, 2008).

Apesar de as duas espécies analisadas neste trabalho pertencerem ao mesmo gênero, foi possível verificar uma variação nos teores de carotenóides provitamina A ao longo do ano, mas quando eles foram analisados por estação do ano, a variação foi muito pequena. De uma maneira geral, as duas espécies apresentaram maiores teores de  $\beta$ -caroteno que  $\alpha$ -caroteno, com exceção dos meses de julho para *C. luxurians* e outubro, para *C. crenulata*.

Tabela 2 - Teores de retinol equivalente e porções para que as espécies de *Cryptonemia* coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas, sejam consideradas fonte excelente ou útil.

Meses	<i>C. luxurians</i>			<i>C. crenulata</i>		
	Retinol equivalente ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso seco)	Fonte excelente (g peso seco)	Fonte útil (g peso seco)	Retinol equivalente ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso seco)	Fonte excelente (g peso seco)	Fonte útil (g peso seco)
Jan	0,524 $\pm$ 0,060	573	191	0,123 $\pm$ 0,024	2.438	813
Fev	0,572 $\pm$ 0,034	524	175	0,237 $\pm$ 0,027	1.265	422
Mar	0,368 $\pm$ 0,065	816	272	0,173 $\pm$ 0,025	1.739	580
Abr	0,521 $\pm$ 0,022	575	192	0,181 $\pm$ 0,129	1.657	552
Mai	0,443 $\pm$ 0,026	677	226	0,096 $\pm$ 0,042	3.139	1.046
Jun	0,379 $\pm$ 0,057	793	264	0,093 $\pm$ 0,024	3.243	1.081
Jul	0,292 $\pm$ 0,041	1.028	343	0,265 $\pm$ 0,036	1.132	377
Ago	0,464 $\pm$ 0,025	647	216	0,143 $\pm$ 0,056	2.104	701
Set	0,324 $\pm$ 0,070	926	309	0,140 $\pm$ 0,036	2.141	714
Out	0,180 $\pm$ 0,027	1.667	556	0,153 $\pm$ 0,038	1.960	653
Nov	0,297 $\pm$ 0,113	1.009	336	0,219 $\pm$ 0,028	1.370	457
Dez	0,214 $\pm$ 0,063	1.404	468	0,132 $\pm$ 0,051	2.266	755

### 4.3 Vitamina E

Com o sistema cromatográfico empregado neste trabalho o tempo de retenção do padrão de  $\alpha$ -tocoferol foi igual a  $5,07 \pm 0,08$  min ( $n = 26$ ). O composto identificado como  $\alpha$ -tocoferol presente nos extratos de alga apresentou tempo de retenção de  $5,07 \pm 0,09$  min ( $n = 130$ ). Para o padrão de  $\delta$ -tocoferol foi obtido tempo de retenção igual a  $4,15 \pm 0,06$  min ( $n = 26$ ), enquanto que o composto identificado como  $\delta$ -tocoferol presente nos extratos de alga apresentou tempo de retenção de  $4,17 \pm 0,10$  min ( $n = 122$ ). Através da aplicação do teste  $t$  de Student para dados independentes foi comprovada a inexistência de diferença estatisticamente significativa entre esses valores ( $p \geq 0,05$ ) para os dois compostos.

Na Tabela 3 estão apresentados os teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol em *C. luxurians* e *C. crenulata* por mês e por estação do ano.

Em *C. luxurians* foi detectado  $\alpha$ -tocoferol em todos os meses de coleta, exceto em novembro. Os teores deste isômero variaram de  $14,113 \pm 3,023$  a  $324,130 \pm 4,644$   $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 3, Figura 10).

O teor máximo de  $\alpha$ -tocoferol foi maior que aqueles encontrados nas rodofíceas *Acantophora specifera* e *Pterocladia americana*; nas feofíceas *Spatoglossum schoeden* e *Lobophora variegata*; porém menor que em *Amansia multifida* e *Gracilaria domingensis* (SANTIAGO, 2008). Similarmente, o teor mínimo foi menor que aqueles determinados em vinte espécies de macroalgas vermelhas *in natura* coletadas na Praia do Guajiru, Ceará (SOUSA et al., 2008).

Tabela 3 - Teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) por mês e por estação do ano, nas espécies do gênero *Cryptonemia* coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007, e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas.

Meses	Estações do ano	<i>C. luxurians</i>		<i>C. crenulata</i>	
		$\alpha$ -tocoferol	$\delta$ -tocoferol	$\alpha$ -tocoferol	$\delta$ -tocoferol
Dez		197,580 $\pm$ 22,883	112,072 $\pm$ 4,277	14,839 $\pm$ 0,772	13,593 $\pm$ 0,963
Jan	Verão	128,094 $\pm$ 2,884	168,347 $\pm$ 11,999	12,239 $\pm$ 2,301	10,363 $\pm$ 3,369
Fev		104,851 $\pm$ 10,984	168,891 $\pm$ 0,250	11,973 $\pm$ 2,993	12,975 $\pm$ 1,471
	$\bar{x} \pm s$	<b>142,721 <math>\pm</math> 47,874</b>	<b>149,770 <math>\pm</math> 32,648</b>	<b>12,684 <math>\pm</math> 1,902</b>	<b>12,310 <math>\pm</math> 1,715</b>
Mar		109,366 $\pm$ 5,500	ND*	11,982 $\pm$ 0,915	13,885 $\pm$ 1,736
Abr	Outono	35,052 $\pm$ 11,737	108,246 $\pm$ 0,609	10,779 $\pm$ 0,517	13,194 $\pm$ 2,488
Mai		17,788 $\pm$ 0,741	13,459 $\pm$ 0,561	28,399 $\pm$ 1,696	9,854 $\pm$ 1,311
	$\bar{x} \pm s$	<b>78,166 <math>\pm</math> 52,293</b>	<b>60,853 <math>\pm</math> 67,025</b>	<b>17,053 <math>\pm</math> 9,844</b>	<b>12,311 <math>\pm</math> 2,156</b>
Jun		16,169 $\pm$ 0,99	13,343 $\pm$ 1,583	23,799 $\pm$ 1,349	8,092 $\pm$ 0,886
Jul	Inverno	14,113 $\pm$ 3,023	10,098 $\pm$ 2,569	30,623 $\pm$ 1,840	12,339 $\pm$ 1,170
Ago		15,658 $\pm$ 1,217	16,531 $\pm$ 0,925	22,428 $\pm$ 9,078	9,137 $\pm$ 2,796
	$\bar{x} \pm s$	<b>15,395 <math>\pm</math> 1,172</b>	<b>14,132 <math>\pm</math> 4,502</b>	<b>25,617 <math>\pm</math> 4,390</b>	<b>9,645 <math>\pm</math> 2,342</b>
Set		130,947 $\pm$ 10,855	146,422 $\pm$ 1,309	123,256 $\pm$ 7,729	113,593 $\pm$ 3,741
Out	Primavera	324,130 $\pm$ 4,644	161,358 $\pm$ 13,796	120,628 $\pm$ 6,836	123,170 $\pm$ 3,567
Nov		ND*	192,979 $\pm$ 4,277	14,954 $\pm$ 0,864	16,979 $\pm$ 2,096
	$\bar{x} \pm s$	<b>225,496 <math>\pm</math> 133,713</b>	<b>166,920 <math>\pm</math> 23,772</b>	<b>86,279 <math>\pm</math> 61,784</b>	<b>91,050 <math>\pm</math> 65,765</b>

ND\* – não detectado

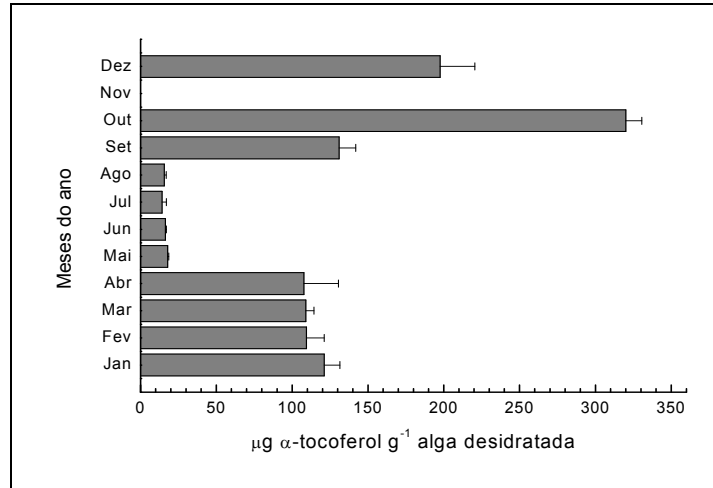


Figura 10 - Teores de  $\alpha$ -tocoferol em *Cryptonemia luxurians* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

Em *C. luxurians* o isômero  $\delta$ -tocoferol foi detectado em todos os meses de coleta, exceto em março. As concentrações variaram entre  $10,098 \pm 2,569$  e  $192,979 \pm 4,277 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco, sendo mais elevadas em janeiro, fevereiro, abril, outubro, novembro e dezembro. No período de maio a setembro as concentrações mantiveram-se abaixo de  $30 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 3, Figura 11).

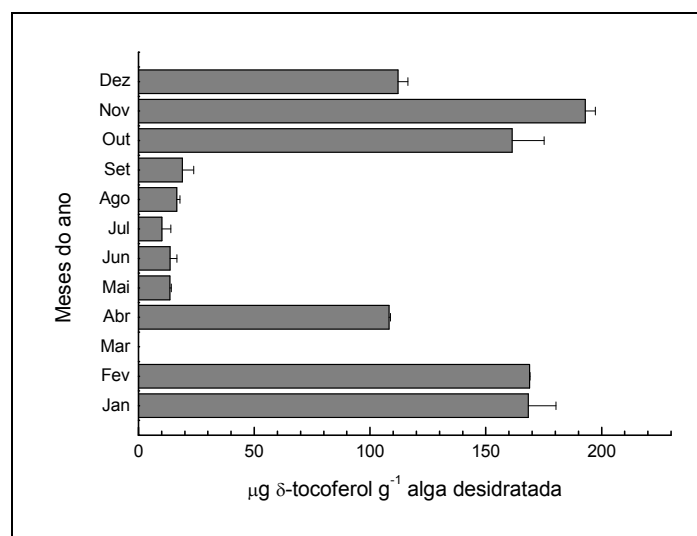


Figura 11 - Teores de  $\delta$ -tocoferol em *Cryptonemia luxurians* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

*C. crenulata* apresentou  $\alpha$ -tocoferol em todos os meses de coleta, com teores máximos em setembro ( $123,256 \pm 7,729 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) e outubro ( $120,628 \pm 6,836 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco). Nos demais meses do ano, as concentrações foram inferiores a  $30 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 3, Figura 12).

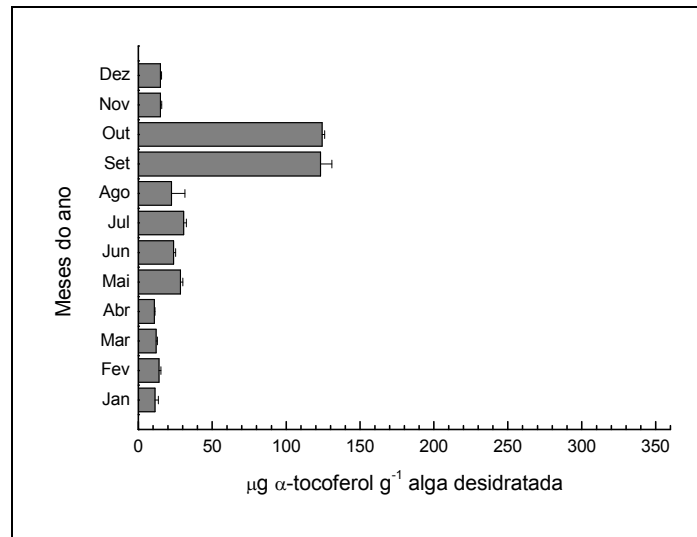


Figura 12 - Teores de  $\alpha$ -tocoferol em *Cryptonemia crenulata* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a  $40^{\circ}\text{C}$  por 15 horas.

Todos os teores de  $\alpha$ -tocoferol presentes em *C. crenulata* foram menores que os obtidos nas macroalgas vermelhas *Chondrus crispus* e *Porphyra laciniata*; e nas pardas *Laminaria* spp. e *Undaria* spp. (USDA, 2008).

O isômero  $\delta$ -tocoferol foi detectado em *C. crenulata* em todos os meses de coleta e exibiu o mesmo padrão de distribuição ao longo do ano, com valores mais elevados em setembro e outubro. Nos demais meses as concentrações foram inferiores a  $20 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (Tabela 3, Figura 13).

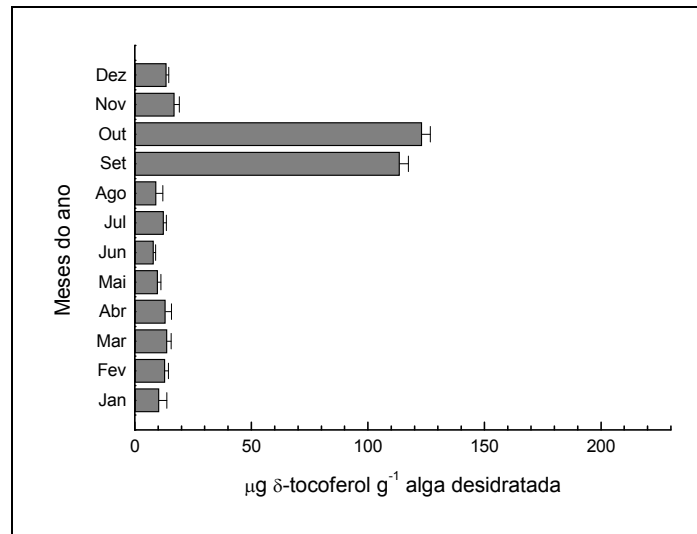


Figura 13 - Teores de  $\delta$ -tocoferol em *Cryptonemia crenulata* coletada na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratada em estufa a 40°C por 15 horas.

*C. crenulata* apresentou teores máximos de  $\delta$ -tocoferol menores que os encontrados nas rodofíceas *Amansia multifida*, *Acantophora specifera* e na feofíceia *Dictyota dichotoma* (SANTIAGO, 2008). Entretanto, estes teores foram aproximadamente oito e dez vezes, respectivamente, maiores que aqueles obtidos nas macroalgas vermelhas *Carpopeltis flabellata* e *Neodilsea yendoana*; e doze vezes maior que na clorofíceia *Enteromorpha prolifera* (MYASHITA; TAKAGI, 1987).

Kanematsu et al. (1983) reportaram a ocorrência de  $\delta$ -tocoferol como o tocoferol majoritário em algumas espécies de macroalgas vermelhas, entretanto, as concentrações encontradas no presente estudo em *C. luxurians* e *C. crenulata* foram consideravelmente menores que as obtidas pelos autores supracitados.

Ito; Hori (1989) afirmaram que os teores das vitaminas A, B12, C e E nas diferentes espécies de algas marinhas se assemelham àqueles encontrados em vegetais superiores. De acordo com os resultados obtidos no presente

estudo, a maioria dos teores de  $\alpha$ -tocoferol em ambas as espécies analisadas superaram consideravelmente os teores em alimentos comumente consumidos na dieta humana, como por exemplo, alho ( $9,4 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco), tomate ( $3,2 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) e lentilha ( $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) (CHING; MOHAMED, 2001).

Apesar de Burtin (2003) ressaltar as algas pardas como as melhores fontes de vitamina E, os resultados do presente estudo indicaram que as macroalgas pertencentes ao gênero *Cryptonemia* forneceram teores de vitamina E ( $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol) superiores àqueles encontrados em várias espécies de macroalgas pardas (JENSEN, 1969; MIYASHITA; TAKAGI, 1987). De maneira similar, Sousa et al. (2008) observaram que as algas verdes foram as que apresentaram maiores teores de  $\alpha$ -tocoferol, seguidas das pardas e vermelhas.

Um número relativamente pequeno de trabalhos tem abordado a ocorrência de vitamina E em algas marinhas (JENSEN, 1969; MIYASHITA; TAKAGI, 1987; SAKER-SAMPAIO, 1997; LE TUTOUR et al., 1998; SÁNCHEZ-MACHADO; LÓPEZ-HERNÁNDEZ; PASEIRO-LOSADA, 2002) se comparado com os dados disponíveis de vegetais comumente consumidos na alimentação humana (CHING; MOHAMED, 2001; BURNS; FRASER; BRAMLEY, 2003). Entretanto, ao longo dos últimos anos no Estado do Ceará, estudos pioneiros foram realizados objetivando a elucidação do potencial das macroalgas marinhas como fonte de nutrientes, em especial das vitaminas A e E (MACIEL DA SILVA, 2003; NEPOMUCENO, 2008; PIRES et al., 2008; SANTIAGO, 2008; SOUSA et al., 2008).

Miyashita; Takagi (1987) estudaram a variação sazonal de tocoferóis ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol) em doze espécies de macroalgas marinhas

japonesas. Dentre os isômeros da vitamina E analisados,  $\alpha$ -tocoferol foi considerado o tocoferol majoritário representando mais de 90% dos tocoferóis totais. As algas pardas apresentaram os maiores teores (1,89 a 51,56  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco), seguidas pelas vermelhas (0,02 a 2,21  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco) e verdes (0,07 a 0,15  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco). Segundo os autores, a variação sazonal nos conteúdos de tocoferóis nas algas pardas *Hizikia fusiformis* e *Anulipus japonicus* foi atribuída às mudanças ocorridas nos parâmetros ambientais.

Durmaz et al. (2008) investigaram a variação no conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol em três espécies de macroalgas marinhas coletadas na Baía de Sinop, na Turquia, em outubro de 2004. Os resultados obtidos demonstram uma variação significativa entre as espécies analisadas. O maior teor foi detectado em *Cystoseira* spp. ( $17,10 \pm 0,10 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco), enquanto que *Zostera* spp. ( $9,90 \pm 0,10 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) e *Ulva* spp. ( $9,10 \pm 0,50 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) apresentaram teores semelhantes. Para os autores as espécies analisadas poderiam ser utilizadas como fonte suplementar de vitamina E. Comparando-se os teores máximos de  $\alpha$ -tocoferol encontrados em ambas as espécies analisadas neste trabalho, com aqueles reportados por Durmaz et al. (2008), *C. luxurians* e *C. crenulata* apresentaram teores de  $\alpha$ -tocoferol aproximadamente vinte vezes e sete vezes maiores que em *Cystoseira* spp.

Saker-Sampaio (1997) detectou  $\alpha$ -tocoferol na rodófito *Palmaria palmata* em todos os meses de coleta, com exceção da amostra coletada em janeiro, e as concentrações mantiveram-se no intervalo de 0,6 a 1,5  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco. O teor de  $\alpha$ -tocoferol em *Laminaria digitata* foi variou de 0,6 a 2,6  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso fresco, exceto nos meses de agosto e setembro, quando foram

observados teores mais elevados. Entretanto, os teores de  $\alpha$ -tocoferol em *L. digitata* e *P. palmata* foram menores que os observados em *C. luxurians* e *C. crenulata* investigadas no presente estudo.

A vitamina E é termoestável na ausência de oxigênio, porém se oxida lentamente por ação do oxigênio atmosférico, ação essa acelerada pela exposição à luz, calor, álcalis, gorduras rançosas e presença de íons metálicos. A perda de tocoferol é natural e mínima durante o armazenamento dos óleos vegetais, porém pode ser considerável durante a elevação da temperatura (MACHLIN, 1991; BRAMLEY et al., 2000; RONCADA, 2000).

De acordo com Bramley et al. (2000), os alimentos submetidos a diferentes condições de processamento, tais como desidratação, floculação, cocção, refinamento, clareamento, esterilização entre outros, podem apresentar alterações significativas em seus conteúdos de vitamina E. De acordo com Burns; Fraser; Bramley (2003), as perdas de  $\alpha$ -tocoferol em vegetais cozidos podem ser superiores a 55%. Entretanto, Bernhardt; Schlich (2006) não relataram perdas significativas no conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol em vegetais como o brócolis e o pimentão vermelho submetidos a diferentes métodos de cocção.

Park; Kim (2008) investigaram os efeitos da temperatura e oxigênio sobre os teores de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol e  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocotrienol presentes no óleo de arroz, tendo observado que os teores dos compostos analisados diminuíram proporcionalmente à medida que o tempo de exposição ao aquecimento a 95°C aumentou (4, 8, 12 e 24 horas). Após 24 horas de aquecimento os teores de  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocotrienol,  $\gamma$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocotrienol decresceram 27,0%, 46,4%, 32,0% e 47,4%, respectivamente. Dentre todos os isômeros analisados,

$\gamma$ -tocotrienol exibiu a mais rápida degradação (14,9%) dentro das oito primeiras horas, comparados com o  $\gamma$ -tocoferol, o qual decresceu 13,5% considerando o mesmo período de duração. Os níveis de oxigênio também demonstraram grande influência sobre a diminuição dos teores desses compostos. Quando expostos a 2% de oxigênio,  $\gamma$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocotrienol apresentaram perdas de 20% e 29%, respectivamente. Entretanto, na ausência de oxigênio não foram observadas perdas nos teores dos isômeros mesmo após 4 horas de exposição a 95°C.

Estudos sobre os efeitos de diferentes condições de processamento térmico sobre o conteúdo de vitamina E em algas marinhas ainda são escassos, porém alguns dos dados disponíveis evidenciaram influência significativa da temperatura sobre as perdas nos teores de tocoferóis (SÁNCHEZ-MACHADO; LÓPEZ-HERNÁNDEZ; PASEIRO-LOSADA, 2002; PIRES, 2007).

Sánchez-Machado; López-Hernández; Paseiro-Losada (2002) determinaram o teor de  $\alpha$ -tocoferol na macroalga parda *Himanthalia elongata* submetida a duas condições de processamento; desidratação a 45°C por 24 horas e esterilização a 112°C por 40 min. Os resultados obtidos demonstraram que as macroalgas desidratadas apresentaram teor de  $\alpha$ -tocoferol 2,8 vezes maior que nas amostras esterilizadas. Segundo os autores, a diferença no teor de vitamina E pode ser atribuída à temperatura do processamento, variação sazonal das algas coletadas e/ou variação entre os locais de coleta.

Similarmente, Pires (2007), em estudo sobre a variação sazonal de  $\alpha$ -tocoferol em cinco espécies de macroalgas verdes, observou perdas significativas nos conteúdos de  $\alpha$ -tocoferol nas amostras desidratadas em

estufa a 40°C por 15 horas. As perdas em *Caulerpa sertularioides* e *C. prolifera* variaram de 63% a 91%; em *C. cupressoides* e *C. mexicana*, de 33% a 97%; e em *C. racemosa*, de 26% a 88%.

Os teores de tocoferol equivalente (TE) e as porções para que as duas espécies de *Cryptonemia* desidratadas a 40°C durante 15 horas, analisadas neste trabalho, sejam consideradas fontes excelentes ou úteis de vitamina E estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teores de tocoferol equivalente e porções para que as espécies de *Cryptonemia* coletadas na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2007 e desidratadas em estufa a 40°C por 15 horas, sejam consideradas fonte excelente ou útil.

Meses	<i>C. luxurians</i>			<i>C. crenulata</i>		
	$\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso seco)	Fonte excelente (g peso seco)	Fonte útil (g peso seco)	$\alpha$ -tocoferol equivalente ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso seco)	Fonte excelente (g peso seco)	Fonte útil (g peso seco)
Jan	12,119 $\pm$ 1,022	41	12	1,124 $\pm$ 0,230	445	133
Fev	10,939 $\pm$ 1,181	46	14	1,197 $\pm$ 0,299	418	125
Mar	10,900 $\pm$ 0,531	46	14	1,198 $\pm$ 0,092	417	125
Abr	10,771 $\pm$ 2,274	46	14	1,078 $\pm$ 0,052	464	139
Mai	1,779 $\pm$ 0,074	281	84	2,840 $\pm$ 0,170	176	53
Jun	1,641 $\pm$ 0,065	305	91	2,380 $\pm$ 0,135	210	63
Jul	1,411 $\pm$ 0,302	354	106	3,062 $\pm$ 0,184	163	49
Ago	1,566 $\pm$ 0,122	319	96	2,243 $\pm$ 0,905	223	67
Set	13,095 $\pm$ 1,086	38	11	12,326 $\pm$ 0,773	41	12
Out	32,005 $\pm$ 1,053	16	5	12,063 $\pm$ 0,684	41	12
Nov	ND*	-	-	1,495 $\pm$ 0,086	334	100
Dez	19,758 $\pm$ 2,288	25	8	1,484 $\pm$ 0,077	337	101

ND\*= não detectado

O tocoferol equivalente (TE) em *C. luxurians* variou de  $1,411 \pm 0,302$  a  $32,005 \pm 1,053 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  peso seco. Para que essa espécie fosse considerada fonte excelente ou útil de vitamina E, as porções ingeridas deveriam ser no mínimo de 16 g ou 5 g, respectivamente. *C. crenulata* apresentou TE variando de  $1,078 \pm 0,052$  a  $12,326 \pm 0,773 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  peso seco. Assim, para que ela fosse considerada fonte excelente ou útil de vitamina E, as porções a serem ingeridas deveriam ser 41 g e 12 g, respectivamente (Tabela 4).

Quanto às porções a serem ingeridas diariamente, as rodófitas analisadas no presente trabalho podem ser consideradas fontes em potencial de vitamina E. Por exemplo, as porções diárias de *Palmaria palmata* ou *Laminaria digitata* necessárias para que elas fossem consideradas fontes excelentes de vitamina E foram superiores a 8 kg peso fresco (SAKER-SAMPAIO, 1997).

#### 4.4 Análise de agrupamento

Para concluir a análise dos resultados dos teores de carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) e dos tocoferóis ( $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol), em *C. luxurians* e *C. crenulata*, observados nos meses de janeiro a dezembro de 2007, agrupados em quatro estações do ano para o Hemisfério Sul: verão – dezembro a fevereiro, outono – março a maio, inverno – junho a agosto, e primavera – setembro a novembro, de acordo com Mendonça; Danni-Oliveira (2007), observou-se na análise de agrupamento, com um ponto de corte em 10%, a formação de dois grupos: grupo “A”, formado somente pela estação

primavera e o grupo “B”, formado pelas outras estações, ou seja, verão, outono e inverno (Figura 14).

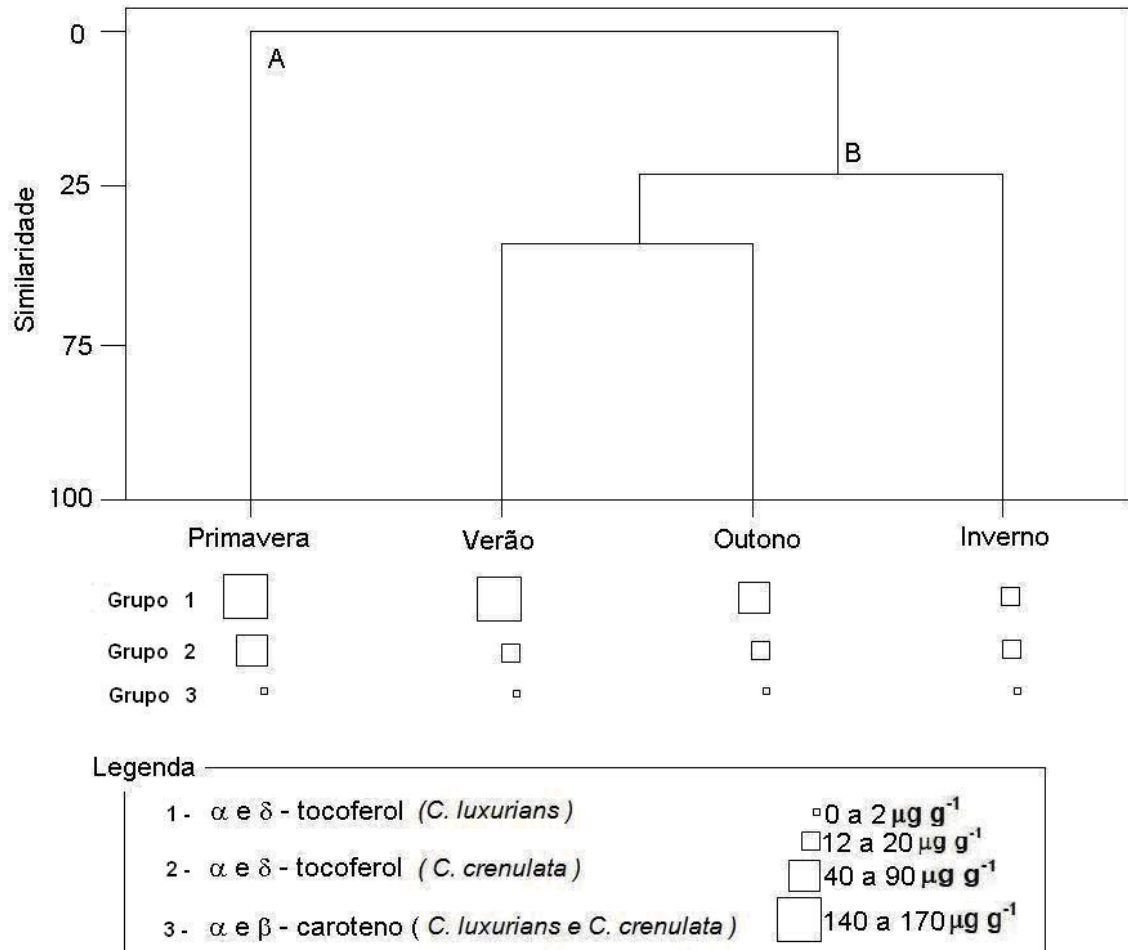


Figura 14 - Dendrograma para análise hierárquica de agrupamentos das estações do ano pelo método de Ward e agrupamento das espécies de macroalgas pertencentes ao gênero *Cryptonemia* utilizando a análise de agrupamento do tipo k médias.

O grupo “A” (primavera) foi caracterizado pelas elevadas concentrações de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol encontradas em *C. luxurians* e *C. crenulata*, ficando isolada das demais estações, que demonstraram um comportamento mais homogêneo quanto às quantidades desses compostos. O grupo “B” (verão, outono e inverno), quando comparado ao “A”, apresentou níveis inferiores dos compostos por alga, principalmente no inverno.

Analisando os três agrupamentos estabelecidos para os compostos (grupos “1”, “2” e “3”), em conjunto com as variações ocorridas sazonalmente, foi possível verificar que as quantidades de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol em *C. luxurians* (Grupo “1”) foram superiores aos outros compostos, principalmente nas estações primavera e verão. Os conteúdos de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol observados em *C. crenulata* (Grupo “2”) apresentaram valores mais expressivos na primavera. Distintamente, o Grupo “3”, que agregou  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno nas duas espécies de alga estudadas, não exibiu variação sazonal em suas quantidades.

Com base nestas informações constatou-se que os teores de tocoferóis apresentaram variação mais proeminente, tanto entre as estações do ano como entre as espécies, quando comparados com os teores de carotenóides provitamina A, os quais demonstraram maior estabilidade nas quantidades encontradas por espécie e estação do ano. É importante salientar que as causas dessas diferenças podem ser atribuídas a inúmeros fatores, tendo em vista que o padrão da distribuição de vitaminas nas algas marinhas varia de acordo com a espécie analisada, distribuição no ambiente, estação do ano, estágio de desenvolvimento da planta e parâmetros ambientais (MABEAU; FLEURENCE, 1993; JENSEN, 1993); porém, somente através de estudos subsequentes será possível determinar quais desses fatores e como eles interferem sobre a variação dos teores de vitamina E e carotenóides provitamina A nas espécies analisadas.

## 5 CONCLUSÕES

No presente estudo, as condições cromatográficas utilizadas foram adequadas para a identificação e a quantificação simultânea dos compostos investigados ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol), nas macroalgas marinhas vermelhas *C. luxurians* e *C. crenulata*.

Os carotenóides provitamina A foram detectados em todas as amostras de ambas as espécies analisadas, ao longo dos meses de coleta e, de uma maneira geral, os teores de  $\beta$ -caroteno foram maiores que os de  $\alpha$ -caroteno. Das duas espécies estudadas, *C. luxurians* apresentou maiores teores de carotenóides provitamina A.

Para ser considerada fonte excelente e útil de vitamina A, as porções de *C. luxurians* a serem ingeridas seriam menores que àquelas de *C. crenulata*, conseqüentemente, *C. luxurians* foi eleita melhor fonte de vitamina A.

Os teores de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol apresentaram variação ao longo dos meses de coleta. As concentrações de  $\alpha$ -tocoferol foram maiores do que as de  $\delta$ -tocoferol, e *C. luxurians* apresentou maiores teores de ambos os tocoferóis.

A partir dos teores de tocoferol equivalente obtidos no presente estudo, a macroalga *C. luxurians* foi considerada uma melhor fonte de vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol). Quanto às porções a serem ingeridas diariamente, as rodófitas analisadas no presente trabalho podem ser consideradas fontes em potencial de vitamina E.

Com base nas porções diárias para fornecerem 50% da IDR de vitaminas, as macroalgas marinhas analisadas possivelmente são melhores fontes de vitamina E do que de vitamina A.

Através da análise de agrupamento foi constatado que os teores de tocoferóis apresentaram variação mais acentuada, tanto entre as estações do ano como entre as espécies, quando comparados com os teores de carotenóides provitamina A, os quais demonstraram maior estabilidade nas quantidades encontradas por espécie e estação do ano.

## 6 REFERÊNCIAS

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

AULDRIDGE, M. E., McCARTY, D. R.; KLEE, H. J. Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 9, n. 3, p. 315-321, June 2006.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoids of endive and New Zealand spinach as affected by maturity, season and minimal processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 18, n. 8, p. 845–855, Dec. 2005.

BARROS, L.; CORREIA, D. M.; FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; SANTOS-BUELGA, C. Optimization of the determination of tocopherols in *Agaricus* sp. edible mushrooms by a normal phase liquid chromatographic method. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n. 4, p. 1046-1050, Oct. 2008.

BATISTA, E. S.; COSTA, A. G. V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, p. 525-535, set.-out. 2007.

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

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

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 de setembro de 2005.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Vitamin E: The shrew waiting to be tamed. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 46, p. 543–554, Mar. 2009.

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

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. (Eds): **Carotenoids, Volume 4: Natural functions**. Basel: Birkhauser Verlag, 2008, 370 p. Disponível em: <<http://gigapedia.com/items/211818/carotenoids--vol--4--natural-functions--carotenoids->> Acesso em: 12 abr. 2009.

BUCKLEY, D. J.; MORRISSEY, P. A.; GRAY, J. I. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 73, n. 10, p. 3122-3130, Oct. 1995.

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, Sept.-Oct. 2003. Disponível em: <[http://ejeafche.uvigo.es/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=70&Itemid=33](http://ejeafche.uvigo.es/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=70&Itemid=33)> Acesso em: 11 abr. 2009.

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

CARNICAS, E.; JIMÉNEZ, C.; NIELL, F. X. Effects of changes of irradiance on the pigment composition of *Gracilaria tenuistipitata* var. liui Zhang et Xia. **Journal of Photochemistry and Photobiology B - Biology**, Lausanne, v. 50, n. 2-3, p. 149-158, June 1999.

CARVALHO, C. R. L. **Determinação de isômeros geométricos de alguns carotenóides provitamínicos A por cromatografia líquida de alta eficiência**. 1996. 141 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

CHAN, C. X.; HO, C. L.; PHANG, S. M. Trends in seaweed research. **Trends in Plant Science**, London, v. 11, n. 4, p. 165-166, Apr. 2006.

CHANDINI, S. K., GANESAN, P.; BHASKAR, N. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 2, p. 707–713, Mar. 2008.

CHING, L. S.; MOHAMED, S. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 6, p. 3101-3105, May 2001.

CHO, E.Y.; HANKINSON, S. E.; ROSNER, B.; WILLETT, W. C.; COLDITZ, G. A. Prospective study of lutein/zeaxanthin intake and risk of age-related macular degeneration. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 87, n. 6, p. 1837-1843, June 2008.

CHRISTEN, Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 71, n. 2, p. 621S-629S, Feb. 2000.

CHUN, J.; LEE, J.; YE, L.; EXLER, J.; EITENMILLER, R. R. Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 2-3, p. 196–204, Mar.-May 2006.

CIOLA, R. Cromatografia. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos da cromatografia a Líquido de Alto Desempenho – HPLC**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 1, p. 1-7.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. cap. 9, p. 273-397.

COYNE, T.; IBIEBELE, T. I.; BAADE, P. D.; DOBSON, A.; McCLINTOCK, C.; DUNN, S.; LEONARD, D.; SHAW, J. Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 82, n. 3, p. 685-693, Sept. 2005.

COZZOLINO, S. M. In: \_\_\_\_\_. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri, Manole, 2007. cap. 8, p. 220-292.

DAWES, C. J. **Marine Botany**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1998, p. 480.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins and betalains – characteristics, biosynthesis, processing and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

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

DONALDSON, M. S. Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 19-39, Oct. 2004.

DÖRMANN, P. Functional diversity of tocochromanols in plants. **Planta**, New York, v. 225, n. 2, p. 269-276, Jan. 2007.

DURMAZ, Y.; DUYAR, H. A.; GÖKPINAR, S.; TASKAYA, L.; ÖĞRETMEN, Y. O.; BANDARRA, N. M.; NUNES, M. L. Fatty acids,  $\alpha$ -tocopherol and total pigment contents of *Cystoseira* spp., *Ulva* spp. and *Zostera* spp. from Sinop Bay (Turkey). **International Journal of Natural and Engineering Sciences**, v. 2, n. 3, p. 111-114, 2008.

ETMINAN, M.; GILL, S. S.; SAMII, A. Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinsons disease: a meta-analysis. **Movement Disorders**, Hoboken, v. 20, p. S70-S70, suppl.10, meeting abstract P233, 2005.

FAN, H.; BARWELL, C. J.; ROGERS, D. J.; SAKER-SAMPAIO, S. Chinese algal food products as sources of micronutrients: carotenoids. In: Institute of Biomedical Science (IBMS) Congress, 2005, Birmingham, UK **Proceedings...** IBMS, 2005.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, 2009. Disponível em:  
<<http://www.fao.org/docrep/011/i0250e/i0250e00.htm>> Acesso em: 29 abr. 2009.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, jan.-mar. 1997.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 228-265, May 2004.

GOMES, F. S. Carotenóides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 5, p. 537-548, set.-out. 2007.

GONZÁLEZ, M. S. La astaxantina y su biosíntesis. **Contacto S**, v. 36, p. 61-64, 2000. Disponível em:  
<<http://www.lztapalapa.uam.mx/iztapala.www/publicacion/contactos/n36ne/astaxa.pdf>> Acesso em: 12 fev. 2009.

GOODWIN, T. The Biochemistry of the Carotenoids. In: \_\_\_\_\_. **Algae**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1980. chapter 7, p. 207-256.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. 5. ed., Porto Alegre: Bookman, 2005. 593 p.

HALLIWELL, B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? **Biochemical Journal**, London, v. 401, p. 1-11, Part 1, Jan. 2007.

HAUGAN, J. A.; LIAAEN-JENSEN, S. Algal carotenoids 54. Carotenoids of brown algae (Phaeophyceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 31-41, Jan. 1994.

HEBER, D.; LU, Q. Y. Overview of mechanisms of action of lycopene. **Experience Biology and Medicine**, Maywood, v. 227, n. 10, p. 920-923, Nov. 2002.

HOSAKAWA, M.; BHASKAR, N.; SASHIMA, T.; MIYASHITA, K. Fucoxanthin as a bioactive and nutritionally beneficial marine carotenoid: a review. **Carotenoid Science**, v. 10, n. 1, p. 15–28, 2006.

IOM – U. S. INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary intake for vitamin C, vitamin E, selenium e carotenoids. Washington, D. C.: **National Academic Press**; 2000. Disponível em: <<http://www.nap.edu/openbook/03306935/htm>> Acesso em: 20 abr. 2009.

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

JENSEN, A. Present and future needs for alga and algal products. **Hydrobiology**, Amsterdam, v. 260-261, n. 1, p. 15-23, June 1993.

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

JOHNSON, E. A.; AN, G. H. Astaxanthin from microbial sources. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 11, n. 4, p. 297-326, 1991.

KANEMATSU, H.; USHIGUSA, T.; MARUYAMA, T.; NIYA, I.; MATSUMOTO, T. Contents and compositions of tocopherols in fish, shellfish, other marine animals and seaweeds. **Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science**, v. 36, p. 239-245, 1983.

KATSIKI, N.; MANES, C. Is there a role for supplemented antioxidants in the prevention of atherosclerosis? **Clinical Nutrition**, Midlothian, v. 28, n. 1, p. 3–9, Feb. 2009.

KHACHIK, F.; CARVALHO, L.; BERNSTEIN, P. S.; MUIR, G. J.; ZHAO, D. Y.; KATZ, N. B. Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 227, n. 10, p. 845-851, Nov. 2002.

KOPSELL, D. A.; KOPSELL, D. E. Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. **Trends in Plant Science**, London, v. 11, n. 10, p. 499-507, Oct. 2006.

KUHAD, A.; CHOPRA, K. Attenuation of diabetic nephropathy by tocotrienol: involvement of NFkB signaling pathway. **Life Sciences**, Oxford, v. 84, n. 9-10, p. 296-301, Feb. 2009.

LAHAYE, M.; BRUNEL, M.; BONNIN, E. Fine chemical structure analysis of oligosaccharides produced by an ulvan-lyase degradation of the water-soluble cell-wall polysaccharides from *Ulva* sp. (Ulvales, Chlorophyta). **Carbohydrate Research**, Oxford, v. 304, n. 3-4, p. 325-333, Nov. 1997.

LANDRUM, J. T.; BONE, R. A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 385, n. 1, p. 28-40, Jan. 2001.

LEE, S. B.; LEE, J. Y.; SONG, D. G.; PAN, C. H.; NHO, C. W.; KIM, M. C.; LEE, E. H.; JUNG, S. H.; KIM, H. S.; KIM, Y. S.; UM, B. H. Cancer chemopreventive effects of Korean seaweed extracts. **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 17, n. 3, p. 613-622, June 2008.

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

LIAAEN-JENSEN, S. Marine carotenoids selected topics. **New Journal of Chemistry**, Paris, v. 14, n. 10, p. 747-759, Oct. 1990.

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

LINS, R. T. **Determinação de tocoferóis e carotenóides em frutas amazônicas**: implantação de uma metodologia. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro Tecnológico, Universidade Federal do Pará, Belém, 2006.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, Suppl. S, Dec. 2004.

LORBAN, C. S.; HARRISON, P. J.; DUNCAN, M. J. **Cambridge University Press**, Cambridge-London-New York-New Rochelle-Melbourne-Sydney 1985. 242 p. Disponível em: <<https://commerce.metapress.com/content/026571051071222w/resource-secured/?target=fulltext.pdf&sid=ynjfhvfdvk3oyo45f1fukw45&sh=www.springerlink.com>> Acesso em: 17 jun. 2009

MABEAU, S.; FLEURENCE, J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. **Trends in Food and Technology**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 103-107, Apr. 1993.

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

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

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

MAEDA, H.; SONG, W.; SAGE, T. L.; DELLAPENNA, D. Tocopherols play a crucial role in low-temperature adaptation and phloem loading in Arabidopsis. **Plant Cell**, Rockville, v. 18, n. 10, p. 2710–2732, Oct. 2006.

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

MATSUKAWA, R.; DUBINSKY, Z.; KISHIMOTO, E.; MASAKKI, K.; MASUDA, Y.; TAKEUCHI, T.; CHIHARA, M.; YAMAMOTO, Y.; NIKI, E.; KARUBE, I. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 9, n. 1, p. 29-35, 1997.

McHUGH, D. J. **A guide to the seaweed industry**. FAO Fisheries Technical Paper n. 441. 105 p. Rome, 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 30 jul. 2008.

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

MENDONÇA, F.; DANNI-OLIVEIRA, I. M. **Climatologia**: noções básicas e climas do Brasil. São Paulo: Oficina de Textos, 2007. 206 p.

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.

MIYAZAWA, T.; SHIBATA, A.; SOOKWONG, P.; KAWAKAMI, Y.; EITSUKA, T.; ASAI, A.; OIKAWA, S.; NAKAGAWA, K. Antiangiogenic and anticancer potential of unsaturated vitamin E (tocotrienol). **Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v. 20, n. 2, p. 79-86, Feb. 2009.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-112, 2006.

MORGANTI, P. The photoprotective activity of nutraceuticals. **Clinics in Dermatology**, New York, v. 27, n. 2, p. 166–174, Mar.-Apr. 2009.

MORRIS, M. C.; EVANS, D. A.; TANGNEY, C. C.; BIENIAS, J. L.; WILSON, R. S.; AGGARWAL, N. T.; SCHERR, P. A. Relation of the tocopherol forms to incident Alzheimer disease and to cognitive change. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, n. 2, p. 508–514, Feb. 2005.

MUNTEANU, A.; ZINGG, J. M.; AZZI, A. Anti-atherosclerotic effects of vitamin E – myth or reality? **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, Bucharesst, v. 8, n. 1, p. 59–76, Jan.-Mar. 2004.

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

NEPOMUCENO, F. O. **Extração e quantificação de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno em doze espécies de macroalgas marinhas ‘in natura’ coletadas na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará**. 2008. 21 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

NG, W. K.; BAHURMIZ, O. M. The impact of dietary oil source and frozen storage on the physical, chemical and sensorial quality of fillets from market-size red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. **Food Chemistry**, Oxford, v. 113, n. 4, p. 1041–1048, Apr. 2009.

NISHINO, H.; MURAKOSHI, M.; LI, T.; TAKEMURA, M.; KUCHIDE, M.; KANAZAWA, M.; MOU, X. Y.; WADA, S.; MASUDA, M.; OHSAKA, Y.; YOGOSAWA, S.; SATOMI, Y.; JINNO, K. Carotenoids in cancer chemoprevention. **Cancer and Metastasis Reviews**, Dordrecht, v. 21, n. 3-4, p. 257-264, Dec. 2002.

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

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

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

OLSON, J. A. Vitamin A. In: MACHLIN, L. J. (Ed.). **Handbook of Vitamins: nutritional, biochemical, and clinical aspects**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 1-57.

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

OLVERA-RAMÍREZ, R.; RÍOS-LEAL, E.; VICENTE-GARCÍA, V. Manual de técnicas para el cultivo y extracción de bioproductos a partir de microalgas. **ENCB-IPN**. México. 2003, 69 p.

OTTEN, J. J.; HELLWIG, J. P.; MEYERS, L. D. (Eds.). **Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements**. Washington: The National Academic Press, 2006, 560 p. Disponível em:  
<[http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=11537](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=11537) > Acesso em: 17 abr. 2009.

PACKER, L.; OBERMUELLER-JEVIC, U.; KRAEMER, K.; SIES, H. (Eds.). **Carotenoids and retinoids: molecular aspects and health issues**. Champaign: AOCS Press, 2005, 360 p. Disponível em: <<http://xinio.info/?http://rapidshare.com/files/8223256/LPCAR.htm>> Acesso em: 22 abr. 2009.

PÁDUA, M.; FONTOURA, P. S. G.; MATHIAS, A. L. Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 1, p. 49-55, Mar. 2004.

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.

PARK, S. R.; KIM, Y. H. Comparative stability of vitamin E isomers extracted from unsaponifiable fractions of rice bran oil under various temperature and oxygen conditions. **Korean Journal of Plant Resources**, Seoul, v. 21, n. 6, p. 435-439, Dec. 2008.

PIRES, K. M. S. **Avaliação sazonal de carotenóides provitamina A ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno) e vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) em macroalgas marinhas pertencentes à família Caulerpacea (divisão Chlorophyta)**. 2007. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

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

PORRINI, M.; RISO, P.; BRUSAMOLINO, A.; BERTI, C.; GUARNIERI, S.; VISIOLI, F. Daily intake of a formulated tomato drink affects carotenoid plasma and lymphocyte concentrations and improves cellular antioxidant protection. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 93, n. 1, p. 93-99, Jan. 2005.

QUEMENER, B.; LAHAYE, M.; BOBIN-DUBIGEON, C. Sugar determination in ulvans by a chemical-enzymatic method coupled to high performance anion exchange chromatography. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 9, n. 2, p. 179-188, 1997.

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

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

RICCIARELLI, R.; ARGELLATI, F.; PRONZATO, M. A.; DOMENICOTTI, C. Vitamin E and neurodegenerative diseases. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v. 28, n. 5-6, p. 591-606, Oct.-Dec. 2007.

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

RIGOTTI, A. Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v. 28, n. 5-6, p. 423-436, Oct.-Dec. 2007.

RISSO, S.; ESCUDERO, C.; BELCHIOR, S. E.; 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, Sept. 2003.

RIZZO, M. R.; ABBATECOLA, A. M.; BARBIERI, M.; VIETRI, M. T.; CIOFFI, M.; GRELLA, R.; MOLINARI, A. M.; FORSEY, R.; POWELL, J.; PAOLISSO, G. Evidence for anti-inflammatory effects of combined administration of vitamin E and C in older persons with impaired fasting glucose: impact on insulin action. **Journal of the American College of Nutrition**, Clearwater, v. 27, n. 4, p. 505-511, Aug. 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Brazil: a bounty of carotenoid sources. **Sight and Life Newsletter**, Basel, v. 4, p. 3-9, 2002.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. Washington: OMNI Research, 2001. 64 p. Disponível em: <<http://www.ilsa.org/file/carotenoid.pdf>> Acesso em: 29 mai. 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 49, n. 3, p. 38S-47S, Suppl. 1, Sept. 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Critical review of provitamin A determination in plant foods. **Journal of Micronutrient Analysis**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 191–225, 1989.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: **Shelf life of foods and beverages** - chemical, biological, physical and nutritional aspects. Amsterdam: Elsevier Science, 1993. p. 547-589.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; RODRIGUEZ, E. B.; AMAYA-FARFAN, J. Advances in food carotenoid research: chemical and technological aspects, implications in human health. **Malaysian Journal of Nutrition**, Kuala Lumpur, v. 12, n. 1, p. 101-121, Jan. 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 21, n. 6, p. 445-463, Sept. 2008.

RONCADA, M. J. Vitaminas lipossolúveis. In: **Ciências nutricionais**. DUTRA DE OLIVEIRA, J. E. (Ed.). São Paulo: Savier, 2000. p. 167-189.

ROWAN, K. S. The carotenoids. In: **Photosynthetic Pigments of Algae**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 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**, San Diego, v. 17, n. 6, p. 749–765, Dec. 2007.

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

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

SALDEEN, K.; SALDEEN, T. Importance of tocopherols beyond  $\alpha$ -tocopherol: evidence from animal and human studies. **Nutrition Research**, Oxford, v. 25, n. 10, p. 877-899, Oct. 2005.

SANAGI, M. M.; SEE, H. H.; IBRAHIM, W. A. W.; ABU NAIM, A. Determination of carotene, tocopherols and tocotrienols in residue oil from palm pressed fiber using pressurized liquid extraction-normal phase liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 538, n. 1-2, p. 71-76, May 2005.

SANTIAGO, J. G. **Extração e quantificação de  $\alpha$ - e  $\delta$ -tocoferol em macroalgas marinhas “in natura” utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**. 2008. 22 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

SATTLER, S. E.; CHENG, Z. G.; DELLAPENNA, D. From Arabidopsis to agriculture: engineering improved vitamin E content in soybean. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, n. 8, p. 365-367, Aug. 2004.

SATTLER, S. E.; GILLILAND, L. U.; MAGALLANES-LUNDBACK, M.; POLLARD, M.; DELLAPENNA, D. Vitamin E is essential for seed longevity, and for preventing lipid peroxidation during germination. **Plant Cell**, Rockville, v. 16, n. 6, p. 1419–1432, June 2004.

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

SENGER, H.; WAGNER, C.; HERMSMEIER, D.; HOHL, N.; URBIG, T.; BISHOP, N. I. The influence of light-intensity and wavelength on the contents of  $\alpha$ - and  $\beta$ -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.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamin E and vitamin C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315–1321, suppl. 5, Dec. 1995.

SOUSA, M. B.; PIRES, K. M. S.; ALENCAR, D. B.; SAKER- SAMPAIO, S.  $\alpha$ -,  $\beta$ -Caroteno e  $\alpha$ -tocoferol em algas marinhas in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 953-958, 2008.

SOUZA, W. A.; VILAS BOAS, O. M. G. C. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. **Revista Panamericana de Salud Publica**, Washington, v. 12, n. 3, p. 173-178, Sept. 2002.

SQUINA, F. M.; MERCADANTE, A. Z. Análise, por CLAE, de carotenóides de cinco linhagens de *Rhodotorula*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 308-318, jul.-set. 2003.

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

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

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

STOCKER, R. Vitamin E. **Novartis Foundation Symposium**. v. 282, p. 77-87, 2007.

STOLZENBERG-SOLOMON, R. Z.; SHEFFLER-COLLINS, S.; WEINSTEIN, S.; GARABRANT, D. H.; MANNISTO, S.; TAYLOR, P.; VIRTAMO, J.; ALBANES, D. Vitamin E intake,  $\alpha$ -tocopherol status, and pancreatic cancer in a cohort of male smokers. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 89, n. 2, p. 584-591, Feb. 2009.

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

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

TRABER, M. G. Vitamin E: too much or not enough? **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 73, n. 6, p. 997-998, June 2001.

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

US Department of Agriculture (USDA). Agricultural Research Service. **National Nutrient Database for Standard Reference**, Release 21 (2008). Disponível em: <[http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/nut\\_search\\_new.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/nut_search_new.pl)> Acesso em: 10 abr. 2009.

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

VINATEA, A. L. Cultivo de plantas aquáticas e moluscos. In: \_\_\_\_\_ . **Fundamentos de aquicultura**. Florianópolis: Editora da UFSC. 2004. cap. 4, p. 84-86.

WATANABE, F.; TAKENAKA, S.; KATSURA, H.; MASUMDER, S. A. M. Z. H.; ABE, K.; TAMURA, Y., NAKANO, Y. Dried green and purple lavers (Nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B-12 but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 6, p. 2341-2343, June 1999.

WATANABE, T.; NISIZAWA, K. The utilization of wakame (*Undaria pinnatifida*) in Japan and manufacture of “haiboshi wakame” and some of its biochemical and physical properties. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 116, n. 9, p. 106-111, Sept. 1984.

YAN, X. J.; CHUDA, Y.; SUZUKI, M.; NAGATA, T. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 63, n. 3, p. 605-607, Mar. 1999.

YOUDIM, K. A.; SHUKITT-HALE, B.; MACKINNON, S.; KALT, W.; JOSEPH, J. A. Polyphenolics enhance red blood cell resistance to oxidative stress: in vitro and in vivo. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, Amsterdam, v. 1523, n. 1, p. 117-122, Sept. 2000.

ZINGG, J. M. Vitamin E: an overview of major research directions. **Molecular Aspects of Medicine**, Amsterdam, v. 28, n. 5-6, p. 400-422, Oct.-Dec. 2007.

ZINGG, J. M.; AZZI, A. Non-antioxidant activities of vitamin E. **Current Medicinal Chemistry**, Hilversum, v. 11, n. 9, p. 1113–1133, May 2004.