



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

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE α -CAROTENO E β -CAROTENO EM
MACROALGAS MARINHAS DESIDRATADAS UTILIZANDO
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

KELMA MARIA DOS SANTOS PIRES

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

**FORTALEZA - CEARÁ – BRASIL
FEVEREIRO/2006**



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P745e Pires, Kelma Maria dos Santos.
Extração e quantificação de a-Caroteno e b-Caroteno em macroalgas marinhas desidratadas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência / Kelma Maria dos Santos Pires. – 2006.
39 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2006.
Orientação: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio.

1. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA

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

Prof. Alexandre Holanda Sampaio, Ph.D.
Membro

Prof^a Márcia Barbosa de Sousa, M.Sc.
Membro

VISTO

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

Prof^a Artamizá Maria Nogueira Montezuma, M.Sc.
Coordenadora do Curso de Engenharia de Pesca

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

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

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor da vida e fonte de todo conhecimento e inspiração, por ter me capacitado para a execução deste trabalho.

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

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

Antônio
A Prof^a Dr^a Silvana Saker Sampaio pela confiança em mim depositada, pela valiosa orientação e conhecimentos passados durante execução deste trabalho e pelo carinho e amizade.

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

Ao Prof^o Dr^o Wladimir Ronald Lobo Farias, por ter cedido equipamentos de seu laboratório durante execução deste trabalho.

A Prof^a Norma Pinheiro Dantas, pelos valiosos ensinamentos e amizade durante o tempo em que fui bolsista do Herbário Ficológico do LABOMAR.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por ter concedido bolsa para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos de laboratório, Márcia Barbosa, Ivone Ribeiro e Olavo Mourão, pela ajuda na execução dos trabalhos de laboratório, pelo compartilhamento de conhecimentos e pela amizade.

Ao meu amigo Eudismar Nunes, pelo companheirismo durante estes cinco anos de faculdade.

A minha amiga Durvânia Andrade por ter compreendido minha ausência e por mesmo assim ter sido tão presente na minha vida.

Aos meus amigos do laboratório BIOMAR, Ariévilo, Daniel, Grazielle e Tércísio, pelos momentos de descontração.

A todos os professores do Departamento de Engenharia de Pesca que contribuíram para a minha formação profissional, em especial, ao Prof^o José Wilson Calíope de Freitas.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia de Pesca, em especial, a Leni Góis, que sempre presta seus serviços com zelo.

A quem comigo dividiu seus conhecimentos durante o período deste curso.

A todos, os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
3. RESULTADOS	13
4. DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÕES	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estrutura e sistema de numeração dos carotenóides.	4
Figura 2. Estruturas dos carotenóides de ocorrência mais comum na natureza e quantitativamente importantes.	5
Figura 3. Possíveis vias de conversão de trans β -caroteno a retinal, retinol e ácido retinóico.	6
Figura 4. Curva padrão do β -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.	10
Figura 5. Diagrama simplificado demonstrando os componentes de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência.	11
Figura 6. Cromatograma típico de β -caroteno (Sigma) processado (padrão submetido à saponificação e partição) com 2,0 μ g na coluna.	13
Figura 7. Cromatograma típico dos extratos de Chlorophyta com conteúdo de α -caroteno maior que β -caroteno, representadas pela <i>Caulerpa mexicana</i> .	15
Figura 8. Cromatograma típico dos extratos de Chlorophyta com conteúdo de β -caroteno maior que α -caroteno, representadas pela <i>Caulerpa cupressoides</i> .	15
Figura 9. Cromatograma típico dos extratos de Rhodophyta que apresentaram β -caroteno, representadas pela <i>Bryothamnion seaforthii</i> .	17
Figura 10. Cromatograma típico do extrato de Rhodophyta que apresentaram α -caroteno e β -caroteno, representadas pela <i>Bryothamnion triquetrum</i> .	17
Figura 11. Cromatograma típico dos extratos de Phaeophyta representadas pela <i>Padina gymnospora</i> .	19

LISTA DE TABELAS



	Página
Tabela 1. α -Caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nos extratos das algas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE.	14
Tabela 2. α -Caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nos extratos das algas marinhas pertencentes à divisão Rhodophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE.	16
Tabela 3. β -Caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nos extratos das algas marinhas pertencentes à divisão Phaeophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE.	18

RESUMO

Quinze espécies de algas marinhas pertencentes às divisões: Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta foram coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE, em agosto de 2004. No laboratório, após limpeza e lavagem em água corrente, as algas foram secas em estufa por 15 horas a 40°C. A análise dos carotenóides pró-vitamina A foi realizada a partir da extração da alga em metanol-água (90:10, v/v) na proporção 1:20 (p/V), saponificação com KOH 5% por 30 min a 70°C e partição em *n*-hexano, que foi evaporado sob corrente de ar. O resíduo foi então suspenso em 500µL de MeOH no momento da análise cromatográfica realizada em coluna Spherisorb S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) e metanol-tetrahidrofurano (90:10) como fase móvel com fluxo de 2mL.min⁻¹. Alíquotas de 100µL do resíduo suspenso em MeOH foram injetadas manualmente e os cromatogramas registrados em 450nm. Os teores de α-caroteno e β-caroteno foram calculados por comparação com a curva padrão de β-caroteno (C 9750, Sigma). Nas Chlorophyta o teor de α-caroteno variou de 0,363 ± 0,322 a 28,330 ± 1,554 µg.g⁻¹ peso seco e o de β-caroteno variou de 1,182 ± 0,204 a 20,611 ± 1,239 µg.g⁻¹ peso seco. O conteúdo de retinol equivalente (RE) variou de 0,227 ± 0,061 a 5,796 ± 0,336 µg.g⁻¹ peso seco. Os valores mínimos de α-caroteno, β-caroteno e RE foram detectados nos extratos de *Codium decorticatum* e os máximos naqueles de *Caulerpa mexicana*. Nas Rhodophyta o teor de α-caroteno foi mínimo em *Bryothamnion triquetrum*, 0,311 ± 0,115 µg.g⁻¹ peso seco, e máximo em *Enantiocladia duperreyi*, 1,535 ± 0,168 µg.g⁻¹ peso seco. O teor de β-caroteno variou entre 1,487 ± 1,017 e 4,024 ± 2,482 µg.g⁻¹ peso seco. O conteúdo de RE variou de 0,248 ± 0,170 a 0,671 ± 0,414 µg.g⁻¹ peso seco. Os valores máximos de β-caroteno e RE foram detectados nos extratos de *Bryothamnion seaforthii* e os mínimos nos de *Gracilaria* sp. Nas Phaeophyta os teores de β-caroteno e RE variaram de 1,021 ± 1,240 µg.g⁻¹ a 7,259 ± 0,556 µg.g⁻¹ peso seco e 0,170 ± 0,207 a 1,210 ± 0,093 µg.g⁻¹ peso seco, respectivamente, sendo mínimos em *Dictyopteris delicatula* e máximos em *Dictyota dichotoma*.

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE α -CAROTENO E β -CAROTENO EM MACROALGAS MARINHAS DESIDRATADAS UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

KELMA MARIA DOS SANTOS PIRES

1. INTRODUÇÃO

As algas constituem um grupo diversificado de vegetais pertencentes ao Reino Protista, sendo encontradas em ambientes marinhos e continentais. As macroalgas marinhas bentônicas habitam os costões rochosos sendo distribuídas em faixas bem definidas e visíveis em relação aos níveis de marés. São organismos estruturalmente complexos, o que reflete sua capacidade de sobreviver nos costões, onde duas vezes por dia estão sujeitas a amplas flutuações de umidade, temperatura, salinidade e luz. No ambiente marinho, exercem função comparada àquela exercida pelos vegetais no ambiente terrestre, fornecendo proteção para diversos organismos microscópicos, invertebrados e peixes que se alimentam delas. São classificadas em três divisões: Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta (RAVEN et al., 1999).

As algas têm sido amplamente utilizadas na alimentação humana, na agricultura, na fabricação de rações animais, nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos, e também na área de biotecnologia (OLIVEIRA, 1997).

No Oriente, o uso de algas marinhas na alimentação humana é um costume bastante antigo e seu cultivo é uma tradição centenária (OLIVEIRA, 1997). Dentre as dez espécies de macroalgas mais cultivadas no mundo, a macroalga parda *Laminaria japonica*, cultivada principalmente na China, encontra-se no topo, com uma produção anual de $4,2 \times 10^6$ toneladas de peso fresco, sendo a produção mundial de algas aproximadamente 10^7 toneladas peso úmido por ano (LUNING; PANG, 2003).

A produção mundial de algas provenientes da aquicultura está estimada entre 5 e 6 bilhões de dólares por ano, tendo a Ásia a maior participação na produção, representada pelo cultivo de macroalgas para a alimentação humana (WIKFORS; OHNO, 2001).

Nos países ocidentais, a utilização das algas marinhas ocorre predominantemente como fonte de ficocolóides, como alginatos, carragenanas e ágar. Entretanto, em 1990 a França regulamentou o uso de onze macroalgas e duas microalgas para consumo humano (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

As algas são de interesse nutricional, pois apresentam baixo valor calórico, sendo ricas em vitaminas (A, B, C e E), minerais (cálcio, magnésio, fósforo, potássio, sódio, ferro e iodo) e fibras dietárias (ITO; HORI, 1989). O teor de fibras totais oscila entre 33 e 50%, sendo que a maior parte dessas pertence à fração solúvel. O conteúdo de lipídio é geralmente baixo contribuindo com 1 a 3% do peso seco. Com relação às proteínas, as algas pardas apresentam baixo teor de proteínas, de 5 a 15% peso seco; já as algas verdes e vermelhas apresentam conteúdo que pode variar de 10 a 30% do peso seco (MABEAU; FLEURENCE, 1993).

Os carotenóides consistem em um grupo de pigmentos naturais com cerca de 600 diferentes compostos já caracterizados, sendo o β -caroteno, o de maior destaque (OLSON, 1993; OLSON; KRINSKY, 1995). São responsáveis pela coloração vermelha, laranja e amarela das folhas das plantas, das frutas e das flores e de alguns pássaros, insetos, peixes e crustáceos, que os incorporam através de suas dietas, tendo em vista que somente as plantas superiores, bactérias, fungos e algas são capazes de sintetizar os pigmentos carotenóides (MAYNE, 1996).

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

A estrutura única dos carotenóides propicia um notável potencial biológico. Eles protegem os tecidos contra os danos oxidativos e fotooxidativos através da extinção de radicais livres e espécies de oxigênio reativo, que são

produzidos como resultado de processos metabólicos e processos patológicos (BRITTON, 1995; DEMBINSKA-KIEC, 2005).

Os carotenóides são benéficos à saúde humana, particularmente contra os males relacionados com o envelhecimento (MAYNE, 1996), oferecendo assim proteção contra algumas doenças degenerativas, certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares e catarata (RONCADA, 2000).

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

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

Quando a cadeia central apresenta um grupo final cíclico, este pode ser substituído por grupos funcionais contendo oxigênio. Com base na composição da molécula, os carotenóides são divididos em duas classes: carotenos, formados apenas de carbono e hidrogênio e xantofilas ou oxicarotenos, que possuem pelo menos um átomo de oxigênio na molécula. O número de duplas ligações (sete ou mais) confere à molécula dos carotenóides várias configurações *cis* e *trans*, mas a forma *all-trans* predomina na natureza (STAHL; SIES, 2003).

α -Caroteno, β -caroteno e licopeno são os principais constituintes do grupo dos carotenos. Zeaxantina, luteína, α -criptoxantina, β -criptoxantina e cantaxantina são as xantofilas mais importantes (STAHL; SIES, 2005).

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

terminais diferentes (Figura 1B), possibilitando uma ampla diversidade estrutural dos carotenóides (BRITTON, 1995; OLIVER; PALOU, 2000).

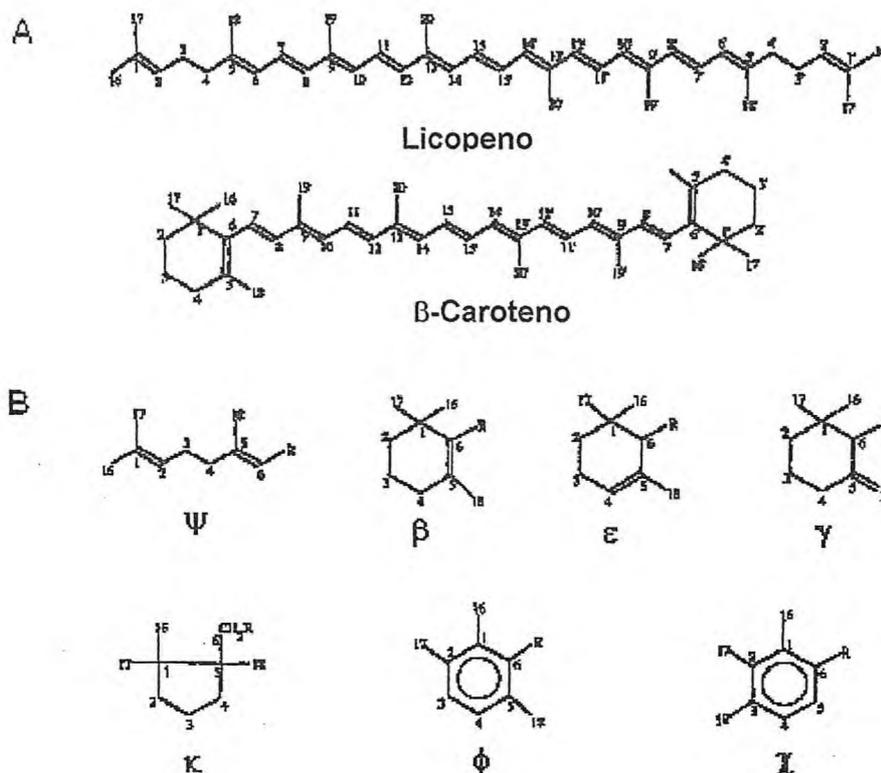


Figura 1. Estrutura e sistema de numeração dos carotenóides (BRITTON, 1995). A - Carotenóide acíclico (licopeno) e carotenóide dicíclico (β -caroteno); e B - Sete grupos terminais de diferentes carotenóides naturais.

As estruturas dos carotenóides de ocorrência mais comum na natureza e quantitativamente importantes estão apresentadas na Figura 2 (ROWAN, 1989).

Os carotenóides também podem ser divididos em compostos com atividade de vitamina (pró-vitamina A) e sem atividade de vitamina A (OLSON; KRINSKY, 1995). Para um composto ter atividade de vitamina A é necessário que ele possua um anel β -ionona insubstituível na sua estrutura. β -Caroteno, α -caroteno, γ -caroteno e β -criptoxantina possuem atividade de vitamina A, porém o β -caroteno é o que possui maior atividade biológica (RONCADA, 2000). Aproximadamente cinquenta carotenóides na natureza têm atividade de vitamina A (OLSON; KRINSKY, 1995).

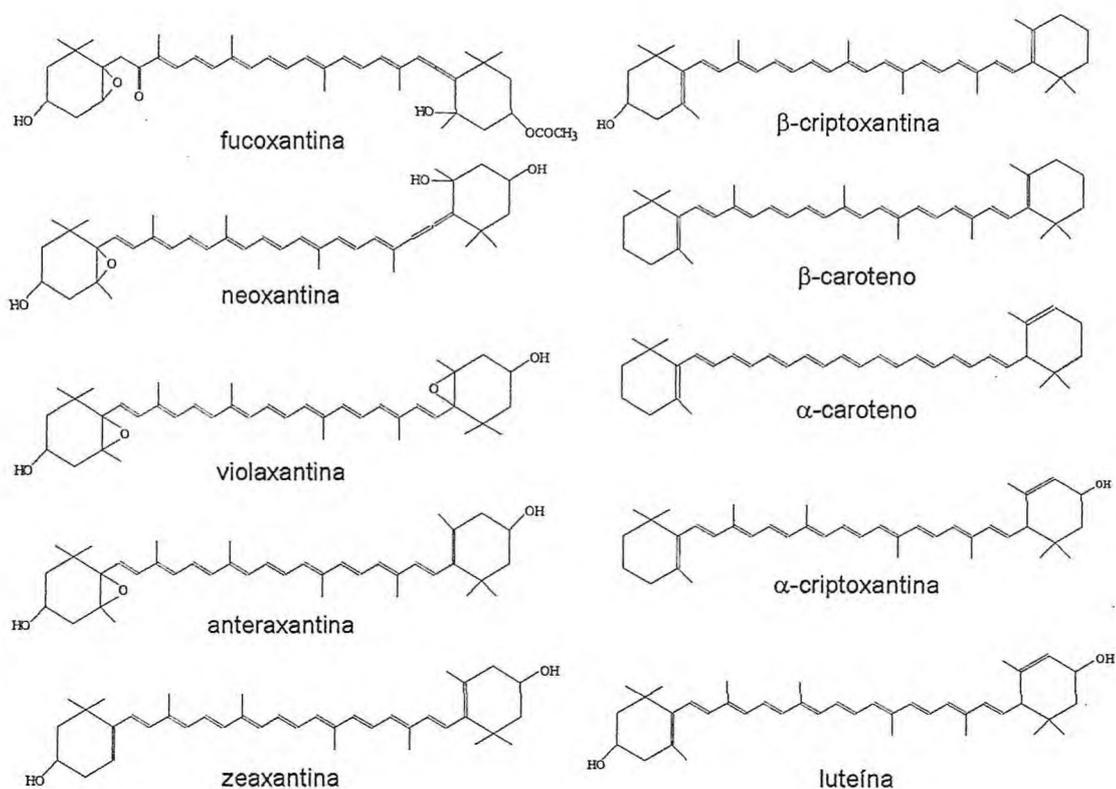


Figura 2. Estruturas dos carotenóides de ocorrência mais comum na natureza e quantitativamente importantes (ROWAN, 1989).

Existem três rotas metabólicas possíveis para converter oxidativamente β -caroteno em vitamina A nos animais: (1) clivagem central, (2) clivagem excêntrica seqüencial e (3) clivagem aleatória (BARUA; OLSON, 2000). A Figura 3 exibe as possíveis vias de conversão de *trans* β -caroteno a retinal, retinol e ácido retinóico.

A vitamina A participa do processo visual, crescimento e reprodução (OLSON, 1993; RONCADA, 2000). A deficiência em vitamina A pode causar problemas na diferenciação celular e aumento do número de infecções uma vez que ela está envolvida com a resposta imune em animais e humanos (OLSON, 1993).

Apesar de alguns carotenóides serem precursores da vitamina A, eles não são considerados micronutrientes essenciais e não existe uma ingestão diária recomendada (IDR) específica. Contudo, no cômputo geral da atividade de vitamina A dos alimentos, expressa em retinol equivalente (RE), eles são levados em consideração (BRITTON, 1995). Segundo RONCADA (2000), 1 RE

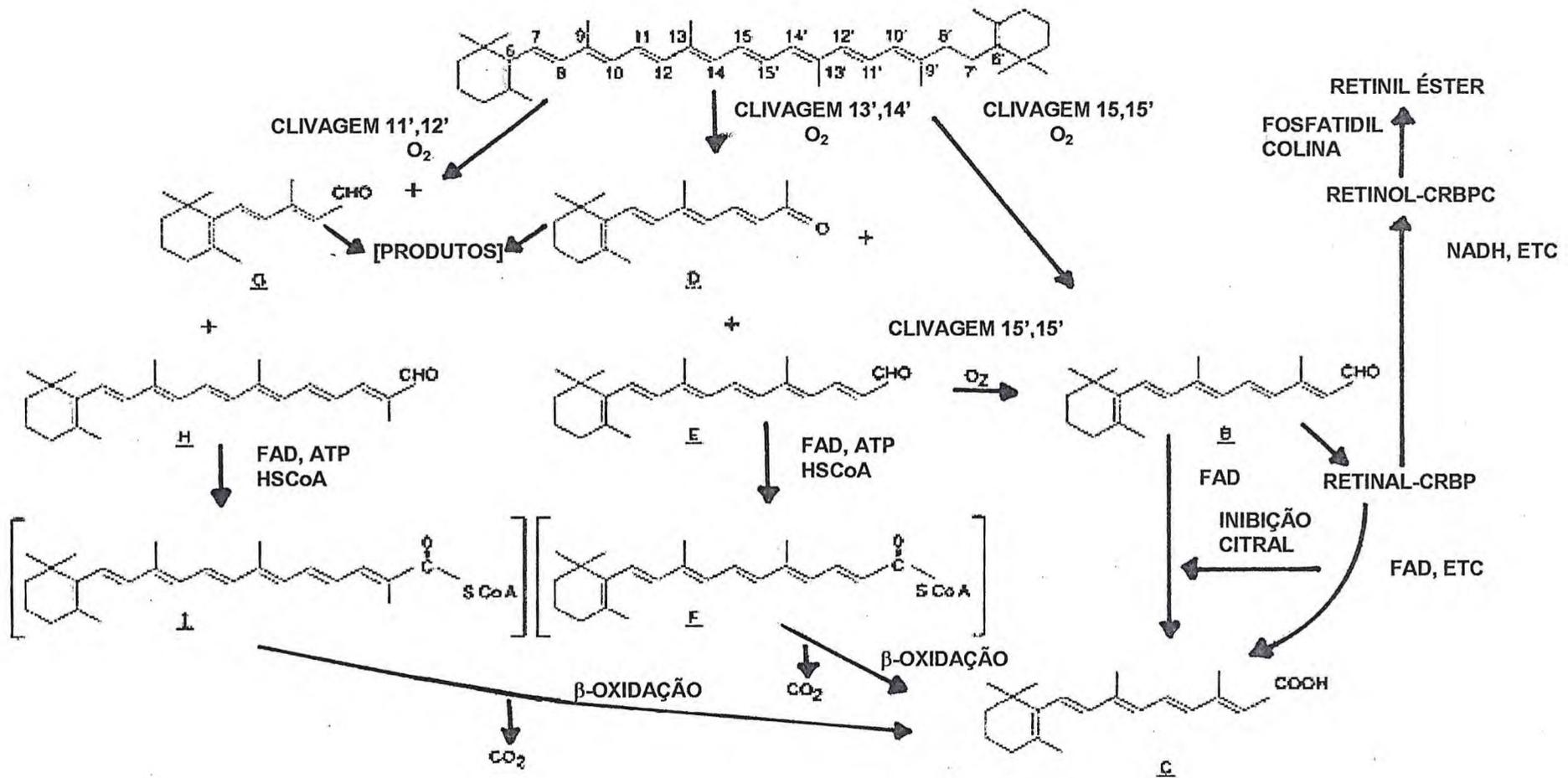


Figura 3. Possíveis vias de conversão de trans β-caroteno a retinal, retinol e ácido retinóico. A: β-caroteno; B: retinal; C: ácido retinóico; D: β-apo-13-caroteno; E: β-apo-14'-caroteno; F: β-apo-14'-carotenoil-coenzima A; G: β-apo-11-caroteno; H: β-apo-12'-caroteno; I: β-apo-12'-carotenoil-coenzima A; CRBP: proteína ligante do retinol (WANG et al., 1991).

corresponde a 1µg de retinol ou 6µg de β-caroteno ou ainda 12µg de outros carotenóides com atividade de vitamina A.

Segundo a Portaria Nº 33, de 13 de janeiro de 1998, da Secretaria de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde, que trata da IDR de vitaminas, minerais e proteínas para adultos, lactentes, crianças, gestantes e lactantes, a IDR de vitamina A consiste em 800 µg RE para o homem adulto (BRASIL, 1998).

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

Os carotenóides são biologicamente menos disponíveis do que a vitamina A, talvez por causa de sua estrutura e organização dentro da célula, seu requerimento específico por sais biliares durante a absorção e sua baixa taxa de clivagem em vitamina A no intestino e outros tecidos (OLSON, 1991).

A biodisponibilidade e a digestão da vitamina A e carotenóides são afetadas pelo estado nutricional do indivíduo, presença de lipídios, zinco e provavelmente ferro. Alguns tipos de fibra reduzem a absorção dos carotenóides (OLSON, 1991). Aproximadamente 5% dos carotenóides totais de um alimento são absorvidos pelo intestino e 50% ou mais são absorvidos por soluções micelares (OLSON, 1994).

Os carotenóides encontrados em algas marinhas apresentam distribuição diferenciada. As Rhodophyta normalmente contêm α-caroteno e β-caroteno, assim como seus derivados hidroxilados, luteína e zeaxantina, respectivamente. As Phaeophyta apresentam fucoxantina como principal pigmento, mas também β-caroteno e violaxantina. As Chlorophyta normalmente contêm α-caroteno, β-caroteno e comumente luteína, zeaxantina, anteraxantina, violaxantina e neoxantina derivados do β-caroteno (ROWAN, 1989; HAUGAN; LIAAEN-JESEN, 1994).

O conteúdo de vitaminas presentes nas diferentes espécies de algas varia com a estação do ano, com as condições ambientais, frescor e método de conservação (GUNSTHEIMER; JAHREIS, 1998).

A vitamina A é propensa à oxidação, particularmente quando exposta à luz e ao calor em uma atmosfera úmida e na ausência de agentes redutores ou outros estabilizantes (OLSON, 1991).

Os carotenóides têm comportamento semelhante ao da vitamina A e podem ser oxidados a formas inativas por ação enzimática durante a estocagem ou por exposição à luz e oxigênio (OLSON, 1991; CAMPOS et al., 2003).

Vegetais cozidos podem apresentar variações na composição de seus carotenóides decorrentes do tempo e da temperatura de cozimento. A composição dos carotenóides em vegetais frescos pode variar de acordo com o estágio de maturação, método de cultivo, partes da planta utilizadas, efeitos climáticos e manipulação no cultivo (SÁ; RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Dada a importância dos carotenóides pró-vitamina A e sabendo-se que eles são termolábeis, o presente estudo teve como objetivo determinar o teor de α -caroteno e β -caroteno em algumas espécies de algas marinhas submetidas à secagem artificial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Quinze espécies de algas marinhas (Chlorophyta: *Caulerpa cupressoides*, *C. mexicana*, *C. racemosa*, *Cladophora prolifera* e *Codium decortatum*; Rhodophyta: *Bryothamnion seaforthii*, *B. triquetrum*, *Enantiocladia duperreyi*, *Gracilaria* sp. e *G. birdiae*; e Phaeophyta: *Dictyopteris delicatula*, *Dictyota dichotoma*, *Lobophora variegata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum cymosum*) foram coletadas durante a maré baixa na Praia do Guajiru, Trairi-CE, em julho de 2004, e levadas para o laboratório.

O material coletado foi lavado em água corrente para remoção de impurezas e epífitas macroscópicas sendo, em seguida, colocado sobre papel absorvente para drenar o excesso de água. As algas foram estocadas a -20°C separadamente em sacos plásticos fechados e etiquetados até o momento da secagem. As algas foram desidratadas em estufa a 40°C durante aproximadamente quinze horas. Após a secagem, o material foi armazenado em recipientes hermeticamente fechados e protegidos da luz.

Os reagentes utilizados e suas procedências estão descritos a seguir. Hidróxido de potássio (KOH) foi obtido da Merck, Alemanha. β -Caroteno tipo I all *trans*, sintético aproximadamente 95% (C-9750) foi obtido da Sigma, Estados Unidos. Metanol, *n*-hexano e tetrahidrofurano, usados na preparação dos padrões e nas análises cromatográficas, foram grau HPLC, obtidos da OmniSolv, Merck, Alemanha. Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água ultrapura, obtida através do sistema Milli-Q (Millipore, Estados Unidos).

A relação entre a área do pico e a quantidade de β -caroteno aplicado na coluna foi estabelecida para o padrão de β -caroteno processado, ou seja, submetido ao processo de saponificação e partição. Tendo em vista a existência de correlação linear entre a área do pico e a concentração de β -caroteno ($r = 0,9997$, $p < 0,05$) no intervalo de 10 a 200 μg , que corresponde a aproximadamente 0,1 a 2,0 μg na coluna (Figura 4), sua quantificação nos extratos de alga foi possível.

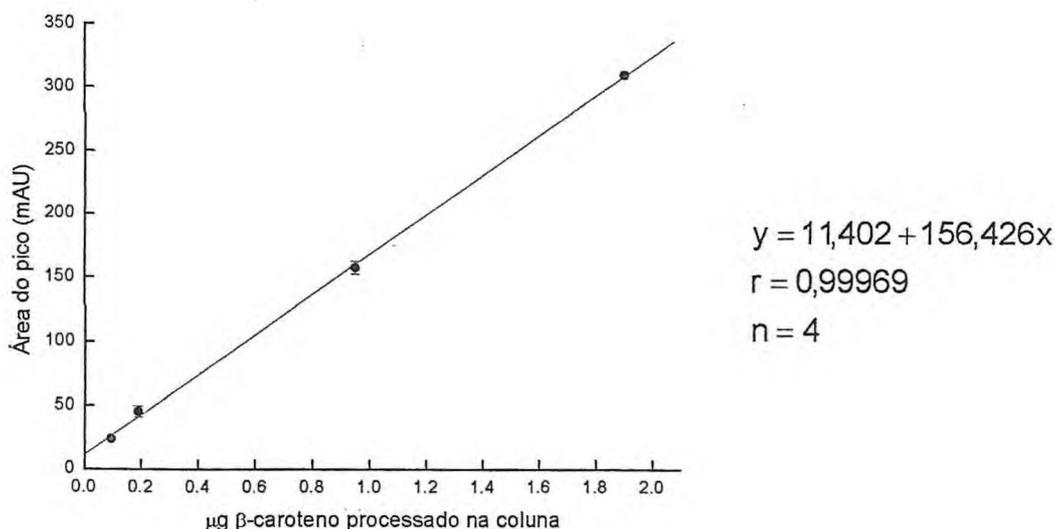


Figura 4. Curva padrão do β -caroteno (Sigma) submetido à saponificação e partição.

Aproximadamente 50 g de alga desidratada foram trituradas em um triturador doméstico (Braun, modelo KSM 2 B), até a obtenção de um pó fino, que foi utilizado para a preparação dos extratos.

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

Depois de resfriados à temperatura ambiente, os extratos foram centrifugados por 5 minutos a 2.000 x g. Após a centrifugação, 5 mL dos extratos saponificados, 1,5 mL de água Milli-Q e 2,5 mL de *n*-hexano foram transferidos para tubos Pyrex de tampa rosqueada (15 x 100 mm), os quais foram misturados por 10 minutos usando-se uma plataforma misturadora. Esse procedimento de partição permite a migração dos carotenóides não saponificáveis presentes no extrato da alga do metanol para o *n*-hexano.

Os tubos foram deixados em repouso sobre a bancada para permitir a separação das fases. Um volume correspondente a 1 mL da fase hexânica foi transferido para tubos de ensaio (10 x 75 mm), os quais foram deixados sob corrente de ar em banho-maria a aproximadamente 60°C para evaporação do

solvente. O resíduo foi então suspenso em 500 μL de metanol no momento da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cujos componentes estão representados na Figura 5.

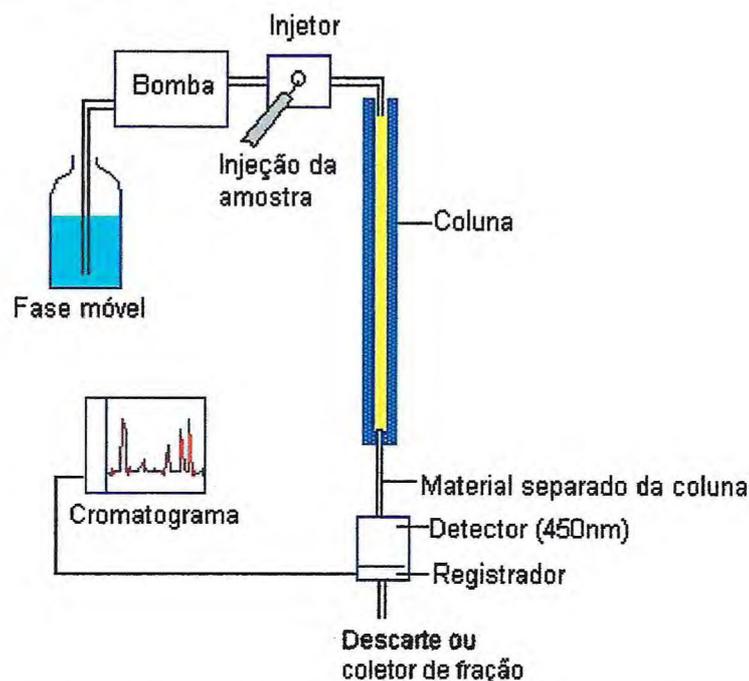


Figura 5. Diagrama simplificado demonstrando os componentes de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência.

Diariamente, uma solução padrão de β -caroteno (1 mg.mL^{-1}) foi preparada em tetrahidrofurano e diluída com metanol para $10 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ de modo que $2 \text{ }\mu\text{g}$ fossem injetados na coluna. A concentração da solução padrão de β -caroteno foi determinada a partir de sua absorbância em 450 nm, sendo sua capacidade de absorção de luz ("absorptivity") igual a $0,2592 \text{ }\mu\text{g}^{-1}.\text{mL}^{-1}$ (SPECIFICATIONS AND CRITERIA FOR BIOCHEMICAL COMPOUNDS, 1972).

Esse padrão diluído com metanol ($10 \text{ }\mu\text{g } \beta\text{-caroteno.mL}^{-1}$) foi processado, ou seja, submetido ao processo de saponificação e partição, separadamente e em combinação com 0,5 g de alga. Esse procedimento assegurou a detecção de β -caroteno onde ele era adicionado intencionalmente.

O sistema cromatográfico consistiu em uma coluna Waters Spherisorb S5 ODS 2 (4,6 x 250 mm) e uma fase móvel constituída de metanol:tetrahidrofurano (90:10, v/v), com fluxo de 2 mL.min^{-1} , usando uma bomba (AKTAbasic 10, modelo P-900, Amersham). Alíquotas de $100 \text{ }\mu\text{L}$ do resíduo suspenso em metanol foram injetadas manualmente usando um injetor

de amostras Rheodyne 7210 (Hamilton Co.). O monitor (AKTAbasic UV-900) foi ajustado em 450 nm para a leitura dos carotenóides. Os cromatogramas foram registrados através do sistema de controle UnicornTM, versão 5.0.

As concentrações de α -caroteno e β -caroteno nos extratos de alga foram calculadas com base no padrão de 10 μg de β -caroteno processado. O uso do β -caroteno como padrão para a quantificação de α -caroteno é considerado válido porque as áreas dos picos correspondentes a 10 μg de α -caroteno e β -caroteno não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) (SAKER-SAMPAIO, 1997).

As algas desidratadas e os padrões (com e sem alga) foram processados (submetidos ao processo de saponificação e partição) de forma idêntica, com relação ao volume de reagentes e alíquotas transferidas entre etapas do procedimento. Além disso, a recuperação do β -caroteno processado em conjunto com a alga ou isoladamente foi a mesma.

A fórmula abaixo foi utilizada para o cálculo dos teores de α -caroteno e β -caroteno nos extratos preparados com alga desidratada em estufa. O cálculo foi procedido usando-se a área do pico obtido para a solução padrão de β -caroteno e a área do pico referente ao α -caroteno ou β -caroteno no extrato de alga.

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

3. RESULTADOS

A identificação de α -caroteno e β -caroteno em quinze espécies de algas marinhas, pertencentes às divisões Chlorophyta, Rhodophyta e Phaeophyta, foi feita comparando-se os tempos de retenção da solução padrão de β -caroteno com o tempo de retenção do mesmo composto presente nos extratos de alga e através da co-cromatografia, usando-se cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em sistema isocrático com uma coluna de fase reversa C₁₈.

O tempo de retenção do β -caroteno obtido pelo sistema cromatográfico usado neste trabalho foi igual a $11,33 \pm 0,37$ min (n = 22). Um cromatograma típico do padrão contendo 2,0 μ g de β -caroteno está apresentado na Figura 6.

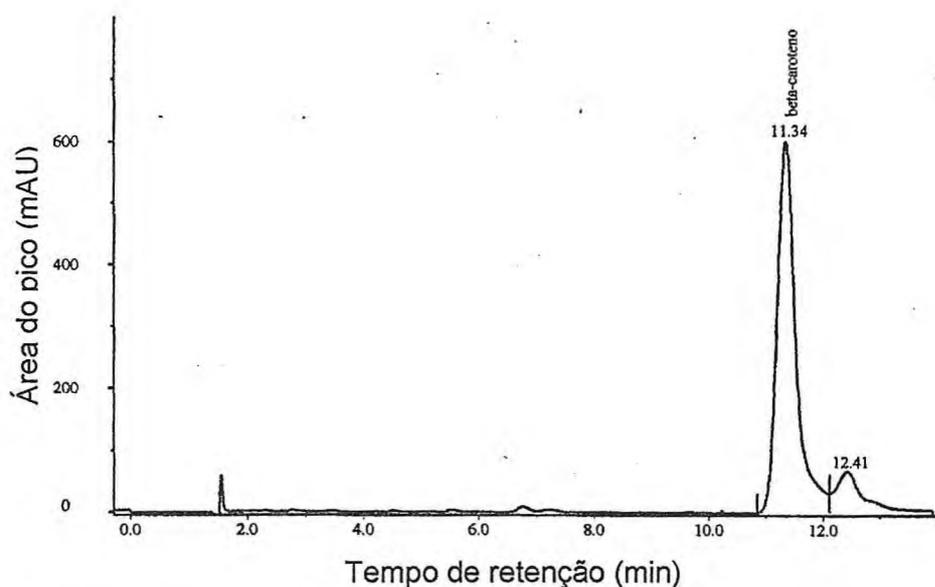


Figura 6. Cromatograma típico de β -caroteno (Sigma) processado (padrão submetido à saponificação e partição) com 2,0 μ g na coluna.

Os teores de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) encontrados nos extratos de algas desidratadas pertencentes à divisão Chlorophyta estão apresentados na Tabela 1.

No presente trabalho, todas as espécies de Chlorophyta estudadas apresentaram α -caroteno e β -caroteno. A quantidade de α -caroteno (μ g.g⁻¹ peso seco) variou de $0,363 \pm 0,322$ a $28,330 \pm 1,554$ e a de β -caroteno (μ g.g⁻¹ peso seco) variou de $1,182 \pm 0,204$ a $20,611 \pm 1,239$.

Tabela 1. α -Caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nos extratos das algas marinhas pertencentes à divisão Chlorophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE.

Espécies de Chlorophyta	α -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)	β -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)
<i>Caulerpa cupressoides</i>	0,833 \pm 0,198	1,500 \pm 0,426	0,319 \pm 0,088
<i>C. mexicana</i>	28,330 \pm 1,554	20,611 \pm 1,239	5,796 \pm 0,336
<i>C. racemosa</i>	5,988 \pm 0,950	3,287 \pm 0,307	1,047 \pm 0,130
<i>Cladophora prolifera</i>	2,621 \pm 4,027	6,878 \pm 4,923	1,365 \pm 1,156
<i>Codium decorticatum</i>	0,363 \pm 0,322	1,182 \pm 0,204	0,227 \pm 0,061

Os valores mínimos de α -caroteno e β -caroteno foram detectados nos extratos de *Codium decorticatum* e os máximos naqueles de *Caulerpa mexicana*, que exibiu dezessete vezes mais β -caroteno e 78 vezes mais α -caroteno do que *C. decorticatum*.

Dentre as cinco espécies de Chlorophyta estudadas, apenas *C. mexicana* e *C. racemosa* apresentaram teor de α -caroteno maior que β -caroteno. Nas demais, o conteúdo de β -caroteno foi superior ao de α -caroteno.

Nas Chlorophyta, o conteúdo de retinol equivalente ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco) variou de 0,227 \pm 0,061 a 5,796 \pm 0,336, sendo mínimo em *C. decorticatum* e máximo em *C. mexicana*.

A Figura 7 apresenta um cromatograma típico de Chlorophyta, que apresentaram teor de α -caroteno maior que β -caroteno e a Figura 8 apresenta um cromatograma típico de Chlorophyta, que apresentaram teor de β -caroteno maior que α -caroteno.

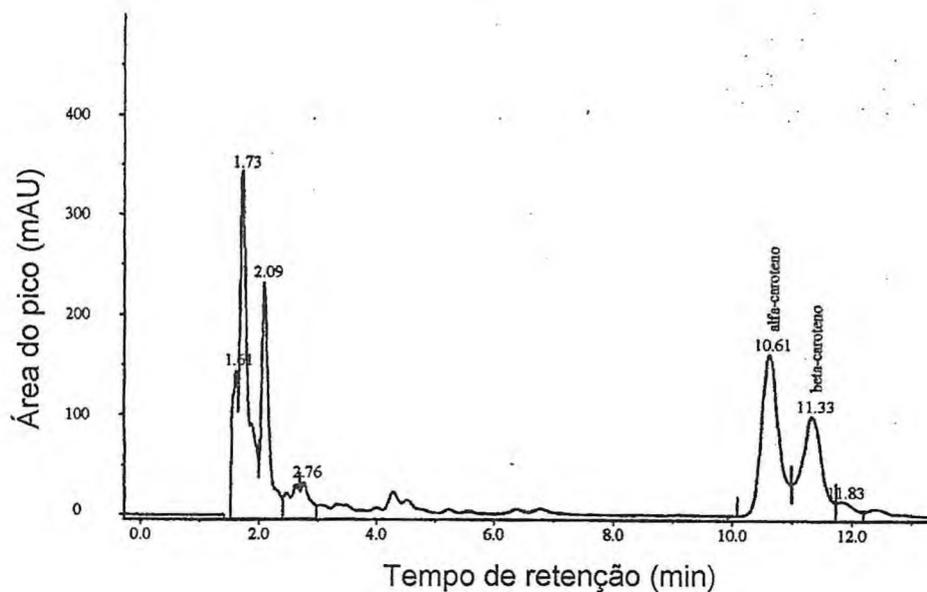


Figura 7. Cromatograma típico dos extratos de Chlorophyta com conteúdo de α -caroteno maior que β -caroteno, representadas pela *Caulerpa mexicana*.

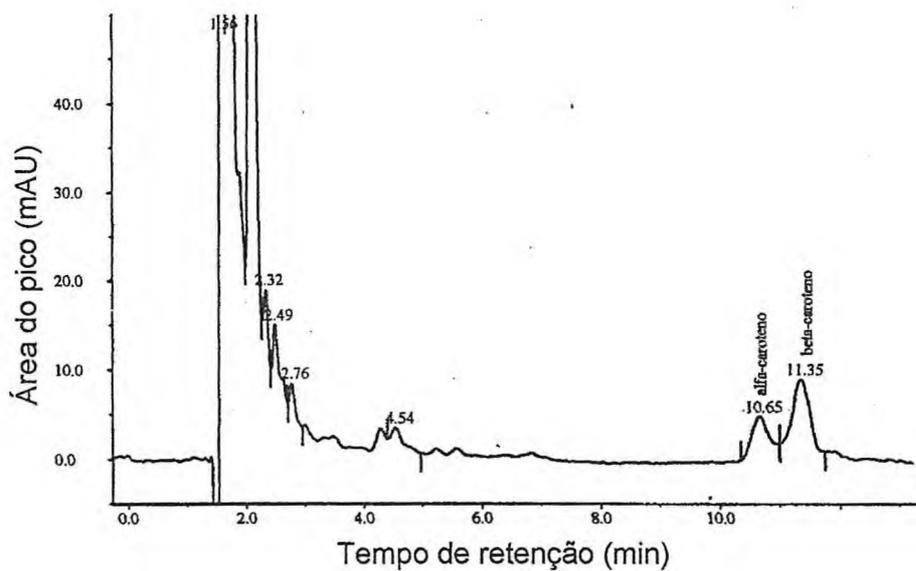


Figura 8. Cromatograma típico dos extratos de Chlorophyta com conteúdo de β -caroteno maior que α -caroteno, representadas pela *Caulerpa cupressoides*.

Os conteúdos de α -caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) encontrados nos extratos de algas desidratadas pertencentes à divisão Rhodophyta estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. α -Caroteno, β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nos extratos das algas marinhas pertencentes à divisão Rhodophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE.

Espécies de Rhodophyta	α -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)	β -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	-	4,024 \pm 2,482	0,671 \pm 0,414
<i>B. triquetrum</i>	0,311 \pm 0,115	2,534 \pm 0,309	0,448 \pm 0,061
<i>Enantiocladia duperreyi</i>	1,535 \pm 0,168	2,036 \pm 0,198	0,467 \pm 0,047
<i>Gracilaria birdiae</i>	-	1,925 \pm 0,306	0,321 \pm 0,051
<i>Gracilaria</i> sp	-	1,487 \pm 1,017	0,248 \pm 0,170

Dentre as cinco espécies de Rhodophyta analisadas, três (*Bryothamnion seaforthii*, *Gracilaria* sp e *G. birdiae*) apresentaram β -caroteno e não α -caroteno e duas (*B. triquetrum* e *Enantiocladia duperreyi*) apresentaram α -caroteno e β -caroteno.

O teor de α -caroteno foi mínimo em *B. triquetrum*, 0,311 \pm 0,115 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco e máximo em *E. duperreyi*, 1,535 \pm 0,168 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco. O teor de β -caroteno variou entre 1,487 \pm 1,017 e 4,024 \pm 2,482 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, sendo máximo em *B. seaforthii* e mínimo em *Gracilaria* sp.

O conteúdo de retinol equivalente nas algas vermelhas variou de 0,248 \pm 0,170 a 0,671 \pm 0,414 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, sendo máximo em *B. seaforthii* e mínimo em *Gracilaria* sp.

As Rhodophyta que apresentaram β -caroteno foram representadas pela *B. seaforthii* (Figura 9) e as que apresentaram ambos, α -caroteno e β -caroteno, foram representadas pela *B. triquetrum* (Figura 10).

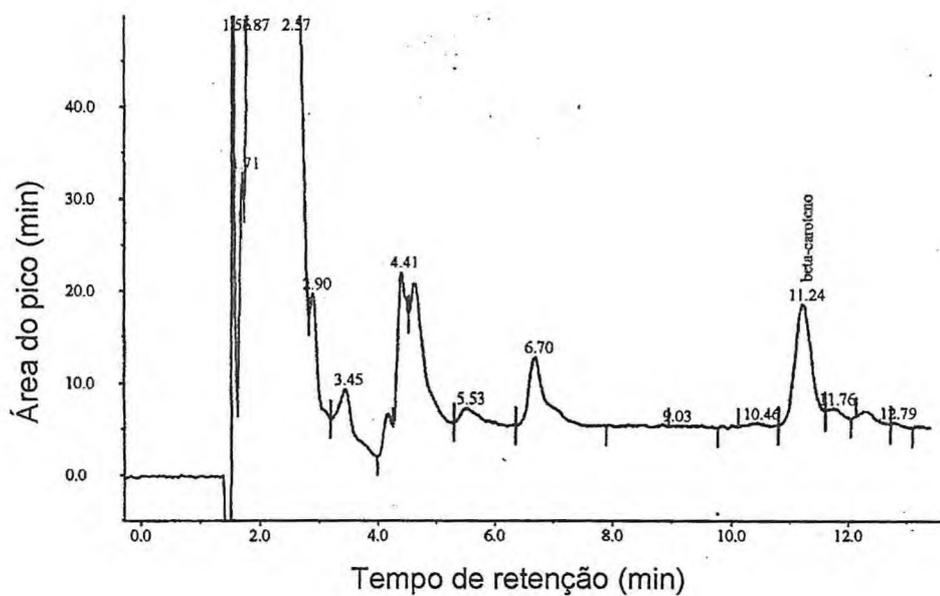


Figura 9. Cromatograma típico dos extratos de Rhodophyta que apresentaram β -caroteno, representadas pela *Bryothamnion seaforthii*.

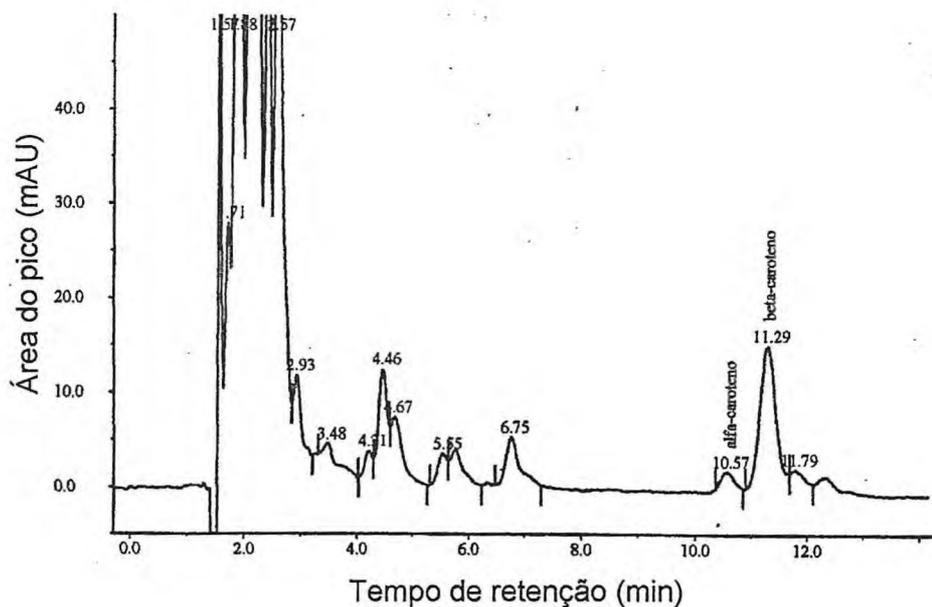


Figura 10. Cromatograma típico dos extratos de Rhodophyta que apresentaram α -caroteno e β -caroteno, representadas pela *Bryothamnion triquetrum*.

As concentrações de β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) encontradas nos extratos de algas desidratadas pertencentes à divisão Phaeophyta estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. β -Caroteno e vitamina A (retinol equivalente) nos extratos das algas marinhas pertencentes à divisão Phaeophyta, coletadas na Praia de Guajiru, Trairi – CE.

Espécies de Phaeophyta	β -caroteno ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)	Retinol equivalente (RE) ($\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco)
<i>Dictyopteris delicatula</i>	$1,021 \pm 1,240$	$0,170 \pm 0,207$
<i>Dictyota dichotoma</i>	$7,259 \pm 0,556$	$1,210 \pm 0,093$
<i>Lobophora variegata</i>	$2,238 \pm 0,388$	$0,373 \pm 0,065$
<i>Padina gymnospora</i>	$3,552 \pm 0,306$	$0,592 \pm 0,051$
<i>Sargassum cymosum</i>	$3,076 \pm 1,254$	$0,513 \pm 0,209$

α -Caroteno não foi detectado em nenhum extrato de alga parda analisado neste trabalho. Todas as Phaeophyta analisadas neste trabalho apresentaram β -caroteno, cujo conteúdo variou de $1,021 \pm 1,240 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco em *D. delicatula* a $7,259 \pm 0,556 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco em *D. dichotoma*. O conteúdo de β -caroteno na alga *D. dichotoma* foi sete vezes maior do que na alga *D. delicatula*. O conteúdo de retinol equivalente variou de $0,170 \pm 0,207$ a $1,210 \pm 0,093 \mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, sendo mínimo em *D. delicatula* e máximo em *D. dichotoma*.

A Figura 11 apresenta um cromatograma típico de Phaeophyta, representadas pela *Padina gymnospora*.

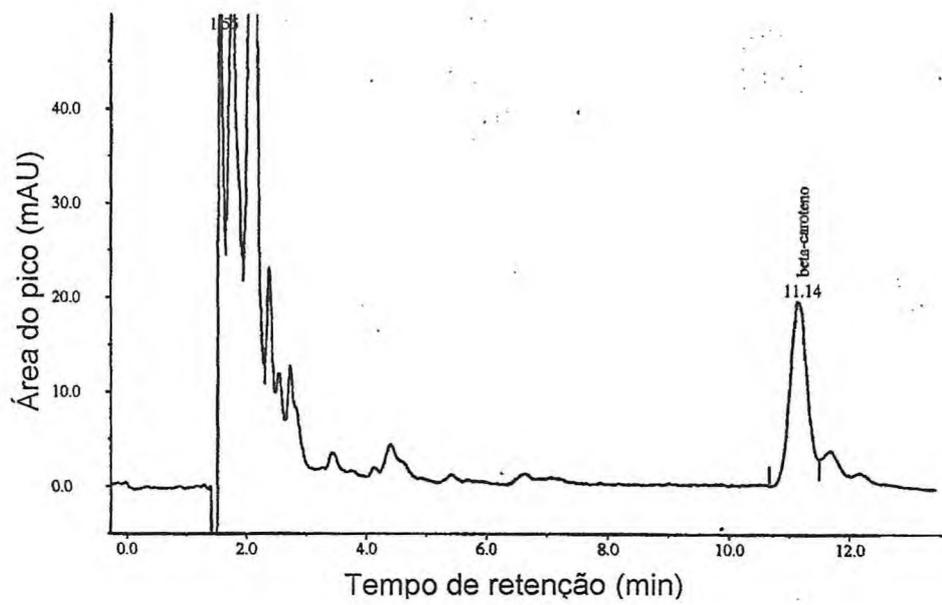


Figura 11. Cromatograma típico dos extratos de Phaeophyta, representadas pela *Padina gymnospora*.

4. DISCUSSÃO

A identificação de α -caroteno e β -caroteno em vegetais e outros materiais, separados por cromatografia líquida de alta eficiência, é comumente realizada através da comparação do tempo de retenção do padrão comercial correspondente aos compostos de interesse, com o tempo de retenção desses compostos no material analisado (HEGAZI et al., 1998; GIMENO et al., 2000; NORZIAH, CHING, 2000), embora uma identificação mais precisa possa utilizar uma combinação de resultados obtidos por espectrometria de massa e espectros UV-visível (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004).

No presente trabalho, o padrão comercial utilizado foi β -caroteno (Sigma). Em todos os extratos das algas desidratadas analisadas, os picos com tempo de retenção de $11,33 \pm 0,37$ min foram atribuídos ao β -caroteno.

A dificuldade de aquisição do padrão comercial de α -caroteno e os resultados obtidos por SAKER-SAMPAIO (1997), usando sistema cromatográfico semelhante em que o α -caroteno é eluído da coluna imediatamente antes do β -caroteno, fizeram com que, neste trabalho, o composto eluído da coluna em $10,37 \pm 0,38$ min fosse considerado α -caroteno.

O número de trabalhos abordando a composição e/ou distribuição de carotenóides em algas marinhas, em termos qualitativos e quantitativos, é relativamente pequeno, quando comparado às informações disponíveis sobre os vegetais normalmente consumidos como alimento.

Os teores de α -caroteno e β -caroteno determinados nos extratos das clorofíceas estudadas neste trabalho variaram de 0,363 a 28,330 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco e de 1,5 a 20,611 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco, respectivamente (Tabela 1).

MACIEL DA SILVA (2003) investigou a presença de α -caroteno e β -caroteno em algumas espécies de clorofíceas coletadas na Praia do Pacheco e encontrou, respectivamente, variações de 3,2 a 45,1 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco e de 3,9 a 26,1 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco. Contrariamente ao encontrado no presente trabalho, MACIEL DA SILVA (2003) não detectou β -caroteno nem em *Caulerpa cupressoides*, nem em *C. mexicana*. Vale ressaltar que, no presente trabalho, a máxima concentração de β -caroteno foi encontrada em *C. mexicana*.

SOUSA (2005) quantificou α -caroteno e β -caroteno em sete espécies de clorofíceas coletadas na Praia de Guajiru, tendo encontrado teores bastante variáveis de α -caroteno (0,8 a 39,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) e moderadamente variáveis de β -caroteno (2,3 a 26,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco).

Para efeito de comparação dos resultados expressos em base seca, obtidos neste trabalho, com àqueles em base úmida citados por SOUSA (2005), o teor de umidade das algas foi considerado 80%. A remoção de água (desidratação das algas) concentra os carotenóides, de modo que um aumento por unidade de peso foi observado, podendo, em alguns casos, gerar uma falsa impressão de que no material seco a quantidade é superior a do material fresco. Entretanto, com a correção, foi possível observar que houve uma diminuição nos conteúdos de α -caroteno e de β -caroteno, provavelmente explicada pelo uso do calor no processo de desidratação das algas. Segundo OLSON (1991), tanto a vitamina A pré-formada, quanto os carotenóides pró-vitamina A são susceptíveis à destruição pelo calor, luz e oxigênio.

De acordo com a quantidade do nutriente presente em um alimento, ele pode ser classificado como fonte "excelente" ou "útil" desse nutriente. Essa classificação considera a participação do nutriente na IDR. No caso da vitamina A, cuja IDR é 800 μg RE (BRASIL, 1998), para ser considerado fonte "excelente", um alimento deve fornecer 400 μg RE (50%) e para ser fonte "útil", 120 μg RE (15%).

Com base na quantidade de retinol equivalente ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) estimada, as clorofíceas estudadas neste trabalho seriam consideradas fontes "excelentes", se fossem consumidas porções diárias de alga seca de aproximadamente 69 g de *Caulerpa mexicana* (a mais rica) ou 1.760 g de *Codium decortiatum* (a mais pobre).

O consumo diário de porções de 20 g de *C. mexicana* desidratada e de 529 g de *C. decortiatum* desidratada forneceriam aproximadamente 15% da IDR, o que permitiria classificá-las como fontes "úteis" de vitamina A.

A microalga verde *Dunaliella salina* apresentou 1,4 mg β -caroteno/g alga liofilizada (DENERY et al., 2004). O consumo diário de cerca de 2 g da alga liofilizada seria suficiente para fornecer 50% da IDR, o que a classificaria como fonte "excelente" de vitamina A. FAN et al. (2005) encontraram que o processo

de secagem da macroalga vermelha *Porphyra* (Nori) a 45°C provocou uma redução no teor de carotenóides da ordem de 80%, enquanto nenhuma perda foi observada no material liofilizado.

As macroalgas verdes de água doce dos gêneros *Chara* e *Nitella* exibiram β -caroteno em concentrações que variaram de 0,24 mg.g⁻¹ peso seco em *C. hispida* a 2,49 mg.g⁻¹ peso seco em *C. contraria*. Estes teores de β -caroteno são considerados elevados, e o consumo de 10 g de *C. hispida* ou 1 g de *C. contraria* seria suficiente para fornecer metade da IDR de vitamina A. Outros pigmentos carotenóides também foram identificados, dentre os quais γ -caroteno, luteína, neoxantina e violaxantina se destacaram (SCHAGERL; PICHLER, 2000).

α -Caroteno foi detectado em apenas duas das rodofíceas estudadas neste trabalho, enquanto β -caroteno foi encontrado em todas as espécies (Tabela 2). A ausência de α -caroteno em *Bryothamnion seaforthii*, *Gracilaria* sp e *G. birdiae*, coletadas na Praia de Guajiru, também foi verificada por SOUSA (2005).

MACIEL DA SILVA (2003) encontrou α -caroteno nas quatro espécies de algas vermelhas coletadas na Praia do Pacheco (*Amansia multifida*, *Champia feldmannii*, *Hypnea cervicornis* e *Solieria filiformis*), cujas concentrações foram aproximadamente 9,0; 3,5; 3,8 e 4,7 μ g.g⁻¹ peso seco, respectivamente. No entanto, β -caroteno só foi detectado em *H. cervicornis* (6,8 μ g.g⁻¹ peso seco).

Nas algas vermelhas coletadas na Praia de Guajiru, α -caroteno foi detectado em onze das vinte espécies testadas, enquanto β -caroteno ocorreu em todas elas (SOUSA, 2005). No presente trabalho, a quantidade de α -caroteno em *Enantiocladia duperreyi* foi quase cinco vezes maior do que aquela encontrada em *Bryothamnion triquetrum*. O mesmo padrão foi verificado por SOUSA (2005) em algas frescas, mas as quantidades foram quase dez vezes superiores às obtidas neste trabalho.

De acordo com SÁ, RODRIGUEZ-AMAYA (2003), a composição dos carotenóides nos vegetais cozidos pode ser alterada em virtude das condições de processamento e/ou armazenamento e, assim, diferir bastante daquela encontrada nos vegetais crus.

Os carotenóides pró-vitamina A, α -caroteno e β -caroteno, foram encontrados nos extratos da alga vermelha *Palmaria palmata* (fresca e desidratada), coletada em Southsea, Inglaterra, durante o período de março de 1995 a fevereiro de 1996. O material liofilizado apresentou teores desses carotenóides mais elevados do que o desidratado em estufa a 30°C e 45°C, de modo que os níveis de α -caroteno e β -caroteno no material desidratado em estufa permitiram classificá-la como uma fonte "útil" e, às vezes, fonte "excelente" de vitamina A, particularmente na alga liofilizada (SAKER-SAMPAIO, 1997).

Para que as rodofíceas estudadas neste trabalho sejam consideradas fontes "excelente" ou "útil" de vitamina A, a porção consumida diariamente teria que ser muito grande. Por exemplo, a porção de *B. seaforthii* (a mais rica) teria que ser 596 g ou 179 g, respectivamente; e a porção de *Gracilaria* sp (a mais pobre) teria que ser de 1.600 g ou 484 g, respectivamente.

Os teores de α -caroteno e β -caroteno encontrados na alga vermelha *Antithamnion plumula* foram muito elevados e corresponderam a 0,260 mg.g⁻¹ peso seco e 0,134 mg.g⁻¹ peso seco, respectivamente (BJORNLAND, 1983). Com base nestes dados, o consumo de 10 g de alga seca forneceria 50% e de 3 g forneceria 15% da IDR de vitamina A.

Nas algas vermelhas coralíneas *Corallina officinalis*, *C. elongata* e *Jania* sp, o β -caroteno é o principal carotenóide, representando 60,8% (18,4 mg/100 g), 74,8% (12,2 mg/100 g) e 53,3% (20,9 mg/100 g) do total, respectivamente. Para serem consideradas fontes "excelentes" de vitamina A, o consumo diário deveria ficar entre 12 e 20 g; e para serem fontes "úteis", 4 a 6 g seriam suficientes. Nestas espécies, a fucoxantina apareceu como o segundo carotenóide mais importante (PALERMO et al., 1991). Embora sua presença tenha sido relatada em várias ocasiões, em muitos casos ela foi atribuída à presença de contaminantes biológicos principalmente diatomáceas e crisofíceas. No trabalho de PALERMO et al. (1991), a observação microscópica do material não revelou a presença de contaminantes biológicos e a quantidade de fucoxantina foi considerada muito grande para ser atribuída aos supostos contaminantes.

Todas as espécies de Phaeophyta analisadas neste trabalho apresentaram β -caroteno, mas não α -caroteno (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por SAKER-SAMPAIO (1997) com *Laminaria digitata*; MACIEL DA SILVA (2003) com *Lobophora variegata*, *Sargassum filipendula* e *S. vulgare* e SOUSA (2005) com *Dictyopteris delicatula*, *Dictyota dichotoma*, *L. variegata*, *Padina gymnospora* e *Sargassum cymosum*.

As feofíceas estudadas neste trabalho seriam consideradas fontes "excelentes" de vitamina A, se fossem consumidas porções de alga seca de 330 g de *D. dichotoma* (a mais rica) ou 2.350 g de *D. delicatula* (a mais pobre). A ingestão de 100 g de *D. dichotoma* ou 700 g de *D. delicatula* por dia forneceria 120 μ g RE, ou seja, 15% da IDR de vitamina A.

A distribuição e o teor dos carotenóides nos vegetais, incluindo as algas, dependem da espécie, estágio de maturação da planta, estágio do ciclo de vida, método de cultivo, efeitos climáticos, manipulação na colheita e até mesmo de partes da planta (HART; SCOTT, 1995). Os vegetais folhosos contêm uma quantidade consideravelmente maior de β -caroteno do que os demais (SPEEK et al., 1988) e são considerados as principais fontes de pró-vitamina A (RONCADA, 2000).

Como já enfatizado anteriormente, os carotenóides são pigmentos sensíveis a vários fatores, dentre os quais, luz, calor e oxigênio. Essa labilidade torna importante o estudo dos carotenóides encontrados nos vegetais crus e naqueles submetidos à cocção, tendo em vista que, durante as etapas de preparação de vários vegetais utilizados na dieta humana, as condições que favorecem a degradação dos carotenóides estão presentes (SUNGPUAG et al., 1999; CAMPOS et al., 2003).

Os diferentes métodos de cozimento, principalmente no que tange ao tempo e à temperatura, podem provocar mudanças significativas nos carotenóides. Além desses, a estabilidade dos carotenóides também é afetada durante a estocagem em temperaturas elevadas e sob a influência da luz (LIN; CHEN, 2005). De acordo com SUNGPUAG et al. (1999), a relação tempo-temperatura é importante para todos os tipos de preparações que empregam calor, mas a intensidade da alteração varia tanto com os diferentes métodos de cozimento, quanto com o produto, incluindo o tamanho do corte. Alguns

vegetais requerem processamentos térmicos mais longos para inativar enzimas ou para torná-los mais tenros.

As perdas no conteúdo de β -caroteno em alimentos tailandeses de origem vegetal preparados por diferentes métodos de cocção foram avaliadas por SUNGPUAG et al. (1999). As perdas de β -caroteno variaram de 7% para a abóbora até 43% para a batata-doce, sendo mínimas nos vegetais cozidos no vapor e máximas quando o cozimento foi realizado em grandes volumes de água.

CAMPOS et al. (2003) analisaram o teor de β -caroteno em brócolis cru, cozido e frito e observam que o teor de β -caroteno no material cru foi maior que no cozido. Este resultado foi atribuído à degradação durante o cozimento e à absorção de água, que diluiu os carotenóides, resultando em um decréscimo na concentração de nutrientes por unidade de peso. Embora a fritura seja um modo de preparo que emprega temperaturas mais elevadas, a perda de água durante a fritura fez com que a quantidade de carotenóides por unidade de peso aumentasse.

BERNHARDT, SCHLICH (2005) compararam dois métodos de preparo de vegetais. Os teores de β -caroteno em brócolis e pimentão vermelho cozidos no vapor ($0,21 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $0,27 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente) e fervidos em água ($0,35 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $0,38 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente) aparentemente não foram alterados pelos métodos de cozimento avaliados.

BURNS et al. (2003) avaliaram o conteúdo de carotenóides em algumas frutas, verduras e legumes normalmente consumidos. Eles encontraram β -caroteno, em $\mu\text{g/g}$ peso seco em cenoura (320,5), alface (225,7), pimentão vermelho (221,9), pimentão amarelo (75,3), tomate (56,1), manga (49,8), batata-doce (38,1), pimentão verde (19,0) e brócolis (1,2). Apenas cenoura, pimentão vermelho e pimentão amarelo apresentaram α -caroteno, cujos teores foram 44,5; 25,0 e 20,1 $\mu\text{g/g}$ peso seco, respectivamente. Com base nestes dados, é possível afirmar que as porções de vegetais a serem consumidas para prover 400 μg RE devem variar de 7 g (cenoura) a 2.000 g (brócolis) por dia. Essas quantidades não são muito diferentes daquelas encontradas para as algas marinhas. Além disso, não se espera, nem mesmo das melhores fontes de um nutriente, que elas sozinhas sejam responsáveis pelo suprimento diário.

De fato, uma dieta de boa qualidade deve incluir a ingestão de diferentes alimentos de origem animal e vegetal. A medida mais apropriada para prevenir ou controlar as deficiências nutricionais em longo prazo é assegurar que as dietas forneçam quantidades adequadas dos nutrientes.

As macroalgas marinhas verdes parecem ser as melhores fontes de carotenóides com atividade de vitamina A, enquanto as vermelhas e pardas parecem contribuir com mais ou menos a mesma quantidade, apesar de α -caroteno não ter sido encontrado em nenhuma feofíceia. Este fato certamente está relacionado com a distribuição das algas no ambiente, tendo em vista que as clorófitas permanecem expostas à radiação solar por períodos mais prolongados e assim sintetizam mais carotenóides que, nos vegetais dentre outras funções, desempenham o papel de protegê-los contra os danos da fotoxidação.

As algas marinhas têm sido utilizadas como alimentos há séculos pelos povos orientais. Esta tradição tem se perpetuado, e até se expandido para o Ocidente, principalmente porque há uma busca constante por alimentos saudáveis que cumpram as funções de nutrição e proteção contra doenças simultaneamente. Este trabalho consiste em mais uma contribuição no sentido de reunir informações das quais o Brasil carece.

5. CONCLUSÕES

Os tempos de retenção do α -caroteno e do β -caroteno obtidos pelo sistema cromatográfico usado neste trabalho foram iguais a $10,37 \pm 0,38$ min e $11,33 \pm 0,37$ min, respectivamente.

Dentre as quinze espécies analisadas foi detectado α -caroteno em todas as clorófitas e em apenas duas rodófitas (*Bryothamnion triquetrum* e *Enantiocladia duperreyi*), porém as feófitas não apresentaram α -caroteno. O conteúdo foi máximo em *Caulerpa mexicana* (verde) e mínimo em *B. triquetrum* (vermelha).

Todas as algas estudadas apresentaram β -caroteno, cujo teor máximo foi detectado em *C. mexicana* e mínimo em *Dictyopteris delicatula* (parda).

O conteúdo de retinol equivalente foi máximo em *C. mexicana* e mínimo em *D. delicatula*.

Com base na quantidade de retinol equivalente, a ingestão diária de uma porção desidratada de aproximadamente 69 g de *C. mexicana* ou 100 g de *Dictyota dichotoma* (parda) permite classificá-las como fontes “excelente” e “útil” de vitamina A, respectivamente. Para que as rodofíceas estudadas neste trabalho sejam consideradas fontes “excelente” ou “útil” de vitamina A, a porção consumida diariamente teria que ser muito grande.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

BARUA, A.B.; OLSON, J.A. Beta-carotene is converted primarily to retinoids in rats in vivo. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.130, n.8, p.1996-2001, Aug 2000.

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, 2005, *Article In Press*.

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

BRASIL 1998. Portaria Nº 33 de 13 de janeiro de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde.

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

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. Carotenoids today and challenges for the future. In: **Carotenoids: isolation and analysis**. Vol. 1A. Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. (eds.). Birkhauser Verlag. Switzerland. pp.13-26, 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.

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

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

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

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.

GIMENO, E.; CALERO, E.; CASTELLOTE, A.I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M.; TORRE, M.C.; LÓPEZ-SABATER, M.C. Simultaneous determination of α -tocopherol and β -carotene in olive oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.881, n.1-2, p.255-259, Jun 2000.

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

HART, D.J.; SCOTT, K.J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, Oxford, v.54, n.1, p.101-111, 1995.

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

HEGAZI, M.M.; PÉREZ-RUZAFÁ, A.; ALMELA, L.; CANDELA, M.E. Separation and identification of chlorophylls and carotenoids from *Caulerpa prolifera*, *Jania rubens* and *Padina pavonica* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.829, n.1-2, p.153-159, Dec 1998.

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

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.

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

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

- MACIEL DA SILVA, H.C. **Levantamento da ocorrência de carotenóides pró-vitamina A em algas marinhas do Estado do Ceará.** 2003. 60f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.
- MAYNE, S.T. Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. **FASEB Journal**, Bethesda, v.10, n.7, p.690-701, May 1996.
- NORZIAH, M.H.; CHING, C.Y. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. **Food Chemistry**, Oxford, v.68, n.1, p.69-76, Jan 2000.
- OLIVEIRA, E.C. Macroalgas marinhas de valor comercial: Técnicas de cultivo. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.7, n. 42, p.42-45, jul/ago 1997.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.881, n.1-2, p.543-555, Jun 2000.
- OLSON, J.A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans, **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v.66, n.5, p. 1011-1016, May 1994.
- OLSON, J.A. Vitamin A. In: **Handbook of Vitamins**. Machlin, L.J. (ed.). 2. ed. New York: Marcel Dekker, 595p. pp. 1-57, 1991.
- OLSON, J.A. Vitamin A, retinoids, and carotenoids. In: **Modern Nutrition in Health and Disease**. Shils, M.E.; Olson, J.A.; Shike, M. (eds.), Philadelphia, Lea & Febiger, v.1, c.19, 8 ed., p. 287-307, 1993.
- OLSON, J.A.; KRINSKY, N.I. Introduction: the colorful, fascinating world of the carotenoids: important physiologic modulators. **FASEB Journal**, Bethesda, v.9, n.15, p.1547-1550, Dec 1995.
- PALERMO, J.A.; GROS, E.G.; SELDES, A.M. Carotenoids from three red algae of the Corallinaceae. **Phytochemistry**, Oxford, v.30, n.9, p.2983-2986, 1991.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. Protista II: Algas vermelhas, pardas e verdes. In: _____. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap. 14, p. 248-275.
- RICHARDSON, D.P. Food fortification. In: Ottaway, P.B. (ed). **The Technology of Vitamins in Food**. Glasgow. Blackie Academic & Professional. 1993. p. 233-245.
- RONCADA, M.J., Vitaminas lipossolúveis. In: **Ciências Nutricionais**. Dutra-de Oliveira, J.E.; Marchini, J.S. (eds.). São Paulo. Sarvier. p. 167-189, 2000.
- ROWAN, K.S. The carotenoids. In: _____. **Photosynthetic pigments of algae**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. Chapter 4, p. 112-165.
- SÁ, M.C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. **Food Chemistry**, Oxford, v.83, n.4, p.595-600, Dec 2003.

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

SCHAGERL, M.; PICHLER, C. Pigment composition of freshwater Charophyceae. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v.67, n.2, p.117-129, Jun 2000.

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

SPEEK, A.J.; SPEEK-SAICHUA, S.; SCHREURS, W.H.P. Total carotenoids and beta carotene contents of Thai vegetables and the effect of processing. **Food Chemistry**, Oxford, v.27, n.4, p.245-257, 1988.

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

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

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

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

WANG, X.D.; TANG, G.W.; FOX, J.G.; KRINSKY, N.I.; RUSSELL, R.M. Enzymatic conversion of beta-carotene into beta-apocarotenals and retinoids by human, monkey, ferret, and rat-tissues. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 285, n.1, p.8-16, Feb 1991.

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