



**UNIVERSIDADE DOS AÇORES**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**Desenvolvimento de tecnologias de extração e de  
quantificação dos principais componentes nutricionais de  
macroalgas do litoral dos Açores tendo em vista o seu  
aproveitamento como suplemento alimentar**

**Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar**

**Lisete Sousa Paiva**

**2013**

**Lisete Sousa Paiva**

**Desenvolvimento de tecnologias de extração e de  
quantificação dos principais componentes nutricionais de  
macroalgas do litoral dos Açores tendo em vista o seu  
aproveitamento como suplemento alimentar**

Dissertação de candidatura a obtenção do grau de Mestre em  
Tecnologia e Segurança Alimentar

- Trabalho realizado no laboratório de Tecnologia Alimentar  
do Departamento de Ciências Tecnológicas e  
Desenvolvimento da Universidade dos Açores.

Orientação:

- Professora Doutora Elisabete Maria de Castro Lima  
Professora Auxiliar do Departamento de Ciências Tecnológicas  
e Desenvolvimento da Universidade dos Açores

- Professor Doutor José António Bettencourt Baptista  
Membro Honorário do Departamento de Ciências  
Tecnológicas e Desenvolvimento da Universidade dos Açores



## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus orientadores, Professora Elisabete Lima e Professor José Baptista, pelo apoio incondicional, pela sua constante orientação e preocupação em transmitir conhecimentos, pela sua simpatia, amizade, boa disposição e empenho com que me ajudaram na elaboração e conclusão desta tese. Por me ajudarem a descobrir o que fazer de melhor e, assim, fazê-lo cada vez melhor.

À Professora Graça Silveira, na qualidade de docente e coordenadora do mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar.

Ao Departamento de Ciências Tecnológicas e Desenvolvimento e à Universidade dos Açores pela cedência das instalações para a realização de todo o trabalho prático.

Ao grupo de Biologia marinha pela ajuda na recolha e identificação das algas.

Aos meus pais, pelo apoio e pelos ensinamentos e valores que me inculcaram e pelos quais regem a minha vida.

Mais uma vez, à Professora Elisabete Lima e ao Professor José Baptista, na qualidade de meus superiores hierárquicos, que sempre mostraram total flexibilidade no meu horário de trabalho para que pudesse comparecer às aulas assim como para a realização dos trabalhos práticos.

A todos os meus colegas, pelos bons momentos de convívio proporcionados ao longo do curso.

**A TODOS, O MEU MUITO OBRIGADO!**

*“Mestre é aquele que estende a mão, inicia o diálogo e encaminha para a aventura da vida. Não é só o que ensina fórmulas, regras, raciocínios, mas o que questiona e desperta para a realidade. Àqueles que me ensinaram muito mais que teorias, que nos preparam também para a vida.”*

Autor desconhecido

---

## ÍNDICE GERAL

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. Caracterização do Arquipélago dos Açores .....	5
1.2. Breve caracterização da flora algal dos Açores .....	6
1.3. Algas e a alimentação .....	7
1.4. Algas e a indústria .....	9
1.5. Algas e sua ação terapêutica/farmacológica .....	11
1.6. Objetivos .....	13
<b>CAPÍTULO II. RECOLHA DA MATÉRIA-PRIMA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS</b> .....	15
2.1. Recolha da matéria-prima .....	17
2.2. Preparação das amostras .....	17
<b>CAPÍTULO III. PROTEÍNAS</b> .....	19
3.1. Generalidades .....	21
3.2. Metodologia .....	24
3.2.1. Determinação das proteínas pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990) ...	24
3.2.1.1. Digestão .....	25
3.2.1.2. Destilação .....	26
3.2.1.3. Titulação .....	26
3.2.2. Procedimento .....	27
3.2.2.1. Titulação .....	27
3.2.2.2. Destilação .....	28
3.2.2.3. Titulação .....	28
3.3. Resultados .....	29
3.4. Discussão/Conclusão .....	30
<b>CAPÍTULO IV. FIBRAS</b> .....	33
4.1. Generalidades .....	35
4.2. Metodologia .....	38

---

4.2.1. Determinação da Fibra bruta pelo método de Weende (AOAC,1990)....	38
4.2.2. Procedimento .....	39
4.2.2.1. Hidrólise ácida .....	39
4.2.2.2. Hidrólise básica .....	40
4.3. Resultados .....	41
4.4. Discussão/Conclusão .....	41
<b>CAPÍTULO V. HIDRATOS DE CARBONO .....</b>	<b>43</b>
5.1. Generalidades .....	45
5.2. Metodologia .....	47
5.2.1. Quantificação dos Hidratos de Carbono Totais pelo método colorimétrico de Fenol-Ácido Sulfúrico .....	47
5.2.2. Procedimento .....	47
5.3. Resultados .....	48
5.4. Discussão/Conclusão .....	50
<b>CAPÍTULO VI. LÍPIDOS E ÁCIDOS GORDOS .....</b>	<b>53</b>
6.1. Generalidades .....	55
6.2. Metodologia .....	60
6.2.1. Quantificação do perfil dos Ácidos Gordos .....	60
6.2.2. Procedimento .....	61
6.2.2.1. Extração dos lípidos totais pelo método gravimétrico de soxhlet .....	61
6.2.2.2. Quantificação do perfil dos ácidos gordos .....	62
6.2.2.3. Condições experimentais .....	63
6.3. Resultados .....	64
6.4. Discussão/Conclusão .....	66
<b>CAPÍTULO VII. MINERAIS .....</b>	<b>69</b>
7.1. Generalidades .....	71
7.2. Metodologia .....	73
7.2.1. Quantificação dos minerais .....	73
7.2.2. Procedimento .....	74
7.2.2.1. Condições experimentais .....	75
7.3. Resultados .....	76

---

7.4. Discussão/Conclusão .....	76
<b>CAPÍTULO VIII. VITAMINAS .....</b>	<b>79</b>
8.1. Generalidades .....	81
8.2. Metodologia .....	86
8.2.1. Extração e Quantificação das Vitaminas Lipossolúveis .....	86
8.2.2. Procedimento .....	87
8.2.2.1. Condições experimentais .....	88
8.3. Resultados .....	89
8.4. Discussão/Conclusão .....	89
<b>CAPÍTULO IX. CONCLUSÕES FINAIS .....</b>	<b>93</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>99</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>113</b>

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I.1. Localização geográfica do arquipélago dos Açores .....	5
Figura I.2. Macroalgas marinhas açorianas utilizadas na alimentação .....	9
Figura I.3. Macroalgas marinhas açorianas utilizadas na indústria .....	10
Figura II.1. Macroalgas .....	17
Figura III.1. Desnaturação das proteínas .....	22
Figura III.2. Processo de digestão .....	28
Figura III.3. Processo de destilação .....	28
Figura III.4. Processo de titulação .....	28
Figura III.5. Comparação do teor de proteínas das macroalgas com o de alguns alimentos comuns .....	29
Figura IV.1. A) Extrator de Fibras; B) Processo de digestão .....	40
Figura V.1. Comparação dos teores de hidratos de carbono das macroalgas com o de alguns alimentos comuns .....	49
Figura V.2. Recta de calibração da glucose .....	49
Figura VI.1. Estrutura molecular dos ácidos gordos .....	56
Figura VI.2. Processo de extração dos lípidos por soxhlet .....	62
Figura VI.3. Cromatógrafo de gás e sua estrutura .....	63

---

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela III.1. Teor de proteínas (% de peso seco) das macroalgas .....	29
Tabela IV.1. Conteúdo em fibras alimentares de algumas algas, frutas, vegetais e cereais (adaptado de Elleuch <i>et al.</i> , 2011) .....	38
Tabela IV.2. Teores em cinzas e fibra bruta das macroalgas (% de peso seco) .....	41
Tabela V.1. Teor de hidratos de carbono (% de peso seco) das macroalgas .....	48
Tabela VI.1. Teor em lípidos totais (% peso seco) e composição em ácidos gordos (% do total dos FAME) das macroalgas .....	64
Tabela VI.2. Proporção dos diferentes grupos de ácidos gordos (% do total dos FAME) das macroalgas .....	66
Tabela VII.1. Conteúdo em minerais (mg/100g de peso seco) das macroalgas comparado com o de alguns alimentos .....	76
Tabela VIII.1. Conteúdo em vitaminas lipossolúveis (mg/100g de peso seco) das macroalgas comparado com o de alguns alimentos .....	89



---

## RESUMO

As macroalgas destacam-se pelo seu importante papel no ecossistema marinho, fazendo parte do primeiro nível da cadeia alimentar dos oceanos.

Devido à sua diversidade de constituintes, as algas têm sido amplamente utilizadas, em muitas partes do mundo, como fonte de compostos essenciais para a nutrição humana. São fonte de: proteínas de excelente qualidade, pois contêm todos os aminoácidos essenciais; ácidos gordos poliinsaturados, em especial da família ómega-3 e outros ácidos gordos essenciais; hidratos de carbono; vitaminas; minerais (magnésio e cálcio); fibras dietéticas (como alginatos e carraginos) e metabolitos secundários bioativos (como fitoesteróis e polifenóis). Assim, o consumo de algas poderá constituir uma das melhores formas de corrigir as carências nutricionais da alimentação das sociedades industrializadas ocidentais, cuja elevada incidência de doenças relacionadas com a nutrição está a conduzir a grandes mudanças nos padrões do consumo alimentar, com a preocupação da procura de alimentos funcionais que possam promover a saúde.

Sobretudo durante a última década, as algas têm-se tornado uma fonte natural muito interessante para a investigação de novas estruturas moleculares bioativas que tenham potencial para estar na base de futuros medicamentos e/ou como novos ingredientes alimentares com diferentes propriedades funcionais. Para a pesquisa destas novas estruturas foi importante o desenvolvimento de novas metodologias analíticas capazes de fornecer uma caracterização química mais sistemática dos compostos existentes nas algas.

No Arquipélago dos Açores, as macroalgas marinhas *Fucus spiralis*, *Osmundea pinnatifida* e *Ulva rigida* são tradicionalmente consumidas por populações de algumas ilhas, mas existe pouca informação sobre o seu valor nutricional. De forma a proporcionar um maior conhecimento sobre a composição química destas algas, o presente trabalho teve como objetivo o estudo e aplicação de várias sequências de metodologias para determinar a composição química das três espécies de macroalgas referidas, assim como a confirmação de serem potencialmente rentáveis do ponto de vista da biotecnologia e de diversas perspetivas comerciais futuras.

---

Este trabalho apresenta informação sobre aspetos nutricionais em termos de: proteínas; fibras; hidratos de carbono; lípidos; perfil de ácidos gordos, ácidos gordos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e *trans*, razão n-6/n-3 e h/H (ácidos gordos hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos); minerais (Na, K, Mg, Ca e razão Na/K) e vitaminas lipossolúveis (A, E, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, K<sub>1</sub> e K<sub>3</sub>). Os resultados confirmam que as macroalgas em estudo são uma excelente fonte dos referidos macro- e micronutrientes, e revelam um perfil de ácidos gordos e de minerais considerados saudáveis, pelo que o seu consumo regular poderá contribuir significativamente para melhorar os desequilíbrios nutricionais e consequentemente a saúde humana.

Os resultados obtidos neste estudo representam uma contribuição muito importante para a valorização dos produtos algais dos Açores. Estes, se qualificados e caracterizados, poderão ter um forte impacto económico para a Região Autónoma dos Açores, cuja costa se distingue por ser um local de muito reduzida poluição marinha.

**Palavras-chave:** Açores; Macroalgas marinhas; Composição química; Proteínas; Fibras; Hidratos de Carbono; Ácidos gordos; Minerais; Vitaminas; Valor nutricional e terapêutico; Biotecnologia.

---

## ABSTRACT

Macroalgae are important organisms because of their strong impact on marine ecosystems, as the first level of the ocean's food chain.

Because of their various constituents, macroalgae have been largely used in many parts of the globe as a source of the essential compounds for human nutrition. They are sources of proteins with excellent quality because they contain all the essential amino acids, polyunsaturated fatty acids, particularly from the omega 3 series and other essential fatty acids, carbohydrates, vitamins and minerals (magnesium and calcium) and dietetic fibers (alginates and carragenates) and secondary bioactive metabolites as phytosterols and polyphenols. As a result, the consumption of macroalgae may be one of the best ways to correct unbalanced nutritional diet from western industrialized societies. The large incidence of nutritional related diseases is leading to large alterations of common diets and the need to find functional foods that promote good health.

Particularly during the last decade, macroalgae have been a very promising natural source for investigating natural novel molecular bioactive structures with the potential to be used in future medical formulas, as well as being a source of new food ingredients with different functional properties. To investigate these novel molecular structures was important to develop new analytical procedures in order to perform a complete chemically characterization of the macroalgae constituents.

In the Azores archipelago the marine macroalgae *Fucus spiralis*, *Osmundea pinnatifida* and *Ulva rigida* have been traditionally consumed by the population of some islands, but there is still scarce information about their nutritional values. In order to provide a better understanding about the macroalgae chemical composition, the present study has the objective to develop and to apply several sequential methodologies in order to determine the chemical composition of the three referred macroalgae as well as to confirm the success of their biotechnological exploration and their use in future commercial perspectives.

This study revealed information about the nutritional aspects in terms of proteins; fibers; carbohydrates; lipids; fatty acids profiles, saturated fatty acids, mono-unsaturated, poly-unsaturated and *trans*, n-6/n-3 ratio and h/H ratio

---

(hypocholesterolemic/hypercholesterolemic fatty acids); minerals (Na, K, Mg, Ca, and Na/K ratio) and fat soluble vitamins (A, E, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, K<sub>1</sub>, e K<sub>3</sub>). The results confirmed that macroalgae in this study are an excellent source of the referred macro- and micronutrients and also revealed that a regular consumption may contribute significantly to correct unbalanced diets and consequently improve the human health.

The revealed results from this study present a very important contribution for the understanding Azorean algal products. This material after qualification and characterization will have a strong economic impact on the Azores Region that is characterized as a local with a very low marine pollution.

**Keywords:** Azores; Marine macroalgae; Chemical composition, Proteins, Fibers, Carbohydrates, Fatty Acids, Minerals, Vitamins, Nutritional and therapeutic value; Biotechnology.

## CAPÍTULO I

# INTRODUÇÃO



---

## I. INTRODUÇÃO

A ficologia ou algologia é o estudo das algas e deriva do grego *phycos* que significa alga marinha (Lee, 1999). As algas pertencem ao reino vegetal e constituem uma ampla diversidade de organismos que podem ser definidos em termos de morfologia e fisiologia geral (Bellinger e Sigeo, 2010). Nem todas as espécies de algas são plantas na atual classificação dos seres vivos e nem todas vivem no mar, no entanto, apresentam uma característica comum, que é a presença de clorofila nas suas células. As algas habitam ambientes terrestres húmidos ou meios aquáticos de água doce ou salgada.

As algas são organismos autotróficos e fotossintetizantes que diferem das plantas terrestres por não formarem tecidos nem órgãos ordenados, ou seja, não apresentam uma estrutura dividida em raiz, caule e folhas (Van Den Hoek *et al.*, 1995; Neto *et al.*, 2005).

As algas têm uma função primordial no ciclo de vida do ambiente marinho e são chamados organismos produtores, pois produzem tecidos vivos a partir da fotossíntese e fazem parte do primeiro nível da cadeia alimentar, sendo utilizadas como alimento por peixes e caranguejos herbívoros entre outros, filtradores (ascídias, esponjas, moluscos, crustáceos) e animais do plâncton (zooplâncton). Por outro lado, são uma grande fonte de oxigénio, possuindo um papel fundamental na manutenção da vida no planeta (Bellinger e Sigeo 2010), são, portanto, o verdadeiro pulmão do mundo, uma vez que produzem mais oxigénio pela fotossíntese do que precisam na respiração, sendo o excesso libertado para o ambiente.

Além dessas importantes características (consumir gás carbónico para realizar a fotossíntese e produzir oxigénio para a respiração de toda a fauna) as algas são um grupo muito diverso, contribuindo significativamente para elevar a biodiversidade marinha (Bellinger e Sigeo 2010). Sendo ecológica e biologicamente importantes, as algas fornecem componentes nutricionais, medicinais e um ambiente para outros organismos vivos se adaptarem (McClanahan *et al.*, 2002). Assim, têm sido utilizadas, desde a antiguidade, na alimentação das comunidades costeiras e, também, na medicina e na farmacologia, pela sua ação antimicrobiana, antitumoral, antiviral e

---

pelas propriedades anticoagulantes. Além disso, são usadas na cosmética e nas indústrias têxtil e da construção (Fleurence, 1999).

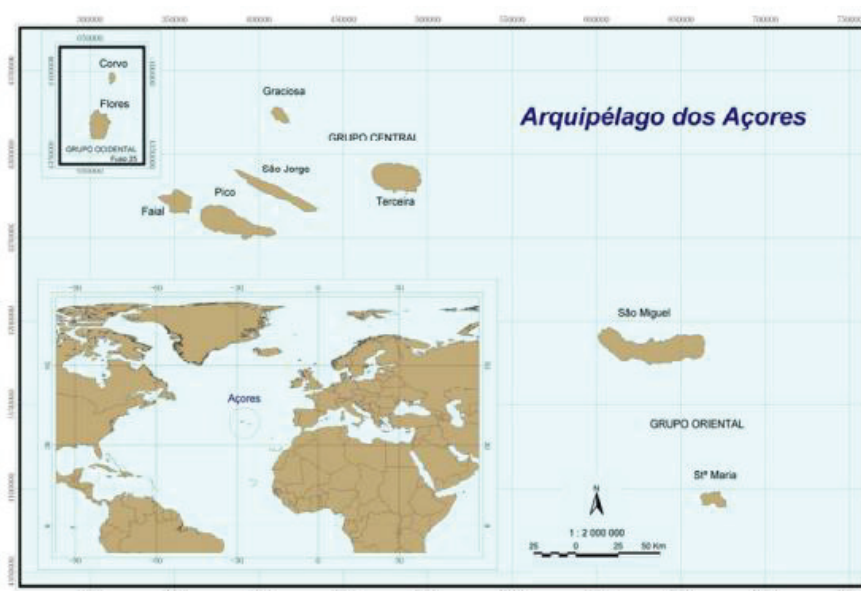
As macroalgas podem ser classificadas como algas vermelhas (Rhodophyta), castanhas (Heterokontophyta, *Phaeophyceae*) ou verdes (Chlorophyta), dependendo da sua composição química e conseqüentemente nutricional (Dawczynski *et al.*, 2007). Sendo organismos com diversos compostos ativos com propriedades benéficas para a saúde, a sua utilização como ingrediente funcional abre novas possibilidades no processamento de alimentos (Fleurence, 1999; Cofrades *et al.*, 2008), contudo estes organismos estão expostos a variações sazonais, que influenciam o seu metabolismo (fotossíntese e crescimento) e, conseqüentemente os teores dos seus constituintes químicos (Orduña-Rojas *et al.*, 2002).

Esta dissertação de mestrado tem como objetivo a determinação de algumas das características nutricionais de algas edíveis dos Açores e a avaliação do seu potencial uso para a indústria de nutracêuticos.

A tese encontra-se estruturada em nove capítulos, incluindo o presente capítulo introdutório. O segundo capítulo refere-se à recolha e à preparação das amostras para posterior caracterização bioquímica, abordada no terceiro a oitavo capítulos, nomeadamente: teor de proteína bruta (cap. III), de fibra bruta (cap. IV) e de hidratos de carbono totais (cap. V); teor de lípidos totais e caracterização do perfil dos ácidos gordos (cap. VI) e conteúdo de minerais e vitaminas lipossolúveis (cap. VII e VIII, respetivamente). Cada um destes capítulos encontra-se subdividido em quatro secções: (i) breve introdução ao nutriente em estudo; (ii) metodologia desenvolvida para a sua deteção e quantificação e, nalguns casos, para a sua extração, separação e identificação; (iii) apresentação dos resultados obtidos com o trabalho experimental desenvolvido e (iv) discussão dos resultados obtidos e descrição das principais conclusões. No nono e último capítulo, apresentam-se as conclusões finais deste trabalho e as suas perspetivas futuras.

## 1.1. Caracterização do Arquipélago dos Açores

O arquipélago dos Açores situa-se em pleno Oceano Atlântico Norte entre as latitudes 37º e 40º Norte e as longitudes 25º e 31º Oeste, a uma distância de cerca de 1600 km do continente europeu. É composto por nove ilhas e diversos ilhéus, todos de origem vulcânica. As ilhas do arquipélago dos Açores estendem-se por uma faixa com cerca de 600 km de extensão, divididas em três grupos distintos (Figura I.1.): o Grupo Ocidental inclui as ilhas de Flores e Corvo, o Grupo Central as ilhas Terceira, Graciosa, São Jorge, Pico e Faial, enquanto o Grupo Oriental integra as ilhas de São Miguel e Santa Maria e os Ilhéus das Formigas.



**Figura I.1.** Localização geográfica do arquipélago dos Açores

(Fonte: Secção de Geografia, 2005).

O arquipélago dos Açores tem um clima marítimo com temperaturas médias amenas que variam desde 16 °C no Inverno aos 26 °C (79 °F) no Verão. As temperaturas do mar sofrem influências da Corrente do Golfo e da contra-Corrente do Labrador, sendo também amenas e entre os 14 °C e os 22 °C em média (Morton *et al.*, 1998).

---

## 1.2. Breve caracterização da flora algal dos Açores

A flora marinha dos Açores mostra uma zonação muito evidente, sendo mais acentuada no intertidal (Neto 2000a, b). Estudos realizados por alguns autores, tiveram como objetivo o conhecimento e a divulgação da flora algal dos Açores (Seubert em 1844 referenciou 44 espécies de macroalgas marinhas, assim como Hunt (1846), Agardh (1870) e Sampaio (1904), nos anos seguintes). Otto Christian Schmidt publica, em 1931, a primeira flora algal do arquipélago. Na década de 90, Neto (1994) elaborou uma lista de espécies de macroalgas marinhas tendo em conta as referências anteriores, e que tem sido enriquecida até aos dias de hoje através de várias publicações científicas da especialidade.

Nos Açores estão referenciadas cerca de 368 espécies de macroalgas marinhas (56 *Chlorophyceae*, 75 *Phaeophyceae* e 237 *Rhodophyceae*), um número significativamente elevado quando comparado com outras regiões frias do Norte Atlântico. Algumas algas apresentam uma sazonalidade, enquanto outras são perenes e persistem vários anos. Existem também as espécies anuais de crescimento rápido que mantêm a população estável ao longo do ano, transmitindo a sensação de serem perenes (Neto *et al.*, 2005).

De acordo com Neto (2000 a,b) e Couto (2003), as Rhodophyta são o grupo taxonómico dominante na zona intertidal da ilha de São Miguel. Neto também observou alterações sazonais no crescimento e reprodução de algumas espécies de macroalgas açorianas.

Segundo Couto (2003), é no inverno que se observa maior número de grupos taxonómicos e no verão o menor número. Quanto à variação dos *taxa* por estações do ano, o maior número de Rhodophyta aumenta desde o fim do verão até ao inverno e as Heterokontophyta (*Phaeophyceae*) apresentam um maior número de espécies no outono e as Chlorophyta na primavera.

As macroalgas marinhas ocorrem principalmente fixas às rochas, e podem crescer na areia, recifes de coral, cascos de barcos, pilares de portos, mas sempre na presença de luz e nutrientes. São muito abundantes na zona entre-marés, onde formam densas faixas nas rochas. Estas algas são representadas pelas algas verdes,

---

castanhas e vermelhas, podendo apresentar formas muito variadas: foliáceas, arborescentes, filamentosas e ramificadas (Ramos *et al.*, 1998).

As algas apresentam uma grande variabilidade no seu conteúdo em nutrientes e estas diferenças estão relacionadas com diversos fatores ambientais, como a temperatura das águas, salinidade, luz e nutrientes disponíveis (Dawes, 1998). Grande parte dos parâmetros ambientais variam de acordo com a estação do ano, sendo que as alterações nas condições ecológicas podem estimular ou inibir a biossíntese de vários nutrientes (Lobban *et al.*, 1985).

### **1.3. Algas e a alimentação**

Nos últimos anos, tem surgido um crescente interesse nos chamados grupos de alimentos funcionais, entre os quais as algas, que têm merecido reconhecimento por serem um grupo de alimentos capaz de proporcionar benefícios fisiológicos e nutricionais adicionais (Goldberg, 1994; Madhusudan *et al.*, 2011), em virtude da sua composição equilibrada, o que tem despertado muito interesse na comunidade científica (Pereira, 2011).

Um alimento funcional pode ser definido como um alimento que produz um efeito benéfico em uma ou mais funções fisiológicas, proporcionando o aumento do bem-estar e ou diminuindo o risco de sofrer o aparecimento ou o desenvolvimento de uma doença particular. As funcionalidades são muito mais preventivas do que curativas, além disso, os novos tipos de produtos derivados, a partir de alimentos, muitas vezes referidos como nutracêuticos, foram recentemente desenvolvidos e são amplamente comercializados (Pereira, 2011).

Os alimentos funcionais são geralmente usados como suplementos alimentares, em vez de alimentos integrais e são comercializados na forma concentrada (comprimidos ou drageias) podendo fornecer benefícios para a saúde. Frequentemente, estes alimentos, são obtidos a partir de alimentos tradicionais, enriquecidos com um ingrediente que é capaz de proporcionar ou promover uma ação benéfica para a saúde humana. Segundo Madhusudan *et al.* (2011), muitos compostos

---

biologicamente ativos estão presentes nas algas e podem ser utilizadas como agentes terapêuticos em suplementos dietéticos.

Desde a antiguidade que as algas fazem parte da dieta tradicional das comunidades costeiras. O seu consumo é mais expressivo na Ásia Oriental, especialmente no Japão, China e Coreia. Muitos estudos têm mostrado que as macroalgas contêm quantidades significativas de proteínas (Patarra *et al.*, 2011), vitaminas e minerais essenciais para a nutrição humana (Jensen, 1993). Devido ao seu elevado teor em proteínas, as algas tornaram-se mais importantes para a indústria alimentar, especialmente nos países desenvolvidos (Wong e Cheung, 2000). As algas comestíveis contêm proteínas de elevado valor biológico, concentrações elevadas de vitaminas, uma proporção elevada de ácidos gordos insaturados essenciais, particularmente os de cadeia longa, ácidos gordos n-3 poliinsaturados, antioxidantes e, ainda, são uma excelente fonte de minerais e fibras (Fleurence *et al.*, 1994; Fleurence 1999; Kolb *et al.*, 2004; Sánchez-Machado *et al.*, 2004; Smit, 2004; Cardozo *et al.*, 2007; Paiva *et al.*, 2012).

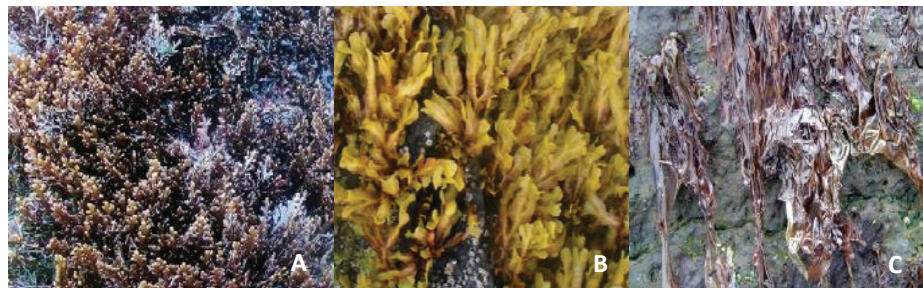
As algas vermelhas (Rhodophyta) e castanhas (Heterokontophyta, *Phaeophyceae*) são os grupos de algas mais consumidas, pois são utilizadas principalmente como fontes de alimentos para os humanos, e podem ser cultivadas em viveiros ou simplesmente recolhidas no ambiente marinho. No Japão têm sido utilizadas como matéria-prima no fabrico de produtos alimentares, tais como compota, queijo, vinho, chá, sopa e macarrão e nos países ocidentais, principalmente como uma fonte de polissacarídeos para alimentos e usos farmacêuticos (Indegaard e Minsaas, 1991; Mabeau e Fleurence, 1993; Pereira, 2011). Algumas das algas comestíveis mais conhecidas são o “nori” (*Porphyra*), utilizado pelos japoneses na preparação de sushi, o “kombu” (*Laminaria*) e o “wakame” (*Undaria pinnatifida*) que fazem parte de pratos chineses e japoneses, como sopas, molhos e carnes (Faccini, 2007).

Em algumas ilhas dos Açores, as algas são tradicionalmente utilizadas para consumo humano ou para fins comerciais. As algas vermelhas *Laurencia* e *Osmundea* (Figura I.2. A), mais conhecidas como “erva malagueta”, são conservadas em vinagre e consumidas a acompanhar peixe frito. As algas *Pterocladia capillacea* e *Gelidium microdon* são utilizadas para uso comercial, na produção industrial de ágar. A alga

---

castanha *Fucus spiralis* (Figura I.2. B) conhecida como “tremoço do mar”, é uma iguaria local, e é considerada um petisco, sendo usadas as porções reprodutivas terminais do seu talo e consumidas frescas. A *Porphyra*, (Figura I.2. C) conhecida como “erva patinha”, é apanhada e consumida frita ou incorporada em sopas, tortas e omeletes (Neto *et al.*, 2005).

Com a atual tendência dos consumidores para adotarem o consumo de alimentos organicamente naturais provenientes de ambientes limpos, as algas começam a receber uma maior aceitação por parte do público. O consumo de algas seria uma excelente opção, particularmente no Arquipélago dos Açores que possui águas não poluídas e com excelentes condições ambientais, de acordo com os parâmetros da Diretiva Quadro da Água (Neto *et al.*, 2009).



Fotos: Biologia Marinha UAc

**Figura I.2.** Macroalgas marinhas açorianas utilizadas na alimentação.

A) *Osmundea pinnatifida*; B) *Fucus spiralis*; C) *Porphyra* sp.

#### 1.4. Algas e a indústria

A produção de algas marinhas a nível mundial atingiu em 2000 cerca de 10 milhões de toneladas. Os 12 principais países produtores são: China, França, Reino Unido, Japão, Chile, Filipinas, Coreia, Indonésia, Noruega, EUA, Canadá e Irlanda (Pereira, 2011). Um exemplo da comercialização de algas e conseqüente lucro monetário é como fertilizante que movimenta cerca de 15 milhões de dólares por ano. Há diversas indústrias espalhadas pelo mundo que investem neste tipo de produtos, conseguindo cerca de 10 mil toneladas de ração produzidas a partir de cerca de 50 mil toneladas de algas frescas movimentando cerca de 5 milhões de dólares (Faccini, 2007).

---

As algas podem ser utilizadas na indústria como fontes de ágar, muito importantes especialmente na indústria alimentar, apresentando propriedades como espessantes, gelificantes e estabilizantes e na fabricação de cosméticos (Pereira, 2011). O ágar é um ficocolóide com a propriedade de formar géis e é constituído por dois polissacarídeos, a agarose e a agarpectina, sendo a agarose um produto muito utilizado em biotecnologia. O ágar é extraído industrialmente a partir das algas *Gelidium microdon*, *Pterocladia capillacea* (Figura 1.3.) e da *Gracilaria gracilis* e tem sido utilizado como agente gelificante para geleias de frutas e vegetais e em confeitarias. O ágar-ágar é também utilizado na indústria farmacêutica para a preparação de emulsões líquidas para o tratamento da obstipação e como agente gelificante em géis e pomadas (Faccini, 2007).



Fotos: Biologia Marinha UAc

**Figura 1.3.** Macroalgas marinhas açorianas utilizadas na indústria.

A) *Pterocladia capillacea*; B) *Gelidium microdon*

Na indústria da cosmética, as algas têm vindo a cimentar a sua presença, devido a uma ampla variedade das suas propriedades, como estimulantes do metabolismo tecidual e da circulação sanguínea, tonificação dos tecidos cutâneos, hidratação dos tecidos, prevenindo o envelhecimento da pele, estimulação e bom funcionamento das glândulas sebáceas e regulação do conteúdo hídrico, facilitando a eliminação de toxinas (Pereira, 2011).

Numa outra vertente, as algas são uma fonte importante de nitrogénio, potássio e outros nutrientes minerais que podem ser utilizadas para melhorar a textura e retenção da humidade no solo. As algas calcárias têm sido utilizadas como corretivo de solos ácidos em vários países como a Inglaterra, Escócia, Irlanda e Dinamarca (Faccini, 2007). As algas têm também a capacidade de produzir diversas substâncias químicas que são utilizadas desde muitos anos, nos mais diversos segmentos da Indústria, sendo

---

que ainda há muito por explorar e a biotecnologia tem aqui um papel importante, pois serão precisos mais estudos de forma a estimular as empresas a investir nesta área.

### **1.5. Algas e sua ação terapêutica/farmacológica**

O uso medicinal das algas na cura e prevenção de doenças faz parte da cultura milenar de muitos países, como China, Coreia e Japão. A eficácia de uma espécie de alga parda (*Laminaria* spp) já foi reconhecida no tratamento do bócio (Pereira, 2011), doença resultante do incorreto metabolismo do iodo ou pela sua carência. Esta alga apresenta quantidades significativas de iodo, podendo ser ingerida para compensar esta falta.

O género *Chlorella*, por exemplo, é estudado desde a década de 30, sendo-lhe atribuído propriedades contra o cancro, anemia, periodontites e infeções de vários tipos, além de possuir uma elevada concentração de clorofila, que é bactericida. Espécies do género *Sargassum* e *Laminaria* também têm sido utilizadas no Japão para o tratamento do cancro (Faccini, 2007). Banhos com algas ou aplicações de algas na pele associadas à radiação infravermelha têm sido utilizados no tratamento de dores reumáticas e osteoporose (Faccini, 2007). As algas verdes têm sido usadas como vermífugos, adstringentes e no tratamento da gota. As algas castanhas destinam-se ao tratamento de reumatismo, arteriosclerose, hipertensão, transtornos menstruais, bócio, úlceras gástricas, doenças de pele, sífilis e efeito anticoagulante. As algas vermelhas são utilizadas como anticoagulantes, anti-helmínticos, vermífugos e para o tratamento de gastrites (Ebadi, 2006).

Alguns medicamentos, utilizados na regulação do apetite, contêm substâncias extraídas de algas, que, ao entrarem em contacto com soluções aquosas, expandem-se no interior do estômago, transmitindo ao cérebro uma sensação de saciedade.

O consumo regular de macroalgas pode aumentar a ingestão de proteínas, fibras, vitaminas, aminoácidos essenciais, e ácidos gordos poliinsaturados, que previnem a ocorrência de algumas doenças crónicas (diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, cancros, entre outras), que estão associadas com dietas pobres em fibras dos países ocidentais (Southgate, 1990). As algas ricas em fibras alimentares,

---

facilitam o trânsito intestinal, baixam o colesterol no sangue e reduzem doenças como o cancro do cólon (Guidel-Urbano e Goni, 2002). A Ingestão de fibras solúveis pode exercer efeitos prebióticos, provavelmente devido ao crescimento de bifidobactérias (Hoebler *et al.*, 2000). Em combinação com alimentos que provocam elevados níveis de glicémia, as fibras solúveis reduzem a resposta glicémica (Goni *et al.*, 2000), nomeadamente a redução do colesterol, e a modulação da glicose no sangue (Brennan, 2005).

Embora já tenham sido desenvolvidas muitas aplicações para as algas e seus componentes, diversos setores como as indústrias química, alimentar e farmacêutica, continuam a realizar estudos na procura de novos componentes bioativos. E, com certeza, ainda há muito a ser explorado sobre esses incríveis organismos.

---

## 1.6. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo geral a determinação da composição química de três espécies de macroalgas marinhas (*Fucus spiralis*, *Osmundea pinnatifida* e *Ulva rigida*) mais comuns nos ecossistemas do litoral dos Açores, mais propriamente da ilha de São Miguel, e que podem ser potencialmente rentáveis do ponto de vista da biotecnologia e de diversas perspetivas comerciais futuras, uma vez que são tradicionalmente consumidas por populações de algumas ilhas do arquipélago.

Para o efeito são propostos os seguintes objetivos específicos:

- Determinar o teor de proteína bruta;
- Determinar o teor de fibra bruta;
- Quantificar os hidratos de carbono totais;
- Quantificar os lípidos totais;
- Caracterizar o perfil dos ácidos gordos (FA) e determinar os ácidos gordos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e *trans* (SFA, MUFA, PUFA e TFA, respetivamente), assim como a razão de ómega-6 e ómega-3 (n-6/n-3) e a razão de ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos (h/H);
- Determinar qualitativamente e quantitativamente o conteúdo em minerais;
- Dosear o teor de vitaminas lipossolúveis;
- Correlacionar a composição química das macroalgas com o seu potencial efeito benéfico para a saúde humana, tendo em vista o seu aproveitamento como suplemento alimentar, assim como a criação de novos nutracêuticos/alimentos funcionais.



## **CAPÍTULO II**

# **RECOLHA DA MATÉRIA-PRIMA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS**



---

## II. RECOLHA DA MATÉRIA-PRIMA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

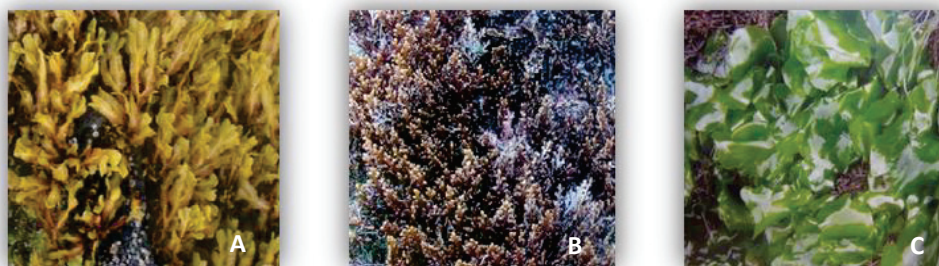
### 2.1. Recolha da matéria-prima

As algas *Fucus spiralis* (Linnaeus) (Figura II.1. A) e *Osmundea pinnatifida* (Hudson) Stackhouse (Figura II.1. B) foram recolhidas no mês de janeiro de 2013 (Pranchinha, Ponta Delgada) e a alga *Ulva rigida* (C. Ágardh) (Figura II.1. C) no mês de Abril de 2013 (Forno da Cal, São Roque) nas zonas intertidal e subtidal da ilha de São Miguel.

### 2.2. Preparação das amostras

No laboratório, as espécies de macroalgas foram identificadas, recorrendo-se a chaves de identificação taxonómica, e preparados os respetivos *vouchers* que estão incorporados no Herbário AZB - Ruy Telles Palhinha do Departamento de Biologia da Universidade dos Açores.

As amostras algais foram lavadas primeiro com água do mar, para retirar epífitos, areia e outros materiais incrustados, e depois com água destilada, para remover o sal. Após a lavagem, as amostras foram secas com papel absorvente, para retirar o excesso de água, e armazenadas a -80 °C, para preservar a bioatividade dos seus componentes até posteriores análises. Antes de cada análise, as algas foram descongeladas e secas em estufa a 65 °C durante 48 horas (evitando o sobreaquecimento que poderá provocar oxidação) e posteriormente reduzidas a pó com a ajuda de um homogeneizador, sendo secas novamente a 65 °C de modo a obter um extrato seco sem humidade.



Fotos: Biologia Marinha UAc

**Figura II.1.** Macroalgas: A) *Fucus spiralis*; B) *Osmundea pinnatifida*; C) *Ulva rigida*



## CAPÍTULO III

# PROTEÍNAS



---

## III. PROTEÍNAS

### 3.1. Generalidades

A palavra proteína deriva da palavra grega *protos*, que significa “primeiro” ou “mais importante”, desta forma, as proteínas foram os primeiros nutrientes a serem considerados essenciais para o organismo (Borsoi, 2001). Mais tarde descobriu-se que a hipótese de Mulder (*Em 1839 o químico holandês Gerardus Mulder determinou a fórmula química  $C_{40}H_{62}O_{12}N_{10}$  como sendo comum a todas as substâncias albuminosas. Ele propôs que todas estas substâncias se formavam a partir de moléculas com esta composição, e chamou a este grupo proteína*) não era correta, mas o nome permaneceu e é de certa forma adequado, pois as proteínas constituem cerca de 20% da massa orgânica nos seres vivos (Ferreira, 1983; Krippah, 1999) e são a mais versátil classe de compostos orgânicos. Desempenham diversas funções nos sistemas biológicos, como: catálise de reações, transporte, suporte e movimento, resposta imunitária, como mecanismo de defesa, na formação de tecidos, na manutenção e reparação dos mesmos e no balanço de fluidos, entre outras (Stryer, 1988; Krippah, 1999).

As proteínas são as moléculas orgânicas mais abundantes nas células e encontram-se em todas as partes das células com funções fundamentais a nível celular. São portanto, muito estudadas a nível da sua síntese ou aproveitamento metabólico sendo constituídas por cadeias de aminoácidos que formam a massa corporal magra. A maior quantidade encontra-se nos músculos, sendo responsáveis pela contração muscular. Outras funções importantes das proteínas são: regular o funcionamento dos órgãos do corpo, construção de novos tecidos, assim como da sua manutenção e reparação, defesa do organismo através da formação dos anticorpos, transportar substâncias através do sangue, coagulação sanguínea e ajudam na formação da hemoglobina e de várias enzimas (Krippah, 1999).

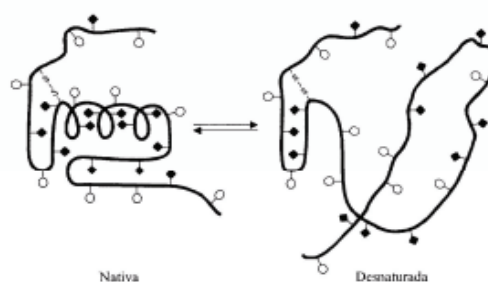
As melhores fontes proteicas são as de origem animal, como ovos, queijos, carnes em geral e leite, mas a ingestão de misturas de cereais e leguminosas, como soja, feijão, ervilha, lentilha, também fornece ao organismo as quantidades necessárias de aminoácidos para a síntese proteica (Lajolo e Tirapegui, 1998; Borsoi, 2001). A

---

concentração de proteínas nesses alimentos pode variar entre 20 a 35%, assim como a concentração e proporção relativa dos aminoácidos dieteticamente indispensáveis que compõem a proteína (Sgarbieri, 1987).

Em termos estruturais, as proteínas são polímeros de alto peso molecular, em que as unidades básicas são os aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas formando longas cadeias, em várias estruturas geométricas e combinações químicas sendo responsáveis pela sua especificidade, cada qual com a sua própria função fisiológica. Os aminoácidos estão ligados linearmente (estrutura primária) e por estabelecimento de ligações extras mais fracas entre as cadeias laterais, nomeadamente através de ligações iónicas, ligações de hidrogénio e interações de Van der Waals, originando as estruturas secundárias e terciárias. As propriedades e funções das proteínas são determinadas pelo número e tipo de aminoácidos e pela sua estrutura tridimensional (John deMan, 1999).

Relativamente à sua origem, as proteínas podem ser exógenas, ou seja, proteínas que são ingeridas pela dieta, ou endógenas, derivadas da degradação das proteínas celulares do próprio organismo. Estas podem ainda ser divididas em dois grupos principais: as proteínas fibrosas e as globulares. As primeiras formam estruturas em zig-zag ou em hélice e as globulares, são formas quase esféricas resultantes de um enrolamento tipo novelo. Estas estruturas são mantidas por interações fracas e por isso são facilmente quebradas quando em condições elevadas de temperatura, ou exposição a ácidos, sais ou álcoois. Esta perda da estrutura tridimensional é um processo conhecido como desnaturação e a perda da configuração espacial modifica completamente a sua função, podendo até destruir a proteína (Krippah, 1999).



**Figura III.1.** Desnaturação das proteínas.

---

A nível fisiológico, as condições extremas de desnaturação da proteína são obtidas com uma variação brusca acima de 50 °C e pH abaixo de 5.0, sendo ambas incompatíveis com a vida (John deMan, 1999).

O conceito sobre a necessidade de proteínas e aminoácidos tem sido objeto de muito debate, e tem sofrido alterações ao longo do tempo. Para isso, Lajolo e Tirapegui (1998), afirmam que, “de um modo geral, as necessidades de proteínas representam a quantidade específica para a manutenção da saúde em indivíduos normais. E para se garantir essa necessidade, é fundamental que estejam satisfeitas, também, as necessidades energéticas do organismo.”

Uma má nutrição em termos do balanço entre energia e proteína é o resultado do consumo insuficiente dos nutrientes que são indispensáveis à manutenção da saúde, resultando em fadiga, debilidade e diminuição das defesas do organismo. A desnutrição pode ser também devido a muitos outros fatores não nutricionais que também influenciam o crescimento e o desenvolvimento, como os fatores genéticos e o meio sócio-psicológico em que o indivíduo vive.

As algas são fontes importantes de proteínas e algumas apresentam quantidades significativas (Patarra *et al.*, 2011), diferindo o seu conteúdo de espécie para espécie.

Geralmente a fração proteica das algas castanhas (3 a 15%) é menor quando comparada com as verdes e vermelhas (10 a 47%) (Fleurence, 1999). Em algumas algas como as espécies pertencentes ao género *Ulva*, podem conter cerca de 10 a 26% de proteína (peso seco) (Fujiwara-Arasaki *et al.*, 1984). A espécie *Ulva pertusa*, que é frequentemente consumida pela população japonesa, possui à volta de 20 a 26% de proteína. Valores mais elevados estão presentes nas algas *Porphyra tenera* (47%) e *Palmaria palmata* (35%) (Morgan *et al.*, 1980); Arasaki e Arasaki, 1983).

O conteúdo em proteínas nas algas também depende da estação do ano. Uma monitorização dos níveis de proteínas da *Palmaria palmata* recolhida na costa atlântica da França mostrou que o seu conteúdo em proteína pode variar entre 9 e 25%. Níveis elevados foram observados durante o fim do inverno e primavera e níveis mais baixos durante os meses de verão (Galland-Irmouli *et al.*, 1999), demonstrando assim que o teor de proteínas está dependente da sazonalidade das algas.

---

## 3.2. Metodologia

### 3.2.1. Determinação da Proteína bruta pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990)

Para a quantificação das proteínas foi utilizado o método de Kjeldahl, que consiste numa digestão, destilação e titulação. Com este método consegue-se obter a percentagem de nitrogénio, sendo que este valor é posteriormente convertido em proteína bruta.

O termo proteína bruta envolve um grande grupo de substâncias com estruturas semelhantes, mas com funções fisiológicas muito diferentes. O procedimento mais comum para determinar proteína é através da determinação de um elemento ou grupo pertencente à proteína. A conversão para conteúdo de proteína é feita através de um fator, denominado fator de conversão, que no caso das algas o valor de transformação de nitrogénio para proteína é de 6.25.

Os elementos analisados geralmente são carbono e nitrogénio e os grupos são os aminoácidos e as ligações peptídicas. Como as proteínas têm uma percentagem de nitrogénio quase constante, à volta de 16% (vai depender do tipo de proteína), normalmente determina-se o nitrogénio e, por meio de um fator de conversão, este valor obtido é transformado em proteína bruta (Galvani e Gaertner, 2006).

Como o fator geral na transformação de nitrogénio para proteína é de 6.25.

16 g N ----- 100 g proteínas

n g N ----- x g proteínas

$X = n \times 100/16 = n \times 6.25$  g de proteínas

Este fator de conversão dá erros quando o conteúdo em N de um alimento é muito diferente de 16%. Nestes casos, existem os fatores de conversão específicos para cada alimento.

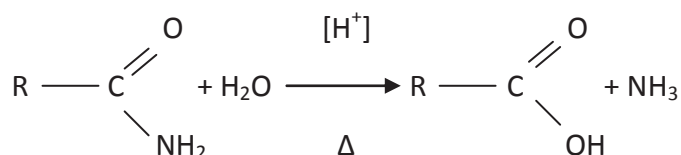
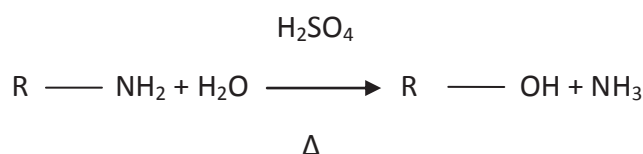
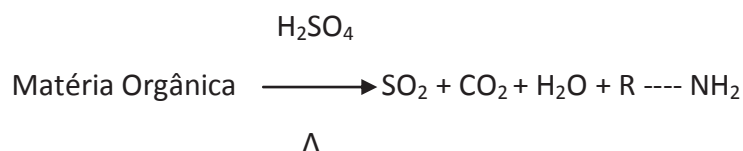
O método de Kjeldahl foi proposto por Johan Kjeldahl na Dinamarca em 1883 e ainda é muito utilizado por ser uma técnica fiável, e ao longo do tempo tem permanecido praticamente a mesma com poucas modificações (Vogel, 1992). Esta técnica permite a determinação indireta de proteínas em várias amostras biológicas, assim como a obtenção do valor de nitrogénio para a avaliação do estado nutricional (Yasuhara e Nokihara, 2001; Nogueira e Souza, 2005).

O método baseia-se na decomposição da matéria orgânica através da digestão da amostra com ácido concentrado, na presença de um catalisador que acelera a oxidação da matéria orgânica. O nitrogénio que está presente na solução ácida é determinado por destilação por arraste de vapor, seguindo-se uma titulação com ácido diluído (Nogueira e Souza, 2005).

As reações químicas que ocorrem durante o processo da determinação dos compostos nitrogenados são as seguintes (Silva, 1990):

### 3.2.1.1. Digestão

Durante a digestão ocorrem as seguintes reações:



(Adaptado de Galvani e Gaertner, 2006)

O carbono da matéria orgânica é oxidado e o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) desprende-se. Durante este processo de digestão, a solução passa de uma coloração escura (preto) para um verde-claro.

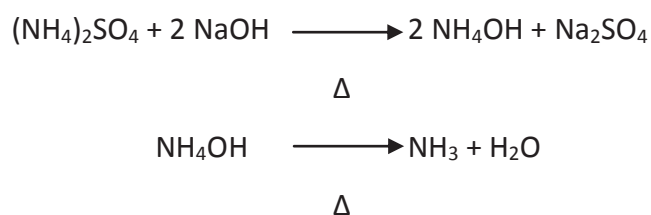
---

O nitrogénio que está sob a forma de amina, amida e nitrila, é transformado em amónia (NH<sub>3</sub>) que reage com o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e forma o sulfato de amónio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) formando-se cristais quando a solução arrefece.

### 3.2.1.2. Destilação

Seguidamente à digestão inicia-se o processo de destilação, que se realiza por aquecimento direto ou por arraste de vapor.

O sulfato de amónio é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, e ocorre a libertação da amónia, conforme as reações.



(Adaptado de Galvani e Gaertner, 2006)

Ao adicionar-se hidróxido de sódio, deve-se utilizar algumas gotas de solução indicadora, para se garantir um ligeiro excesso de base. A amónia que se desprende na reação é recolhida em ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) com o indicador.

O processo termina quando toda a amónia já se desprende e vai-se formando o borato de amónio (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub>), conforme a seguinte reação:



(Adaptado de Galvani e Gaertner, 2006)

### 3.2.1.3. Titulação

A última etapa é a titulação, em que o borato de amónio é titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) padronizada até a viragem do indicador, conforme a reação:



(Adaptado de Galvani e Gaertner, 2006)

---

O nitrogénio total (NT) é determinado pela seguinte equação:

$$NT = (Va - Vb) \times F \times 0.1 \times 0.014 \times 100 / P1$$

Em que:

NT – teor de nitrogénio total na amostra, em percentagem;

Va – volume da solução de HCl gasto na titulação da amostra, em mililitros;

Vb – volume da solução de HCl gasto na titulação do branco, em mililitros;

F – fator de correção para o HCl;

P1 – massa da amostra (em gramas).

Na determinação da proteína bruta, multiplica-se o valor do nitrogénio total encontrado pelo método de Kjeldahl por um fator que converte o nitrogénio em proteína.

A expressão abaixo é utilizada para determinar a proteína bruta:

$$PB = NT \times FN$$

Onde: PB – teor de proteína bruta na amostra, em percentagem;

NT – teor de nitrogénio total na amostra, em percentagem;

FN – 6.25 (fator de conversão).

Para o bom desempenho da análise, é necessário fazer testes em branco com o objetivo de eliminar a interferência e contaminação dos reagentes.

### 3.2.2. Procedimento

#### 3.2.2.1. Digestão

- a) Pesar 1 g de amostra seca a 105 °C para o tubo de digestão;
- b) Adicionar: 1 pastilha de Kjeldahl (catalizador) e 12 mL de ácido sulfúrico a 96% (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>);
- c) Colocar os tubos no digestor e proceder à digestão;
- d) Deixar arrefecer os tubos até 50-60 °C.



**Figura III.2.** Processo de digestão

### 3.2.2.2. Destilação

- a) Num erlenmeyer, colocar 25 mL da solução de ácido bórico a 2% + solução indicadora;
- b) Proceder à destilação;
- c) Adição de reagentes: 50 mL de H<sub>2</sub>O + 50 mL de NaOH a 35%.



**Figura III.3.** Processo de destilação

### 3.2.2.3. Titulação

- a) Titular com HCl a 0.1M até viragem da cor.



**Figura III.4.** Processo de titulação

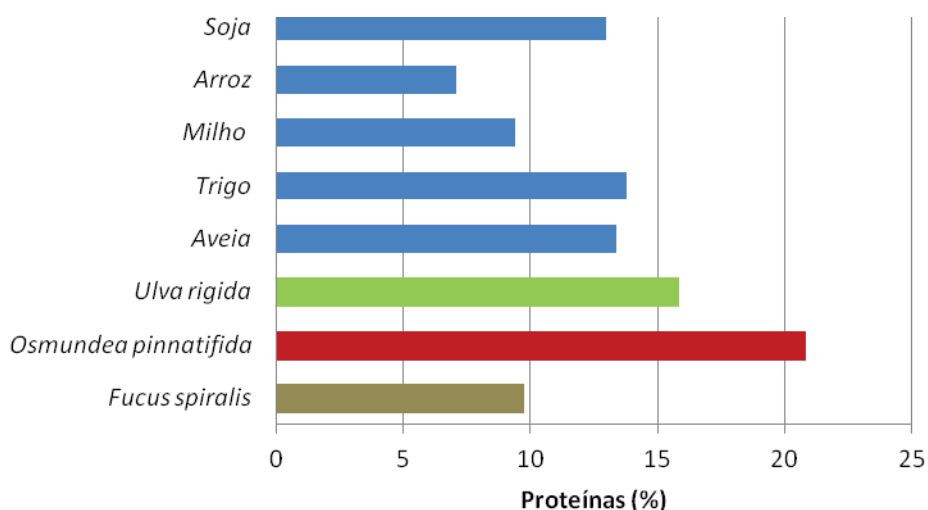
### 3.3. Resultados

Os teores de proteína bruta das espécies de macroalgas em estudo estão apresentados na Tabela III.1. A Figura III.5. mostra a comparação entre esses teores e o de alimentos comuns.

**Tabela III.1.** Teor de proteínas (% de peso seco) das macroalgas.

Macroalgas	% Nitrogénio	% Proteína
<i>Fucus spiralis</i>	1.55±0.03	9.71±0.03
<i>Osmundea pinnatifida</i>	3.33±0.12	20.79±0.12
<i>Ulva rigida</i>	2.52±0.10	15.78±0.10

Valores médios de n=3



Valores de alimentos de acordo com Morales de Leon *et al.*, 2000

**Figura III.5.** Comparação do teor de proteínas das macroalgas com o de alguns alimentos comuns.

---

### 3.4. Discussão/Conclusão

Os teores de proteína bruta das espécies de macroalgas em estudo (Tabela III.1.) variaram desde o valor mais baixo de  $9.71\pm 0.03\%$  seguido de  $15.78\pm 0.10\%$  até o valor mais elevado de  $20.79\pm 0.12\%$  de proteína por peso seco para a *Fucus spiralis*, *Ulva rigida* e *Osmundea pinnatifida* respetivamente. Estes valores estão dentro do geral apresentado para as algas castanhas (3-15% de peso seco), vermelhas e verdes (10-47% de peso seco) (Darcy-Vrillon, 1993; Fleurence, 1999). Estes valores também foram consistentes com os estudos realizados anteriormente (Patarra *et al.*, 2011). Segundo Foster e Hodgson (1998), a *Ulva rigida* apresentou valores de proteína de 6.40%, enquanto Taboada *et al.* (2010), mostrou valores de 17.8%. Relativamente à *Osmundea pinnatifida* foram encontrados valores de proteína de 27.3% (Marsham *et al.*, 2007). O valor de proteína para a *Fucus spiralis* está de acordo com o publicado por Munda (1977) que mostrou que os valores poderão estar entre 3-11%, apesar de ser outra espécie de *Fucus*.

As variações encontradas no teor de proteínas nas algas podem ser atribuídas à diferença entre espécies, aos fatores ambientais ou uma combinação de ambos (Fleurence, 1999), à origem geográfica, ao clima, ao conteúdo de nutrientes do meio ambiente e à estação do ano. Galland-Irmouli *et al.* (1999) analisou a alga *Palmaria palmata*, registando diferenças nos níveis de proteína em algas recolhidas durante o final do período de inverno e primavera registando valores superiores aos das algas recolhidas durante o verão.

Em termos gerais, as algas em estudo mostram teores de proteína mais elevados do que em alguns alimentos como a aveia (13.4%), trigo (13.8%), milho (9.4%), arroz (7.1%) e soja (13.0%) (Morales de Leon *et al.*, 2000).

Como é do conhecimento geral as proteínas são essenciais à manutenção da vida pela sua função construtora e reparadora, entre outras funções biológicas únicas.

Os resultados obtidos na determinação das proteínas mostram que as algas são uma excelente fonte destes nutrientes, obtendo-se mesmo valores superiores a alguns alimentos comuns. Os valores obtidos estão de acordo com o que está descrito na literatura, em que é apontado que a quantidade de proteína é maior nas algas vermelhas, seguido das verdes e a menor percentagem encontra-se nas algas

---

castanhas. Com estes resultados, podemos concluir que as algas são uma fonte complementar de proteínas para consumo humano e para a alimentação animal.

De notar, como já foi referido, que os fatores ambientais, sazonais e as propriedades físico-químicas da água do mar são fatores determinantes e que afetam as algas em termos de conteúdo proteico. Concluindo-se, assim, que as diferentes espécies de macroalgas poderão apresentar valores diferentes conforme a estação do ano e a quantidade de nutrientes disponíveis no ambiente marinho.



## **CAPÍTULO IV**

# **FIBRAS**



---

## IV. FIBRAS

### 4.1. Generalidades

As fibras são substâncias de origem vegetal, hidratos de carbono (ou derivados dos mesmos) com exceção da lignina, que conseguem resistir à ação das enzimas digestivas humanas, de forma a chegarem intactas ao cólon onde são parcialmente hidrolisadas e fermentadas pela flora bacteriana (Slavin, 2008).

As fibras são constituídas por uma grande variedade de substâncias com propriedades físicas, químicas e fisiológicas diferentes. São classificadas de acordo com a sua solubilidade em água (solúveis e insolúveis), a sua estrutura e o grau de fermentação. Existem vários tipos de fibras: lignina, celulose, pectinas, gomas, mucilagens, frutooligossacarídeos (FOS), inulina e amido resistente (Almeida e Afonso, 1997; John deMan, 1999; Elleuch *et al.*, 2011).

Segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC), órgão americano, a “fibra alimentar é a parte comestível das plantas ou análogos aos hidratos de carbono que são resistentes à digestão e absorção pelo intestino delgado humano, com fermentação parcial ou total no intestino grosso”. Com essa definição é possível incluir substâncias, que fisiologicamente são semelhantes às fibras, e que façam parte dessa categoria de nutrientes, como a inulina, os frutooligossacarídeos (FOS) e os amidos resistentes (Nestlé, 2000).

A fibra alimentar ou fibra dietética é a parte dos alimentos (vegetais) ingeridos que não é digerida e absorvida pelo organismo para produzir energia (Prosky, 2000). Pertencem ao grupo dos hidratos de carbono e são polissacarídeos não amiláceos compostos por moléculas de açúcares: pentoses (arabinose, xilose), hexoses (manose, glicose, galactose, frutose), 6-deoxyhexoses (L-manopirranose/fucopirranose) ou ácidos urónicos (D-glicónico; 4-O metil-D-glicurónico, D-galacturónico). Por definição, são polímeros com mais de onze unidades destes açúcares unidas por ligações glicosídicas (Martinho, 2011).

A fibra dietética ou fibra alimentar é diferente de fibra bruta. A fibra bruta é o teor das fibras vegetais obtida após o tratamento com ácido e com uma base, sendo este, um conceito químico e não biológico (John deMan, 1999; Coppini *et al.*, 2004). Os

---

valores de fibra bruta não expressam a quantidade total de fibras do alimento, mas uma fração das fibras totais (Coppini *et al.*, 2004).

As fibras são importantes na alimentação porque aceleram a passagem dos produtos residuais do organismo, absorvem substâncias perigosas (toxinas) e mantêm o tubo digestivo saudável. A fibra apresenta outro benefício em relação ao trato gastrointestinal, pois serve de substrato para formação de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), que fornecem energia para as células intestinais desempenharem as suas funções corretamente (Coppini *et al.*, 2004).

Têm-se verificado alterações nos hábitos alimentares e na qualidade da alimentação, principalmente nos grandes centros urbanos, comprometendo a ingestão adequada de fibras, com o consumo de alimentos processados e refinados (pobres em fibras) e diminuição na ingestão de alimentos vegetais e integrais, que apresentam elevados teores de fibras (Matos e Martins, 2000; Fisberg *et al.*, 2004).

Nos últimos tempos têm sido realizados vários estudos sobre as fibras, tendo-se constatado os seus inúmeros benefícios para a saúde, tanto no tratamento como na prevenção de doenças como diabetes, hiperlipidémias, doenças cardiovasculares, obesidade, obstipação e cancro do cólon (Jenkins *et al.*, 2003).

As cadeias laterais ou ramificadas são responsáveis pela solubilidade das fibras alimentares totais, podendo ser divididas em fibras alimentares solúveis e fibras alimentares insolúveis. Esta classificação é importante, pois permite uma divisão simples entre as que possuem efeitos, principalmente sobre a absorção de glicose e lípidos no intestino delgado, que são facilmente fermentadas por bactérias no cólon (solúveis) e as que são fermentadas lenta e incompletamente, tendo efeitos mais evidentes nos processos metabólicos dos intestinos (insolúveis) (Martinho, 2011).

**Fibras solúveis:** pectinas, mucilagens, gomas (goma arábica e goma guar), inulina, FOS (frutooligossacarídeos) e hemiceluloses tipo A. A influência das fibras solúveis no aparelho digestivo está relacionada com a capacidade de reter a água e formar géis e também pelo seu papel como substrato para a fermentação de bactérias do colón (Mahan e Escott-Stump, 1998).

As fibras solúveis aumentam o tempo de exposição dos nutrientes no estômago, proporcionando assim uma melhoria na digestão dos mesmos, em particular os

---

açúcares e as gorduras. Este aspeto contribui para uma regularização do metabolismo energético, de forma a melhorar o aproveitamento no desempenho de todas as atividades físicas (Almeida e Afonso, 1997; Martinho, 2011).

As fibras solúveis, assim como as insolúveis, agem igualmente sobre a velocidade do trânsito intestinal, porém sem aumento da absorção de água. Provocam reações de fermentação, produzindo elevadas concentrações de substâncias específicas, denominadas de ácidos gordos de cadeia curta (Mahan e Arlin, 1995; Coppini *et al.*, 2004). Encontram-se principalmente em frutas e verduras, mas também em cereais (aveia e cevada) e leguminosas (feijão, grão de bico, lentilha e ervilha) (Mahan e Arlin, 1995).

**Fibras insolúveis:** celulose, hemicelulose tipo B, amido resistente e lignina. Fazem parte da estrutura das células vegetais. A ação fundamental destas fibras é a nível intestinal, devido à extrema capacidade de retenção de água que, absorvendo a água disponível, aumentam em volume, distendem a parede do cólon e facilitam a eliminação do bolo fecal (Almeida e Afonso, 1997; Martinho, 2011). Ainda apresentam efeito mecânico no trato gastrointestinal, são pouco fermentáveis e encontram-se principalmente em verduras, farelo de trigo e grãos integrais.

As algas marinhas são uma excelente fonte de fibras, (Ito e Hori 1989; Lahaye, 1991; Patarra *et al.*, 2011), sendo que as algas são conhecidas por conterem uma variedade de fibras solúveis e insolúveis, incluindo ágar, carragenanos, xilanos, alginatos, fucanas, celulosas e mananos (Darcy-Vrillon 1993).

As fibras dietéticas das algas possuem propriedades químicas com um efeito benéfico na redução do peso corporal, no metabolismo do colesterol, e nos níveis de lípidos no sangue (Lahaye e Jegou, 1993; Suzuki *et al.*, 1996; Jiménez-Escrug e Sánchez-Muniz, 2000; Wong e Cheung, 2000). O elevado teor em fibras dietéticas (FD) das algas apresenta benefícios para a saúde humana. A composição de FD por grama de peso seco de algas marinhas é em geral tão alta como nas plantas terrestres (Darcy-Vrillon, 1993), tornando o consumo das macroalgas mais atrativo para os consumidores (Ortiz *et al.*, 2005).

**Tabela IV.1.** Conteúdo em fibras alimentares de algumas algas, frutas, vegetais e cereais (adaptado de Elleuch *et al.*, 2011).

Fontes de Fibras		Solúveis	Insolúveis
Algas	Hijiki	32.9	16.3
	Arame	59.7	14.9
	Nori	17.9	16.8
	<i>Ulva rigida</i>	19	21
Subprodutos de frutos processados	Polpa de laranja	13.28	54.19
	Polpa de limão	31.81	41.86
	Concentrado de fibras alimentares de tâmara	6.7	83
Frutos	Maçã	5.8	7.5
	Laranja	9.8	5.2
	Pêssego	7.1	6.4
	Tomate	7.4	11.4
	Tâmara	5.16-6.68	9.19-11.7
Vegetais	Cenoura	14.9	11.1
	Batata	2.12	4.97
Cereais	Arroz	0.19	0.75
	Aveia	4.21	5.66

## 4.2. Metodologia

### 4.2.1. Determinação da Fibra bruta pelo método de Weende (AOAC, 1990)

O método normalmente utilizado para análise da fibra bruta é designado por método de Weende e foi proposto por Henneberg, em 1864, na Estação Experimental de Weende, na Alemanha.

O termo fibra bruta engloba as frações de celulose e lignina insolúvel. Do ponto de vista químico, a fibra bruta é a parte dos hidratos de carbono resistente ao tratamento sucessivo com ácido e base diluídos. A celulose bruta é designada o resíduo orgânico constituído por celulose contendo pequenas quantidades de hemicelulose e pentosanas (polímeros que por hidrólise produzem pentoses) e é obtido a partir da substância seca e isenta de matéria gorda, pela remoção de outros glúcidos e dos prótidos mediante tratamento por ebulição com uma solução apropriada (Jeraci e Van Soest, 1990).

---

A determinação da fibra pelo método de Weende baseia-se na dissolução da amostra, sucessivamente em solução ácida, básica e acetona. Nesta fase ocorre a remoção de proteínas, açúcares e amido, deixando como resíduos: celulose e outros componentes polissacarídeos, além da matéria mineral. O resíduo orgânico resultante é incinerado em mufla à temperatura de 500 °C - 600 °C. O resíduo não dissolvido constitui a fibra (Silva e Queiroz, 2009).

A principal limitação deste método é o facto de não separar a celulose da hemicelulose e provocar a perda de parte da lignina e da hemicelulose. Parte da lignina passa a fazer parte do extrato não nitrogenado (representa “teoricamente” os hidratos de carbono não estruturais e de mais fácil digestão, como os açúcares, o amido e a pectina), o que vai subestimar o teor de fibra bruta. No grupo dos extratos não nitrogenados (ENN) encontram-se as frações de natureza diversa como, a pectina, a lignina solúvel em solvente alcalino e os hidratos de carbono solúveis em água (amilose e frutose).

#### **4.2.2. Procedimento**

- a) Pesar 1 g de amostra (peso W<sub>0</sub>) previamente seca e devidamente moída para um cadinho de vidro de fundo filtrante;
- b) Colocar os cadinhos no aparelho *Velp Scientifica* (Fig. IV.1.).

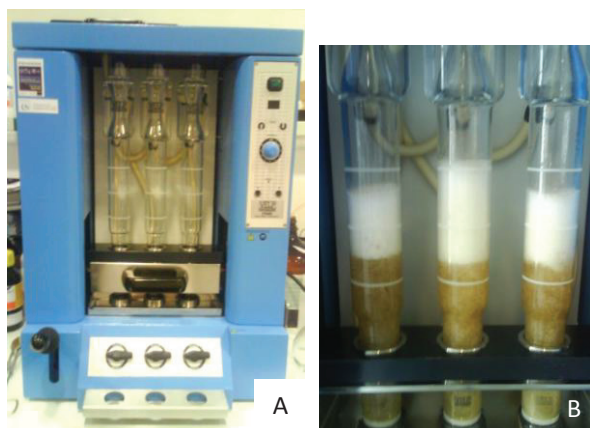
##### **4.2.2.1. Hidrólise Ácida**

- a) Aquecer a solução de ácido sulfúrico (até uma temperatura de aproximadamente 95 °C);
- b) Adicionar, cuidadosamente, entre 100 e 150 mL de ácido em cada coluna, por cima dos cadinhos. Seguidamente adicionar 10 gotas de octanol (anti-espumante);
- c) Abrir o circuito de refrigeração;
- d) Ativar as resistências de aquecimento a 90%;
- e) Após a entrada em ebulição, reduzir a potência de aquecimento para 30% e deixar ferver durante 30 min.;

- 
- f) Após ter terminado o tempo estabelecido, desligar o aquecimento;
  - g) Abrir o circuito de vácuo;
  - h) Lavar por 3 vezes com 30 mL de água destilada, previamente aquecida e colocando a água em cada coluna;
  - i) Lavar por três vezes com 25 mL de acetona;
  - j) Secar os cadinhos em estufa a 150 °C durante 1 hora. Seguidamente deixar arrefecer em exsiccador e pesar (peso W1);
  - k) Colocar os cadinhos numa mufla a 500 °C durante 3 a 4 horas. Seguidamente deixar arrefecer num exsiccador e pesar (peso W2).

#### 4.2.2.2. Hidrólise Básica

- a) Repetir todos os passos da hidrólise ácida (4.2.2.1 a) a i)) mas utilizando a solução de KOH em vez do ácido.



**Figura IV.1.** A) Extrator de Fibras; B) Processo de digestão

**Cálculo da quantidade de Fibra bruta:**

$$\% \text{ Fibra Bruta} = 100 \times (W1 - W2) / W0$$

---

### 4.3. Resultados

Os teores em cinzas e fibra bruta das espécies de macroalgas em estudo estão apresentados na Tabela IV.2.

**Tabela IV.2.** Teores em cinzas e fibra bruta das macroalgas (% de peso seco).

Macroalgas	% Cinzas	% Fibras
<i>Fucus spiralis</i>	22.31±0.38	58.69±1.25
<i>Osmundea pinnatifida</i>	38.55±0.68	25.93±0.52
<i>Ulva rigida</i>	21.43±0.28	52.20±1.18

Valores médios de n=3

### 4.4. Discussão/Conclusão

Os teores de fibra bruta das espécies de macroalgas em estudo (Tabela IV.1.) variaram desde o valor mais baixo de 25.93±0.52% seguido de 52.20±1.18% até ao valor mais elevado de 58.69±1.25% (peso seco) para a *Osmundea pinnatifida*, *Ulva rigida* e *Fucus spiralis*, respetivamente. Valores de fibra desta ordem foram observados por Aguilera-Morales *et al.* (2005), salientando que a alga em estudo foi a *Enteromorpha* spp. com valores de 38.4% e 33.2% para os anos de 1997 e 1998, respetivamente. Estes valores também foram consistentes com os estudos realizados por Patarra *et al.* (2011).

De acordo com Matanjun *et al.* (2009), valores elevados de fibra dietética total também foram encontrados nas algas *S. polycystum* (39.67%), *C. lentillifera* (32.99%) e *E. cottonii* (25.05%). Este conteúdo total de fibras alimentares está dentro da faixa de outras algas estudadas por Mabeau e Fleurence (1993) em que por exemplo a espécie *Ulva lactuca* apresentou um valor total de fibra de 38.1%. Lahaye (1991), mostrou também valores elevados, nomeadamente, de 59.7% para a alga “Arame”.

A ingestão de fibras na alimentação exerce diversos benefícios, pois estas auxiliam na prevenção e no tratamento de diversas doenças como, diabetes *mellitus*, obesidade, cancro, doenças cardiovasculares, além de promoverem o adequado

---

funcionamento do intestino. A ingestão diária de fibras recomendada para um adulto é de 20 a 30 gramas/dia.

As algas são ricas em fibras solúveis, como os alginatos, carraginatós e ágar, que não são digeridas no intestino e ajudam a aumentar a sensação de saciedade. Os extratos de fibras das algas podem ter um efeito adelgaçante, provavelmente um efeito semelhante ao da fruta no que diz respeito à sensação de saciedade e controlo do peso.

Segundo Mabeau *et al.* (1992) e Jimenez-Escrig e Sánchez-Muniz (2000), os teores de fibra encontrados em algumas algas são mais elevados do que a maioria das plantas terrestre.

Os valores observados de fibra bruta neste estudo foram elevados, nomeadamente para as algas *Fucus spiralis* e *Ulva rigida*, o que nos indica que estas são uma excelente fonte de fibra. No entanto, a obtenção de teores muito elevados de fibra bruta, poderá ser explicado pela metodologia de quantificação utilizada, apesar de existirem valores publicados por outros investigadores também elevados, mas utilizando outras metodologias, como por exemplo a metodologia de Van Soest (Van Soest e Robertson, 1979) e metodologias enzimáticas (AOAC, 1993), sendo esta uma das mais utilizadas. No entanto, no presente estudo só foi possível determinar o teor de fibra através do método de Weende, ao qual se apontam algumas críticas. Uma delas está relacionada com o fato das frações do alimento não serem compostos quimicamente definidos, mas grupos de compostos químicos (Salman *et al.*, 2010).

A principal crítica em relação à metodologia de Weende para quantificar a fibra bruta é que não separa a hemicelulose da celulose e considera somente a lignina insolúvel em solução alcalina. Parte da lignina passa a fazer parte do extrato não nitrogenado, o que subestima o teor de fibra bruta. Por outro lado, no grupo dos extratos não nitrogenados estão as frações de natureza diversa como, a pectina, a lignina solúvel e os hidratos de carbono solúveis em água (amilose e frutose) (Salman *et al.*, 2010).

Em termos nutricionais a fibra bruta não representa todos os hidratos de carbono de degradação lenta presentes no alimento (Van Soest *et al.*, 1991). Logo, esta metodologia de Weende não apresenta resultados totalmente satisfatórios sob o ponto de vista nutricional.

## **CAPÍTULO V**

# **HIDRATOS DE CARBONO**



---

## V. HIDRATOS DE CARBONO

### 5.1. Generalidades

Os hidratos de carbono são compostos orgânicos, constituídos por carbono (C), hidrogénio (H) e oxigénio (O). São sintetizados na natureza pelas plantas, através do processo de fotossíntese, a partir do dióxido de carbono e água (John deMan, 1999).

Os hidratos de carbono, também conhecidos por glícidos ou açúcares, são a base da nossa alimentação diária e exercem várias funções nos sistemas biológicos, tais como: energética, estrutural, de reserva, osmoregulação, reconhecimento celular, entre outras (Voragen, 1998; Ducatti, 2005).

Dividem-se em oses (ou monossacarídeos ou hidratos de carbono simples), derivados de oses e ósidos (holósidos e heterósidos). Dentro dos holósidos, distinguem-se os oligossacarídeos e os polissacarídeos.

Os **monossacarídeos** são as unidades básicas dos hidratos de carbono, e não podem ser hidrolisados para formas mais simples e são absorvidos diretamente no intestino após a ingestão dos alimentos que os contêm. Podem ser encontrados em quantidades relativamente pouco abundantes na natureza, no estado livre (Ferreira, 1983).

Quimicamente são aldeídos ou cetonas conforme o grupo presente na sua molécula, o que lhes dá características reductoras (Ferreira, 1983).

A glicose, frutose e a galactose são os monossacarídeos que apresentam maior relevância a nível nutricional. O monossacarídeo existente em maior quantidade na natureza é a D-glucose (John deMan, 1999). Apresenta um ligeiro poder edulcorante, é solúvel em água e álcool, e encontra-se no mel e frutas. O sangue humano contém cerca de 0.8% de glicose, exceto em pessoas diabéticas que podem ter até 10% de glicose na urina.

A frutose é o açúcar das frutas, encontra-se em pequenas quantidades no reino animal. A galactose é um monossacarídeo resultante do desdobramento da lactose. Não se encontra livre na natureza, embora faça parte do cérebro, como glícido estrutural (Folkes e Jordan, 2006).

---

Por definição, um **oligossacarídeo** (de 2 a 10 unidades de monossacarídeos) é um composto, que através da hidrólise, fornece um pequeno número de unidades monossacarídeas e de acordo com o número de unidades presentes, são classificados como dissacarídeos, trissacarídeos, etc, até 10 oses. Os dissacarídeos (compostos por dois monossacarídeos) são os mais importantes a nível nutricional, a sacarose, a lactose, a maltose e a trealose. São solúveis em água e muito abundantes na natureza (Folkes e Jordan, 2006).

Os **polissacarídeos** são macromoléculas naturais, ocorrendo em quase todos os organismos vivos. São formados pela condensação de monossacarídeos, unidos entre si pelas ligações glicosídicas. Possuem um alto peso molecular e podem ter cadeias lineares, ramificadas e cíclicas (Ex. dextrinas) (John deMan, 1999; Folkes e Jordan, 2006).

Os polissacarídeos de menor peso molecular são solúveis em água e, esta solubilidade diminui com o peso da molécula e com associações entre moléculas. Os mais insolúveis encontram-se nas paredes celulares e a sua função nos vegetais é a de reforçar e estruturar, por isso são denominados polissacarídeos estruturais. O amido, a celulose e o glicogénio são alguns exemplos de polissacarídeos (Folkes e Jordan, 2006).

Os hidratos de carbono complexos ou polissacarídeos estão presentes em alimentos como o pão, arroz, massas alimentícias, leguminosas, batatas e consistem em moléculas compostas por muitas unidades de açúcares simples que necessitam de ser degradadas em outras mais pequenas (glicose) para poderem ser absorvidas. A este tipo de hidratos de carbono chamam-se hidratos de carbono de absorção lenta, uma vez que as suas cadeias longas precisam de algum tempo para serem desdobradas em açúcares simples, o que nos vai fornecendo energia de uma forma gradual (Direção-Geral da Saúde/Plataforma Contra a Obesidade).

Ao ingerirmos maioritariamente açúcares simples (presentes no açúcar, mel, frutos, etc.) obtém-se energia mais rapidamente, mas este processo tem as suas implicações para a saúde, pois o pâncreas deteta níveis mais altos de açúcar no sangue e segrega insulina, o que faz com que os níveis baixem muito rapidamente podendo criar uma hipoglicemia reativa. Mas se ingerirmos os hidratos de carbono com fibra (cereais integrais e vegetais), a assimilação é ainda mais lenta, criando um fornecimento constante de açúcar na corrente sanguínea.

---

Sendo assim, como a absorção dos hidratos de carbono complexos é mais lenta, é importante dar preferência ao seu consumo.

## **5.2. Metodologia**

### **5.2.1. Quantificação dos Hidratos de Carbono Totais pelo método colorimétrico de Fenol - Ácido Sulfúrico**

O método mais usado para a quantificação de hidratos de carbono totais em amostras solúveis é o método de Dubois *et al.* (1956), sendo considerado padrão para este tipo de determinação.

Este método baseia-se na determinação de açúcares simples, polissacarídeos e os seus derivados incluindo os metil-ésteres com grupos redutores livres, após a desidratação dos mesmos pelo ácido sulfúrico e subsequente complexação dos produtos formados com o fenol. A mudança de cor da solução é medida na região do visível e é proporcional à quantidade de açúcares presentes na amostra. A reação é sensível e de cor estável.

Esta técnica colorimétrica é usada para a deteção e quantificação de hidratos de carbono totais, produzindo derivados com cromóforos distintos para pentoses e hexoses, que têm máximos de absorção a 480 e 490 nm, respetivamente.

### **5.2.2. Procedimento**

- a) Pesar 100 mg de amostra para um tubo;
- b) Proceder à hidrólise com 5 mL de HCl 2.5 N, mantendo o tubo num bloco de aquecimento a uma temperatura de 100 °C durante 3 horas e arrefecer à temperatura ambiente;
- c) Neutralizar com carbonato de sódio até a efervescência cessar;
- d) Perfazer o volume até 100 mL e centrifugar a 3500 rpm durante 8 min.;
- e) Pipetar 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 e 1 mL do padrão (glucose) para uma série de tubos de ensaio;
- f) Pipetar 0.1, 0.2 e 0.3 mL da solução da amostra para três tubos de ensaio separados;

- 
- g) Perfazer o volume em cada tubo até 1 mL com água desionizada;
  - h) Colocar um tubo com 1 mL de água (branco);
  - i) Adicionar 1 mL de solução fenol (5%) a cada tubo;
  - j) Adicionar 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 96% a cada tubo e agitar no vórtex;
  - k) Após 10 min. agitar o conteúdo dos tubos e colocar em banho-maria a 25-30 °C durante 20 min.;
  - l) Fazer a leitura no espectrofotómetro (UV-1800 Shimadzu) a 490 nm;
  - m) Calcular a quantidade de hidratos de carbono totais na solução de amostra usando a curva de calibração da glucose.

**Standard glucose:** Dissolver 100 mg em 100 mL de água destilada. Retirar 10 mL desta solução e diluir com 100 mL de água destilada.

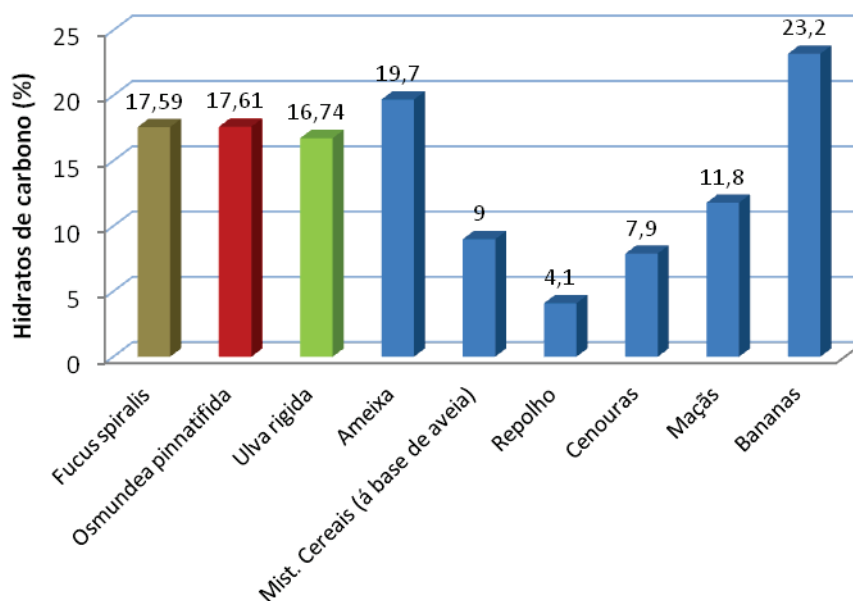
### 5.3. Resultados

Os teores de hidratos de carbono das espécies de macroalgas em estudo estão apresentados na Tabela V.1. A Figura V.1. mostra a comparação entre esses teores e o de alguns alimentos comuns.

**Tabela V.1.** Teor de hidratos de carbono (% de peso seco) das macroalgas.

Macroalgas	% Hidratos de Carbono
<i>Fucus spiralis</i>	17.59±0.27
<i>Osmundea pinnatifida</i>	17.61±0.39
<i>Ulva rigida</i>	16.74±0.17

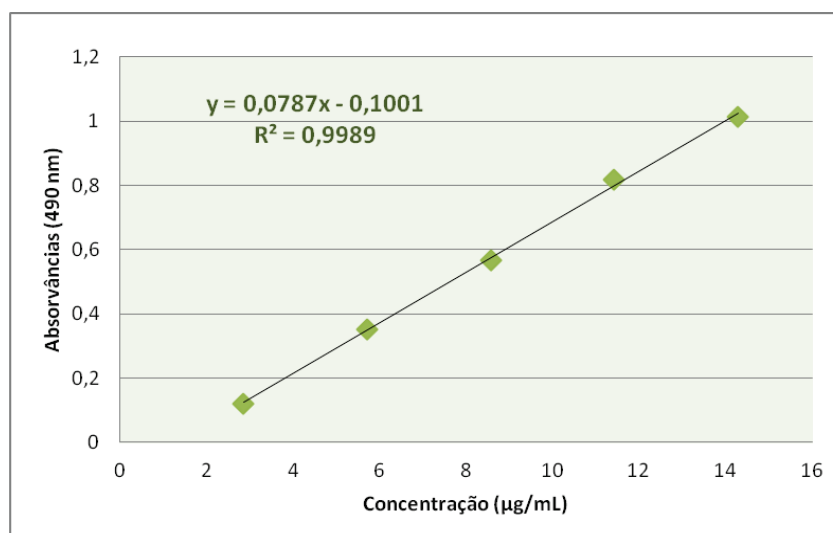
Valores médios de n=3



Valores de alimentos segundo McCance *et al.*, (1993) (% de peso seco).

**Figura V.1.** Comparação dos teores de hidratos de carbono das macroalgas com o de alguns alimentos comuns.

A recta de calibração obtida para a glucose encontra-se na Figura V.2. A partir da recta e medindo as absorvâncias das amostras, pode-se determinar a concentração de hidratos de carbono em cada alga.



**Figura V.2.** Recta de calibração da glucose

---

## 5.4. Discussão/Conclusão

O conteúdo em hidratos de carbono das algas em estudo foi semelhante nas três espécies de macroalgas, revelando um valor ligeiramente mais elevado para a *Osmundea pinnatifida* ( $17.61 \pm 0.39\%$ ), seguido da *Fucus spiralis* ( $17.59 \pm 0.27\%$ ) e um valor ligeiramente mais baixo para a *Ulva rigida* ( $16.74 \pm 0.17\%$ ).

Resultados semelhantes foram relatados por Chakraborty e Santra (2008), em que os valores variaram entre 14.34-35.27%. Foster e Hodgson (1998) obtiveram valores na ordem dos 18.10% para a *Ulva rigida*, enquanto Taboada *et al.* (2010), refere valores de 11.9%. No entanto, Ortiz *et al.* (2009) registaram teores mais elevados (58.4-70.9%).

De acordo com Rosemberg e Ramus (1982), a síntese dos hidratos de carbono nas algas está relacionada com os períodos de crescimento máximo e aumento da atividade fotossintética. Por outro lado, estes períodos são influenciados por valores elevados de temperatura, salinidade e intensidade solar, sobrevalorizando o valor de hidratos de carbono obtido.

Os conteúdos em hidratos de carbono para as algas em estudo estão acima dos valores referidos por vários autores no que respeita a alguns alimentos, como por exemplo, legumes e frutas. O conteúdo em hidratos de carbono apenas apresenta uma semelhança com os frutos secos, como o caso da ameixa (McCance *et al.*, 1993).

A quase totalidade dos hidratos de carbono que estão presentes na alimentação humana provem de alimentos de origem vegetal, uma vez que dos produtos animais, só o leite contém em quantidade razoável a lactose, e o fígado e os músculos uma quantidade muito pequena de glicogénio (Ferreira, 1983).

Não existe uma recomendação alimentar específica para os hidratos de carbono, contudo, uma proporção razoável da ingestão calórica (geralmente é aconselhado 50 a 60%) deve ser derivada dos hidratos de carbono. Pois uma alimentação isenta de hidratos de carbono irá conduzir a situações prejudiciais ao organismo, como por exemplo, degradação excessiva de proteína muscular, perda de cationes (especialmente sódio), desidratação involuntária e cetose, que ocorre quando acaba o glicogénio do fígado, que começa a usar a gordura diretamente para produzir energia, em vez de usar a glicose.

---

Embora os valores observados de hidratos de carbono nas algas estudadas sejam semelhantes, poderão ser estruturalmente muito diferentes. O tipo e a abundância dos hidratos de carbono varia muito entre as diferentes espécies de macroalgas. Os valores mais elevados podem ser explicados devido às algas marinhas conterem grandes quantidades de polissacarídeos estruturais na parede celular, como os alginatos nas algas castanhas e carraginos e ágar-ágar nas algas vermelhas, o que também poderá influenciar os valores de hidratos de carbono obtidos.



## CAPÍTULO VI

# LÍPIDOS E ÁCIDOS GORDOS



---

## VI. LÍPIDOS E ÁCIDOS GORDOS

### 6.1. Generalidades

A palavra lípidos deriva do grego *lipos*, que significa gordura. Os lípidos são compostos de carbono, oxigénio e hidrogénio, unidos sob a forma de radicais de ácidos gordos, geralmente combinados a álcoois, de que os mais importantes são o glicerol e o colesterol, constituindo ésteres (Ferreira, 1983).

Os lípidos são moléculas orgânicas que podemos encontrar nas plantas e nos animais e desempenham funções importantes no organismo, servem de fonte e reserva de energia, constituem a estrutura das membranas celulares e agem como hormonas. Devido a esta classificação, os lípidos abrangem uma grande variedade de tipos estruturais tais como os ácidos carboxílicos de cadeia longa ou ácidos gordos, os triglicéridos, glicolípidos, gorduras, terpenos e esteroides, além de outros compostos como o colesterol, os fosfolípidos e as lipoproteínas.

Estes compostos apresentam insolubilidade em água (polar), solubilidade em solventes orgânicos, geralmente apolares, como éter, clorofórmio, benzeno e alcanos (John deMan, 1999). Estes solventes apolares extraem a fração lipídica neutra onde se incluem os ácidos gordos livres, mono, di e triacilgliceróis, e alguns mais polares como os fosfolípidos, glicolípidos e esfingolípidos (John deMan, 1999).

Os lípidos mais abundantes na natureza são os triacilgliceróis, também designados por triglicéridos, constituídos por três moléculas de ácidos gordos esterificados a uma molécula de glicerol.

Os **ácidos gordos** são compostos orgânicos simples, formados de carbono (72%), hidrogénio (12%) e oxigénio (16%). Cada molécula de ácido gordo tem no extremo da cadeia um grupo COOH, que lhe dá a função de ácido carboxílico, e no extremo oposto um grupo metilo (CH<sub>3</sub>) não funcional (Ferreira, 1983).

Os ácidos gordos fornecem energia e são parte integrante das membranas celulares (Zurier, 1991), funcionam como “blocos de construção” na base dos fosfolípidos e dos glicolípidos, moléculas anfipáticas que são componentes importantes das membranas biológicas. Muitas proteínas modificam-se quando se ligam covalentemente a ácidos gordos, que as vão sinalizar para várias outras

localizações nas membranas. Os derivados de ácidos gordos servem como hormonas e como mensageiros intracelulares (Stryer, 1995).

Os ácidos gordos podem apresentar-se na forma saturada (carbonos com ligações simples) ou não-saturada (carbonos com uma ou mais ligações duplas). No caso de apenas uma dupla ligação na cadeia, o ácido gordo é denominado monoinsaturado, no caso de duas ou mais ligações, denomina-se poliinsaturado.

Nomenclatura abreviada	Estrutura química
<b>Ácidos gordos saturados</b>	
14:0	
16:0	
18:0	
<b>Ácidos gordos monoinsaturados</b>	
16:1n-7	
18:1n-7	
<b>Ácidos gordos poliinsaturados</b>	
18:2n-6	
18:3n-3	
20:5n-3	
22:5n-3	
22:6n-3	

**Figura VI.1.** Estrutura molecular dos ácidos gordos.

Os **ácidos gordos monoinsaturados** são benéficos para a saúde porque atuam no aumento da produção do bom colesterol, diminuindo o risco de problemas cardiovasculares e de pressão arterial elevada. O consumo de ácidos gordos monoinsaturados pode prevenir problemas como aterosclerose e colesterol elevado.

Dos ácidos gordos monoinsaturados, o oleico, encontra-se principalmente no azeite de oliveira.

---

Os ácidos gordos essenciais são os **ácidos gordos poliinsaturados** de cadeia longa e são considerados “gorduras boas”, contrariamente às gorduras *trans* e do colesterol, consideradas as “gorduras más”. Por outro lado, as “gorduras boas” aumentam os níveis das lipoproteínas de alta densidade (HDL), ou “bom colesterol Col-HDL”, arrastando o “mau colesterol Col-LDL”, (LDL – lipoproteínas de baixa densidade), conduzindo-o ao fígado, onde é modificado e excretado (Guiné e Henriques, 2011).

Dentro da família dos ácidos gordos poliinsaturados destacam-se os ácidos gordos linoleico e  $\alpha$ -linolénico. Estes compostos são os precursores dos ácidos ómega 3 e 6 (n-3 e n-6) sendo considerados essenciais porque o organismo humano não os consegue sintetizar e são obtidos por ingestão na dieta (Guiné e Henriques, 2011).

Os ácidos gordos **n-3** derivam do ácido linolénico, e podem-se obter através do peixe e de algumas plantas e os **n-6** do ácido linoleico, que obtém-se através da maioria dos óleos vegetais (Tiemeier *et al.*, 2003), nomeadamente nos óleos de sementes de oleaginosas e, também, embora em menor quantidade nas verduras, frutas, frutos secos e cereais.

Os ácidos gordos **n-9**, que derivam do ácido oleico, não são propriamente “essenciais” visto que o corpo humano pode produzir uma pequena quantidade destes ácidos gordos essenciais (Guiné e Henriques, 2011).

Existem três tipos principais de ácidos gordos n-3: o ácido alfa-linolénico (AAL), o ácido eicosapentaenóico (AEP) e o ácido docosahexaenóico (ADH) (Holub, 2002). As concentrações destes ácidos podem aumentar no plasma e nos tecidos, através dos suplementos com óleo de peixe (Bagga *et al.*, 2003).

Sem um planeamento da dieta, os vegetarianos e ovolactovegetarianos têm uma ingestão reduzida de n-3 e conseqüentemente baixos níveis de n-3 no sangue e, em alguns casos, os vegetarianos mais idosos não têm praticamente n-3 nenhum. Por conseguinte, os vegetarianos e ovolactovegetarianos devem seguir cada uma das recomendações abaixo.

Os ácidos docosahexaenóico (ADH) e eicosapentaenóico (AEP) encontram-se quase exclusivamente em animais de vida aquática, em geral provenientes de águas frias, e no peixe azul. Também existem ácidos gordos n-3 em quantidades importantes no óleo de linhaça.

---

Relativamente aos ácidos gordos n-6, o ácido linoleico (AL) é o principal. Com uma boa alimentação, um ser humano saudável, conseguirá converter o ácido linoleico em ácido gama-linolénico (AGL), sendo posteriormente convertido em ácido araquidónico (AA). O ácido eicosapentaenóico sintetizado a partir do n-3 e o ácido gama-linolénico sintetizado a partir do ácido n-6 são também posteriormente convertidos em eicosanóides. Os eicosanóides desempenham um papel relevante em muitas funções corporais, tais como a função vital dos órgãos e na atividade intracelular (Smith, 1989; Holub, 2002).

É importante manter um equilíbrio apropriado entre os dois tipos de ácidos gordos n-3 e n-6, para aumentar a produção de eicosanóides, com propriedades inflamatórias inferiores aos derivados do ácido araquidónico (Aragona *et al.*, 2005).

Estas duas classes de ácidos gordos poliinsaturados, n-3 (AAL, AEP e ADH) e n-6 (AL e AA), desempenham um papel fundamental na saúde e nutrição humana (Hall *et al.*, 2007). A deficiência destes ácidos gordos essenciais e o desequilíbrio entre os n-3 e n-6 estão relacionados com graves problemas de saúde, tais como ataques cardíacos, cancro, resistência à insulina, asma, lúpus, esquizofrenia, depressão, envelhecimento acelerado, obesidade, diabetes, artrite, hiperatividade e síndrome de défice de atenção, doença de Alzheimer, entre outros (Calder e Zurier, 2001; Bagga *et al.*, 2003; Burtin, 2003; Logan, 2004; Brown e McIntosh, 2005; Sinn e Bryan, 2007; Guiné e Henriques, 2011).

Estudos sobre a evolução da dieta nos seres humanos sugerem que a razão n-6/n-3 de ácidos gordos essenciais era de 1. No período da industrialização esta razão era de 1:1 a 2:1 e isto deveu-se ao consumo abundante de vegetais e de alimentos de origem marinha que continham ácidos gordos n-3. Após este tempo, esta razão aumentou progressivamente em consequência da produção de óleos refinados provenientes de espécies oleaginosas que apresentavam um elevado teor de AL e também devido à diminuição da ingestão de frutas e verduras, resultando assim em dietas que mostravam uma quantidade desadequada de ácidos gordos n-3 e ao consumo de quantidades excessivas de ácidos gordos n-6, modificando o balanço anteriormente conseguido (Simopoulos, 2002).

Outra alteração que surgiu nesta razão de n-6/n-3 foi o uso intensivo de cereais nos sistemas de produção de gado, resultando num decréscimo na proporção de

---

ácidos gordos n-3 na carne. Com esta alteração, ocorreu uma diminuição progressiva da concentração de ADH e num aumento da concentração de AL no leite materno (Sanders, 2000).

É através dos ácidos gordos poliinsaturados e saturados, e pela razão entre os n-6 e n-3 que tem sido avaliado o valor nutricional dos lípidos. No entanto, a razão entre os ácidos gordos hipocolesterolémicos (h) e hipercolesterolémicos (H) (h/H), poderá ser um melhor procedimento para efetuar-se esta avaliação da gordura do que a razão entre poliinsaturados e saturados, isto porque alguns ácidos gordos saturados não aumentam o colesterol plasmático, e assim considera-se também o efeito dos ácidos gordos monoinsaturados (Santos-Silva *et al.*, 2002). De acordo com Santos-Silva *et al.* (2002) os ácidos gordos hipocolesterolémicos são os ácidos C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9,12, C18:3 *cis*-9,12,15 e ácidos gordos poliinsaturados das famílias n-3 e n-6. E os ácidos gordos hipercolesterolémicos são os ácidos C12:0, C14:0 e C16:0.

Esta proporção de h/H é importante, pois os ácidos gordos hipocolesterolémicos diminuem o colesterol-LDL, e os ácidos gordos hipercolesterolémicos aumentam. Portanto, a ingestão de ácidos gordos essenciais apresenta vários efeitos benéficos para a saúde humana. Ajudam na absorção de nutrientes essenciais e na expulsão de resíduos prejudiciais, devido ao papel importante que exercem nas membranas celulares. Auxiliam o sistema cardiovascular, reprodutivo, imunológico e nervoso, em particular no desenvolvimento neural e maturação dos sistemas sensoriais. Desempenham papéis relevantes em vários processos biológicos, entre eles a divisão celular, cicatrização de feridas e resposta imune, através da regulação da inflamação e estímulo do organismo a combater infeções (Jones, 2002; Vanek e Conner, 2007).

Segundo Reitan *et al.* (1997) e Nelson *et al.* (2002a), os ácidos gordos poliinsaturados desempenham um papel importante na nutrição de diversos animais, nomeadamente, na sobrevivência e no desenvolvimento de pequenos organismos marinhos durante as primeiras fases de crescimento, proporcionando um grande interesse tanto biotecnológico, como na indústria dos cosméticos (Servel *et al.*, 1994).

Diversos autores têm estudado a composição em lípidos e ácidos gordos das macroalgas marinhas, demonstrando o seu conteúdo em ácidos gordos poliinsaturados, os quais são essenciais para a nutrição e de grande interesse.

---

As macroalgas marinhas apresentam um conteúdo baixo em lípidos (1-5% do seu peso seco) no entanto, apresentam uma composição em ácidos gordos poliinsaturados muito interessante, nomeadamente os das séries n-3 e n-6 (Burtin, 2003).

As principais aplicações dos ácidos gordos provenientes das algas são como fonte de ácidos gordos essenciais na dieta humana, no enriquecimento de rações para peixes e para a produção de biodiesel. É do conhecimento comum que elevados índices de colesterol no sangue podem conduzir a doenças coronárias, sendo a sua redução associada ao menor consumo de ácidos gordos saturados e aumento dos ácidos gordos poliinsaturados na alimentação (Cozza e Costa, 2000). Em adultos, o aumento do consumo de ácido eicosapentaenóico (AEP) tem sido associado à redução dos riscos de aterosclerose, cancro, trombose e pressão arterial alta (Wen e Chen, 2003).

## **6.2. Metodologia**

### **6.2.1. Quantificação do perfil dos Ácidos Gordos por cromatografia gasosa**

Para a quantificação dos ácidos gordos foi utilizado o método de Cromatografia Gasosa (GC).

A Cromatografia Gasosa é uma técnica de separação e análise de misturas de substâncias voláteis. O método baseia-se na vaporização da amostra sendo introduzida em um fluxo de um gás adequado denominado de fase móvel ou gás de arraste. Este fluxo de gás com a amostra vaporizada passa por um tubo contendo a fase estacionária (coluna cromatográfica), onde ocorre a separação da mistura. A fase estacionária pode ser um sólido adsorvente (Cromatografia Gás-Sólido) ou um filme de um líquido pouco volátil, suportado sobre um sólido inerte (Cromatografia Gás-Líquido com Coluna Empacotada) ou sobre a própria parede do tubo (Cromatografia Gasosa de Alta Resolução). Na cromatografia gás-líquido, os dois fatores que influenciam a separação dos constituintes de uma amostra são a solubilidade e a volatilidade.

Quanto à solubilidade na fase estacionária, quanto maior a solubilidade de um constituinte na fase estacionária, mais lentamente os compostos movem-se pela coluna. Na volatilidade, quanto mais volátil a substância, maior a sua tendência de

---

permanecer vaporizada e mais rapidamente move-se pelo sistema. Por outras palavras: à medida que a fase móvel atravessa a coluna, os componentes da amostra são continuamente repartidos entre as duas fases. Os que apresentam uma maior afinidade com a fase móvel movem-se de forma mais rápida através da coluna, enquanto aqueles que apresentam uma forte atração para a fase estacionária migram mais devagar, ocorrendo a separação.

As substâncias separadas eluem da coluna dissolvidas no gás de arraste e passam por um detetor (dispositivo que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluído). O registo deste sinal em função do tempo é designado por cromatograma (ANEXO 1), em que o princípio básico da quantificação é que a área dos picos registada no cromatograma é proporcional à massa do composto injetado.

### **6.2.2. Procedimento**

Primeiro é necessário efetuar-se uma extração dos lípidos pelo método gravimétrico de soxhlet, sendo este um extrator que utiliza refluxo de solvente. O método de quantificação dos lípidos totais é baseado em três etapas: 1ª Extração de gorduras da amostra com solventes; 2ª Eliminação do solvente por evaporação; 3ª A gordura é quantificada por secagem.

O método soxhlet é um método analítico e apresenta grande eficácia para a determinação de lípidos, pois é um método contínuo capaz de extrair lípidos de uma amostra seca.

#### **6.2.2.1. Extração dos lípidos totais pelo método gravimétrico de soxhlet**

Para a quantificação dos lípidos totais foi utilizado o método gravimétrico de soxhlet (AOAC, 2000).

- a) Pesar 2 g de amostra e colocar num cartucho de papel;
- b) Fazer a montagem do soxhlet (Figura VI.2.), utilizando como solvente 100 mL de diclorometano:metanol (2:1, v/v) e extrair durante 4 horas;
- c) Secar no evaporador rotativo (o vácuo do evaporador é libertado contra nitrogénio para evitar a oxidação dos lípidos);
- d) Efetuar pesagens repetidas até a obtenção de peso constante.



**Figura VI.2.** Processo de extração dos lípidos por soxhlet

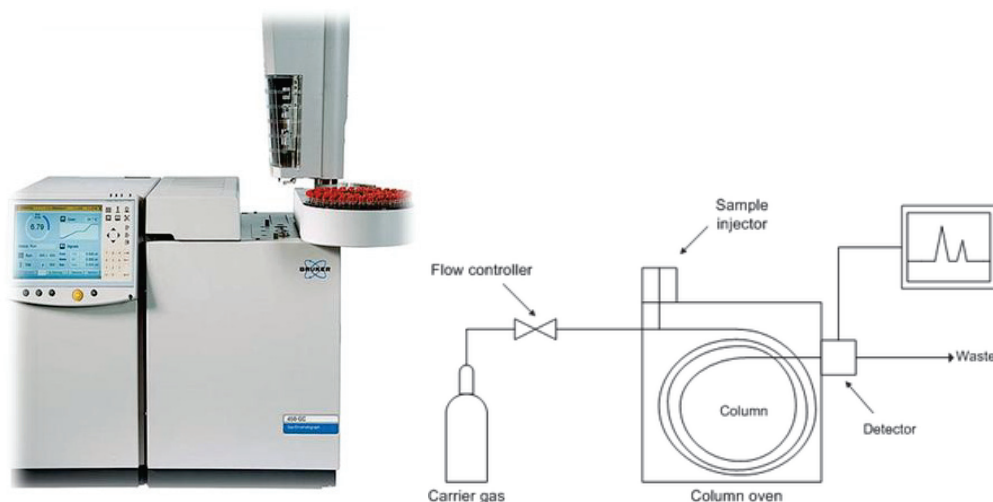
#### **6.2.2.2. Quantificação do perfil dos ácidos gordos**

Para realizar esta quantificação é necessário realizar uma derivatização (hidrólise ácida e metilação) para que os seus compostos sejam voláteis, sendo o procedimento realizado da seguinte forma, de acordo com a metodologia proposta por Knapp (1979).

- a) Amostra (4-10 mg) da extração dos lípidos;
- b) Secar usando uma corrente de  $N_2$ ;
- c) Deixar arrefecer à temperatura ambiente e adicionar o agente de derivatização (trifluoreto de boro/metanol 14%);
- d) Aquecer a  $60\text{ }^\circ\text{C}$  durante 10 min;
- e) Deixar arrefecer até à temperatura ambiente e transferir com 3 mL de hexano para um funil de separação;
- f) Lavar duas vezes com uma solução saturada de NaCl (2 mL cada vez);
- g) Rejeitar a camada aquosa (inferior);
- h) Fazer passar a camada orgânica por uma seringa com sulfato de sódio (para eliminar vestígios de água);
- i) Secar no evaporador rotativo e retomar o resíduo seco com 500  $\mu\text{L}$  de diclorometano;
- j) Injectar 1  $\mu\text{L}$  no Cromatógrafo de Gás (BRUKER 450-GC) (Figura VI.3.).

### 6.2.2.3. Condições experimentais

- Coluna: WCOT 25 m x 0.25 mm id, a fase estacionária CP-WAX58 (FFAP) com um comprimento de 25 m x 0.25 mm e uma espessura de filme da fase estacionária de 0.20  $\mu\text{m}$ .
- Fluxo do gás (hélio): 1.3 mL/min.; Fluxo de ar: 300 mL/min.; Fluxo de hidrogénio: 25 mL/min.
- Temperatura do injetor: 260 °C.
- Detetor FID, com temperatura: 280 °C.
- Condições do forno: 150 °C (durante 2 min.) até aos 250 °C à razão de 4 °C/min mantendo 10 min. na temperatura final. O tempo total foi de 37 min.



**Figura VI.3.** Cromatógrafo de gás e sua estrutura.

### 6.3. Resultados

Os teores de lípidos totais (%) e o perfil dos ácidos gordos (em percentagem do total de FAME) das espécies de macroalgas em estudo estão apresentados na Tabela VI.1. O somatório dos diferentes grupos de ácidos gordos e os índices n-6/n-3 e h/H estão ilustrados na Tabela VI.2.

**Tabela VI. 1.** Teor em lípidos totais (% peso seco) e composição em ácidos gordos (% do total dos FAME) das macroalgas.

Lípidos e Ácidos gordos	TR (FAME) min.	Macroalgas		
		<i>Fucus spiralis</i>	<i>Osmundea pinnatifida</i>	<i>Ulva rigida</i>
Lípidos Totais		5.23±0.3	7.53±0.7	1.02±0.09
Ácidos gordos (FAME)				
Laurico, C12:0	3.556	tc	tc	tc
Tridecanoico, C13:0	5.689	11.73±0,93	8.35±0.66	2.02±0.06
Mirístico, C14:0	5.75	1.29±0,10	0.71±0.06	tc
Miristoleico, C14:1 c9 (n-5)	6.271	0.60±0.05	0.51±0.05	tc
Pentadecanoico, C15:0	7.207	0	0	0
Pentadecenoico, C15:1 c10 (n-5)	7.811	0	0	0
Palmítico, C16:0	8.797	18.77±1.49	45.93±3.41	42.76±2.98
Palmitoleico, C16:1 c9 (n-7)	9.235	1.10±0.08	1.99±0.16	2.25±0.21
Heptadecanoico, C17:0	10.623	tc	tc	0
Heptadecenoico, C17:1 c10 (n-7)	11.087	1.44±0.12	tc	0
Estearico, C18:0	12.487	0.77±0.06	1.15±0.09	0
Oleico, C18:1 c9 (n-9)	12.737	21.04±1.67	14.19±1.13	15.99±1.31
Octadecenoico, C18:1 c11 (n-7)	12.872	tc	3.95±0.31	0
Linolelaídico, C18:2 t9,12 (n-6)	13.666	6.36±0.51	1.03±0.08	4.89±0.41

Lípidos e Ácidos gordos	TR (FAME) min.	Macroalgas		
		<i>Fucus spiralis</i>	<i>Osmundea pinnatifida</i>	<i>Ulva rigida</i>
Linoleico (AL), C18:2 c9,12 (n-6)	13.759	tc	tc	1.56±0.10
Araquídico, C20:0	14.233	0.47±0.04	tc	0
γ-Linolénico (AGL), C18:3 c6,9,12 (n-6)	14.868	9.35±0.74	0.32±0.03	17.11±1.03
α-Linolénico (AAL), C18:3 c9,12,15 (n-3)	16.516	tc	tc	tc
Eicosenoico, C20:1 c11 (n-9)	16.196	tc	tc	2.7±0.24
Heneicosanoico, C21:0	17.381	0.56±0.05	tc	2.01±0.19
Eicosadienoico, C20:2 c11,14 (n-6)	17.871	0.34±0.03	0.23±0.02	tc
Behenico, C22:0	18.004	tc	tc	0
Dihomo-γ-linolénico (ADHGL), C20:3 c8,11,14 (n-6)	18.229	14.30±1.13	4.65±0.37	tc
Erucico, C22:1 c-13 (n-9)	18.577	tc	tc	1.17±0.08
Eicosatrienoico, C20:3 c11,14,17 (n-3)	19.437	11.69±0.93	16.35±1.29	2.11±0.27
Araquidónico (AA), C20:4 c5,8,11,14 (n-6)	19.812	0.43±0.03	tc	2.76±0.30
Tricosanoico, C23:0	21.743	0	0.64±0.05	tc
Docosadienoico, C22:2 c13,16 (n-6)	20.991	0.52±0.04	tc	2.01±0.21
Lignocerico, C24:0	21.526	0	0	0
Eicosapentaenoico (AEP), C20:5c5,8,11,14,17 (n-3)	23.263	1.05±0.08	0	tc
Nervónico, C24:1 c15 (n-9)	23.579	2.92±0.23	0	tc
Docosahexaenoico (ADH), C22:6 c4,7,10,13,16,19 (n-3)	25.359	1.29±0.11	0.68±0.05	1.25±0.07

Valores médios de n=3

TR, Tempo de retenção; FAME, ésteres metílicos dos ácidos gordos; c, cis; t, trans; n, omega; tc, traços; 0, composto não detetado.

**Tabela VI.2.** Proporção dos diferentes grupos de ácidos gordos (% do total dos FAME) das macroalgas.

Ácidos gordos (FAME)	Macroalgas		
	<i>Fucus spiralis</i>	<i>Osmundea pinnatifida</i>	<i>Ulva rigida</i>
Ácidos gordos saturados	33.59±1.79	56.78±2.64	46.79±2.18
Ácidos gordos monoinsaturados	27.10±1.44	20.64±1.09	22.11±1.17
Ácidos gordos poliinsaturados	38.97±2.08	22.23±1.18	26.80±1.42
C18 (poliinsaturados)	15.71±0.84	1.35±0.07	18.67±0.99
C20 (poliinsaturados)	27.81±1.48	21.23±1.13	9.30±0.49
Ácidos gordos <i>Trans</i>	6.36±0.34	1.03±0.06	4.89±0.26
<i>n</i> -3	14.03±0.75	17.03±0.91	3.36±0.18
<i>n</i> -6	24.94±1.33	5.20±0.28	26.32±1.39
<i>n</i> -9	23.93±1.24	14.19±0.76	19.86±1.05
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	1.78	0.31	7.83
h/H	3.29	0.92	1.14

Valores médios de  $n = 3$ .

*n*, omega; h/H, hipocolesterolémicos (ácidos gordos monoinsaturados + ácidos gordos poliinsaturados) / hipercolesterolémicos (C14:0 + C16:0).

#### 6.4. Discussão/Conclusão

A Tabela VI.1. e VI.2. mostram o conteúdo em lípidos totais, o perfil dos ácidos gordos, assim com os diferentes grupos de ácidos gordos nas amostras de algas (em percentagem do total de FAME).

Relativamente ao conteúdo em lípidos totais, os valores obtidos foram de  $1.02 \pm 0.09$  para a *Ulva rigida*,  $5.23 \pm 0.3$  para a *Fucus spiralis* e  $7.53 \pm 0.7$  para a *Osmundea pinnatifida*. Segundo Taboada *et al.* (2010), a *Ulva rigida* tem 0.9% de lípidos e de acordo com Marsham *et al.* (2007), a *Osmundea pinnatifida* apresentou um teor de lípidos de  $4.3 \pm 6.38$ . Segundo o mesmo autor a espécie *Fucus serratus* apresentou  $1.8 \pm 0.3\%$  de lípidos.

---

Quanto à composição em ácidos gordos, o ácido palmítico (C16:0) foi o ácido gordo mais abundante nas algas em estudo com exceção da *Fucus spiralis* em que o ácido gordo mais abundante foi o ácido oleico (C18:1, n9). O total de ácidos gordos monoinsaturados (MUFAs) variaram desde o valor mais baixo de 20.64±1.09%, seguido de 22.11±1.17 para o valor mais elevado de 27.10±1.44 % do total de FAME, para a *Osmundea pinnatifida*, *Ulva rigida* e *Fucus spiralis*, respetivamente. Estes resultados de ácidos gordos monoinsaturados estão de acordo com os obtidos por Taboada *et al.* (2010) para a *Ulva rigida* (22.6%).

O ácido oleico (C18:1, n9) foi a ácido gordo predominante dentro deste grupo em que os valores foram de 14.19±1.13%, 15.99±1.31% e 21.04±1.67% do total de FAME para a *Osmundea pinnatifida*, *Ulva rigida* e *Fucus spiralis*, respetivamente. O total de ácidos gordos poliinsaturados variaram desde o valor mais baixo de 22.23±1.18%, seguido de 26.80±1.42% para o valor mais elevado de 38.97±2.08% do total de FAME para *Osmundea pinnatifida*, *Ulva rigida* e *Fucus spiralis*, respetivamente.

O AEP foi encontrado apenas na *Fucus spiralis* (1.05±0.08%) e o ADH foi encontrado nas três amostras de algas em estudo, com os valores de 0.68±0.05%, 1.25±0.07% e 1.29±0.11% do total de FAME para *Osmundea pinnatifida*, *Ulva rigida* e *Fucus spiralis*, respetivamente. O AGL, e o eicosatrienóico (C20:3, n3) estavam também presentes em todas as espécies, sendo este último o mais abundante na *Fucus spiralis* e *Osmundea pinnatifida*. Estes resultados estão, em geral, de acordo com os publicados por Patarra *et al.* (2013). O teor de ácidos gordos saturados variaram de 33.59±1.79%, seguido de 46.79±2.18% para 56.78±2.64% do total de FAME para a *Fucus spiralis*, *Ulva rigida* e *Osmundea pinnatifida*, respetivamente.

A razão da série de n-6 e n-3 variou desde 0.31 para 7.83, para a *Osmundea pinnatifida* e *Ulva rigida*, respetivamente. A razão de h/H variou de 0.92 para a *Osmundea pinnatifida* para o valor mais elevado de 3.29 para a *Fucus spiralis*. Esta relação é importante porque os ácidos gordos hipocolesterolémicos (h) reduzem as lipoproteínas de baixa densidade (LDL), também conhecido por mau colesterol e os ácidos gordos hipercolesterolémicos (H) vão aumentá-lo.

Como já foi referido, a composição química das algas marinhas em lípidos, apresentam valores relativamente baixos entre 1-5% (peso seco) (Burtin, 2003), sendo

---

que a *Osmundea pinnatifida* apresentou um valor mais elevado de lípidos (7.5% peso seco). Valores semelhantes foram observados por vários autores (Renaud e Luong-Van, 2006; McDermid *et al.*, 2007; Chakraborty e Santra, 2008). Estas diferenças poderão dever-se ao processo de extração dos lípidos ser diferente. Segundo vários autores (Honya *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 2002a, b; Ivesa *et al.*, 2004; Renaud e Luong-Van, 2006), as variações na composição em lípidos e ácidos gordos pode variar no tempo e são atribuídas às diferenças nas condições ambientais, assim como aos fatores genéticos.

As algas contêm muitos ácidos gordos essenciais, que podem aumentar a eficácia de um suplemento dietético ou como parte de uma dieta equilibrada. (Dembitsky *et al.*, 2003; Lunn e Theobald, 2006).

É necessário haver um equilíbrio entre o consumo dos diferentes tipos de ácidos gordos, sendo importante uma ingestão reduzida de ácidos gordos saturados e ácidos gordos *trans* e um maior consumo de ácidos monoinsaturados e poliinsaturados de modo a prevenir doenças cardiovasculares, osteoartrite e diabetes (Burtin, 2003).

As macroalgas apresentam uma composição particular de ácidos gordos n-3 e n-6, que segundo Honya *et al.*, (1994) apresentam uma distribuição diferente ao longo do crescimento das macroalgas e, por isso, a época de recolha das algas deve ser escolhida com cuidado.

O conteúdo em ácidos gordos saturados mais baixo foi encontrado na alga *Fucus spiralis*, e o total de ácidos gordos mono e poliinsaturados foi o dobro dos saturados, sendo portanto, esta alga uma boa fonte de ácidos gordos essenciais.

Quanto ao conteúdo em ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos, as algas exibiram uma relação interessante, o que sugere que possuem um elevado efeito benéfico para a saúde, nomeadamente cardio-protetor, mais concretamente a alga *Fucus spiralis* que apresentou uma razão h/H de 3.29% do total de FAME, o que nos indica que a porção de ácidos gordos hipocolesterolémicos é superior à dos hipercolesterolémicos.

## CAPÍTULO VII

# MINERAIS



---

## VII. Minerais

### 7.1. Generalidades

Os minerais são elementos químicos presentes nos alimentos ou nas substâncias biológicas do organismo, que não são destruídos pelo calor e que têm uma função plástica e reguladora do organismo. Cada um apresentando propriedades químicas distintas, com cargas e afinidades moleculares particulares. Fazem parte da constituição praticamente de todos os alimentos, com exceção das gorduras que normalmente só contêm vestígios de alguns. São um grupo essencial dos nutrientes indispensáveis, sendo que o organismo necessita de alguns em quantidade de cerca de um grama por dia, ou de algumas centenas de miligramas ou menos (Ferreira, 1983).

Os minerais são compostos inorgânicos com diferentes funções no organismo, sendo considerados nutrientes essenciais porque não são produzidos pelo organismo e, por isso, devem ser obtidos por meio da alimentação.

Em termos de quantidade que é utilizada pelo organismo e em que existem nos alimentos, os elementos minerais são separados em dois grupos, os que podemos encontrar em quantidades elevadas, como o sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo, enxofre e magnésio e os que podemos encontrar em proporções mínimas e que constituem o grupo dos infinitamente pequenos ou oligoelementos de G. Bertrand, como o ferro, cobre, zinco, fluor, iodo, cobalto, níquel, arsénio, boro, silício, manganésio, selénio, alumínio, titânio e vanádio (Ferreira, 1983).

As algas são ricas em minerais devido ao seu habitat marinho e à diversidade dos minerais que absorvem, pois metabolizam através da fotossíntese, todos os minerais contidos na água. Os minerais importantes, tais como o cálcio, acumulam-se nas algas em níveis muito mais elevados comparados com aqueles que surgem nos produtos alimentares. Isto é ilustrado por uma porção de 8 g de *Ulva lactuca* que fornece 260 mg de cálcio, igualando aproximadamente 37% dos valores de referência de cálcio para um adulto do sexo masculino (Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy, 1991; Food Safety Authority of Ireland, 1999).

Outros exemplos referem-se à alga *Laminaria digitata*, em que 8 g de uma porção seca fornece mais cálcio do que um copo de leite, e uma porção de *Palmaria*

---

*palmata* contém mais ferro do que 100 g de um bife do lombo de vaca (embora este não seja tão bem absorvido) (McCance *et al.*, 1993; Institut of Phytonutrition, 2004).

O iodo é um nutriente importante na regulação metabólica e as algas também fornecem uma grande quantidade de iodo, que é essencial para a função tiroideia. No entanto, o Instituto Federal Alemão de Avaliação do Risco advertiu que algumas variedades de algas apresentam quantidades de iodo excessivas, recomendando estabelecer um limite máximo seguro para os produtos da UE que contenham algas (Federal Office for Risk Assessment, 2004).

O sódio e o potássio estão presentes também em níveis relativamente altos, embora a razão Na:K seja geralmente abaixo de 1:5 (Ruperez, 2002).

As algas castanhas acumulam muitos elementos e são uma boa fonte de magnésio, cobre, ferro e iodo (Garrow *et al.*, 1997).

Neste estudo foi quantificado o magnésio (Mg), cálcio (Ca), sódio (Na), potássio (K) e a razão Na/K.

### **Magnésio**

O magnésio é um mineral essencial, necessário em quantidades relativamente importantes (macromineral). A principal função do magnésio é ao nível das reações enzimáticas em que participa como cofator, na formação de gorduras e proteínas, e na extração de energia dos alimentos. Também desempenha uma função reguladora de todo o metabolismo intracelular do cálcio, fósforo e sódio, assim como na contração muscular (Ferreira, 1983).

O magnésio está presente nos cereais integrais, leguminosas, legumes de folha verde, frutos secos, café e no cacau.

### **Cálcio**

O cálcio, assim como o magnésio é um macroelemento e é o mineral mais abundante do organismo. É um importante constituinte dos ossos e dentes, atua na coagulação sanguínea, na contração muscular e no funcionamento adequado do sistema nervoso e imunológico assim como da pressão arterial. Na membrana celular controla a sua permeabilidade e as suas propriedades eletrónicas (Ferreira, 1983).

Encontrado em laticínios e vegetais verdes.

---

## **Sódio**

O sódio é um mineral essencial, é o principal catião do líquido extracelular, portanto a sua principal função é regular a quantidade de líquido extracelular, bem como o volume de plasma sanguíneo. O sódio também ajuda na condução de impulsos nervosos e no controlo da contração muscular (Ferreira, 1983).

A maior fonte de sódio da alimentação é o sal de cozinha (cloreto de sódio), que tem cerca de 40% de sódio. Outras fontes deste mineral são os alimentos processados, como os enlatados, pré-cozinhados, secos e salgados e charcutaria.

## **Potássio**

O potássio melhora a elasticidade dos vasos e, assim, ajuda no controlo da pressão arterial, assegura o bom funcionamento dos batimentos cardíacos, facilita a dilatação dos vasos e ainda melhora a sensibilidade à insulina (Ferreira, 1983).

As principais fontes alimentares deste mineral são as frutas e legumes em geral, como a banana, abacate, laranjas, cerejas, damascos, pepino, tomate, batatas, beterraba e couve-flor. Também são encontrados nos peixes e carnes.

A fração mineral de algumas algas pode chegar até 36% da matéria seca. Muitos destes minerais essenciais acumulam-se nas algas a níveis muito mais elevados do que em outras plantas terrestres (MacArtain *et al.*, 2007).

## **7.2. Metodologia**

### **7.2.1. Quantificação dos minerais**

Existem alguns métodos químicos para a quantificação de minerais, nomeadamente através de absorção ou de emissão atómica e de cromatografia iónica.

O HPLC (High Performance Liquid Chromatography) é uma técnica de cromatografia, isto é, um método físico de separação no qual os constituintes de uma amostra são separados e distribuídos entre duas fases, uma estacionária que geralmente ocupa uma grande área e é sólida ou líquida e uma fase móvel constituída

---

por um fluído insolúvel que percola através da primeira. É um processo bastante eficiente e rápido.

A eluição da coluna pode ser com um único solvente ou com uma mistura de solventes. Se durante o processo de eluição a composição do eluente se mantém constante, estamos na presença de um processo de eluição isocrática. Se a composição do eluente for alterando ao longo do tempo de eluição, estamos na presença de um processo de gradiente de eluentes. Para a realização deste processo de gradiente, recorre-se a um sistema de programação de gradiente que permite uma variação contínua da composição do eluente.

A introdução da amostra na fase móvel no topo da coluna é uma operação delicada devida à alta pressão a que o sistema funciona, recorrendo-se a uma válvula de injeção. Após a separação na coluna, os vários componentes da amostra vão passar por um detetor, com um tempo de retenção que lhes é característico, já que depende do seu modo de interação com a fase estacionária. Neste caso foi utilizado um detetor de condutividade que possui um campo elétrico entre dois elétrodos, em que os aniões migram para o ânodo e catiões para o cátodo, causando uma resistência elétrica no sistema que posteriormente é registada (ANEXO 2) e quantificada.

Para a realização desta separação e quantificação dos minerais, o processo cromatográfico utilizado foi o de permuta iónica, que consiste numa troca estequiométrica de um ião por outro, respeitando uma relação de equilíbrio. As reações de permuta iónica ocorrem nas denominadas resinas de permuta iónica. A resina catiónica permite a permuta de catiões, enquanto a resina aniónica permite a permuta de aniões.

### **7.2.2. Procedimento**

- a) Pesar 25 mg de amostra e adicionar 1 mL de água desionizada;
- b) Colocar a -80 °C durante a noite;
- c) Descongelar a amostra à temperatura ambiente e homogeneizar com o “potter” a 2600 rpm durante 10 min.;
- d) Centrifugar a 3000 rpm durante 10 min.;
- e) Retirar 100 µL de sobrenadante e adicionar 900 µL de água desionizada;
- f) Injetar 20 µL no HPLC.

---

### 7.2.2.1. Condições experimentais

- HPLC da Alltech Associates (Deerfield, IL, USA) com uma bomba de alta pressão, modelo 426.
- Detetor de condutividade da Alltech modelo 650.
- Fase Estacionária: Coluna de permuta iónica Universal (100 x 4.6 mm i.d., 7µm tamanho das partículas).
- Fase móvel: Ácido Metanosulfónico 3mM.
- Fluxo: 0.8 mL/min.

Padrões para a realização das curvas de calibração: fórmulas catiónicas de Li 0.2 ppm; Na 1.3 ppm; NH<sub>4</sub> 5 ppm; K 2.5 ppm; Mg 2.0 ppm; Ca 2.0 ppm. As equações foram obtidas através de uma regressão linear de forma a quantificar o conteúdo em minerais.

### 7.3. Resultados

Os teores em minerais das espécies de macroalgas em estudo estão apresentados na Tabela VII.1., que mostra também a comparação entre esses teores e o de alguns alimentos.

**Tabela VII.1.** Conteúdo em minerais (mg/100g de peso seco) das maroalgas comparado com o de alguns alimentos.

	Na	K	Mg	Ca	Na/K
<i>Fucus spiralis</i>	1429±4.20	975.9±3.5	163.2±0.7	118.1±0.4	1.46
<i>Osmundea pinnatifida</i>	2669.2±9.3	1464.2±4.5	418.6±2.1	411.5±2.7	1.82
<i>Ulva rigida</i>	576.08±2.34	817.46±3.81	1775.13±4.74	324.93±1.94	0.70
Arroz integral*	28.0	1160.0	520.0	110.0	0.024
Leite integral*	55.0	140.0	11.0	115.0	0.39
Queijo Cheddar*	670.0	77.0	25.0	720.0	8.70
Bife de lombo*	49.0	260.0	16.0	9.0	0.19
Bananas*	1.0	400.0	340.0	6.0	0.003
Amendoins*	2.0	670.0	210.0	60.0	0.003

(\*) Valores de alimentos de acordo com McCance *et al.* (1993) em mg/100g peso seco.

### 7.4. Discussão/Conclusão

A tabela VII.1. mostra as diferenças significativas na quantidade de Na, K, Mg e Ca. Os resultados obtidos são muito semelhantes aos já publicados (MacArtain *et al.*, 2007; Matanjun *et al.*, 2009). A alga *Fucus spiralis* contém 12.6 vezes mais potássio do que o queijo cheddar; 7 vezes mais do que o leite integral e praticamente a mesma quantidade do que o arroz integral; 14.8 vezes mais magnésio do que o leite integral, e

---

19.7 vezes mais cálcio do que as bananas e contendo praticamente a mesma quantidade de cálcio do que o leite e arroz integral. A *Osmundea pinnatifida* contém 19 vezes mais potássio do que o queijo cheddar e praticamente o mesmo que o arroz integral; 38 vezes mais magnésio do que o leite integral e praticamente o mesmo que as bananas; 3.5 vezes mais cálcio do que o leite integral e 3.7 vezes mais do que o arroz integral. A *Ulva rigida* contém 10.6 vezes mais potássio do que o queijo cheddar; 5 vezes mais magnésio do que as bananas; 2.8 vezes mais cálcio do que o leite integral e 3 vezes mais do que o arroz integral.

Segundo estudos realizados por Taboada *et al.* (2010) a macroalga *Ulva rigida* apresentou valores mais elevados de cálcio (524.5 mg/100g), magnésio (2094.1 mg/100g), sódio (1595 mg/100g) e potássio (1561 mg/100g) (valores por 100 g de peso seco), comparativamente com os resultados obtidos neste estudo. Contudo em termos de razão Na/K esta alga apresenta um valor mais baixo do que o referenciado por Taboada *et al.* (2010), verificando-se assim que a alga em estudo apresenta maiores benefícios em termos de saúde humana.

A razão Na/K foi de 0.70 para a *Ulva rigida*, 1.46 para *Fucus spiralis* e 1.82 para a *Osmundea pinnatifida*. Segundo Rupérez (2002) foram encontradas razões Na/K abaixo de 1.5, para as algas vermelhas e castanhas estudadas. Em contraste com estes resultados, alimentos como as salsichas e azeitonas possuem razões de Na/K de 4.89 e 45.63, respetivamente (Ortega-Calvo *et al.*, 1993). Como é do conhecimento geral, a ingestão de alimentos com elevadas razões de Na/K têm sido relacionada com a maior incidência de hipertensão. As algas marinhas podem, portanto, ajudar a equilibrar as dietas ricas em sódio/potássio.

Do ponto de vista nutricional, as principais propriedades das algas que as distinguem de outras plantas superiores, são o seu elevado conteúdo em fibras e em minerais, nomeadamente o elevado teor de magnésio que é de interesse nutricional específico devido ao seu metabolismo ou propriedades funcionais (Mabeau e Fleurence 1993).

Com os resultados desta investigação podemos verificar que as algas em estudo apresentam um elevado conteúdo em minerais, nomeadamente magnésio, cálcio e potássio e uma boa razão entre Na/K. O magnésio é o constituinte de muitas

---

coenzimas e é essencial para o funcionamento normal dos nervos e músculos. O cálcio é um importante constituinte dos ossos e dentes e atua na coagulação sanguínea, na contração muscular e no funcionamento dos nervos. O potássio melhora a elasticidade dos vasos ajudando no controle da pressão arterial.

A alga *Ulva rigida* apresenta uma excelente razão Na/K (0.70), sendo considerada, portanto, uma alga que apresenta benefícios para a saúde, nomeadamente, para quem sofre de hipertensão, pois o potássio age com o sódio no equilíbrio dos líquidos do organismo e influencia a contração muscular e atividade dos nervos.

O conteúdo em minerais nas algas marinhas é elevado comparativamente aos valores apresentados para os vegetais terrestres mais comuns (Ortega-Calvo *et al.*, 1993). De acordo com Mabeau e Fleurence (1993) as macroalgas têm a capacidade de acumular minerais de acordo com as condições ambientais em que estão inseridas.

## **CAPÍTULO VIII**

# **VITAMINAS**



---

## VIII. VITAMINAS

### 8.1. Generalidades

As vitaminas são moléculas orgânicas, indispensáveis para o crescimento e manutenção da saúde, existentes em pequenas quantidades nos alimentos e desempenham diversas funções no organismo. Possuem funções metabólicas reguladoras, sendo que a mais relevante é a de servirem como cofatores em reações enzimáticas, ativando numerosas enzimas importantes para o metabolismo dos seres vivos. Atuam em quantidades mínimas e distinguem-se das demais substâncias orgânicas porque não são fontes de energia e não desempenham função estrutural (Ferreira, 1983).

A maioria dos organismos animais são incapazes de sintetizar (em quantidade suficiente) as vitaminas por via anabólica, razão pela qual é necessário incluí-las nas dietas. De uma forma geral, as vitaminas são necessárias em microquantidades e em função da idade, sexo, estado fisiológico e atividade física do indivíduo. Estas necessidades nutricionais aumentam durante os períodos de crescimento, gestação e lactação, e na ocorrência de determinadas doenças, especialmente, as infecciosas. (Lehninger *et al.*, 1995; Murray *et al.*, 1998).

Nos dias de hoje, com o aumento do consumo de alimentos industrializados, assim como da sua grande diversidade e tendo em conta a baixa estabilidade das vitaminas, a preocupação em adicionar esses nutrientes aos alimentos como forma de recuperar as perdas que ocorrem durante o processamento tem vindo a aumentar. A adição de vitaminas, assim como de todos os elementos a ser ingeridos, requer muita atenção, já que quando ingeridas em níveis superiores ao requerido pelo organismo, podem apresentar toxicidade, particularmente no caso das vitaminas lipossolúveis.

As **vitaminas lipossolúveis**, nomeadamente a A, D e E, têm vindo a merecer destaque aquando do desenvolvimento de produtos enriquecidos com vitaminas, com o intuito de assegurar particularmente ao público infantil a suplementação destes micronutrientes essenciais ao crescimento, desenvolvimento e outras funções biológicas (Lehninger *et al.*, 1995; Paixão, 1998).

---

As vitaminas são classificadas em lipossolúveis e hidrossolúveis de acordo com as suas propriedades fisiológicas e físico-químicas.

As vitaminas lipossolúveis são as que são solúveis em gorduras, como a vitamina A (retinol), D (calciferol), E (tocoferol) e K (filoquinona).

As lipossolúveis possuem uma estrutura química semelhante a alguns lípidos (esteróides) e são armazenadas pelo organismo com relativa facilidade. Este processo torna-se energeticamente dispendioso uma vez que exige a síntese de gorduras de reserva. Para a sua eliminação, o processo é também mais complexo e envolve um processo de mobilização hepática (Ferreira, 1983).

As vitaminas **hidrossolúveis** são as solúveis em água, como a B<sub>1</sub> (tiamina), B<sub>2</sub> (riboflavina), B<sub>6</sub> (piridoxina), B<sub>12</sub> (cianocobalamina), ácido fólico, niacina (nicotinamida, antigamente vitamina PP) e ácido pantoténico, vitamina C (ácido ascórbico) e a biotina (antigamente vitamina H).

As hidrossolúveis são facilmente eliminadas pelo organismo (a estabilidade química é menor que as lipossolúveis) através do complexo renal, daí que situações de excesso sejam pouco frequentes. As vitaminas hidrossolúveis são facilmente inativadas pela luz e temperatura, outras são oxidadas quando misturadas na água. Quase todas as vitaminas deste tipo são enzimas ou co-enzimas essenciais (Ferreira, 1983).

Conforme já referido, como as vitaminas não são na sua maioria produzidas pelo organismo humano, devem ser adquiridas através da ingestão de alimentos (frutas, verduras, legumes, carnes). As macroalgas marinhas são uma boa fonte de vitaminas, nomeadamente de vitamina E.

Neste trabalho apenas foi determinado o teor de vitaminas lipossolúveis.

## **Vitaminas Lipossolúveis**

### **Vitamina A (Retinol)**

Todas as formas da vitamina A têm o anel beta-ionona à qual está ligada a cadeia isoprenóide, chamada grupo retinilo.

A vitamina A é a vitamina da visão e um fator regulador do crescimento. Designa o termo genérico para o grupo de compostos onde se incluem o retinol, retinal alguns ésteres (palmitato e estearato de retinilo) e o ácido retinóico. Normalmente está na

---

natureza, particularmente nos tecidos vegetais, sob a forma de palmitato de retinilo e hidrolisada no intestino em retinol (Ferreira, 1983; Sommer e West, 1996).

Muitas plantas contêm a forma inicial de provitamina A ( $\beta$ -caroteno) como por exemplo as cenouras, citrinos, tomates e diversos legumes verdes e outros frutos (Ferreira, 1983). O organismo animal através do fígado transforma a provitamina em vitamina A.

A falta de vitamina A provoca perturbações de crescimento (raquitismo), de visão, falta de apetite, maior susceptibilidade a infeções nos tecidos e poderá provocar formação de cálculos renais (Furr *et al.*, 1992).

Nos primeiros anos de vida é a vitamina que desempenha o papel mais importante e na idade adulta, sobretudo nas populações que vivem no campo em que a alimentação é constituída em grande parte por vegetais, o caroteno é o que tem maior influência (Ferreira, 1983).

### **Vitamina D**

As mais importantes são a vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol) e D<sub>3</sub> (ou colecalciferol). São as vitaminas de crescimento e muito importantes no metabolismo do cálcio. (Jones *et al.*, 1992). A vitamina D está relacionada com a fixação a nível intestinal de cálcio e de fósforo, sob a forma de fosfato, pois na presença desta vitamina ocorre a estimulação da formação da proteína responsável pelo processo de assimilação destes minerais. Contudo, a vitamina D não substitui o cálcio e o fósforo, mas a sua assimilação não pode ser realizada na falta de vitamina D (Jones *et al.*, 1992). A vitamina D pode aumentar a força muscular, diminuir o risco da diabetes tipo1, melhorar o equilíbrio e ajudar a emagrecer.

As fontes naturais destas vitaminas são o óleo de fígado de bacalhau e algumas sementes oleaginosas. A falta de vitamina D causa raquitismo e prejudica a mobilização do cálcio ósseo. Um estudo revela que as mulheres, assim como os homens negros e os idosos precisam de uma maior exposição ao sol para evitar problemas relacionados com a falta de cálcio, como a osteoporose. No entanto, níveis elevados podem causar excessiva calcificação óssea (destabilização do equilíbrio e teor

---

de calcémia) e calcificação de tecidos moles (fígado, rins, pulmões, articulações) (Masuchi *et al.*, 2008).

Sob o ponto de vista biológico e de nutrição, a verdadeira vitamina D é a D<sub>3</sub> e sob o ponto de vista terapêutico, a vitamina D mais utilizada é a D<sub>2</sub> (Ferreira, 1983).

### **Vitamina E (α-tocoferol)**

Existem formas naturais e sintéticas da vitamina E. Os nutricionistas e técnicos de saúde recomendam somente a vitamina E natural (d-alfa-tocoferol) ou uma mistura de tocoferóis naturais. A vitamina E é o antioxidante mais importante na célula e estando localizada na porção lipídica das membranas celulares, ela protege os fosfolípidios insaturados da membrana da degeneração oxidativa dos EROs (espécies reativas de oxigênio).

Embora incorrectamente o termo genérico da vitamina E, seja utilizado para designar oito diferentes compostos, designados de: α-, β-, γ- e δ- (alfa, beta, gama e delta) tocoferóis e tocotrienóis (Chun *et al.*, 2006; Sen *et al.* 2006).

Atua como antioxidante, evitando a oxidação das gorduras e a formação de radicais livres, responsáveis pelas lesões nas paredes celulares e sinergeticamente aumenta a ação de outros antioxidantes, como por exemplo a vitamina C e A (Masuchi *et al.*, 2008). Os antioxidantes são substâncias que destroem os radicais livres (substâncias nocivas ao organismo). Acredita-se que os radicais livres contribuem para a aceleração do envelhecimento, bem como para o desenvolvimento de uma série de problemas de saúde.

Os óleos vegetais como os de girassol, de milho, de soja ou de oliveira são ricos em vitamina E, assim como os frutos secos, o kiwi e os derivados de trigo, em menor quantidade do que os óleos vegetais (Masuchi *et al.*, 2008).

O composto natural mais abundante neste grupo é o γ-tocoferol mas o que apresenta maior atividade antioxidante é o α-tocoferol (Lang *et al.*, 1992). Funciona normalmente associada a um mineral - o *selénio* - elemento fundamental na ação da glutatona peroxidase, uma enzima envolvida nos processos metabólicos de anti-oxidação. A deficiência em vitamina E pode causar lesões musculares, degeneração dos embriões e esterilidade.

---

Este grupo tem sido frequentemente associado à prevenção de doenças neurodegenerativas, aterosclerose, inflamação crónica, cancro e envelhecimento precoce (Traber, 2001).

### **Vitamina K**

A principal função é a coagulação sanguínea pela estimulação da síntese das proteínas envolvidas (transformação da protrombina em trombina pela libertação de dois resíduos de glutamato terminais da cadeia péptidica), previne a osteoporose e ativa a osteocalcina (importante proteína dos ossos). A deficiência causa hemorragias e anemia (Ferreira, 1983; Lambert e De Leenheer, 1992). Um estudo realizado na Alemanha em homens com cancro da próstata mostrou uma relação inversa significativa entre o consumo de vitamina K<sub>2</sub> e o avanço da doença.

Esta vitamina pode apresentar-se de 3 formas diferentes: K<sub>1</sub> (Filoquinona); K<sub>2</sub> (Menaquinona) e K<sub>3</sub> (Menadinona).

Foi observado que a vitamina K<sub>1</sub> é sintetizada nas folhas verdes (luzerna, espinafres, espargos, brócolos, couves, ervilhas e certos óleos vegetais, entre outros), isto é, nos órgãos clorofilinos e que a sua síntese está dependente da luz solar (Ferreira, 1983; Booth e Rajabi, 2008).

A carência de Vitamina K é rara e está normalmente associada a uma má absorção lipídica ou destruição da flora intestinal, o que provoca hemorragias, deficiência no processo de coagulação e formação de placas nas artérias (Ferreira, 1983).

O organismo humano pode “sintetizar”, em pequenas quantidades, algumas destas vitaminas, utilizando substâncias que ingere pelos alimentos. No entanto, outras podem ser obtidas a partir da forma de precursores químicos que são posteriormente sintetizados na sua forma final.

---

## 8.2. Metodologia

### 8.2.1. Extração e Quantificação das Vitaminas Lipossolúveis

Para a determinação das vitaminas são utilizadas várias técnicas muito diferentes. Muitos destes métodos são por vezes demorados e podem apresentar várias limitações como por exemplo, o número de compostos interferentes encontrados na matriz da amostra. As técnicas de HPLC podem oferecer vantagens a nível de especificidade e rapidez quando utilizados os procedimentos adequados (Blanco *et al.*, 1994a).

Entre as metodologias de identificação e quantificação, as de maior eficiência envolvem a separação analítica por HPLC através da fase normal ou reversa, às quais acoplam-se detectores de UV e/ou de fluorescência (Ruperez *et al.*, 2001), cuja identificação e quantificação são asseguradas por fator de capacidade (k) e/ou resolução (Rs) e uma metodologia de integração dos sinais (ANEXO 3).

A separação dos tocoferóis por HPLC tem a vantagem de ser uma técnica rápida, simples, sensível, seletiva e mais forte do que GC (Kamal-Eldin e Andersson, 1997). Estas separações por HPLC de tocoferóis podem ser realizadas em ambas as colunas normais ou de fase reversa (Ruperez *et al.*, 2001).

O HPLC é um procedimento que tem uma precisão muito elevada e é selecionado como um método de rotina.

Para a quantificação das vitaminas lipossolúveis foi usada a cromatografia de fase reversa. Esta cromatografia baseia-se no princípio das interações hidrofóbicas ou forças de Van der Waals que resultam das forças de afinidade entre as estruturas moleculares das vitaminas e a cadeia C<sub>18</sub> da fase estacionária, portanto, numa fase estacionária apolar (Kazakevich e Lobrutto, 2007).

Durante a fase pré-cromatográfica é necessário ter em atenção a alguns fatores que podem comprometer as etapas de identificação e quantificação das vitaminas, nomeadamente, podem ocorrer perdas de  $\alpha$ -tocoferol como resultado da oxidação, principalmente devido ao contacto com o ar ou luz durante o procedimento de extração (Sánchez-Machado *et al.*, 2002).

Para se efetuar a determinação do conteúdo em vitaminas é necessário proceder-se a uma saponificação das amostras, com o objetivo de separar as vitaminas

---

de constituintes a elas interligadas. Este processo de saponificação envolve uma ruptura das ligações ésteres na matriz lipoprotéica, com libertação dos ácidos gordos na forma de sais, glicerol, fosfolípidos e outras moléculas encontradas no alimento. Entre as frações insaponificáveis encontram-se os esteróides, carotenóides, colesterol (Voet e Voet, 1995) e vitaminas lipossolúveis libertadas em proporções variáveis, dependendo das condições de saponificação e extração. As vitaminas podem também ser destruídas por exposição contínua a algumas condições de saponificação (Blanco *et al.*, 1994b; Paixão e Campos, 2003) ou pela presença de impurezas nos solventes utilizados na extração (Turner *et al.*, 2001).

Outro dado importante no procedimento de extração é a necessidade de adição de antioxidantes aos extractos, pois as vitaminas são mais sensíveis às condições ácidas do que às alcalinas e o uso de antioxidantes, como o caso do ácido ascórbico, nesses extratos é uma forma de proteger as vitaminas.

### **8.2.2. Procedimento**

Usou-se a metodologia proposta por Sánchez-Machado *et al.* (2002) com algumas modificações:

- a) Pesar 500 mg de amostra para um tubo e adicionar 50 mg de ácido ascórbico;
- b) Adicionar 5 mL de solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,5 M em metanol (MeOH);
- c) Aquecer a 80 °C durante 30 min. (agitar no vórtex de 5 em 5 min.)
- d) Arrefecer em gelo;
- e) Adicionar 1 mL de água desionizada e 6 mL de hexano;
- f) Agitar rapidamente durante 1 min.;
- g) Centrifugar a 2500 rpm durante 8 min.;
- h) Retirar 2 mL de sobrenadante e secar sob azoto;
- i) Redissolver o resíduo seco em 500 mL de uma mistura A:B (90:10), sendo A – metanol:acetonitrilo (75:25) e B - Água desionizada;
- j) Injetar 50 µL no HPLC.

---

Foram injetadas amostras padrão de cada vitamina: A, E ( $\alpha$ -Toc,  $\delta$ -Toc,  $\gamma$ -Toc), D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, K<sub>1</sub> e K<sub>3</sub>. As equações da recta foram obtidas através de uma regressão linear de forma a quantificar o conteúdo em vitaminas.

### 8.2.2.1. Condições experimentais

- HPLC da Water modelo 626
- Fase estacionária: coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm) 5  $\mu$ m
- Fases móveis: A – MeOH: H<sub>2</sub>O (90:10)  
B – Acetonitrilo (ACN)
- Temperatura da coluna: 40 °C
- Detector: UV ( $\lambda$ =280 nm)
- Sensibilidade: 0.05 AUFS
- Fluxo: 0.60 mL/min
- Gradiente:

Tempo (minutos)	Fase A (%)	Fase B (%)
0	90	10
3	90	10
12	20	80
17	1	99

Refira-se, que, com este procedimento não se conseguiu separar e quantificar a vitamina A, visto que o tempo de retenção era muito próximo do da vitamina K<sub>3</sub>. Deste modo, alterou-se algumas das condições de análise, nomeadamente, a fase móvel e o gradiente.

- Fase móvel: A - MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1)  
B - ACN
- Gradiente:

Tempo (minutos)	Fase A (%)	Fase B (%)
0	99	1
4	80	20
5	80	20
10	1	99

### 8.3. Resultados

Os teores de vitaminas lipossolúveis das espécies de macroalgas em estudo estão apresentados na Tabela VIII.1., que mostra também a comparação entre esses teores e o de alguns alimentos.

**Tabela VIII.1.** Conteúdo em vitaminas lipossolúveis (mg/100g de peso seco) das macroalgas comparado com o de alguns alimentos.

	A	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	α-Toc	δ-Toc	γ-Toc	K <sub>1</sub>	K <sub>3</sub>
<i>Fucus spiralis</i>	1.41±0.01	0.21±0.02	0.83±0.02	51.14±0.27	tc	tc	tc	tc
<i>Osmundea pinnatifida</i>	1.20±0.02	tc	nd	4.86±0.02	tc	14.19±0.10	0.92±0.02	1.64±0.01
<i>Ulva rigida</i>	1.48±0.04	tc	0.08±0.01	0.13±0.02	3.73±0.25	tc	tc	0.70±0.02
Aveia				1.49 (a)				
Azeite				8-14 (b)				
Óleo de fígado de bacalhau	28 (b)		0.23 (b)	8-14 (b)				
Ovos			0.03 (b)					
Espinafres			0.3-0.8 (b)					

(a) Referido por Roeck *et al.*, 1991

(b) Referido por Panfilli *et al.*, 2003

Legenda: Toc- tocoferol; tc- trace; nd- não detetado

### 8.4. Discussão/Conclusão

A tabela VIII.1. mostra o conteúdo em vitaminas lipossolúveis nas amostras algais em estudo, que revela um teor de vitamina A de 1.41, 1.20 e 1.48 mg/100 g (peso seco) para a *Fucus spiralis*, *Osmundea pinnatifida* e *Ulva rigida*, respetivamente. As três espécies de macroalgas apresentam valores moderados de vitamina A. Relativamente ao teor de vitamina E, a *Fucus spiralis* é a alga que apresenta um valor

---

mais elevado de 51.14 mg/100 g (peso seco), seguido de 4.86 mg/100 g para a *Osmundea pinnatifida* e o valor mais baixo de 0.13 mg/100 g para a *Ulva rigida*, contrariamente ao relatado por Ito e Hori (1989) que indicam que as algas castanhas, como a *Fucus spiralis*, apresentam valores baixos de vitamina E.

A vitamina E desempenha um papel importante na saúde pois ajuda a inibir a oxidação do LDL e a formação de prostaglandinas e tromboxano. A alga *Fucus spiralis* apresenta o maior teor de  $\alpha$ -tocoferol que é 34 vezes maior do que na aveia (1.49mg/100g) e 4 vezes mais elevado do que o azeite e óleo de fígado de bacalhau (12mg/100g) (Roeck-Holtzhauer *et al.*, 1991; Panfili *et al.*, 2003). Segundo Sánchez-Machado *et al.* (2002) as algas castanhas (Heterokontophyta, *Phaeophyceae*) contêm mais  $\alpha$ -tocoferol do que as vermelhas (Rhodophyta), resultados estes que estão de acordo com este estudo.

A *Ulva rigida* é a única alga do estudo que apresenta valores de  $\delta$ -Toc (3.73 mg/100g) e a *Osmundea pinnatifida* é a única que apresenta valores de  $\gamma$ -Toc (14.19 mg/100g), sendo que esta alga foi também a que apresentou valores de vitamina K<sub>1</sub> (0.92 mg/100g) e K<sub>3</sub> (1.64 mg/100g), tendo a *Ulva rigida* apresentado um valor mais baixo (0.70 mg/100g).

Segundo Taboada *et al.* (2010) a *Ulva rigida* possui 1.97 mg/100g de vitamina E, enquanto a alga em estudo possui apenas 0.13 mg/100g, no entanto, em termos de atividade antioxidante proporcionada pelas várias formas de vitamina E, a alga em estudo apresenta valores mais elevados, portanto com mais efeitos benéficos para a saúde.

O habitat das algas varia de espécie para espécie, mas muitos destes organismos estão durante muito tempo expostos à luz solar direta no seu ambiente aquoso. Como resultado, as algas contêm muitas formas de antioxidantes, incluindo vitaminas e pigmentos de proteção.

As algas contêm tanto vitaminas lipossolúveis como hidrossolúveis, neste trabalho, apenas foram quantificadas as vitaminas lipossolúveis. Verificou-se que a alga *Fucus spiralis* é uma excelente fonte de vitamina E, ou seja, é uma excelente fonte de antioxidante natural. Segundo pesquisas realizadas por Paiva *et al.* (2012) esta alga foi a que apresentou um maior poder antioxidante relativamente às outras algas que

---

foram estudadas, muito possivelmente este poder antioxidante está relacionado com o elevado teor de vitamina E. Este valor de vitamina E pode também representar uma ação benéfica para o aumento da ação de outros antioxidantes, como por exemplo da vitamina A e C (Masuchi *et al.*, 2008).



## **CAPÍTULO IX**

# **CONCLUSÕES FINAIS**



---

## IX. Conclusões Finais

A grande maioria da população dos países desenvolvidos está mais consciente da relação existente entre nutrição e saúde, potenciando assim o consumo de diversos produtos funcionais na indústria de alimentos, e incentivando o desenvolvimento de alimentos funcionais com boa aceitabilidade, como é o caso das algas, que têm vindo a despertar um interesse crescente por parte das sociedades ocidentais.

As algas são organismos que pertencem a uma imensa variedade de nichos ecológicos e devido às diversas condições ambientais em que estão inseridos, a biossíntese de metabolitos secundários tornou-se uma estratégia de sobrevivência (Cardozo *et al.*, 2007).

Além disso, considerando a sua grande diversidade taxonómica, investigações relacionadas com a procura de novos compostos bioativos a partir do ambiente marinho pode ser visto como um campo quase ilimitado de pesquisa científica (*fide* Rasmussen e Morrissey, 2007; Plaza *et al.*, 2008). No entanto, ao provar que estas substâncias bioativas, que ocorrem naturalmente, têm um efeito benéfico na saúde, coloca-se o difícil dilema na investigação nutricional quando se pretende reconhecer o seu efeito preventivo, quando este é apenas moderado. Isto significa que os efeitos destas substâncias sobre o corpo humano podem ser muito pequenos e durante períodos relativamente curtos. No entanto, podem contribuir significativamente para melhorar a saúde quando são consumidas ao longo da vida, como parte da alimentação diária, para além de podermos ainda considerar o seu efeito sinérgico sobre outros componentes nutricionais (*fide* Biesalski *et al.*, 2009).

Esses metabolitos são responsáveis pelo elevado potencial farmacológico destes organismos. Entre os seus diversos efeitos biológicos incluem-se: as atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, imunomodulatórias, antivirais e antimicrobianas (Smit, 2004); as ações benéficas na arterosclerose, na hipertensão, na osteoporose, na obesidade e no sistema nervoso (Southgate, 1990; Ebadi, 2006); a ação depurativa e o efeito alcalinizante, extremamente importante para combater as doenças causadas pelo excesso de ácido produzido pela alimentação comum, que é frequentemente desequilibrada.

---

Por outro lado, as algas são uma excelente fonte de metabolitos primários essenciais para a nutrição, como proteínas de elevado valor biológico, ácidos gordos essenciais, fibras dietéticas, minerais e vitaminas (Cardozo *et al.*, 2007).

Outro aspeto também importante e que poderá ser explorado é o aroma forte das algas que poderá estar associado aos micronutrientes benéficos que contêm. Os aspetos relativos ao conteúdo de nutrientes nas algas podem ser aumentados pela pesquisa sobre os seus componentes bioativos. A combinação destas propriedades benéficas pode revitalizar a consciência dos consumidores para a utilização das algas como forma de melhorar a saúde (MacArtain *et al.*, 2007).

As algas apresentam uma grande variabilidade no seu conteúdo de nutrientes, estando estas diferenças relacionadas com fatores genéticos e/ou com diversos fatores ambientais, como a temperatura das águas, salinidade, luz e nutrientes disponíveis (Dawes, 1998). Estes parâmetros ambientais também variam de acordo com a estação do ano, sendo que as alterações nas condições ecológicas podem estimular ou inibir a biossíntese de vários nutrientes (Lobban *et al.*, 1985). Isto significa que, a partir de uma perspetiva biotecnológica, as algas podem ser consideradas como bioreatores naturais, capazes de fornecer diferentes tipos de compostos em diferentes quantidades, sendo este um atributo atrativo e importante para a indústria de alimentos funcionais (Lordan *et al.*, 2011).

As propriedades nutricionais das algas e a sua variabilidade são pouco conhecidas e normalmente são avaliadas a partir da sua composição química (Mabeau e Fleurence, 1993; Renaud e Luong-Van, 2006).

Neste contexto surge a presente investigação aplicada, que teve por finalidade comprovar, através de uma caracterização química mais sistemática, a mais-valia nutricional das macroalgas marinhas *Fucus spiralis*, *Osmundea pinnatifida* e *Ulva rigida*, tradicionalmente consumidas como alimento por populações de algumas ilhas do Arquipélago dos Açores.

Em conclusão final, a presente informação nutricional sobre as referidas algas edíveis dos Açores, pela avaliação detalhada da sua composição bioquímica, comprova o elevado valor biológico deste produto regional, com conseqüente impacto na saúde pública se integrado como alimento regular na dieta da população.

---

Este trabalho representa uma grande contribuição para a valorização dos recursos marinhos dos Açores e também para estimular o desenvolvimento tecnológico sustentável destes recursos, uma vez que os estudos sobre a caracterização química das algas edíveis são ferramentas fundamentais para se equacionar o seu futuro cultivo em massa como fonte de alimento.

Contudo, são necessários mais estudos para avaliar outros processos que envolvam o tratamento biotecnológico e que melhorem a sua extração, de modo a aumentar o valor nutricional das algas, sem alterar a estrutura molecular dos seus constituintes biologicamente ativos.



---

## BIBLIOGRAFIA

- Agardh JG, (1870). Om de under Korvetten Josephines expedition, sistliden sommar, insamlade Algerna. Öfversigt of Kungl. *Vetenskaps-Akademiens Förhanylingar*. 4, 359-366.
- Aguilera-Morales M, Casas-Valdez M, Carrillo-Domínguez S, Gonzalez-Acosta B, Perez-Gil F, (2005). Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potential food source. *Journal of Food Composition and Analysis*, (18) 79–88.
- Almeida MDV, Afonso CIPN, (1997). *Princípios básicos de alimentação e nutrição*. Universidade Aberta, Lisboa.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis*. (15<sup>th</sup> ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC (1993). *Methods of analysis for nutrition labeling*. Arlington, USA.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis of AOAC international*. (17<sup>th</sup> ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- Aragona P, Bucolo C, Spinella R, Giuffrida S, Ferreri G, (2005). Systemic Omega-6 Essential Fatty Acid Treatment and PGE1 Tear Content in Sjögren's Syndrome Patients. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 46, 4474-4479.
- Arasaki A, Arasaki T, (1983). *Low calories, High Nutrition. Vegetables from the Sea to Help you Look and Feel Better*, pp. 39-42, Japan Publications Inc.
- Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST, (2003). Differential Effects of Prostaglandin Derived From  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids on COX-2 Expression and IL-6 Secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1751-1756.
- Bellinger EG, Sigeo DC, (2010). *Freshwater Algae Identification and Use as Bioindicators*. (1<sup>ST</sup> ed.), Wiley-Blackwell is an imprint of John Wiley & Sons. West Sussex, PO19 8SQ, UK.
- Biesalski H-K, Dragsted LO, Elmadfa I, Grossklaus R, Müller M, Schrenk D, Walter P, Weber P, (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition*, 25, 1202–1205.

- 
- Blanco D, Pajares M, Escotet VJ, Gutiérrez MD, (1994a). *Journal of Liquid Chromatography*. Relat. Technol., 17, 4513.
- Blanco D, Sánchez LA, Gutiérrez MD, (1994b): Determination of Water Soluble Vitamins By Liquid Chromatography with Ordinary and Narrow-Bore Columns, *Journal of Liquid Chromatography*, 17:7, 1525-1539.
- Booth SL, Rajabi AA, (2008). *Determinants of Vitamin K Status in humans*. In Litwack, G., Vitamin K, Vitamins and Hormones. Elsevier Inc, USA, 78, 1-22.
- Brennan C, (2005). Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition Food Research* 49, 560–570.
- Borsoi MA, (2001). *Nutrição e dietética: noções básicas*. São Paulo: SENAC-SP.
- Brown JM, McIntosh MK, (2005). Conjugated Linoleic Acid in Humans: Regulation of Adiposity and Insulin Sensitivity. *Journal of Nutrition*, 133, 3041-3046.
- Burtin P, (2003). Nutricional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry*, 2 (4), 498-503.
- Calder PC, Zurier RB, (2001). Polyunsaturated Fatty Acids and Rheumatoid Arthritis. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 4(2), 115-121.
- Cardozo KHM, Guaratini T, Barros MP, Falcão VR, Tonon AP, Lopes N, et al., (2007). Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146, 60-78.
- Chakraborty S, Santra SC, (2008). Biochemical composition of eight benthic algae collected from Sunderban. *Indian Journal of Marine Sciences*, 37, 329–332.
- Chun J, Lee J, Ye L, Exler J, Eitenmiller RR, (2006). Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition Analytical*, 19, 196-204.
- Cofrades S, López-López I MT, Solas MT, Bravo L, Jiménez-Colmenero F, (2008). Influence of diferente types and proportions of added edible seaweeds on characteristics of low-salt gel/emulsion meat systems. *Meat Science*, 79(4), 767-776.
- Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy, (1991). Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom. *Reports on health and social subjects*, 41, 1-210.

- 
- Coppini LZ, Waitzberg DL, Campos FG, Harb-Gama A, (2004). *Fibras Alimentares e Ácidos Graxos de Cadeia Curta*. In: Waitzberg, D.L., Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica. (3ª ed.). São Paulo: Atheneu; p. 79-94.
- Couto RP, (2003). *Avaliação da estabilidade sazonal dos biótopos do intertidal rochoso da ilha de São Miguel (Açores)*. Relatório de Estágio para conclusão da Licenciatura em Biologia, ramo de Biologia Marinha. Universidade dos Açores. Ponta Delgada.
- Cozza KL, Costa JAV, (2000). Lipídios em *Spirulina*. *Vetor*, Rio Grande, v. 10, 69-80.
- Darcy-Vrillon B, (1993). Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *International Journal of Food Science Nutrition* 44, S23–S35.
- Dawes CJ, (1998). *Marine Botany*. John Wiley & Sons, Inc., New York, p. 480.
- Dawczynski C, Schubert R, Jahreis G, (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*, 103, 891-899.
- Dembitsky VM, Rezankova H, Rezanka T, Hanus LO, (2003). Variability of the fatty acids of the marine green algae belonging to the genus *Codium*. *Biochemistry System Ecological*, 31, 1125–1145.
- Direção-Geral da Saúde / Plataforma Contra a Obesidade.  
<http://www.plataformacontraaobesidade.dgs.pt/ResourcesUser/O%20QUE%20SAO%20OHIDRATOS%20DE%20CARBONO%20COMPLEXOS.pdf>.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F, (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 26, 350.
- Ducatti DRB, (2005). *Oligossacarídeos obtidos por hidrólise redutiva parcial de polissacarídeos de algas vermelhas: Estudos de ressonância magnética nuclear*. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências – Área Bioquímica, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.
- Ebadi SM, (2006). Pharmacodynamic basis of herbal medicine.  
<http://books.google.pt/books?id=CMJKgfhCKzIC&pg=Pa139&lpg=PA139&dq=green+algae+as+anthelmintics&source=bl&ots=PIZVmrV9&sig=GT06CmPRg2Aj-bM3-tBjy7TxCTI&hl=pt->

---

PT&ei=qug2TKaZ050j0larmb4E&sa=X&oi=book\_result&resnum=10&ved=OCF4Q6AEwCQ#v=onepage&q&f=false.

- Elleuch M, Bedigian D, Roiseux O, Besbes S, Blecker C, Attia H, (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. *Food Chemistry*, 124, 411-421.
- Faccini AL, (2007). *Importância económica e cultivo de macroalgas*. IX Simpósio de Biologia marinha da Unisantia.
- Federal Office for Risk Assessment (2004). Health hazards due to high iodine content in dried seaweed. Updated Opinion No. 026/2007.
- Ferreira FAG, (1983). *Nutrição Humana*, (2ª ed.), Fundação Calouste Gulbenkian.
- Fisberg RM, Slater B, Barros RR, (2004). Índice de Qualidade da Dieta: avaliação da adaptação e aplicabilidade. *Revista de Nutrição*, 17 (3), 301-318.
- Fleurence J, Gutbier G, Mabeau S, & Leray C, (1994). Fatty-acids from 11 marine macroalgae of the French Brittany coast. *Journal of Applied Psychology*, 6 (5–6), 527–532.
- Fleurence J, (1999). Seaweed proteins: Biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*, 10 (1), 25–28.
- Food Safety Authority of Ireland (1999). Recommended Dietary Allowances for Ireland. Dublin, Food Safety Authority of Ireland.
- Folkes DJ, Jordan MA, (2006). *Carbohydrates in Food*. Second Edition. Taylor & Francis Group. USA.
- Foster GG, Hodgson AN, (1998). Consumption and apparent dry matter digestibility of six intertidal macroalgae by *Turbo sarmaticus* (Mollusca: Vetigastropoda: *Turbinidae*) *Aquaculture*, 167, (3), 211-227(17).
- Fujiwara-Arasaki T, Mino N, Kuroda M, (1984). 'The protein value in human nutrition of edible marine algae in Japan' in *Hydrobiologia* 116/117, 513-516.
- Furr HC, Barua AB, Olson JA, (1992). *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*. Chromatographic Science series, (2<sup>nd</sup> ed.). edited by André P. De Leenheer, Willy E. Lambert and Hans J. Nelis, Vol 60.
- Galland-Irmouli AV, Fleurence J, Lamghari R, Luçon M, Rouxel C, Barbaroux O, Bronowicki JP, Vuillaume C, Guéant JL, (1999). Nutritional value of proteins from

- 
- edible seaweed *Palmaria palmate* (Dulse). *Journal of Nutritional Biochemistry*, 10, 353–359.
- Galvani F, Gaertner E, (2006). *Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogénio Total e Proteína Bruta*. Embrapa, Corumbá, Brasil.
- Garrow JS, James WPT, Ralph A, (1997). *Human Nutrition and Dietetics*. (8<sup>th</sup> ed.). London, Churchill Livingstone.
- Goldberg I, (1994). *Introduction. Functional Food: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals* in: Goldberg I, editor. London: Chapman and Hall, p. 3-16.
- Goni I, Valdivieso L, Garcia-Alonso A, (2000). Nori seaweed consumption modifies glycemic response in healthy volunteers. *Nutrition Research*, 20, 1367–1375.
- Guidel-Urbano M, Goni I, (2002) Effect of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats. *Nutrition Research*, 22, 323–331.
- Guiné R, Henriques F, (2011). *O Papel dos Ácidos Gordos na Nutrição Humana e Desenvolvimentos Sobre o Modo Como Influenciam a Saúde*. Millenium, 40, 7-21.
- Hall MN, Campos H, Li H, Sesso HD, Stampfer MJ, Willett WC, Ma J, (2007). Blood Levels of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids, Aspirin, and the Risk of Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16(2), 314-321.
- Hoebler C, Guillon F, Darcy-Vrillon B, Vaugelade P, Lahaye M, Worthington E, Dué P-H, Barry J-L, (2000). Supplementation of pig diet with algal fibre changes the chemical and physicochemical characteristics of digesta. *Journal of Science and Food Agricultural*, 80, 1357–1364.
- Holub BJ, (2002). Clinical Nutrition: 4. Omega-3 Fatty Acids in Cardiovascular Care. *Canadian Medical Association Journal*, 166(5), 608-615.
- Honya M, Kinoshita T, Ishikawa M, Mori H, Nisizawa K, (1994). Seasonal variation in the lipid content of cultured *Laminaria japonica*: fatty acids, sterols, 3-carotene and tocopherol. *Journal of Applied Phycology*, 6, 25-29.
- Indergaard M, Minsaas J, (1991). *Animal and human nutrition. In: Seaweed Resources in Europe. Uses and Potential* (Guiry MD, Blunden G, eds.). John Wiley & Sons, New York. pp 21-64.

- 
- Institut of Phytonutrition, (2004). Functional, health and therapeutic effects of algae and seaweed. Institut de Phytonutrition electronic database. Version 1.5. Beausoleil, France, Institut de Phytonutrition.
- Ito K, Hori K, (1989). Seaweed: chemical composition and potential food uses. *Food Reviews International*, 5, 101–144.
- Ivesa L, Blazina M, Najdek M, (2004). Seasonal variations in fatty acid composition of *Caulerpa taxifolia* (M. Vahl.) C. Ag. In the northern Adriatic Sea (Malinska, Croatia). *Botanica Marina*, 47 (3), 209-214.
- Jenkins DJA, Wolever TMS, Jenkins AL, (2003). *Fibra e Outros Fatores Dietéticos que Afetam a Absorção e o Metabolismo dos Nutrientes*. In: Shils, M.E., Olson J.A., Shike, M., Ross, A.C., Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença. (9ª ed.). São Paulo: Manole; p. 728-732.
- Jensen A, (1993). Present and future needs for algae and algal products. *Hydrobiology*, 85, 15-23.
- Jeraci JL, VAN Soest PJ, (1990). Improved methods for analysis and biological characterization of fiber. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 270, 245-263.
- Jimenez-Escrig A, Sánchez-Muniz FJ, (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 20, 585–598.
- John deMan M, (1999). *Principles of Food Chemistry*. Third Edition. A. Chapman & Hall Food Science Book, AN ASPEN Publication.
- Jones G, Trafford DJH, Makin HLJ, (1992) *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*. Chromatographic Science series (2<sup>nd</sup> ed.). edited by André P. De Leenheer, Willy E. Lambert and Hans J. Nelis, Vol 60.
- Jones PJ, (2002). Clinical Nutrition: 7. Functional foods — More Than Just Nutrition. *Canadian Medical Association Journal*, 166(12), 1555-1563.
- Knapp, DR, (1979). *Handbook of Analytical Derivatization Reaction*; 10; Wiley & Sons; New York, 1979.
- Kamal-Eldin A, Andersson RJ, (1997). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74, 375.

- 
- Kazakevich Y, Lobrutto R, (2007). *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. pp: 1107. Wiley Inc, New Jersey.
- Kolb N, Vallorani L, Milanovic N, Stocchi V, (2004). Evaluation of marine algae wakame (*Undaria pinnatifida*) and kombu (*Laminaria digitata japonica*) as food supplements. *Food Technology and Biotechnology*, 42(1), 57–61.
- Krippahl L, (1999). *Determinação da Estrutura de Proteínas através de Programação por Restrições*. Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em Inteligência Artificial Aplicada. Lisboa.
- Lahaye M, (1991). Marine algae as sources of fibres: determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some 'sea vegetables'. *Journal of Science and Food Agricultural*, 54, 587-594.
- Lahaye MD, Jegou, (1993). Chemical and physical-chemical characteristics of dietary fibres from *Ulva lactuca* (L.) Thuret and *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. *Journal of Applied Phycology*, 5, 195-200.
- Lajolo FM, Tirapegui J, (1998). *Proteínas e aminoácidos*. In: OLIVEIRA, J.E.D. de. Ciências Nutricionais. cap. 3, p.41-65. São Paulo: Sarvier.
- Lambert WE e De Leenheer AP, (1992). *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*. Chromatographic Science series (2<sup>nd</sup> ed.). edited by André P. De Leenheer, Willy E. Lambert and Hans J. Nelis, Vol 60.
- Lang JK, Schillaci M, Irvin B, (1992). *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*. Chromatographic Science series (2<sup>nd</sup> ed.). edited by André P. De Leenheer, Willy E. Lambert and Hans J. Nelis, Vol 60.
- Lee REC, (1999). *Phycology*. United Kingdom. Cambridge University Press.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, (1995). *Principles of Biochemistry* (2<sup>nd</sup> ed.). Worth Publishers: New York.
- Lobban CS, Harrison PJ, Duncan MJ, (1985). *The Physiological Ecology of Seaweeds*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Logan AC, (2004). Omega-3 Fatty Acids and Major Depression: A Primer for the Mental Health Professional. *Lipids Health Disease*, 3, 25.

- 
- Lordan S, Ross RP, Stanton C, (2011), Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Marine Drugs*, 9, 1056-1100; doi:10.3390/md9061056.
- Lunn J, Theobald H, (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutrition Bulletin*, 31, 178–224.
- Mabeau S, Cavallo E, Fleurence I, Lahaye M, (1992). *International Food Ingredients*, 3, 38-45.
- Mabeau S, Fleurence J, (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology* 4, 103–107.
- MacArtain P, Gill CIR, Brooks M, Campbell R, Rowland IR, (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition Reviews*, 65, 535-543.
- Madhusudan C, Manoj S, Rhaul K, Rishi C, (2011). Seaweeds: A Diet with nutritional, medicinal and industrial value. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5, 153-7.
- Mahan LK, Arlin MT, (1995). Krause: *Alimentos Nutrição e Dietoterapia*. (8ª ed.). São Paulo: Roca, 38-40.
- Mahan LK, Escott-Stump S, (1998). *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. (9ª ed.). Editora roca, Lda.
- Marsham S, Scott GW, Tobin ML, (2007). Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds. *Food Chemistry*, 100, 1331–1336.
- Martinho CAC, (2011). *Estudo sobre o conhecimento da população portuguesa acerca de fibras alimentares*. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar. Instituto politécnico de Viseu. Escola superior agrária de Viseu.
- Masuchi MH, Celeghini RMS, Gonçalves LAG, Grimaldi R, (2008). *Química Nova*, 31, 1057.
- Matanjun P, Mohamed S, Mustapha NM, Muhammad K, (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Euclima cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*, 21, 75-80.
- Matos LL, Martins IS, (2000). Consumo de fibras alimentares em população adulta. *Revisão Saúde Pública*, 34 (1), 50-55.
- McCance RA, Widdowson EM, Holland B, (1993). McCance and Widdowson's *Composition of Foods*. (6<sup>th</sup> ed.). Cambridge, Royal Society of Chemistry.

- 
- McDermid KJ, Stuercke B, Balazs GH, (2007). Nutritional composition of marine plants in the diet of the green sea turtle (*Chelonia mydas*) in the Hawaiian Islands. *Bulletin of Marine Science*, 81(1), 55–71.
- McClanahan TR, Cokos B, Sala E, (2002). Algal growth and species composition under experimental control of herbivory, phosphorus and coral abundance in Glovers Reef, Belize. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 441-451.
- Morales de Leon J, Babinsky V, Bourges RH, Camacho PM, (2000). *Tablas de composicion de alimentos mexicanos*. Instituto Nacional de Ciências Medicas y Nutricion Salvador Zubairan, México.
- Morgan KC, Wright JLC, Simpson FJ, (1980). Review of chemical constituents of the red alga *Palmaria palmata* (Dulse). *Economic Botany*, 34, 27-50.
- Morton B, Britton JC, Martins AMF, (1998). *Coastal Ecology of the Azores*, Sociedade Afonso Chaves, Ponta Delgada.
- Munda IM, (1977). Differences in amino acid composition of estuarine and marine fucoids. *Aquatic Botany*, 3, 273–280.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, (1998). Harper: *Bioquímica* (8<sup>th</sup> ed.). Atheneu Ed. Ltda.: São Paulo.
- Nelson MM, Leighton DL, Phleger CF, Nichols PD, (2002a). Comparison of growth and lipid composition in the green abalone, *Haliotis fulgens*, provided specific macroalgal diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 131, 695-712.
- Nelson MM, Phleger CF, Nichols PD, (2002b). Seasonal lipid composition in macroalgae of the Northeastern Pacific Ocean. *Botanica Marina* 45, 58-65.
- Nestlé, (2000). *Fibras em Nutrição Enteral*. Tópicos em Nutrição Clínica. Nestlé Nutrition Services.
- Neto AI, (1994). Checklist of the benthic marine macroalgae of the Azores. *Arquipélago*, Life and Marine Sciences 12A, 15-34.
- Neto AI, (2000a). Observations on the Biology and Ecology of Selected Macroalgae from the Littoral of São Miguel (Azores). *Botanica Marina*, 43, 483-498.
- Neto AI, (2000b). Ecology and dynamics of two intertidal algal communities on the littoral of the island of São Miguel (Azores). *Hydrobiologia*, 432, 135-147.
- Neto AI, Tittley I, Raposeiro PM, (2005). *Flora Marinha do Litoral dos Açores*. Secretaria Regional do Ambiente e do Mar, p 157.

- 
- Neto AI, Brotas V, Azevedo JMN, Patarra RF, Álvaro NV, Gameiro C, Prestes AC, Xavier ERN, (2009) - *Qualidade de águas costeiras do Grupo Oriental do arquipélago dos Açores e proposta de monitorização*. Universidade dos Açores, Ponta Delgada, Azores, Portugal. 70p.,
- Nogueira ARA, Souza GB (2005). *Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 313p.
- Orduña-Rojas J, Robledo D, Dawes CJ, (2002). Studies on the Tropical Agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, *Gracilariales*) from Yucatán, Mexico. I. Seasonal Physiological and Biochemical Responses. *Botanica Marina*, 45, 453-458.
- Ortega-Calvo JJ, Mazuelos C, Hermosin B, Saiz-Jimenez C, (1993). Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. *Journal of Applied Phycology*, 5, 425-435.
- Ortiz J, Romero N, Robert P, Araya J, López-Hernández J, Bozzo C, Navarrete E, Osorio A, Rios A, (2005). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea*. *Antarctica*. 7pp.
- Ortiz J, Uquiche E, Robert P, Romero N, Quitral V, Llantén C, (2009). Functional and nutritional value of the Chilean seaweeds *Codium fragile*, *Gracilaria chilensis* and *Macrocystis pyrifera*. *European Journal of Lipid Science Technology*, 111, 320-327.
- Paiva LS, Patarra RF, Neto AI, Lima EMC, Baptista JAB, (2012). Antioxidant activity of macroalgae from the Azores. *Arquipélago. Life and Marine Sciences*, 29, 1-6.
- Paixão JA, (1998). Bol. Soc. Bras. Ciência Tecnol. Alimentos, 32, 48.
- Paixão JA, Campos JM, (2003). Determination of Fat Soluble Vitamins by Reversed-Phase HPLC Coupled with UV Detection: A Guide to the Explanation of Intrinsic Variability. *Journal of Liquid Chromatography*, 26, 641.
- Panfili G, Fratianni A, Irano M, (2003). Normal Phase High-Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3940–3944.
- Patarra RF, Paiva L, Neto AI, Lima E, Baptista J, (2011). Nutritional value of selected macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, 23(2), 205-208.

- 
- Pereira L, (2011). A review of the nutrient composition of selected edible seaweeds. *Nova Science Publishers, Inc.* ISBN 978-1-61470-878-0.
- Plaza M, Cifuentes A, Ibáñez E, (2008). In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends Food Science and Technology*, 19, 31-39.
- Prosky L, (2000). When is dietary fiber considered a functional food? *BioFactors* 12: 289-297.
- Ramos et al., (1998). Protein content and amino acid composition in some Brazilian marine algae species. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 4, 165.
- Rasmussen RS, Morrissey MT, (2007). Marine biotechnology for production of food ingredients. *Advances in Food and Nutrition Research*, 52, 237-292.
- Reitan KI, Rainuzzo JR, Oie G, Olsen Y, (1997). A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. *Aquaculture*, 155, 207-221.
- Renaud SM, Luong-Van JT, (2006). Seasonal variation in the chemical composition of tropical Australian marine macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, 18, 381-387.
- Roeck-Holtzhauer Y, Quere I, Claire C, (1991). Vitamin analysis of five planktonic microalgae and one macroalga. *Journal of Applied Phycology*, 3, 259-264.
- Rosemberg G, Ramus J, (1982). Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria follifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): soluble nitrogen and reserve carbohydrates. *Marine Biology*, 66, 251-259.
- Rupérez FJ, Martín D, Herrera E, Barbas C, (2001). Chromatographic analysis of  $\alpha$ -tocopherol and related compounds in various matrices. *Journal of Chromatography A*, 935, 45-69.
- Ruperez P, (2002). Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chemistry*, 79, 23-36.
- Salman AKD, Ferreira ACD, Soares JPG, Souza JP, (2010). *Metodologias para avaliação de alimentos para ruminantes domésticos*. (1ª ed.), Embrapa Documentos 136, ISSN 0103-9865.
- Sampaio AS, (1904). *Memória sobre a Ilha Terceira*. Imprensa Municipal, Angra do Heroísmo, p 876.

- 
- Sánchez-Machado DI, López-Hernández J, Paseiro-Losada P, (2002). High-performance liquid chromatographic determination of  $\alpha$ -tocopherol in macroalgae. *Journal of Chromatography A*, 976, 277-284.
- Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, López-Hernández J, Paseiro-Losada P, (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85(3), 439-444.
- Sanders TAB, (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (suppl), 176-178.
- Santos-Silva J, Bessa R, Silva F, (2002). Effects of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 77, 187-194.
- Schmidt OC, (1931). Die marine vegetation der Azoren in Ihren Grundzügen Dargestellt. *Bibl Bot* 24, 1-116.
- Secção de Geografia, (2005). *Relatório do Estado do Ordenamento do Território. II-Enquadramento geográfico* [http://www.azores.gov.pt/NR/rdonlyres/3A3C43F9-ED41-4A6D-8BAA-CE0F8A50EAD0/105469/2\\_Enquadramento.pdf](http://www.azores.gov.pt/NR/rdonlyres/3A3C43F9-ED41-4A6D-8BAA-CE0F8A50EAD0/105469/2_Enquadramento.pdf).
- Sen CK, Khanna S, Roy S, (2006). Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Science*, 78, 2088-2096.
- Servel M-O, Claire C, Derrien A, Coiffard L, De Roeck-Holtzhauer DY, (1994). Fatty acid composition of some marine microalgae. *Phytochemistry*, 36 (3), 691-693.
- Seubert M (1844) *Flora Azorica quam ex collectionibus schedisque Hochstetteri patris et filii elaboravit*. Bonnae, Adolphum Marcum, p 50.
- Sgarbieri VC, (1987). *Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento*. Editora da UNICAMP. Campinas, Brasil.
- Silva DJ, (1990). *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. (2ª ed.). Viçosa: UFV, 1990. 165p.
- Silva DJ, Queiroz AC, (2009). *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. (3ª ed.). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 235 p.
- Simopoulos AP, (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 56, 365-379.

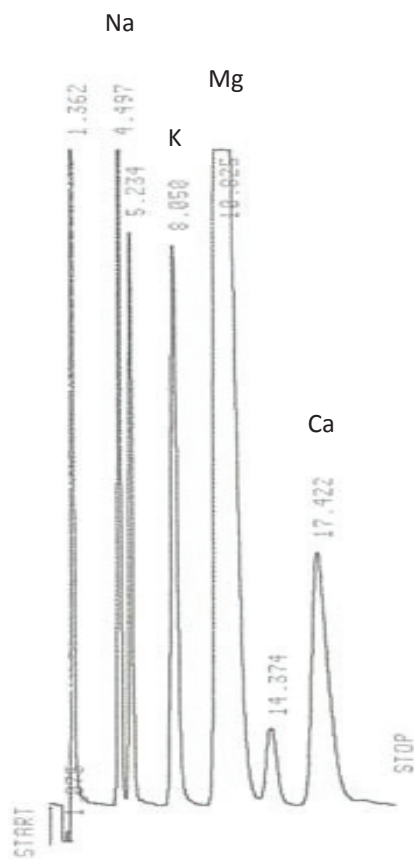
- 
- Sinn N, Bryan J, (2007). Effect of Supplementation with Polyunsaturated Fatty Acids and Micronutrients on Learning and Behavior Problems Associated with Child ADHD. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 28(2), 82-91.
- Slavin JL, (2008). Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal of the American Dietetic Association*. 108, 1716-1731.
- Smith WL, (1989). The Eicosanoids and Their Biochemical Mechanisms of Action. *Biochemical Journal*, 259(2), 315-324.
- Smit AJ, (2004). Medicinal and Pharmaceutical uses of seaweeds natural products: a review. *Journal of Applied Phycology*, 16, 245-262.
- Southgate DAT, (1990). Dietary fiber and health. pp.10-19. In D.A.T. Southgate, K.Waldron, I.T. Johnsons, and G. R. Fenwick. *Dietary Fiber: Chemical and Biological Aspects*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Stryer L, (1988). *Biochemistry*, (3<sup>rd</sup> ed.). International Student Edition. New York.
- Stryer L, (1995). *Biochemistry*. Freeman and Company, (4<sup>th</sup> ed.). New York.
- Sommer A, West KJr, (1996). *Vitamin A Deficiency, Health, Survival, and Vision*. Oxford University Press, Inc. New York. pp 6-7.
- Suzuki T, Ohsugi Y, Yoshie Y, Shiroy T, Hirano T, (1996). Dietary fibre content, water holding capacity and binding capacity of seaweeds. *Fisheries Science*, 62, 454-461.
- Taboada C, Millan R, Míguez I, (2010). Composition, nutritional aspects and effect on serum parameters of marine algae *Ulva rigida*. *Journal of Science Food and Agricultural*, 90, 445-449.
- Tiemeier H, van Tuijl HR, Hofman A, Kiliaan AJ, Breteler MM, (2003). Plasma Fatty Acid Composition and Depression are Associated in the Elderly: the Rotterdam Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(1), 40-46.
- Traber MG, (2001). Vitamin E: Too Much or Not Enough? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 997-998.
- Turner C, Pearson M, Mathiasson L, Adlercreutz P, King JW, (2001). *Enzyme and Microbial Technology*, 29, 111.
- Van Den Hoek C, Mann DG, Jahns HM, (1995). *Algae. An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- 
- Van Soest PJ, Robertson JB, (1979). *Systems of analysis evaluating fibrous feeds*. Cornell university- Ithaca, New York.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Vanek C, Connor WE, (2007). Do n-3 Fatty Acids Prevent Osteoporosis? *American Journal of Clinical Nutrition*, 85(3), 647-648.
- Voet D, Voet JG, (1995). *Biochemistry* (2<sup>nd</sup> ed.). John Wiley & Sons: New York.
- Vogel AI, (1992). *Análise Química Quantitativa*. Tradução: Horácio Macedo. (5<sup>th</sup> ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 712p.
- Voragen AGJ, (1998). Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends in Food Science & Technology*. 9, 328-335.
- Wen ZY, Chen F, (2003). Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnology Advances*, Waterloo, 21, 273-294.
- Wong KH, Cheung PCK, (2000). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds part I—proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. *Food Chemistry*, 71, 475–482.
- Yasuhara T, Nokihara K, (2001). High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49, 4581-4583.
- Zurier B, (1991). Essential Fatty Acids and Inflammation. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 50(11), 745-746.

# **ANEXOS**



**ANEXO 2** – Cromatograma representativo dos minerais da alga *Ulva rigida*, obtido por cromatografia iónica (HPLC).



**ANEXO 3** – Cromatograma representativo das vitaminas lipossolúveis da alga *Fucus spiralis*, obtido por cromatografia de RP-HPLC.

