



PESQUISA DE ÁCIDOS GORDOS EM MACROALGAS MARINHAS DO LITORAL DOS AÇORES

Ana Rita Ferreira Patarra

Dissertação de Mestrado em Ciências do Mar – Recursos Marinhos,
especialidade em Biologia Marinha

2008

Ana Rita Ferreira Patarra

PESQUISA DE ÁCIDOS GORDOS EM MACROALGAS MARINHAS DO LITORAL DOS AÇORES

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Ciências do Mar - Recursos Marinhos, especialidade em Biologia Marinha submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto.

Orientador - Professora Doutora Ana Isabel de Melo Azevedo Neto

Categoria - Professora auxiliar com agregação

Afiliação - Departamento de Biologia, Universidade dos Açores

Co-orientador - Professor Doutor José António Bettencourt Baptista

Categoria - Membro honorário do Departamento de Ciências Tecnológicas e Desenvolvimento

Afiliação - Departamento de Ciências Tecnológicas e Desenvolvimento, Universidade dos Açores

Como citar este trabalho:

Patarra, R.F. (2008) *Pesquisa de Ácidos Gordos em Macroalgas Marinhas do litoral dos Açores*. Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Mar - Recursos Marinhos, especialidade em Biologia Marinha. Porto.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração de diversas pessoas:

Uma palavra muito especial de agradecimento é devida à Professora Doutora Ana Neto que desde o primeiro momento, se disponibilizou para a preparação do projecto de tese e para me integrar na sua equipa de investigação. Agradeço a sua orientação e rigor científico, bem como o apoio, amizade, disponibilidade e paciência que sempre demonstrou. Obrigada, por sempre ter exigido o máximo de mim, pois assim fez parte activa da mudança que se procedeu em mim, do ponto de vista profissional bem como pessoal.

Quero agradecer ao Professor Doutor José Baptista a ideia original do estudo dos ácidos gordos das macroalgas marinhas açorianas e por ter disponibilizado os meios técnicos e materiais para a realização de parte do programa prático da tese, nomeadamente a extracção dos lípidos totais. Agradeço também a sua orientação e rigor científico, bem como o seu apoio, disponibilidade e paciência que teve ao longo deste percurso.

Ao Professor Doutor João Carlos Nunes, que disponibilizou os meios técnicos, materiais e humanos do Instituto de Inovação Tecnológica dos Açores (INOVA), para a realização das análises de identificação dos ácidos gordos por cromatografia gasosa.

Ao Dr. João Pedro Leite pela colaboração, paciência e apoio dispensados, quer durante a realização das análises por cromatografia gasosa, quer pela disponibilidade que demonstrou para solucionar qualquer dúvida.

Ao Doutor Rui Pereira pelo apoio, rigor científico, simpatia e alegria que sempre demonstrou desde o primeiro contacto, aquando da minha chegada ao CIIMAR e na revisão final do relatório de tese.

À Professora Doutora Regina Cunha pelo apoio aquando da minha decisão de mudança de rumo de vida, quando escolhi iniciar este Mestrado. Obrigado por todo o apoio e amizade ao longo deste percurso de dois anos e na revisão final do relatório de tese.

Ao Gustavo Martins pela ajuda nas “lides estatísticas”, na procura de artigos (sempre pouco acessíveis) e na revisão final do relatório de tese.

Ao Grupo de Ficologia, pelo companheirismo e disponibilidade sempre demonstrados, em especial: à Catarina Santos pela ajuda na recolha e identificação das algas; ao David Rios, Eunice Nogueira, Nuno Álvaro e Pedro Raposeiro pela disponibilização das fotografias das algas; ao André Amaral, Emanuel Mendonça, Marlene Terra e Ruben Couto pela boa disposição e ao Francisco Wallenstein pela ajuda na procura de artigos, nas correcções de inglês e pelo apoio ao longo deste mestrado.

Aos meus colegas de mestrado um agradecimento especial! A todos muito obrigado por me ajudarem a encontrar sempre “o fio à meada”.

À minha “família dos Açores” (aos residentes e aos ex-residentes) que estiveram comigo em todos os momentos e que me ajudaram a tornar na pessoa que sou hoje! Sem vocês tinha desistido logo no primeiro mês... Lena, Aninhas, Stick e Vera, obrigada por me terem acolhido em vossas casas!

À minha família pelo apoio e amor incondicionais!

Aos meus pais pela possibilidade que me deram de fazer aquilo que mais gostava, mesmo achando que isto de estudar algas poderia ser um grande “risco”... Sem o vosso amor, carinho e amizade nada disto teria sido possível! Obrigada mana por estares sempre presente.

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1. Algas marinhas	1
1.1.1. Breve classificação das algas marinhas	1
1.1.2. Algas marinhas na alimentação humana	1
1.1.3. Composição nutricional das macroalgas marinhas	3
1.2. Ácidos gordos	4
1.2.1. Breve caracterização dos ácidos gordos	4
1.2.2. Nomenclatura	4
1.3. Ácidos gordos e a saúde	5
1.3.1. Índices nutricionais relacionados com a saúde humana	8
1.3.2. Ácidos gordos ómega-3 na prevenção e modulação de doenças	11
1.4. Ácidos gordos das macroalgas marinhas	14
1.4.1. Variação sazonal da composição química de macroalgas marinhas	16
1.5. Algas marinhas do arquipélago dos Açores	16
1.5.1. Breve caracterização do arquipélago dos Açores	16
1.5.2. Algas marinhas dos Açores	18
1.5.3. Alimentação e comercialização de macroalgas marinhas nos Açores	19
1.5.4. Variação sazonal de macroalgas marinhas na zona intertidal da ilha de São Miguel	20
2. Objectivos	22
3. Material e Métodos	23
3.1. Material	23
3.1.1. Matéria-prima	23
3.2. Métodos	23
3.2.1. Recolha, identificação e armazenamento das macroalgas	23
3.2.2. Homogeneização das macroalgas	23
3.2.3. Extracção de lípidos totais	23
3.2.4. Determinação do teor em ácidos gordos	26
3.2.5. Análise Estatística	27
4. Resultados	28
4.1. Determinação do teor de lípidos totais das macroalgas	28
4.2. Ácidos gordos das macroalgas	28
4.2.1. Ácidos gordos saturados (SFA)	32

4.2.2. Ácidos gordos monoinsaturados (MUFA)	33
4.2.3. Ácidos gordos polinsaturados (PUFA)	34
4.2.4. Ácidos gordos de configuração <i>trans</i> (TFA).....	36
4.2.5. Índices nutricionais para as algas em estudo	37
4.2.6. Avaliação da semelhança da composição em FAME das espécies estudadas dentro de cada grupo taxonómico (Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta)	37
5. Discussão	40
5.1. Teor de lípidos totais	40
5.2. Ácidos gordos	41
5.3. Índices nutricionais	43
5.4. Relação entre a composição em ácidos gordos e os grupos taxonómicos	44
6. Considerações Finais	46
7. Referências Bibliográficas	47
ANEXO A - Solução metanólica de hidróxido de potássio, 2 Molar.....	58
ANEXO B – Resultados da avaliação da semelhança da composição dos grupos (SFA, MUFA e PUFA) de ácidos gordos das espécies estudadas dentro de cada grupo taxonómico (Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta)	59
ANEXO C - Resultados da avaliação da semelhança da composição das famílias (n-3, n-6 e n-9) de ácidos gordos das espécies estudadas dentro de cada grupo taxonómico (Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta).....	62

RESUMO

A composição em lípidos e ácidos gordos das macroalgas marinhas tem sido largamente estudada por diversos autores, evidenciando o seu conteúdo em ácidos gordos polinsaturados (PUFA's). Estes são essenciais para a nutrição de muitos animais, incluindo os seres humanos, tendo grande interesse para a indústria biotecnológica. Os ácidos gordos n-3 são importantes na prevenção e modulação de determinadas doenças comuns na civilização Ocidental, tais como, doenças coronárias e inflamatórias, desordens de origem auto-imune, depressão e doença de Alzheimer.

Neste trabalho, determinou-se o teor em lípidos totais e o perfil de ácidos gordos de oito espécies de macroalgas marinhas do litoral do Arquipélago do Açores, colectadas durante os meses de Janeiro e Fevereiro de 2007, pertencentes às divisões: Phaeophyta (*Cystoseira abies-marina* e *Fucus spiralis*), Chlorophyta (*Chaetomorpha pachynema* e *Codium elisabethae*) e Rhodophyta (*Porphyra* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Pterocladia capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius*). Os lípidos totais foram extraídos usando uma mistura de solventes semi-polares (clorofórmio e metanol, 2:1, v/v) e convertidos em ésteres metílicos, por esterificação, com solução metanólica de hidróxido de potássio. A separação realizou-se por cromatografia gasosa e a detecção por detector de ionização de chama. O teor em lípidos totais variou entre 3,54 e 0,06 g/100g. Identificou-se um total de vinte e seis ácidos gordos. Os ácidos gordos saturados, palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0) e monoinsaturado, oleico (C18:1 n-9), são os mais abundantes. Todas as algas são constituídas pelo ácido gordo polinsaturado linoleico (C18:2 n-6). Apenas foram identificados os ácidos α -linolénico (C18:3 n3) em *Porphyra* sp. (3,34 % $\pm$ 0,13) e o eicosapentanoico (20:5 n-3) em *C. pachynema* (0,47% $\pm$ 0,12). Os índices n-6/n-3 e h/H são baixos, conferindo às algas estudadas um elevado valor nutricional. A análise estatística revelou que os grupos taxonómicos e as espécies, dentro destes grupos, são diferentes, mas não foram observados padrões de ácidos gordos por grupo.

No Arquipélago dos Açores, o consumo de algas é generalizado e aceite como prática comum em algumas ilhas. Este trabalho visou acrescentar informação sobre as espécies consumidas localmente, ao nível da sua composição em lípidos e ácidos gordos, pretendendo fortalecer um produto regional que pode ser explorado do ponto de vista biotecnológico, comercial e que ao ser consumido, trará benefícios ao nível da Saúde Pública.

ABSTRACT

The lipid and fatty acids content of seaweeds have been studied widely, showing interesting results with polyunsaturated fatty acids (PUFA's). These fatty acids are essential components of the nutritional diet of animals, including humans, and are of increasing interest in biotechnology. The n-3 fatty acids are important in the prevention and modulation of certain diseases common in western civilization, such as coronary heart disease and inflammatory disorders of auto-immune origin, depression and Alzheimer's disease.

In this work, the content of total lipids and the fatty acids profile of eight seaweeds were determined. Seaweeds belonging to Phaeophyta (*Cystoseira abies-marina* and *Fucus spiralis*), Chlorophyta (*Chaetomorpha pachynema* and *Codium elisabethae*) and Rhodophyta (*Porphyra* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Pterocladia capillacea* and *Sphaerococcus coronopifolius*) were collected during the months of January and February of 2007, from the littoral of the Azores archipelago. Total lipids were extracted using a solvent mixture of methanol/chloroform and converted to fatty acid methyl esters (FAME) by transesterification, with a methanolic solution of potassium hydroxide. The analyses of FAME extracts were done via gas chromatography and flame ionization detector. The total lipid content ranged from 3.54 to 0.06 (g/100g). The most abundant saturated acids were palmitic (C16:0) and myristic (C14:0), whilst Oleic (C18:1 n-9) was the dominant monounsaturated acid. All seaweeds had the polyunsaturated fatty acid linoleic (C18:2 n-6). α -linolenic acid (C18: 3 n3) and eicosapentanoic (20:5 n-3) were present only in *Porphyra* sp. (3,34 % $\pm$ 0,13) and *C. pachynema* (0,47% $\pm$ 0,12), respectively. The n-6/n-3 and h/H ratios were low, suggesting a high nutritional value of the algae studied. No patterns of fatty acids per group were observed although statistical analysis showed that the taxonomic groups and the species within these groups were different.

In the archipelago of the Azores, the consumption of seaweed is widespread and accepted as a common practice in some islands. This work aimed to provide additional information on the lipid and fatty acid content of locally consumed species, to promote a regional product that potentially can be profitable from the biotechnology and commercial perspective, and also bring benefits to Public Health in general.

RÉSUMÉ

La composition en lipides et acides gras des macroalgues marines a été largement étudié par plusieurs auteurs, mettant en évidence un contenu en acides gras polyinsaturés (PUFA's) très intéressant. Ils sont essentiels dans l'alimentation de plusieurs animaux, humains inclus, ayant un grand intérêt pour l'industrie biotechnologique. Les acides gras n-3 sont importants pour la prévention et modulation de certaines maladies communes dans la civilisation Occidentale, comme les maladies artérielles et inflammatoires, les désordres d'origine auto-immune, la dépression et l'Alzheimer.

Dans ce travail on a déterminé le contenu total en lipides et le profil d'acides gras de huit espèces de macroalgues marines de la côte de l'Archipel des Açores, cueillies pendant les mois de Janvier et Février de 2007, appartenant aux divisions Phaeophyta (*Cystoseira abies-marina* et *Fucus spiralis*), Chlorophyta (*Chaetomorpha pachynema* et *Codium elisabethae*) et Rhodophyta (*Porphyra* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Pterocliadiella capillacea* et *Sphaerococcus coronopifolius*). Les lipides totaux ont été extraits en utilisant un mélange de solvants non-polaires (chloroforme et méthanol) et convertis en éthers méthyliques, par estherification, avec solution méthanoïque d'hydroxyde de potassium. La séparation s'est réalisée par chromatographie gazeuse et détection par détecteur d'ionisation de flamme. Le contenu en lipides totaux a varié entre 3,54 et 0,06 g/100g. Un total de vingt-six acides gras a été identifié. Les acides gras saturés, palmitique (C16:0) et miristique (C14:0) et monoinsaturé, oléique (C18:1 n-9), sont les plus abondants. Toutes les algues contiennent de l'acide gras polyinsaturé linoléique (C18:2 n-6). Les acides α -linoléique (C18:3 n3) et eicosapentanoïque (20:5 n-3) n'ont pas été identifiés qu'en *Porphyra* sp. (3,34 % $\pm$ 0,13) et *C. pachynema* (0,47% $\pm$ 0,12) respectivement. Les indices n-6/n-3 et h/H sont bas, ce qui confère aux algues étudiées une grande valeur nutritionnelle. L'analyse statistique a démontré que les groupes taxonomiques et les espèces, dans ces groupes, sont différents, mais des patrons d'acides gras par groupe n'ont pas été observés.

Dans l'Archipel des Açores, la consommation d'algues est généralisée et tenue comme pratique commune sur certaines îles. Ce travail a cherché d'apporter de nouvelles informations sur les espèces consommées localement, au niveau de sa composition en lipides et acides gras, voulant renforcer un produit régional qui peut être exploré du point de vue biotechnologique, commercial et que, étant consommé, sera bénéfique au niveau de la Santé Publique.

ABREVIATURAS

AA – Ácido Araquidónico
BHT - Butilhidroxitolueno
CAD – Doença Coronária
DHA – Ácido Docosaheptanóico
DPA – Ácido Docosapentanóico
EFA – Ácido Gordo Essencial
EPA – Ácidos Eicosapentanóico
FAME – Ésteres Metílicos de Ácidos Gordos
tFAME – Ésteres Metílicos de Ácidos Gordos totais
GC - Cromatografia Gasosa
H - Ácidos Gordos Hipercolesterolémicos
h - Ácidos Gordos Hipocolesterolémicos
LA - Ácido Linoleico
LCPUFA - Ácido Gordo Polinsaturado de Cadeia Longa
MUFA - Ácido Gordo Monoinsaturado
n-3 – Ómega 3
n-6 - Ómega 6
n-9 - Ómega 9
PUFA - Ácido Gordo Polinsaturado
SFA – Ácido Gordo Saturado
TFA - Ácido Gordo Trans
 α - Alfa
 α -ALA - Ácido Alfa-Linolénico
 β - Beta
 ω -3 - Ómega 3
 ω -6 - Ómega 6
 ω -9 - Ómega 9

1. INTRODUÇÃO

1.1. Algas marinhas

1.1.1. Breve classificação das algas marinhas

A ficologia ou algologia é o estudo das algas. A palavra ficologia provém do grego *phycos* que significa alga marinha (Lee, 1995). As algas são um grupo diverso de plantas fotossintéticas que não possuem raízes, folhas e tecidos vasculares (van Den Hoek *et al.*, 1999). Funcionam como produtores primários na maior parte dos habitats, produzindo material orgânico a partir da luz solar, dióxido de carbono e água (Lee, 1995).

O termo algas marinhas tradicionalmente inclui algas do meio marinho, macroscópicas e multicelulares, vermelhas, verdes e castanhas. Contudo, cada um destes grupos também possui representantes microscópicos. Todas as algas são unicelulares em alguma fase do seu ciclo de vida, podendo ser temporariamente planctónicas (Lee, 1995).

As algas marinhas são classificadas em quatro reinos (Cavalier-Smith, 1998, 2004; Guiry, 2006): Bacteria, Protozoa, Plantae e Chromista e 11 divisões (van Den Hoek *et al.*, 1999): Cyanophyta (cianobactérias) e Prochlorophyta nos procariotas; Rhodophyta (algas vermelhas), Chlorophyta (algas verdes), Euglenophyta, Dynophyta, Cryptophyta, Heterokontophyta (algas castanhas), Haptophyta e Chloroarchaeophyta nos eucariotas. As algas marinhas que crescem naturalmente são denominadas de algas marinhas selvagens, em contraste com as algas marinhas que são cultivadas (McHugh, 2003).

1.1.2. Algas marinhas na alimentação humana

O uso de algas na alimentação humana é conhecido desde o século IV, no Japão e século VI na China. Contudo, apenas a partir de 1930 (séc. XX) foram comercializados os primeiros extractos de algas castanhas, contendo alginatos, vendidos como agentes espessantes e gelificantes (McHugh, 2003).

Nos últimos 50 anos houve um aumento da procura de algas e os stocks naturais deixaram de conseguir corresponder a esta exigência. A investigação sobre o ciclo de vida destes organismos permitiu o desenvolvimento de indústrias de cultivo (Figura 1) que, actualmente, produzem cerca de 90 % do exigido pelo mercado (McHugh, 2003). O agar, os

alginatos e os carraginatados, agentes espessantes e gelificantes extraídos de macroalgas marinhas, são a base do uso industrial de algas (McHugh, 2003).



Figura 1. Exemplo de uma rede de cultivo usada na produção de *Porphyra* (McHugh, 2003).

Actualmente, o Japão, a China e a República da Coreia, são os maiores consumidores de algas e esta exigência é a base de uma indústria que anualmente recolhe e produz cerca de 12.5 milhões de toneladas (peso fresco), que valem 6.2 biliões de dólares americanos (FAO, 2007). No Quadro 1, encontram-se esquematizados os principais países produtores (onde Portugal também se inclui) e transformadores de macroalgas marinhas.

	Principais géneros	Principais Países Produtores	Principais Países Transformadores
<i>Ficocolóides</i>			
Agar	<i>Gelidium</i> , <i>Gracilaria</i> , <i>Gelidiella</i> (algas vermelhas)	República da Coreia, Chile, Espanha, Marrocos, Portugal	Japão, República da Coreia, Marrocos, Portugal, Filipinas
Alginatos	<i>Sargassum</i> , <i>Laminaria</i> , <i>Undaria</i> , <i>Macrocystis</i> , <i>Ecklonia</i> (algas castanhas)	USA, Noruega, México, Irlanda, UK, China	UK, USA, Noruega, Japão, França
Carragenatos	<i>E. spinosum</i> , <i>E. cottonii</i> , <i>Gigartina</i> , <i>Chondrus</i> , <i>Hypnea</i>	Filipinas, Canada, Chile, Dinamarca, Espanha	USA, Dinamarca, França, Filipinas
<i>Consumo humano directo</i>			
	<i>Porphyra</i> , <i>Laminaria</i> , <i>Undaria</i> , <i>Hizikia</i>	Japão, República da Coreia, China	Japão, República da Coreia, China
<i>Racções de Aminais</i>			
	<i>Ascophyllum</i> , <i>Sargassum</i> (alga castanha)	Noruega, Irlanda	Noruega, Irlanda
<i>Fertilizantes</i>			
	<i>Macrocystis</i> , <i>Ascophyllum</i>	França, UK	França, UK

Quadro 1. Principais algas produzidas e principais países produtores (*in* Richards – Rajadurai, 1990).

1.1.3. Composição nutricional das macroalgas marinhas

As macroalgas marinhas exibem propriedades nutricionais importantes (Burtin, 2003). No Quadro 2 estão esquematizados os principais constituintes nutricionais das macroalgas marinhas.

Polissacáridos e Fibras Dietéticas	• Grande quantidade de polissacaridos, especialmente os presentes nas paredes celulares. São extraídos pela indústria de hidrocolóides: alginato de algas castanhas, carreginatos e agar de algas vermelhas. • Contêm também polissacaridos de armazenamento, como: a laminarina nas algas castanhas e amido florídeo nas algas vermelhas. • Maior parte destes polissacáridos não são digeridos pela flora intestinal bacteriana dos humanos e assim podem ser considerados como fibras dietéticas.
Minerais	• A fracção mineral de algumas algas corresponde a 36% do peso seco total. • As algas castanhas são conhecidas como uma fonte rica em iodo. As <i>Laminaria</i> são a principal fonte e podem conter entre 1500 a 8000 ppm do peso seco total. • Importante fonte de cálcio. O conteúdo em cálcio pode chegar a 7% do peso seco total nas macroalgas).
Proteínas e aminoácidos	• O teor de proteínas das algas marinhas difere consoante a espécie. • O conteúdo em proteínas das algas castanhas é geralmente baixo (5-15% do peso seco), enquanto que as algas verdes e vermelhas apresentam os valores mais elevados (10-30 % do peso seco). • Os ácidos aspártico e glutâmico constituem a maior fracção de aminoácidos para a maior parte das algas marinhas.
Lípidos e Ácidos Gordos	• Os lípidos representam apenas entre 1 - 5 % do peso seco das algas, mas oferecem uma composição em ácidos gordos polinsaturados (PUFA's) muito interessante, nomeadamente em ácidos gordos ω-3 e ω-6. • As algas marinhas também contêm carotenóides (como o β-caroteno, luteína e violaxantina nas algas vermelhas, fucoxantina nas algas castanhas) e terpenóides.
Micronutrientes	Vitaminas: Fonte de vitamina do grupo B, vitamina C (os níveis médios variam entre 500 e 3000 mg/kg de peso seco nas algas verdes e castanhas, enquanto que as algas vermelhas contêm níveis compreendidos entre 100 e 800 mg/ kg) e vitamina E (as algas castanhas contêm os valores mais elevados, relativamente às algas verdes e vermelhas). Polifenóis: Os níveis mais elevados são encontrados nas algas castanhas, onde o florotanino pode variar entre 5 e 15 % do peso seco. Carotenóides: São antioxidants potentes. As algas castanhas são ricas em carotenóides, especialmente fucoxantina, β-caroteno e violaxantina; as algas vermelhas em β-caroteno, α-caroteno e os seus derivados dihidroxilados: zeaxantina e luteína; a composição de carotenóides das algas verdes é semelhante ao das plantas superiores: β-caroteno, luteína, violaxantina, anteraxantina, zeaxantina e neoxantina.

Quadro 2. Propriedades nutricionais das macroalgas marinhas (*in* Fleurance, 1999 e Burtin, 2003).

1.2. Ácidos gordos

1.2.1. Breve caracterização dos ácidos gordos

Os ácidos gordos são compostos constituídos por uma cadeia longa hidrocarbonada e por um grupo carboxilado terminal. São considerados “fuel molecules” e funcionam como “blocos de construção” na base dos fosfolípidos e dos glicolípidos, moléculas anfipáticas que são componentes importantes das membranas biológicas. Muitas proteínas são modificadas quando se ligam covalentemente a ácidos gordos, que as sinalizam para diversas localizações nas membranas. Os derivados de ácidos gordos servem como hormonas e como mensageiros intracelulares (Stryer, 1999).

1.2.2. Nomenclatura

O nome sistemático de um ácido gordo deriva do nome do seu parente hidrocarboneto, pela substituição do *o* final, por *oico*. Por exemplo, o ácido gordo saturado C₁₈ é denominado ácido octadecanóico pois o parente hidrocarboneto chama-se octadecano. Um ácido gordo com apenas uma ligação dupla é denominado ácido octadecenoico; com duas ligações duplas, octadecadienoico; e com três ligações duplas octadecatrienoico. O símbolo 18:0 representa um ácido gordo com nenhuma ligação dupla, assim como 18:2 significa que tem duas ligações duplas (Stryer, 1999). Os ácidos gordos são numerados começando a partir do grupo carboxilo terminal (Figura 2).

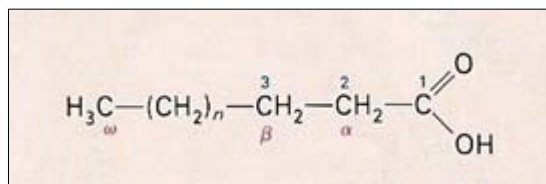


Figura 2. Numeração dos átomos de carbono de um ácido gordo, começando no átomo de carbono do grupo carboxilo (*in* Stryer, 1999).

Os átomos de carbono dois e três são normalmente denominados como alfa (α) e beta (β), respectivamente. O grupo metilo do carbono da ponta distal é chamado carbono ómega (ω). A posição da ligação dupla é representada pelo símbolo Δ seguido de um número sobrescrito. Por exemplo, *cis*-Δ⁹ significa que existe uma ligação dupla *cis* entre o carbono nove e dez. Alternativamente, a posição da ligação dupla pode ser marcada

contando a partir da ponta distal, sendo o átomo de carbono ω o número um (Stryer, 1999). Um ácido gordo ω -3, por exemplo, tem a estrutura apresentada na Figura 3.

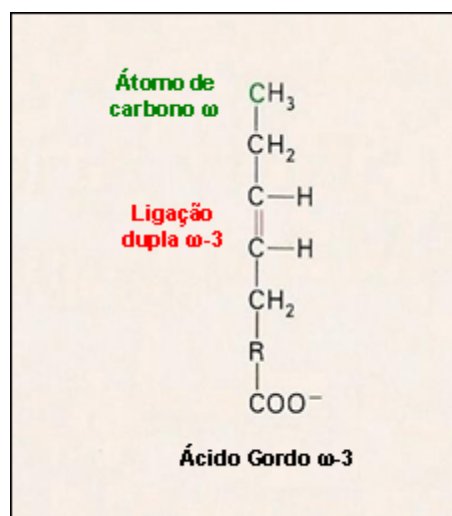


Figura 3. Estrutura de um ácido gordo ω -3 (*in* Stryer, 1999).

As famílias ω -6 e ω -3 abrangem ácidos gordos que apresentam insaturações separadas apenas por um grupo metileno, com a primeira insaturação no sexto e terceiro carbono, respectivamente, enumerado a partir do grupo metil terminal. A estrutura química de um ácido gordo é normalmente abreviada, apresentando o número de carbonos, o número de ligações duplas e a localização da primeira ligação dupla a partir do grupo metilo terminal. Por exemplo, ácido docosahexanóico (DHA) é representado como C22:6 ω -3, indicando que a cadeia tem 22 carbonos de comprimento com 6 duplas ligações, e que a primeira ligação dupla é no carbono 3 (SanGiovanni & Chew, 2005). Devido às diferenças fisiológicas entre as famílias ω -6 e ω -3 e à simplicidade da designação n , esta é também empregue quando se estudam aspectos nutricionais envolvendo os ácidos gordos (Martin *et al.*, 2006), por exemplo, DHA (C22:6 n -3).

1.3. Ácidos gordos e a saúde

Nas últimas duas décadas, a importância da presença dos ácidos gordos ómega-3 na dieta humana passou de especulação a uma forte evidência de que estes ácidos gordos não são apenas nutrientes essenciais, mas que também são favoráveis na modulação de diversas doenças (Connor, 2000).

Os ácidos linoleico (LA, C18:2 n-6) e α -linolénico (α -ALA, C18:3 n-3) e os seus derivados de cadeia longa são componentes importantes das membranas das células animais e vegetais. Estas duas classes de ácidos gordos essenciais (EFA's) não são interconvertíveis, são metabólica e funcionalmente distintas e muitas vezes têm funções fisiológicas distintas importantes. O balanço de EFA é importante para uma boa saúde e um desenvolvimento normal. Quando os seres humanos ingerem peixe ou óleos de peixe, os ácidos eicosapentanoico (EPA C20:5 n-3) e docosapentanoico (DHA, C22:6 n-3) provenientes da dieta, vão substituir parcialmente os ácidos gordos n-6, especialmente o ácido araquidónico (AA), provavelmente nas membranas de todas as células, mas especialmente nas membranas das plaquetas sanguíneas, eritrócitos, neutrófilos, monócitos, células do fígado (revisto em Simopoulos, 1994) e nas membranas das células da retina, no cérebro e nos espermatozóides, nos quais o ácido docosahexanoico (DHA) constitui 36,4% do conteúdo total de ácidos gordos. A fluidez da membrana é essencial para o funcionamento correcto desses tecidos (Connor, 2000). Considerando que as proteínas celulares estão geneticamente determinadas, a composição das membranas celulares em ácidos gordos polinsaturados (PUFA's) depende, em grande parte, da sua ingestão na dieta alimentar (Simopoulos, 2002).

O corpo humano não consegue converter o AA (n-6) a partir de um ácido gordo n-3, nem o DHA (n-3) a partir de um ácido gordo n-6. Nem tem a capacidade de produzir *de novo* os ácidos gordos α -ALA e LA, devido à ausência natural das enzimas desaturase Δ -15 e Δ -12 (Su *et al.*, 1999). Assim, a ingestão de ácidos gordos de outras famílias estruturais não compensa as deficiências na ingestão de ácidos gordos n-6 e n-3 através da dieta (Sauerwald *et al.*, 1997). Quando ocorre esta deficiência numa ou mais famílias de ácidos gordos, o corpo tenta compensá-la, produzindo ácidos gordos de outras famílias, com o mesmo comprimento e estrutura semelhante. Apesar de estas moléculas serem semelhantes no comprimento, não substituem as funções dos AA (n-6) e DHA (n-3), pois possuem estruturas diferentes. Consequentemente, estas moléculas de substituição não satisfazem as deficiências das famílias específicas de ácidos gordos (Jumpsen & Clandinin, 1995 *vide* Wroble *et al.* 2002; Su *et al.*, 1999). A ausência destes ácidos gordos na dieta pode levar ao mau funcionamento do corpo humano. Assim, a dieta deve conter uma quantidade apropriada dos ácidos gordos n-6 (LA) e n-3 (α -ALA), sendo estes ácidos gordos considerados essenciais (Wroble *et al.*, 2002 e Soccol & Oetterer, 2003).

Após serem obtidos através da dieta, os ácidos gordos essenciais, são desnaturados (pela inserção de duplas ligações) e alongados (pela adição de 2 carbonos) em LCPUFA's no fígado ou no retículo endoplasmático (ER) das células da retina (Su *et al.*, 1999 e Martin *et al.*, 2006). O ácido gordo α -ALA, que provém da dieta humana, é o precursor do EPA e do DHA. O ácido linoleico que provém da dieta é o precursor do AA. A conversão dos LCPUFA's de 24 para 22 carbonos requer a β -oxidação no peroxissoma. Na Figura 4 estão esquematizadas as vias metabólicas para as famílias n-3 e n-6. Uma vez que estas famílias competem pelas mesmas enzimas biosintéticas, o equilíbrio de lípidos e a sua composição irão afectar a produção e a inclusão nos tecidos destes nutrientes. Apesar de ser possível a biosíntese de LCPUFA's a partir de EFA's, a eficiência da sua inclusão nos tecidos é maior quando estes são ingeridos directamente através da alimentação (Su *et al.*, 1999).

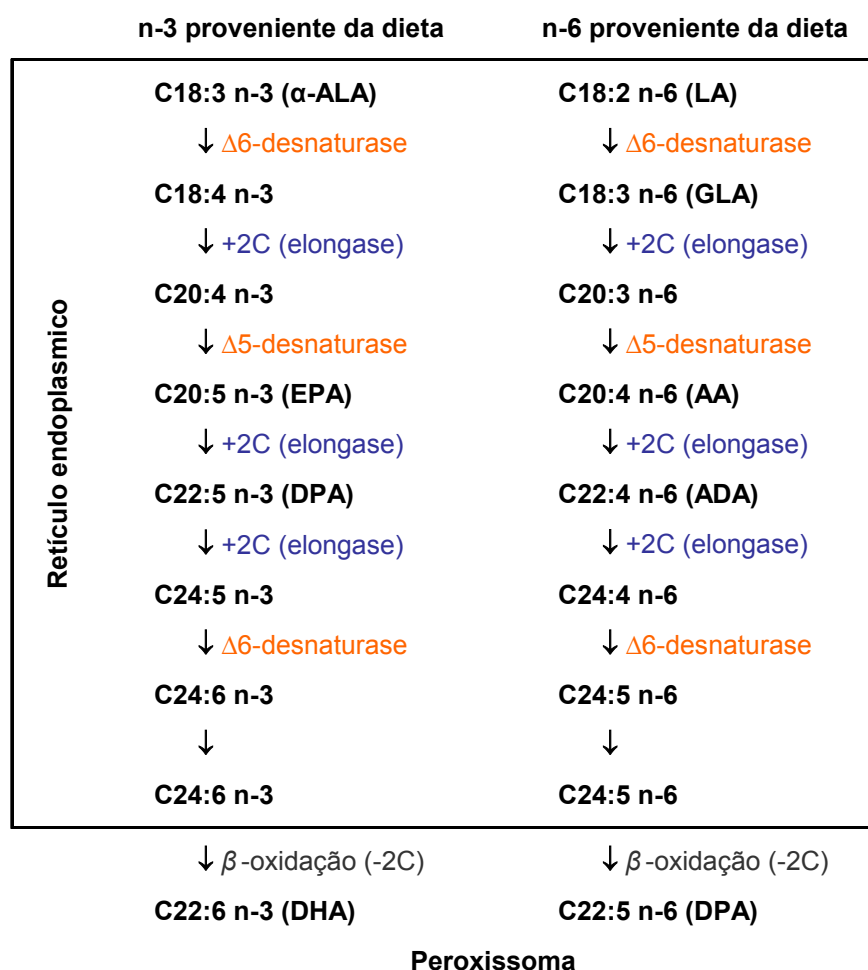


Figura 4 - Vias metabólicas para os ácidos gordos das famílias n-3 e n-6. As notações dos ácidos gordos representam o número total de carbonos, número de ligações duplas, posição da primeira ligação dupla relativamente ao grupo metil terminal da cadeia hidrocarbonada. α -ALA (ácido α -

linolénico), EPA (ácido eicosapentanóico), DHA (ácido docosahexanóico), LA (ácido linoleico), AA (ácido araquidónico), DPA (ácido docosapentanóico) (*in* SanGiovanni & Chew, 2005).

1.3.1. Índices nutricionais relacionados com a saúde humana

- Razão n-6/n-3

Os seres humanos evoluíram numa dieta em que a razão n-6/n-3 de ácidos gordos essenciais era de 1. Esta evidência surge a partir de estudos sobre aspectos da evolução da dieta. Estima-se que a razão n-6/n-3 na dieta das pessoas que viveram no período que antecedeu a industrialização, estava em torno de 1:1 a 2:1, devido ao consumo abundante de vegetais e de alimentos de origem marinha, contendo ácidos gordos n-3. Com a industrialização, ocorreu um aumento progressivo dessa razão, devido, principalmente, à produção de óleos refinados oriundos de espécies oleaginosas com alto teor de LA e à diminuição da ingestão de frutas e verduras, resultando em dietas com quantidades inadequadas de ácidos gordos n-3 (Figura 5). Estas práticas levaram ao consumo de quantidades excessivas de ácidos gordos n-6, perturbando o balanço característico que existiu durante a evolução, quando os nossos genes foram programados para responder a uma dieta e a outras condições do ambiente (Simopoulos 2002). O uso intensivo de cereais nos sistemas de produção de gado, resultou numa menor proporção de ácidos gordos n-3 na carne, quando comparada com a carne de origem em sistemas de produção tradicional. Globalmente, esta alteração, reflecte-se no decréscimo progressivo da concentração de DHA e no aumento de da concentração de LA no leite materno (Sanders, 2000).

Nas últimas décadas tem-se determinado, em diversos países, que a ingestão média de ácidos gordos resulta em relações n-6/n-3 que estão entre 10:1 a 20:1, ocorrendo registos de até 50:1 (Simopoulos 2002, 2004).

O AA (n-6) e o EPA (n-3) são compostos parentes para a produção de eicosanóides. Os eicosanóides provenientes do AA têm propriedades opostas dos provenientes do EPA. Um aumento da assimilação na dieta de ácidos gordos n-6 essenciais altera o estado fisiológico para um estado protombótico, proconstritivo e proinflamatório (Simopoulos 2002). Os ácidos gordos das famílias n-6 e n-3 competem pelas enzimas envolvidas nas reacções de desnaturação e alongamento da cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família n-3, a conversão do α -ALA em LCPUFA's é fortemente influenciada pelos níveis de LA na dieta (Martin *et al.*, 2006).

Devido ao aumento da quantidade de ácidos gordos n-6 nas dietas ocidentais, os produtos metabólicos eicosanóides provenientes do AA, especificamente as prostaglandinas, os tromboxanos, as leucotrininas, os ácidos gordos hidroxi- e as lipoxinas são formadas em grandes quantidades, do que aquelas que seriam, se fossem formadas a partir de ácidos gordos n-3, especialmente a partir do EPA. Os eicosanóides provenientes do AA são biologicamente activos em pequenas quantidades e, se forem formados em grandes quantidades, contribuem para a formação de trombos e placas de gordura, desordens alérgicas e inflamatórias, particularmente em pessoas susceptíveis. Assim, uma dieta rica em ácidos gordos n-6 altera o estado fisiológico normal para um estado fisiológico de características pró-tombóticas e pró-agregatórias, com o aumento da viscosidade do sangue, *vasospasm*, vasoconstrição e uma diminuição do tempo de hemorragias (Simopoulos 2002).

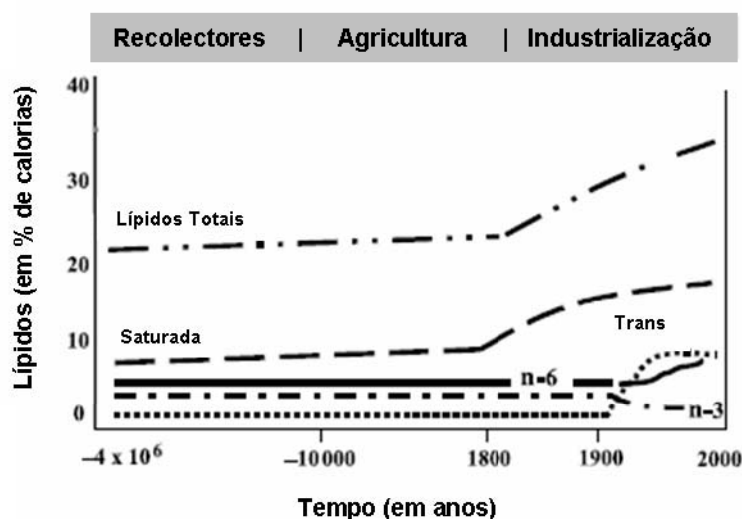


Figura 5. Esquema hipotético da evolução da ingestão de lípidos, ácidos gordos (n-6, n-3, *trans* e totais) e percentagem de calorías consumidas a partir dos lípidos (*in* Simopoulos, 2002).

A necessidade de diminuir a razão n-6/n-3 nas dietas modernas também tem sido sugerida pelos resultados de alguns estudos clínicos realizados na última década. Entre esses destacam-se: a diminuição de 70% na taxa de mortalidade em pacientes com doença cardiovascular, quando a razão LA/ α -ALA na dieta foi de 4:1; a redução nas inflamações decorrentes da artrite reumatóide, quando a razão n-6/n-3 da dieta esteve entre 3 a 4:1, condição que foi alcançada pela suplementação com EPA, DHA e α -ALA; a diminuição dos sintomas decorrentes da asma, quando a razão n-6/n-3 da dieta esteve ao redor de 5:1,

sendo que em 10:1 os sintomas foram intensificados (de Lorgeril *et al.* 1994; Broughton *et al.* 1997; James & Cleland 1997).

Estes estudos indicam que a razão óptima de n-6/n-3 pode variar de acordo com a doença em questão. Isto é consistente com o facto de que as doenças crónicas são multigénicas e multifactoriais. Assim, é bem possível que a dose terapêutica de ácidos gordos n-3 dependa do grau de severidade da doença que resulta da predisposição genética. Uma razão n-6/n-3 baixa é mais desejável na redução do risco de diversas doenças crónicas de grande prevalência nas sociedades ocidentais, e também nos países menos desenvolvidos (Simopoulos, 2002).

Uma dieta com uma razão equilibrada em n-6/n-3 diminui a quantidade de medicamentos a usar. É assim, essencial a diminuição da ingestão de ácidos gordos n-6 e o aumento de ácidos gordos n-3, na prevenção e na manutenção de doenças crónicas. Além do que, um equilíbrio entre ácidos gordos n-6 e n-3 determina grandemente o estado de saúde (Simopoulos 2002). Pelo exposto, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos gordos n-6 e n-3 assume grande importância na nutrição humana, resultando em várias recomendações (Quadro 3) que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde, em diferentes países (Martin *et al.*, 2006).

País ou Instituição	n-6/n-3	Referência
EUA	2:1- 3:1	Simopoulos <i>et al.</i> , 1999
NCM	5:01	NCM, 2004
FAO/WHO	5:1 – 10:1	FAO/WHO, 1994

Quadro 3. Valores recomendados para a razão entre os ácidos gordos n-6 e n-3 na dieta. NCM (Nordic Council of Ministers); WHO (World Health Organization) e FAO (Food and Agriculture Organization).

- Razão h/H

O valor nutricional dos lípidos tem sido, normalmente, avaliado através da razão entre os ácidos gordos polinsaturados e saturados (P/S) e pela razão entre ácidos gordos ómega-6 e ómega-3 (n-6/n-3). No entanto, a razão funcional entre os ácidos gordos hipocolesterolémicos (h) e hipercolesterolémicos (H) (h/H), parece ser uma aproximação melhor para a avaliação da gordura do que a razão P/S, uma vez que alguns ácidos gordos

não aumentam o colesterol plasmático, e considera também o efeito dos ácidos gordos monoinsaturados (Santos-Silva *et al.*, 2002). Segundo Santos-Silva *et al.* (2002) nos ácidos gordos hipocolesterolémicos incluem-se os ácidos C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9,12, C18:3 *cis*-9,12,15 e ácidos gordos polinsaturados das famílias n-3 e n-6. Nos ácidos gordos hipercolesterolémicos incluem-se os ácidos C12:0, C14:0 e C16:0.

A determinação da proporção h/H é importante, uma vez que os ácidos gordos hipocolesterolémicos diminuem o colesterol-LDL (lipoproteína de baixa densidade), também chamado de mau colesterol e os ácidos gordos hipercolesterolémicos aumentam-no (Leite *et al.*, 2007).

Os ácidos gordos de cadeia curta (C4:0-C8:0) não têm influência no nível de colesterol plasmático. Segundo Yu *et al.* (1995), os ácidos gordos saturados (especialmente o C12:0, C14:0 e C16:0) aumentam significativamente a concentração do colesterol total, do colesterol-LDL e do colesterol-HDL (lipoproteínas de alta densidade), também denominado colesterol bom. Estudos clínicos mostram que dietas ricas em ácidos gordos monoinsaturados (MUFA's) (e baixas em ácidos gordos saturados, SFA's) fazem diminuir o colesterol total no plasma e o colesterol-LDL, bem como dietas ricas em PUFA's ou baixas em lípidos (Grundy *et al.* 1988; Ginsberg *et al.*, 1990; Berry *et al.*, 1991). Os ácidos gordos saturados são considerados hipercolesterolémicos e os PUFA's baixam a concentração de colesterol no sangue. Os MUFA's podem ser neutros ou ter um efeito hipercolesterolémico médio (Kris-Etherton & Yu, 1997). Mais recentemente, tem aumentado o interesse sobre o efeito colesterolémico individual de cada ácido gordo na concentração do plasma total e das colesterol-lipoproteínas (Kris-Etherton & Yu, 1997).

1.3.2. Ácidos gordos ómega-3 na prevenção e modulação de doenças

Os PUFA's são essenciais na nutrição de diversos animais, tendo um papel muito importante na sobrevivência e no desenvolvimento de pequenos organismos marinhos durante as primeiras fases de crescimento (Reitan *et al.*, 1997; Nelson *et al.*, 2002a) e têm um grande interesse biotecnológico e na indústria dos cosméticos (Sernel *et al.*, 1994). Outra característica importante dos ácidos gordos n-3 é o seu papel na prevenção e modulação de determinadas doenças que são comuns na civilização Ocidental. Este papel é certo para algumas doenças, mas para outras é, ainda apenas, especulativo. A lista que se segue enumera uma série de doenças que podem ser prevenidas ou atenuadas com o consumo de n-3, em ordem decrescente de força da evidência actualmente disponível (Connor, 2000):

- Doença coronária e enfarte do miocárdio

Existem diversos estudos sobre os benefícios para a saúde do consumo de ácidos gordos n-3, estando associados à prevenção de doenças coronárias, doenças inflamatórias, como a artrite reumatóide e também ao controlo da hipertensão (Burtin, 2003; Sidhu, 2003). Estes ácidos gordos actuam na prevenção de doenças coronárias através de várias acções (Conner 1994 *fide* Connor 2000):

- prevenção de arritmias (taquicardia ventricular e fibrilação);
- são precursores das prostaglandinas e *leucotrieke*;
- têm propriedades anti inflamatórias;
- inibem a síntese de citocinas e *mitogens*;
- são antitrombóticos;
- inibem a aterosclerose.

O tipo de lípidos que são ingeridos está associado ao desenvolvimento da doença coronária (CAD). Efeitos possíveis de protecção/prevenção dos LCPUFA's n-3, que provém do peixe, têm tido um interesse particular. A ingestão elevada EPA (C20:5 n-3) e DHA, (22:6 n-3) está associada a uma redução substancial do risco de morte, enfarte do miocárdio e episódios relacionados com a CAD em pacientes com doença coronária efectiva/estabelecida (Bucher *et al.* 2002; Erkkilä *et al.* 2003 e Harper & Jacobson, 2005). Para além disto, estes benefícios podem ser obtidos através da ingestão de alimentos ricos em ácidos gordos n-3, como o peixe e óleos de peixe (ricos em EPA e DHA) e plantas (ricas em α -ALA) sem a utilização de suplementos nutricionais (Harper & Jacobson, 2003; 2005; revisto em Ignaro *et al.* 2007). Em resultado dos ensaios realizados e nas evidências epidemiológicas recentes sobre os ácidos gordos n-3, a Associação Americana do Coração publicou linhas de orientação sobre o consumo combinado de EPA e DHA, num total de 1g por dia. Contudo, muitos pacientes não gostam de peixe. Existem outras fontes ricas em α -ALA, que incluem canola e sementes de linho, que podem ser incorporadas facilmente na alimentação. Se os estudos clínicos demonstrarem que o α -ALA é tão efectivo como o EPA e o DHA, na redução de eventos cardiovasculares, as implicações na saúde pública podem ser significantes (Harper & Jacobson, 2005). Os dados existentes sobre o α -ALA de origem vegetal são muito promissores. Contudo existem ainda poucos estudos e são necessários mais trabalhos, antes que sejam feitas recomendações para a prevenção da doença coronária. Os resultados existentes mostram a possível redução de morte súbita e de

enfartes do miocárdio não fatais, sugerindo outros efeitos cardio-protectivos (Harper & Jacobson, 2005).

- Deficiência de EFA's na infância (desenvolvimento da retina e do cérebro)

O DHA (C22:6 n-3) tem uma função importante na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, sendo predominante na maioria das membranas celulares desses órgãos. Na retina, encontra-se ligado aos fosfolípidos que estão associados à rodopsina, uma proteína que interage no processo de absorção da luz. O seu mecanismo de acção está possivelmente relacionado com o aumento na eficiência do processo de transdução da luz e com a regeneração da rodopsina. A diminuição dos níveis desse ácido gordo nos tecidos da retina tem sido associada, em recém-nascidos, com anormalidades no desenvolvimento do sistema visual, e em adultos, com a diminuição da acuidade visual (Carlson, 1999; Gibson & Makrides, 2000; Wroble *et al.*, 2002; SanGiovanni & Chew, 2005).

- Desordens de origem auto-imune

De acordo com o conhecimento actual, a resposta imunitária, nos humanos e nos animais, pode ser influenciada por diversos nutrientes essenciais, que modificam as funções do sistema imunitário. Deste ponto de vista, os ácidos gordos ingeridos na dieta, podem ser capazes de modular o sistema imunitário através de diversos mecanismos onde se incluem a redução da proliferação dos linfócitos, redução da síntese de citoquinas, aumento da actividade fagocitária, entre outros. Esta modulação das funções do sistema imunitário pode ser produzida devido a alterações na membrana celular, devido à manipulação dos ácidos gordos através da dieta. Os ácidos gordos são incorporados na membrana plasmática após a administração de lípidos na dieta, de modo que a composição de lípidos nesta estrutura celular irá reflectir a composição dos lípidos ingeridos (Clamp *et al.* 1997). A imunomodulação induzida pela ingestão selectiva de ácidos gordos da família n-3 pode ser aplicada na melhoria de desordens inflamatórias, como as doenças auto-imunes (De Pablo & Cienfuegos, 2000).

- Depressão

Um estudo recente elaborado por Parker *et al.* (2006), mostra que uma dieta deficiente em ácidos gordos n-3, poderá ter um contributo importante nas alterações de humor, sendo que, uma dieta com um suplemento deste ácido gordo polinsaturado poderá fornecer uma estratégia terapêutica.

- Doença de Alzheimer

Num estudo realizado com idosos, denominado *Zutphen* (van Gelder *et al* 2007), foram obtidos dados iniciais a partir de uma amostra de 210 homens com idades compreendidas entre os 70 e os 89 anos de idade. O consumo de peixe e a função cognitiva foram medidos de 1990 a 1995. Os consumidores de peixe tiveram um declínio cognitivo menor que os não consumidores. Encontrou-se uma razão linear entre a ingestão de DHA e EPA (DHA+EPA) e a prevenção do declínio cognitivo. Uma ingestão diária de 380g de DHA+EPA, parece ter prevenido o declínio cognitivo. Esta quantidade de DHA+EPA pode ser encontrada em 20g de salmão ou em 100g de bacalhau. Duas a três refeições de peixe por semana devem conter as 380g por dia de DHA+EPA necessárias.

No estudo de *Minneapolis* (Beydoun *et al.* 2007), como é denominado, foi avaliado um grupo de 2251 homens e mulheres, nos períodos compreendidos entre 1990-1992 e 1996-1998. O risco de declínio cognitivo foi menor quando eram ingeridas quantidades maiores de LA (C18:2 n-6). O declínio cognitivo foi associado a uma baixa concentração de ácidos gordos n-3 (DHA+EPA) no plasma sanguíneo num subgrupo de sujeitos com hipertensão e dislipidemia.

Nos dois estudos, os ácidos gordos n-3 atrasaram o declínio cognitivo ao longo do tempo. Os estudos de *Zutphen* e *Minneapolis* fornecem os fundamentos para futuros estudos clínicos sobre a relação entre o consumo de peixe, e óleos de peixes, e pacientes idosos propensos ao desenvolvimento da doença de Alzheimer (Connor & Connor, 2007).

1.4. Ácidos gordos das macroalgas marinhas

As principais fontes vegetais de ácidos gordos n-3 de cadeia longa são as micro e macro algas marinhas. Existe uma grande confusão sobre o conteúdo de EFA's nas algas. Elas são as fontes originais de EPA e DHA (os peixes não produzem ácidos gordos n-3 de cadeia longa), mas grande parte não são fontes concentradas, devido ao seu baixo conteúdo em lípidos (Davis & Kris-Etherton, 2003).

As fontes principais de EPA e DHA são o peixe, os óleos de peixe e o marisco (Davis & Kris-Etherton, 2003; Sirot *et al.* 2008), sendo os óleos de peixe a principal fonte para a produção comercial de PUFA's. Dado que existe uma grande procura de PUFA's purificados, estão a ser estudadas outras fontes alternativas. A qualidade do óleo de peixe depende da espécie de peixe, da estação do ano, do clima, localização geográfica dos sítios de recolha e da qualidade do alimento consumido (Wen & Chen, 2003). Além disto, em alguns casos

existe o perigo de contaminação por lípidos solúveis poluentes, que se acumulam nos tecidos gordos dos peixes por bioacumulação e por biomagnificação (Sidhu, 2003). É necessário aplicar diversas técnicas dispendiosas (como a adsorção cromatográfica, destilação fraccionária ou molecular, partição enzimática, baixa temperatura de cristalização, extracção por fluído superficial e complexação da ureia) para a obtenção de PUFA's purificados (Wen & Chen, 2003).

Actualmente, a produção de PUFA's por microalgas marinhas e de água doce tem sido alvo de investigação intensiva e de um aumento do interesse comercial (Wen & Chen, 2003). Algumas espécies de algas marinhas e de água doce, por possuírem PUFA's de grande qualidade, são largamente usadas na aquacultura para a obtenção de PUFA's. Elas podem crescer heterotroficamente com substratos orgânicos baratos, sem luz, sob condições de cultivo bem controladas. De forma a aumentar o uso de algas na produção comercial de PUFA's, estão a ser consideradas diversas estratégias: selecção e *screening* das espécies com maior teor em lípidos, melhoramento das estirpes através de manipulação genética, optimização das condições de cultura e desenvolvimento de sistemas de cultivo mais eficientes (Wen & Chen, 2003).

As macroalgas marinhas apresentam um conteúdo em lípidos baixo entre 1 - 5 % do seu peso seco, no entanto, apresentam uma composição em PUFA's muito interessante, nomeadamente em ácidos gordos n-3 e n-6 (Burtin, 2003). Uma dose de 100 g oferece, em média, 100 mg de EPA, mas pouca quantidade de DHA. As macroalgas marinhas não contribuem significativamente com uma grande quantidade de EPA nas sociedades ocidentais, mas são fontes importantes nas sociedades que consomem uma grande quantidade de algas diariamente (por exemplo, no Japão e noutros países asiáticos) (Conquer & HOLUB, 1996).

Vários autores têm estudado o conteúdo em lípidos e ácidos gordos de diversas macroalgas marinhas (Johns *et al.*, 1979; Khotimchenko, 1993; Fleurence *et al.*, 1994; Honya *et al.*, 1994; Khotimchenko, 1995; Kim *et al.*, 1996; Xu *et al.*, 1998; Khotimchenko & Kulikova, 1999; Khotimchenko *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2002; Nelson *et al.*, 2002b; Khotimchenko, 2003; Kostetsky *et al.*, 2004; Ivesa *et al.*, 2004; Sánchez-Machado, 2004; Mansour *et al.*, 2005; Narayan *et al.*, 2005; Blouin *et al.*, 2006; Khotimchenko, 2006; Marinho-Soriano *et al.*, 2006; Ortiz *et al.*, 2006; Dawczynski *et al.*, 2007; McDermid *et al.*, 2007; Marsham *et al.*, 2007). De um modo geral, as algas verdes têm níveis interessantes do α -ALA (C18:3 n-3). As algas

vermelhas e castanhas são particularmente ricas em ácidos gordos de vinte átomos de carbono como: o EPA (C20:5 n-3) e o AA (C20:4 n-6) (Burtin, 2003).

1.4.1. Variação sazonal da composição química de macroalgas marinhas

A composição química e o crescimento das algas variam e podem ser de carácter inter específica, intra-anual ou inter-anual (Nelson *et al.*, 2002b).

As algas marinhas apresentam uma grande variação no conteúdo de nutrientes (Black, 1950; Marinho-Soriano *et al.*, 2006), que está relacionada com diversos factores ambientais como a temperatura da água, a salinidade, a luz e os nutrientes disponíveis (Dawes, 1998 *in* Marinho-Soriano *et al.*, 2006).

A composição em lípidos e ácidos gordos pode também variar no tempo (Honya *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 2002; Ivesa, *et al.*, 2004; Kostetsky *et al.*, 2004; Khotimchenko, 2006; Renaud & Luong-Van, 2006). Kostetsky *et al.* (2004) afirmou que as alterações sazonais encontradas na composição de lípidos e ácidos gordos de macrófitos marinhos (algas marinhas *Ahnfeltia tobuchiensis*, *Laminaria japonica*, *Sargassum pallidum*, *Ulva fenestrata* e *Zoostera marina*), podem estar relacionadas com a adaptação dos macrófitos a variações da temperatura, e também com o seu desenvolvimento biológico.

Segundo Honya *et al.* (1994), os PUFA's n-3 e n-6 apresentam uma distribuição diferente ao longo do crescimento das macroalgas e, por isso, a época de recolha das algas deve ser escolhida com cuidado.

Nas três maiores classes de macroalgas, a composição em lípidos apresenta alguma sazonalidade. Os níveis de lípidos são mais elevados no Inverno e na primavera e mais baixos no verão (Johns *et al.*, 1979; Nelson *et al.*, 2002b).

1.5. Algas marinhas do arquipélago dos Açores

1.5.1. Breve caracterização do arquipélago dos Açores

O Arquipélago dos Açores situa-se entre as coordenadas 37° a 40° Norte e 25° a 31° Oeste (Figura 6). Estende-se por mais de 480 km e é constituído por 9 ilhas, distribuídas por três grupos – Grupo Oriental, São Miguel e Santa Maria; Grupo Central, Terceira, Graciosa, São Jorge, Pico e Faial; e o Grupo Ocidental, Flores e Corvo (Morton *et al.*, 1998).

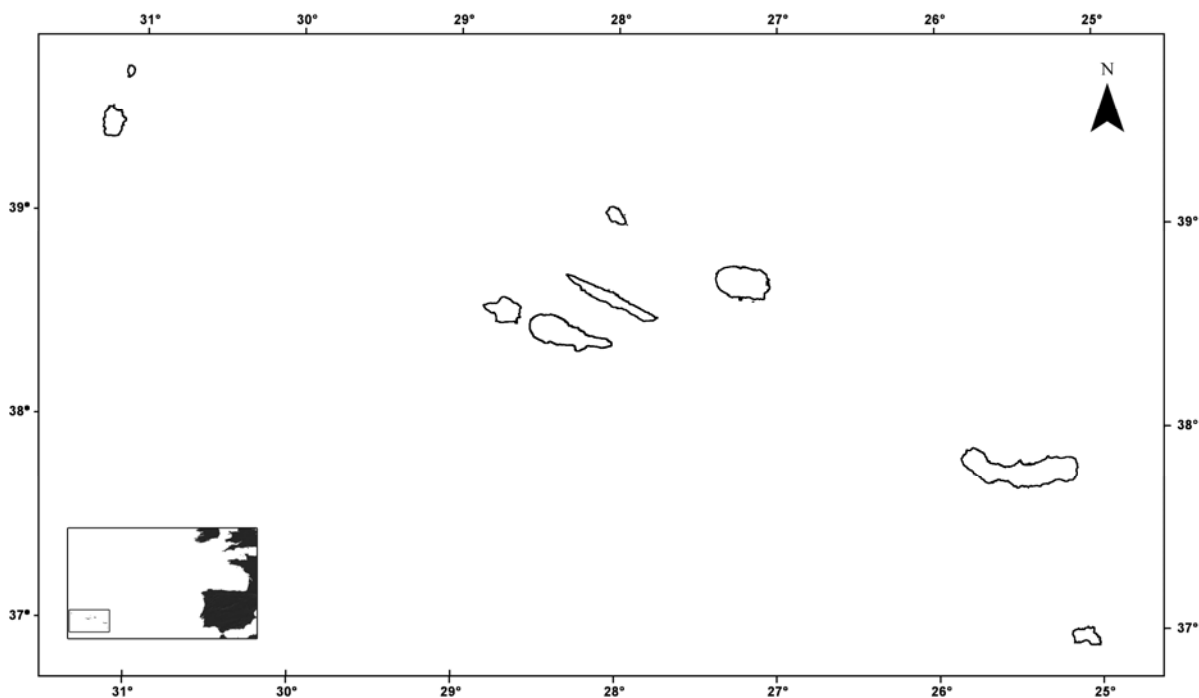


Figura 6. Localização geográfica do Arquipélago dos Açores. Fonte: Secção de Biologia Marinha, Universidade dos Açores.

Os Açores estão situados na zona temperada do hemisfério Norte. O tempo é normalmente variável, com muitas nuvens e alguma chuva a ocorrerem em todas as estações do ano. Os dias de sol longos são pouco comuns, sendo o número médio de dias de sol por ano de 124. As tempestades fortes não são comuns nem prolongadas. As temperaturas médias do ar e da água são semelhantes, sendo de 13 °C e 16 °C, respectivamente, no Inverno e de 17 °C e 19 °C, respectivamente no verão. Fevereiro é o mês mais frio e Agosto o mês mais quente (Morton *et al.*, 1998).

A direcção do vento varia ao longo do ano, sendo a velocidade do vento marcadamente sazonal. No Inverno prevalecem os ventos do quadrante ocidental e no verão são mais variáveis, predominando na sua maioria os ventos de nordeste (Morton *et al.*, 1998). A circulação oceânica nos Açores é influenciada pelo Giro do Atlântico Norte, que circula no sentido dos ponteiros do relógio como resultado do efeito da força de Coriolis. A corrente do Golfo, forma o braço Oeste do Giro do Atlântico Norte, e divide-se em duas componentes: a corrente do Atlântico Norte e mais a Sul a corrente dos Açores (Figura 7), sendo esta responsável pelo transporte de uma grande variedade de flora e fauna do “Novo

Mundo” para os Açores. A temperatura da água do mar na região central e oriental do Atlântico são mediadas pela corrente do Golfo (Morton *et al.*, 1998).

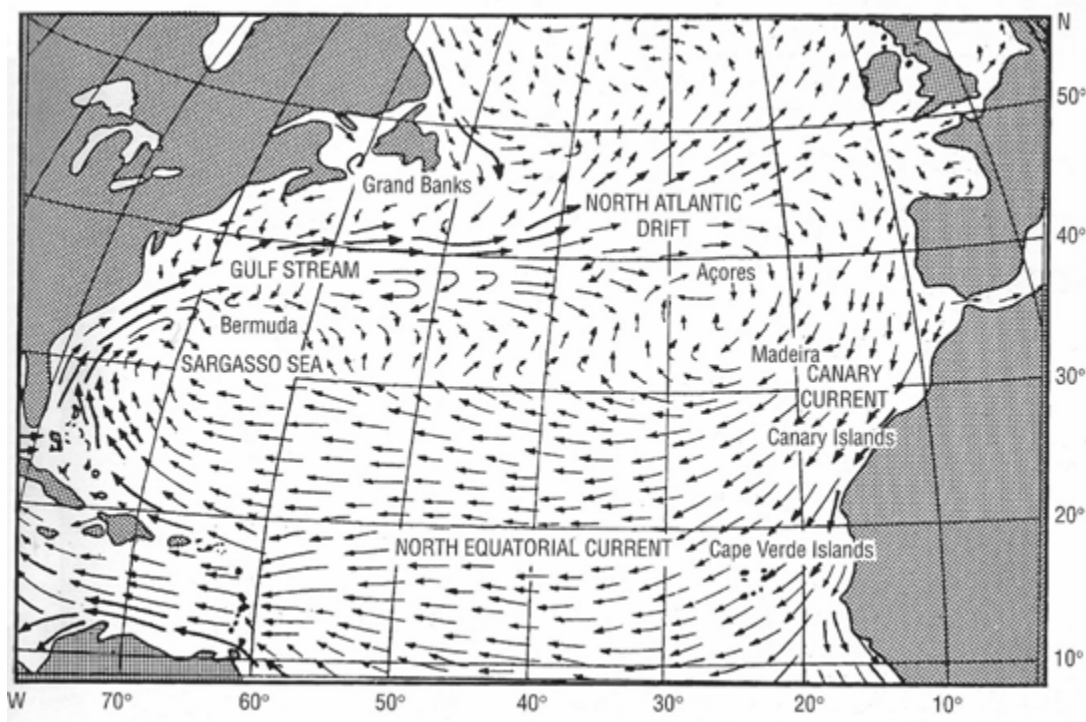


Figura 7. Correntes de superfície do Oceano Atlântico Norte (*in* Morton *et al.*, 1998).

A zona litoral dos Açores é estreita, sendo a diferença de marés, geralmente, menor que um metro. Nestas situações, a influência das ondas na zona litoral é muito significativa. A ilha de São Miguel é maior ilha dos Açores com cerca de 750 Km² (Morton *et al.*, 1998). É de origem vulcânica, tal como as restantes ilhas do Arquipélago, sendo constituída por basalto e é rodeada por águas muito profundas. A linha de costa tem 155 Km de comprimento (Neto, 1992).

1.5.2. Algas marinhas dos Açores

As algas marinhas são abundantes nos Açores e têm um papel importante na orla costeira de todas as ilhas (Neto, 1992, 2000a, b, 2001; Neto & Tittley, 1995; Tittley *et al.*, 1998; Neto *et al.*, 2000). As macroalgas marinhas dos Açores têm morfologias diversas e ocupam nichos ecológicos próprios. Algumas são particularmente abundantes e por isso, usadas para caracterizar comunidades e biótopos (Tittley & Neto, 2000; Wallenstein & Neto, 2006), enquanto outras são raras e ocasionais. Os estudos até aqui realizados, salvo

algumas exceções, têm-se debruçado maioritariamente sobre a taxonomia e a ecologia destas algas, tendo sido publicado, recentemente, um guia de campo sobre a flora marinha do litoral dos Açores (Neto *et al.*, 2006).

1.5.3. Alimentação e comercialização de macroalgas marinhas nos Açores

As macroalgas marinhas açorianas são tradicionalmente usadas na alimentação humana. A alga castanha *Fucus spiralis* (Figura 8a), de nome comum “tremoço do mar”, é considerada um petisco; a alga vermelha *Porphyra* (Figura 8b), de nome comum “erva patinha”, é consumida frita e usada na confecção de sopas, omeletes ou tortas; as algas vermelhas *Laurencia* (Figura 8c) e *Osmundea* (Figura 8d), de nome comum “erva malagueta”, são conservadas em vinagre e consumidas ao longo de todo o ano em algumas ilhas (Neto *et al.*, 2006).

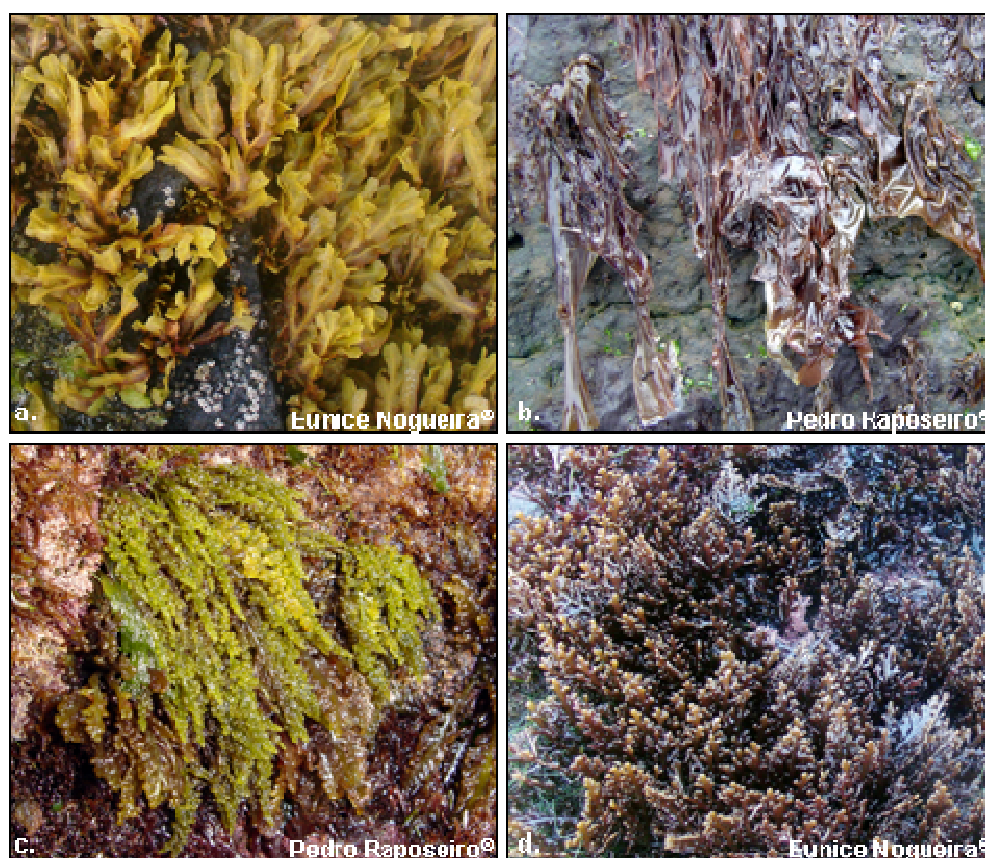


Figura 8. Macroalgas marinhas açorianas tradicionalmente usadas na alimentação (a. *Fucus spiralis*; b. *Porphyra* sp.; c. *Laurencia viridis* e d. *Osmundea pinnatifida*).

Por outro lado, algumas espécies de macroalgas são comercializadas. As algas vermelhas *Pterocladia capillacea* (Figura 9a) e *Gelidium microdon* (Figura 9b), são recolhidas manualmente ou por mergulho, posteriormente secas ao ar e preparadas para exportação. Sendo depois utilizadas na produção industrial de agar (Neto *et al*, 2006).

Apesar do uso alimentar e comercial conhecido das macroalgas acima referidas, não existem estudos científicos de aplicação biotecnológica, a nível regional, que aproveitem e desenvolvam os conhecimentos empíricos perpetuados, durante anos, pela população açoriana.

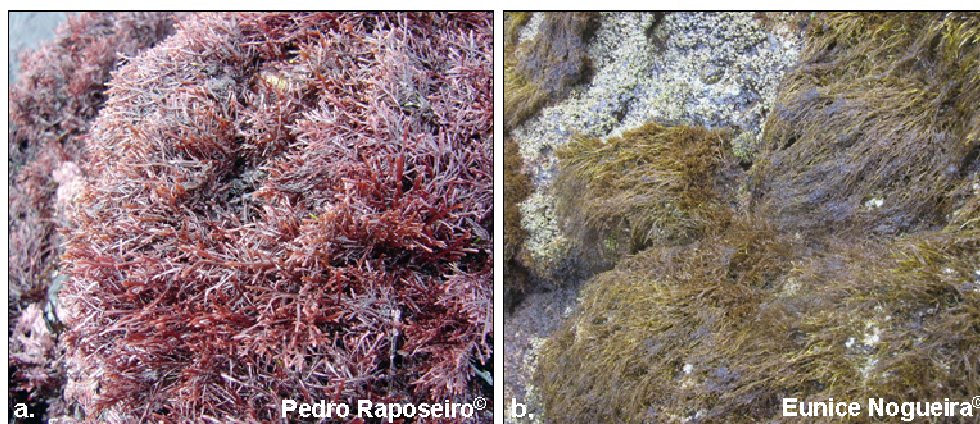


Figura 9. Macroalgas marinhas açorianas comercializadas (a. *Pterocladia capillacea* e b. *Gelidium microdon*).

1.5.4. Variação sazonal de macroalgas marinhas na zona intertidal da ilha de São Miguel

As Rhodophyta são o grupo taxonómico dominante na zona intertidal da ilha de São Miguel (Neto, 2000a,b; Couto, 2003; Wallenstein & Neto, 2006).

Neto (2000a,b) observou alterações sazonais no crescimento e reprodução de algumas espécies de macroalgas açorianas. Muitas algas (*Ulva rigida*, *Bryopsis hypnoides*, *Stypocaulon scoparium*, *Dictyota dichotoma*, *Padina pavonica*, *Colpomenia sinuosa*, *Gelidium microdon*, *Asparagopsis armata*, *Chondracanthus acicularis* e *Plocamium cartilagineum*), são grandes e/ou têm valores de biomassa elevados na Primavera e/ou no Verão. Outras espécies são mais sazonais na sua reprodução, sendo férteis apenas em duas estações: *Codium elisabethae* e o tetraesporófito da alga *Asparagopsis armata* no

Outono e Inverno; *Cystoseira abies-marina* e *Pterocladia capillacea* no Verão e no Outono; o gametófito da alga *Asparagopsis armata* no Inverno e no início da Primavera.

De acordo com Couto (2003), o Inverno é a estação do ano que apresenta maior número de grupos taxonómicos (61) e o verão o menor (45). Relativamente à variação dos *taxa* por estações, verificou que o maior número de Rhodophyta observado aumenta desde o Verão até ao Inverno. As Phaeophyta apresentam um pico de espécies no Outono e as Chlorophyta na Primavera.

2. OBJECTIVOS

As macroalgas marinhas, por possuírem uma composição nutricional muito interessante, são cada vez mais procuradas como alimento nos países ocidentais. A sua composição em ácidos gordos ómega-3 torna-as bastante atractivas quer do ponto de vista terapêutico, quer do ponto de vista nutricional.

É assim importante caracterizar o perfil de ácidos gordos de macroalgas marinhas presentes do litoral do Açores, uma vez que o consumo das algas *Fucus spiralis*, *Porphyra* sp. e *Osmundea pinnatifida* é já generalizado e aceite como prática comum em algumas ilhas. Neste trabalho pretende-se identificar o conteúdo em lípidos totais e o perfil de ácidos gordos das seguintes espécies: *Cystoseira abies-marina*, *Fucus spiralis*, *Chaetomorpha pachynema*, *Codium elisabethae*, *Porphyra* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Pterocliadiella capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Matéria-prima

As algas foram colectadas em locais seleccionados das zonas intertidal e subtidal da Ilha de São Miguel durante os meses de Janeiro e Fevereiro de 2007. Na selecção dos dias de amostragem procedeu-se em função da hora da baixa-mar, de acordo com as tabelas disponibilizadas *on-line* pelo Instituto Hidrográfico e em função do estado do mar, de acordo com a informação disponibilizada *on-line* pelo projecto CLIMAAT (Interreg MAC 2.3/A3).

3.2. Métodos

3.2.1. Recolha, identificação e armazenamento das macroalgas

No laboratório, os espécimes colhidos foram triados e identificados recorrendo a chaves de identificação taxonómica específicas (Carrillo & Sansón, 1999). Seleccionaram-se as seguintes espécies: *Cystoseira abies-marina*, *Fucus spiralis*, *Chaetomorpha pachynema*, *Codium elisabethae*, *Porphyra* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Pterocladia capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius* (Figura 10). Após a triagem as algas foram lavadas em água destilada, retirando-se o excesso de água com papel absorvente e congeladas a -20 °C até posterior análise.

3.2.2. Homogeneização das macroalgas

Imediatamente antes da extracção dos lípidos totais, as algas foram descongeladas e secas numa estufa durante 48 horas a 65 °C. Homogeneizaram-se as amostras secas com azoto líquido num homogeneizador tipo Polytron (ULTRA-TURRAX T50). Levou-se novamente a estufa a 60 °C de modo a obter um extracto de alga sem humidade. Guardou-se num exsiccador.

3.2.3. Extracção de lípidos totais

Os lípidos totais foram extraídos de acordo com o método descrito por Bligh & Dyer (1959), usando uma mistura de solventes semi-polares (clorofórmio e metanol).

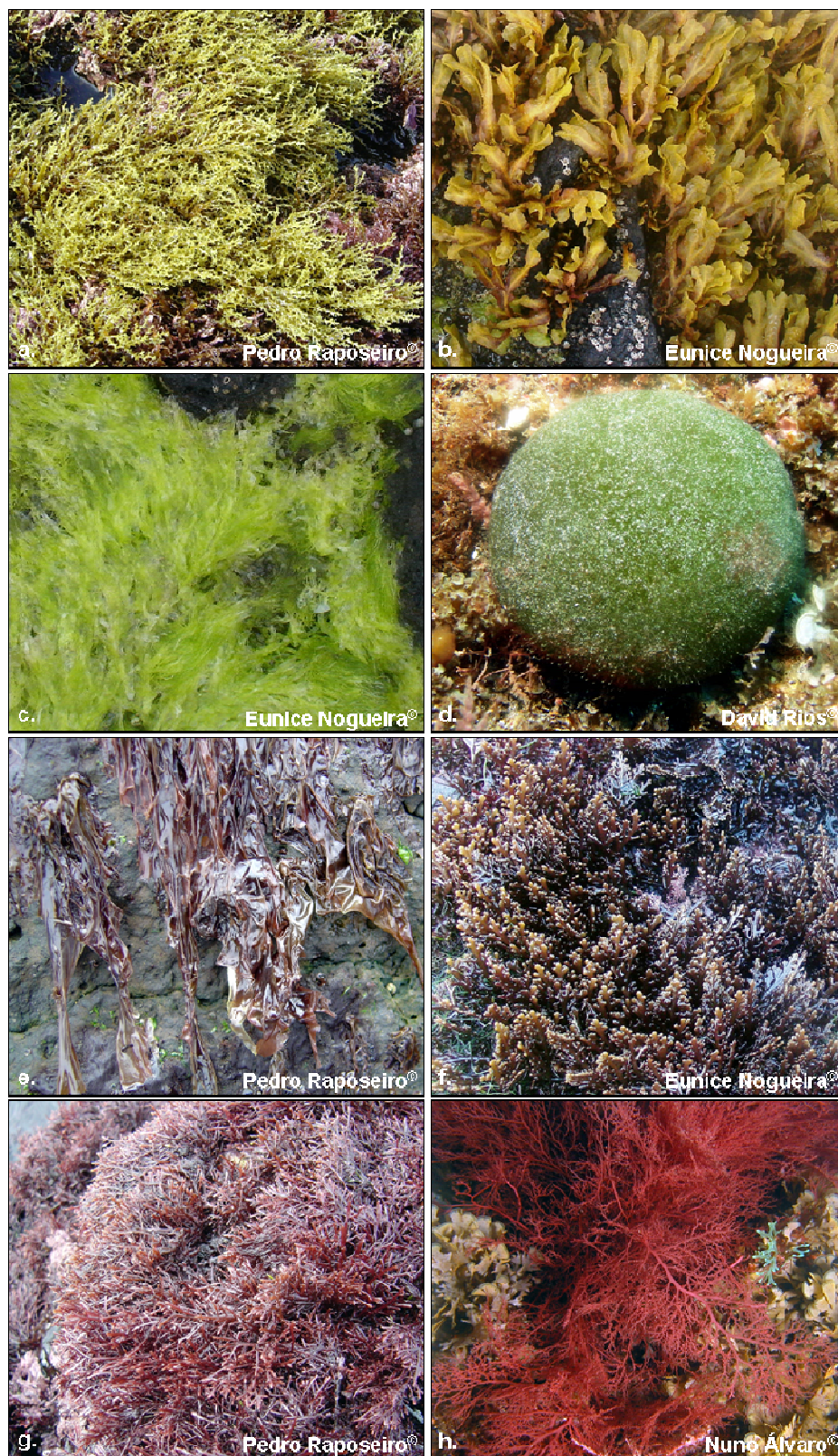


Figura 10 – a. *C. abies-marina*; b. *F. spiralis*; c. *C. pachynema*, d. *C. elisabethae*; e. *Porphyra* sp.; f. *O. pinnatifida*; g. *P. capillacea* e h. *S. coronopifolius*.

Método descrito por Bligh & Dyer (1959)

A 5 g de alga, previamente seca, adicionou-se 10 ml de metanol e 5 ml de clorofórmio. Homogeneizou-se, com agitação, durante 5 minutos, num gobelé tapado com papel de alumínio, de modo a diminuir a troca de gases com o meio ambiente. Adicionou-se 5ml de clorofórmio, 5 mg de BHT e 5ml de água destilada e voltou a homogeneizar-se durante 5 minutos. Levou-se a banho de ultrasons (BANDELIN SONOREX RK 52H) durante 15 minutos a 30 °C. O preparado centrifugado a 3500 rpm durante 5 minutos, numa centrífuga (HERMLE Z323), o sobrenadante foi recolhido para uma ampola de decantação. Ao precipitado foram adicionados 5ml de clorofórmio e 5ml de metanol e foi novamente centrifugado nas condições anteriores. O precipitado resultante foi lavado novamente, de acordo com as instruções anteriores. Ao sobrenadante final obtido, foram adicionados 10 ml de água, de modo a manter a proporção de água, o filtrado ficou em ampola de decantação até à separação de fases (12-14 horas), Figura 11.



Figura 11. Ampola de decantação com separação de fases.

Decantou-se a fase orgânica, que contém a fracção de lípidos isolados, para um balão em forma de pêra tarado e evaporou-se em rotavapor (Büchi Rotavapor R-124) a 60°C, até peso constante. Saturou-se a atmosfera com azoto, tapou-se com parafilme e guardou-se refrigerado. Repetiu-se este procedimento para as 8 espécies de macroalgas em estudo. O tempo decorrido entre a extracção e a determinação do perfil de ácido gordos nunca ultrapassou as 48 horas.

3.2.4. Determinação do teor em ácidos gordos

O teor de ácidos gordos presente nas amostras foi determinado da seguinte forma: 1) saponificação, hidrólise e metilação dos ácidos gordos, realizada de acordo com o método descrito na Norma Portuguesa NP 5509 (2003), que consiste na conversão dos lípidos totais em ésteres metílicos por esterificação com solução metanólica de hidróxido de potássio. O hidróxido de potássio é neutralizado com hidrogenosulfato de sódio monohidratado para evitar a saponificação dos ésteres metílicos; 2) separação dos ésteres metílicos foi realizada por cromatografia gasosa (GC) e detecção por detector de ionização de chama, de acordo com o método descrito por Leite, *et al.* (2007).

Esterificação dos ácidos gordos

Para a esterificação adicionou-se 1ml de n-hexano à amostra de lípidos totais (de quantidade conhecida) e agitou-se durante 1 minuto. Transferiu-se para um tubo de metilação e adicionou-se 50 µl de solução metanólica de hidróxido de potássio 2ml/L, tapou-se e agitou-se vigorosamente durante 30 segundos. Adicionou-se 0,25 g hidrogenosulfato de sódio monohidratado (Anexo A) e voltou a agitar-se. Após a separação das duas camadas, rejeitou-se a camada inferior e transferiu-se a camada superior para um tubo de análise.

Determinação: características do equipamento e condições analíticas

Utilizou-se um cromatografo de gás Varian modelo CP-3800 (ligado ao software Galaxie Chromatography Workstation Versão 1.9.3.2.), equipado com uma coluna capilar de sílica (0,25 mm x 100m) (Chrompack, Middelburg, The Netherlands) revestida por um filme de CP-Sil 88 0,20µm de espessura e com um detector de ionização de chama.

As condições de trabalho usadas foram as seguintes:

- Fluxo – 0,7 ml/min
- Fase móvel – hélio.
- “Split ratio” –.30:1
- Volume de injeção - 1 µl
- Tempo total de análise - 115 minutos
- Separação - A coluna foi estabilizada e mantida à temperatura inicial de 60 °C. A separação decorreu de acordo com o Quadro 4.

Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
2	60
70	Subida linear da temperatura até aos 175 °C, à razão de 20 °C/min.
4	Subida linear da temperatura até aos 220 °C, à razão de 4 °C/min.
39	220

Quadro 4. Descrição do esquema de separação dos ácidos gordos.

Padrões

Para a identificação dos ácidos gordos, usou-se uma mistura padrão (F.A.M.E. Mix C4-C24 Lote LB36009, Supelco), numa concentração conhecida (100 mg/ml), injectando-se 1 µl da mistura padrão no cromatografo de gás, usando as condições experimentais acima referidas.

Quantificação

Imediatamente após a esterificação dos ésteres metílicos, injectou-se 1 µl de cada amostra e da amostra padrão no cromatógrafo de gás. Programou-se o computador para a aquisição de dados antes de iniciar a injeção das amostras. A identificação dos ácidos gordos nos extractos realizou-se por comparação dos tempos de retenção de cada componente com os correspondentes da mistura do com o padrão lipídico, através do software Galaxie Chromatography Workstation Versão 1.9.3.2.

A percentagem de cada ácido gordo foi calculada dividindo a área de cada pico pela soma das áreas de todos os picos identificados. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

3.2.5. Análise Estatística

Os resultados foram tratados no software estatístico PRIMER V6 (Clarke & Gorley, 2006). Para testar a existência de diferenças significativas entre os grupos taxonómicos e entre as espécies de algas em estudo usou-se a análise de variância multivariada baseada em permutações PERMANOVA com dois factores fixos (grupo e espécie “nested” no grupo), usando a distância euclidiana e dados não normalizados. A análise “post-hoc” de factores significativos foi feita usando “pair-wise comparisons”. Aplicou-se um teste SIMPER para calcular a contribuição (em percentagem) de cada espécie para a diferença entre grupos.

4. RESULTADOS

4.1. Determinação do teor de lípidos totais das macroalgas

O teor em lípidos totais de cada alga encontra-se expresso no Quadro 5. O valor médio de lípidos obtido foi de 2,12 g/100g (variando entre 0,06 e 3,54 g/100g). As algas com maior teor em lípidos totais são a *Chaetomorpha pachynema* (3,54 g/100g) e a *Porphyra* sp. (3,34 g/100g). A *Pterocladella capillacea* obteve o teor em lípidos mais baixo (0,06 g/100g).

	Lípidos Totais (g/100g)
Phaeophyta	
<i>Cystoseira abies-marina</i> (S.G. Gmelin) C. Agardh	1,94
<i>Fucus spiralis</i> Linnaeus	1,87
Chlorophyta	
<i>Chaetomorpha pachynema</i> (Montagne) Kützinger	3,54
<i>Codium elisabethae</i> Schmidt, O.C.	1,22
Rhodophyta	
<i>Porphyra</i> sp.	3,34
<i>Osmundea pinnatifida</i> (Hudson) Stackhouse	2,58
<i>Pterocladella capillacea</i> (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	0,06
<i>Sphaerococcus coronopifolius</i> Stackhouse	2,42

Quadro 5. Lípidos totais das macroalgas em análise.

4.2. Ácidos gordos das macroalgas

A Figura 12 representa o perfil dos ácidos gordos do padrão lipídico (ésteres metílicos) obtido. Neste trabalho foram identificados vinte e seis ácidos gordos (Quadro 6), por comparação com a amostra padrão.

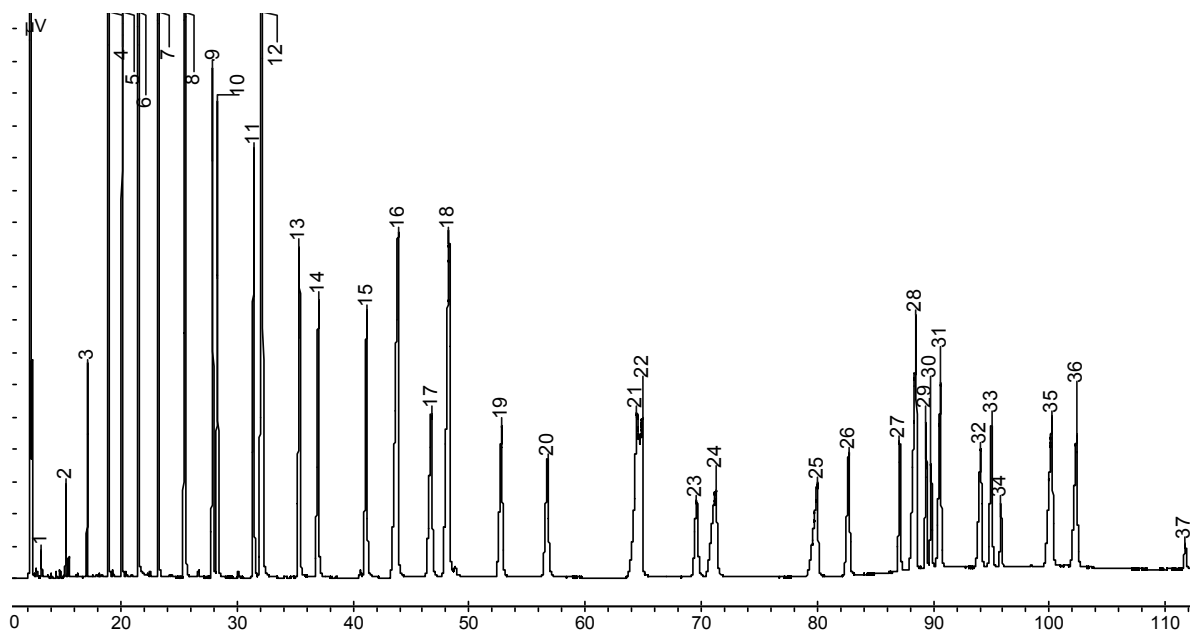


Figura 12. Perfil dos ácidos gordos do padrão lipídico (ésteres metílicos). Ácidos: 1- butírico (C4:0); 2- capríco (C6:0); 3- caprílico (C8:0); 4- cáprico (C10:0); 5- undecanóico (C11:0); 6- láurico (C12:0); 7- tridecanóico (C13:0); 8- mirístico (C14:0); 9- mirísticooleico (C14:1, c5); 10- pentadecanóico (C15:0); 11- pentadecenóico (C15:1, c10); 12- palmítico (C16:0); 13- palmiticoleico (C16:1, c7); 14- heptadecanóico (C17:0); 15- heptadecenóico (C17:1, c10), 16- esteárico (C18:0); 17- eládico (C18:1, t9); 18- oleico (C18:1, c9), 19- linoleico (C18:2, t9, 12), 20- linoleico (C18:2, c9, 12), 21- araquídico (C20:0); 22- γ -linolénico (C18:3, c6, 9, 12); 23- eicosenóico (C20:1, c11); 24- α -linolénico (C18:3, c9, 12, 15); 25- heneicosanóico (C21:0); 26- eicosadienóico (C20:2, c11, 14); 27- beénico (C22:0); 28- eicosatrienóico (C20:3, c8, 11, 14); 29- erucíco (C22:1, c9); 30- eicosatrenóico (C20:3 c11, 14, 17), 31- araquidónico (C20:4, c5, 8, 11, 14); 32- tricosanóico (C23:0); 33- docosadienóico (C22:2 c13, 16), 34- lignocérico (C24:0); 35- eicosapentaenóico (C20:5, c5, 8, 11, 14, 17); 36- nervónico (C24:1, c15); e 37- docosahexaenóico (C22:6, c4, 7, 10, 13, 16, 19).

Pico ^a	Tempo de retenção (min.)	Ácido Gordo (nome comum e sistemático)
5	20,08	Undecanóico (C11:0)
6	21,50	Láurico (C12:0) Dodecanóico
8	25,48	Mirístico (C14:0) Tetradecanóico
9	27,90	Mirísticoleico (C14:1) cis-5 Tetradecanóico
10	28,31	Pentadecanóico (C15:0)
11	31,43	Pentadecanóico (C15:1) cis-10 Pentadecanoico
12	32,20	Palmítico (C16:0) Hexadecanóico
13	35,36	Palmiticoleico (C16:1) cis-7 Hexadecanóico
14	37,00	Heptadecanóico (C17:0)
15	41,16	Heptadecenóico (C17:1) cis-10 Heptadecenoico
16	43,86	Esteárico (C18:0) Octadecanóico
18	48,27	Oleico (C18:1 n-9) cis-9 Octadecenóico
19	52,79	Linoleico (C18:2 n-6t) trans-9, 12 Octadecadienóico
20	56,75	Linoleico (C18:2 n-6c) cis-9, 12 Octadecadienóico
22	64,92	γ Linolénico (C18:3 n-6) cis-6, 9, 12-Octadecatrienóico
23	69,60	Eicosenóico (C20:1) cis-9 Eicosenóico
24	71,23	α Linolénico (C18:3 n-3) cis-9, 12,15 Octadecatrienóico
25	80,03	Heneicosanóico (C21:0) Heneicosanóico
26	82,72	Eicosadienóico (C20:2) cis 11,14 Eicosadienóico
27	87,12	Beénico (C22:0) Docosanóico
28	88,54	Eicosatrienóico (C20:3 n-6) cis-8,11,14 Eicosatrienóico
29	89,38	Erucíco (C22:1 n-9) Docosenóico
30	89,81	Eicosatrenóico (C20:3 n-3) cis-11,14,17 Eicosatrienóico
32	94,10	Tricosanóico (C23:0)
34	95,84	Lignocérico (C24:0) Tetracosanóico
35	100,26	EPA (C20:5 n-3) cis-5, 8, 11, 14, 17 Eicosapentaenóico

^a Picos numerados segundo a ordem obtida no padrão.

Quadro 6. Identificação dos ácidos gordos das algas em estudo, com indicação do tempo de retenção.

A Figura 13 representa um exemplo dos cromatogramas obtidos para as espécies em estudo, neste caso a *Chaetomorpha pachynema*.

Ácido Gordo (nome comum e sistemático)	Phaeophyta		Chlorophyta		Rhodophyta			
	<i>C. abies-marina</i>	<i>F. spiralis</i>	<i>C. pahynema</i>	<i>C. elisabethae</i>	<i>Porphyra sp.</i>	<i>O. pinnatifida</i>	<i>P. capillacea</i>	<i>S. coronopifolius</i>
Undecanóico (C11:0)	0,10 ± 0,03	-	-	-	-	-	-	-
Láurico (C12:0) Dodecanóico	0,11 ± 0,02	0,99 ± 0,07	4,29 ± 0,30	3,73 ± 0,50	1,43 ± 0,25	1,54 ± 0,10	5,13 ± 0,31	2,86 ± 0,17
Mirístico (C14:0) Tetradecanóico	5,47 ± 0,51	13,65 ± 0,93	17,66 ± 0,50	2,38 ± 0,06	0,33 ± 0,11	9,95 ± 0,04	7,95 ± 0,10	15,82 ± 3,94
Mirísticoleico (C14:1) cis-5 Tetradecanóico	-	0,09 ± 0,00	-	-	-	-	0,53 ± 0,01	0,08 ± 0,02
Pentadecanóico (C15:0)	0,32 ± 0,03	0,34 ± 0,06	0,15 ± 0,02	-	0,09 ± 0,00	0,42 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,29 ± 0,12
Pentadecanóico (C15:1) cis-10 Pentadecanoico	-	-	27,24 ± 0,30	-	-	-	-	1,82 ± 1,91
Palmitico (C16:0) Hexadecanóico	31,27 ± 2,15	18,19 ± 1,68	3,86 ± 0,02	34,87 ± 0,10	30,65 ± 1,23	43,66 ± 0,25	52,06 ± 0,56	44,49 ± 0,95
Palmiticoleico (C16:1) cis-7 Hexadecanóico	1,59 ± 0,11	1,05 ± 0,02	0,57 ± 0,00	1,87 ± 0,03	0,16 ± 0,00	1,31 ± 0,00	2,83 ± 0,07	4,05 ± 0,01
Heptadecanóico (C17:0)	0,14 ± 0,01	0,86 ± 0,04	-	-	-	-	-	0,14 ± 0,00
Heptadecenóico (C17:1) cis-10 Heptadecenoico	0,11 ± 0,00	-	-	-	-	-	0,79 ± 0,02	0,28 ± 0,00
Esteárico (C18:0) Octadecanóico	0,68 ± 0,09	0,59 ± 0,01	1,26 ± 0,00	0,95 ± 0,01	0,78 ± 0,37	0,61 ± 0,00	1,10 ± 0,01	1,21 ± 0,40
Oleico (C18:1 n-9) cis-9 Octadecenóico	14,77 ± 0,10	14,28 ± 0,25	9,07 ± 0,39	25,45 ± 0,19	3,04 ± 0,49	12,08 ± 0,07	4,56 ± 0,04	3,93 ± 0,44
Linoleico (C18:2 n-6t) trans-9, 12 Octadecadienóico	-	-	11,32 ± 0,08	-	0,19 ± 0,00	-	0,12 ± 0,00	0,51 ± 0,28
Linoleico (C18:2 n-6c) cis-9, 12 Octadecadienóico	5,62 ± 0,06	8,66 ± 0,15	18,54 ± 0,56	7,95 ± 0,07	1,54 ± 0,00	1,05 ± 0,02	1,41 ± 0,04	0,71 ± 0,06
γ Linolénico (C18:3 n-6) cis-6, 9, 12-Octadecatrienóico	0,36 ± 0,01	0,64 ± 0,00	0,92 ± 0,03	1,85 ± 0,02	0,38 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,76 ± 0,03	0,46 ± 0,07
Eicosenóico (C20:1) cis-11 Eicosenóico	7,67 ± 0,08	6,93 ± 0,13	-	7,90 ± 0,09	-	0,18 ± 0,03	3,90 ± 0,02	0,61 ± 0,13
α Linolénico (C18:3 n-3) cis-9, 12,15 Octadecatrienóico	-	-	-	-	3,34 ± 0,13	-	-	-
Heneicosanóico (C21:0) Heneicosanóico	6,00 ± 0,20	7,64 ± 0,08	0,83 ± 0,04	0,36 ± 0,01	-	-	10,55 ± 0,02	0,37 ± 0,00
Eicosadienóico (C20:2) cis 11,14 Eicosadienóico	0,40 ± 0,03	0,39 ± 0,01	0,58 ± 0,08	-	0,79 ± 0,05	-	-	0,22 ± 0,12
Beénico (C22:0) Docosanóico	1,14 ± 0,13	0,73 ± 0,19	0,30 ± 0,01	0,68 ± 0,07	2,25 ± 0,26	0,38 ± 0,01	0,15 ± 0,01	2,79 ± 0,79
Eicosatrienóico (C20:3 n-6) cis-8,11,14 Eicosatrienóico	-	-	-	-	5,36 ± 0,02	-	-	-
Erucico (C22:1 n-9) Docosenóico	0,16 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-
Eicosatrenóico (C20:3 n-3) cis-11,14,17 Eicosatrienóico	20,02 ± 1,80	14,79 ± 1,37	1,27 ± 0,26	10,80 ± 0,08	5,87 ± 0,02	4,78 ± 0,37	2,60 ± 0,04	5,98 ± 1,76
Tricosanóico (C23:0)	-	-	-	-	-	-	-	0,66 ± 0,19
Lignocérico (C24:0) Tetracosanóico	4,06 ± 0,41	10,20 ± 0,85	1,65 ± 0,10	1,22 ± 0,03	43,80 ± 2,28	23,87 ± 0,62	5,40 ± 0,16	12,70 ± 3,97
EPA (C20:5 n-3) cis-5, 8, 11, 14, 17 Eicosapentaenóico	-	-	0,47 ± 0,12	-	-	-	-	-
Grupo de Ácido Gordo								
Σ _{SFA}	49,29 ± 1,86	53,18 ± 1,89	30,00 ± 0,69	44,19 ± 0,84	79,33 ± 0,28	80,42 ± 0,50	82,89 ± 0,60	81,33 ± 0,22
Σ _{MUFA}	24,31 ± 0,05	22,35 ± 0,36	36,89 ± 0,09	35,21 ± 0,49	3,21 ± 0,49	13,58 ± 0,10	12,22 ± 0,57	10,78 ± 1,37
Σ _{PUFA}	26,40 ± 1,81	24,47 ± 1,52	33,11 ± 0,60	20,59 ± 0,35	17,47 ± 0,21	6,00 ± 0,40	4,89 ± 0,03	7,89 ± 1,58
Σ _{TFA}	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	11,32 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,51 ± 0,28
Σ _{n-3 em tFAME}	20,02 ± 1,80	14,79 ± 1,37	1,75 ± 0,14	10,80 ± 0,15	9,21 ± 0,15	4,78 ± 0,37	2,60 ± 0,04	5,98 ± 1,76
Σ _{n-6 em tFAME}	6,38 ± 0,01	9,68 ± 0,15	31,37 ± 0,74	9,80 ± 0,19	8,25 ± 0,06	1,23 ± 0,03	2,29 ± 0,07	1,91 ± 0,18
Σ _{n-9 em tFAME}	14,93 ± 0,09	14,28 ± 0,25	9,07 ± 0,39	25,45 ± 0,37	3,04 ± 0,49	12,08 ± 0,07	4,56 ± 0,04	3,93 ± 0,44
Σ _{ω-6/ω-3}	0,32 ± 0,03	0,66 ± 0,05	14,05 ± 3,78	0,91 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,88 ± 0,04	0,34 ± 0,13
Σ _{h/H}	1,12 ± 0,13	1,19 ± 0,15	1,64 ± 0,09	1,12 ± 0,04	0,63 ± 0,02	0,33 ± 0,01	0,15 ± 0,00	0,19 ± 0,05

Tabela 7. Teor de ácidos gordos das macroalgas em análise relativas ao total de FAME (média ± desvio padrão, n=2 replicados por amostra).

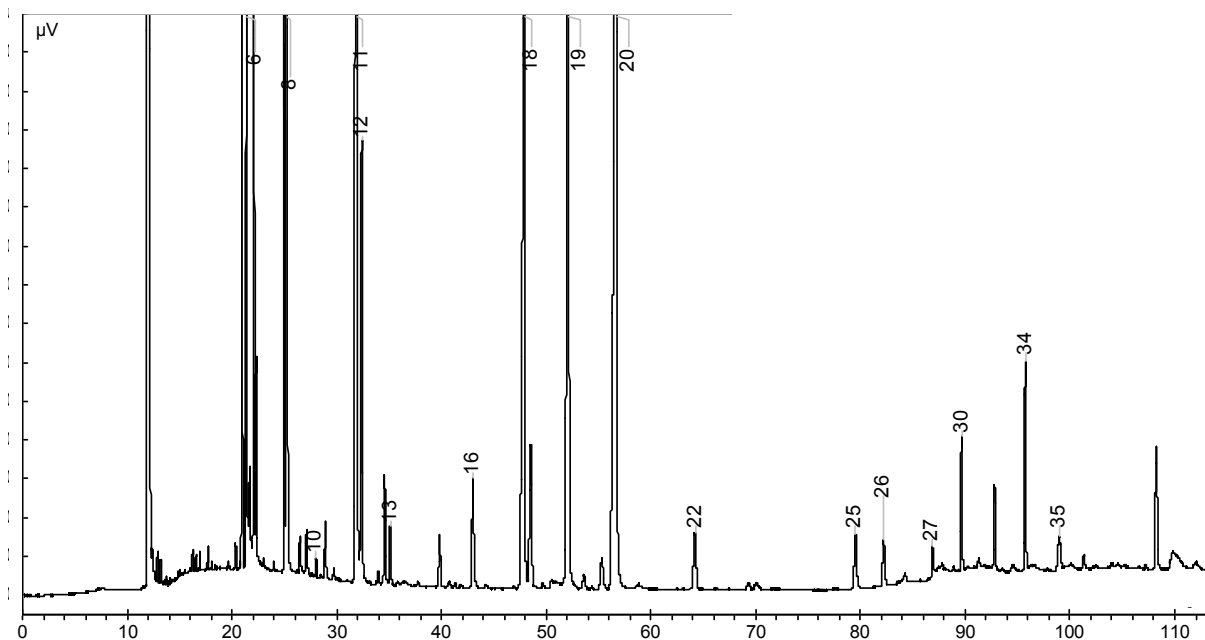


Figura 13. Perfil dos ácidos gordos do padrão lipídico (ésteres metílicos). Ácidos: 6- láurico (C12:0); 8- mirístico (C14:0); 10- pentadecanóico (C15:0); 11- pentadecenóico (C15:1, c10); 12- palmítico (C16:0); 13- palmíticooleico (C16:1, c7); 16- esteárico (C18:0); 18- oleico (C18:1, c9), 19- linoleico (C18:2, t9, 12), 20- linoleico (C18:2, c9, 12), 22- γ-linolénico (C18:3, c6, 9, 12); 25- heneicosanóico (C21:0); 26- eicosadienóico (C20:2, c11, 14); 27- beénico (C22:0); 30- eicosatrenóico (C20:3 c11, 14, 17); 34- lignocérico (C24:0); 35- eicosapentaenóico (C20:5, c5, 8, 11, 14, 17).

A composição em ácidos gordos das macroalgas em estudo (média $\pm$ desvio padrão, n=2 replicados por amostra) encontra-se no Quadro 7.

4.2.1. Ácidos gordos saturados (SFA)

Os ácidos gordos saturados mais abundantes nas algas analisadas são o ácido palmítico (C16:0) para as espécies *Cystoseira abies-marina* (31,27% $\pm$ 2,15), *Fucus spiralis* (18,19% $\pm$ 1,68), *Codium elisabethae* (34,87% $\pm$ 0,10), *Porphyra* sp. (30,65% $\pm$ 1,23), *Osmundea pinnatifida* (43,66% $\pm$ 0,25), *Pterocliadiella capillacea* (52,06% $\pm$ 0,56) e *Sphaerococcus coronopifolius* (44,49% $\pm$ 0,95) do total de FAME; o ácido mirístico (C14:0) para a *Chaetomorpha pachynema* (17,66% $\pm$ 0,50) e o ácido Lignocérico (C24:0), que foi máximo para a *Porphyra* sp. (43,80% $\pm$ 2,28) do total de FAME. Outros ácidos gordos saturados estão presentes nas espécies estudadas, mas em menor percentagem, entre estes, os ácidos láurico (C12:0), heneicosanóico (C21:0) e beénico (C22:0) (Quadro 7).

A percentagem de ácidos gordos saturados total das macroalgas em estudo é mais elevada nas espécies *Porphyra* sp. ($79,33\% \pm 0,28$), *Osmundea pinnatifida* ($80,42\% \pm 0,50$), *Pterocliadiella capillacea* ($82,89\% \pm 0,60$) e *Sphaerococcus coronopifolius* ($81,33\% \pm 0,22$) do total de FAME (Gráfico 1).

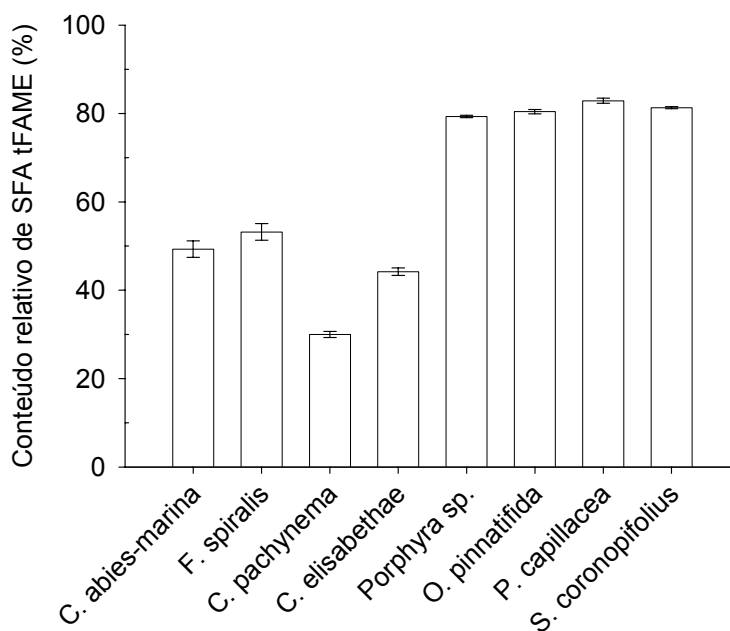


Gráfico 1 – Ácidos gordos saturados (SFA), do total de FAME, das macroalgas em análise (média $\pm$ desvio padrão, $n=2$ replicados por amostra).

4.2.2. Ácidos gordos monoinsaturados (MUFA)

Os ácidos gordos monoinsaturados mais abundantes nas algas analisadas são o ácido oleico (C18:1 n-9) para as espécies *Cystoseira abies-marina* ($14,77\% \pm 0,10$), *Fucus spiralis* ($14,28\% \pm 0,25$), *Codium elisabethae* ($25,45\% \pm 0,19$), *Porphyra* sp. ($3,04\% \pm 0,49$), *Osmundea pinnatifida* ($12,08\% \pm 0,07$) e *Pterocliadiella capillacea* ($4,56\% \pm 0,04$) do total de FAME; o ácido palmiticoleico (C16:1) para a espécie *Sphaerococcus coronopifolius* ($4,05\% \pm 0,01$) do total de FAME. O ácido pentadecanoico (C15:1) é máximo para a *Chaetomorpha pachynema* ($27,24\% \pm 0,30$) do total de FAME. O ácido eicosenóico (C20:1) está presente nas algas estudadas em menor percentagem (Quadro 7).

A percentagem de ácidos gordos monoinsaturados das macroalgas em estudo é máxima para as espécies *Chaetomorpha pachynema* (36,89% $\pm$ 0,09) e *Codium elisabethae* (35,21% $\pm$ 0,49) do total de FAME (gráfico 2).

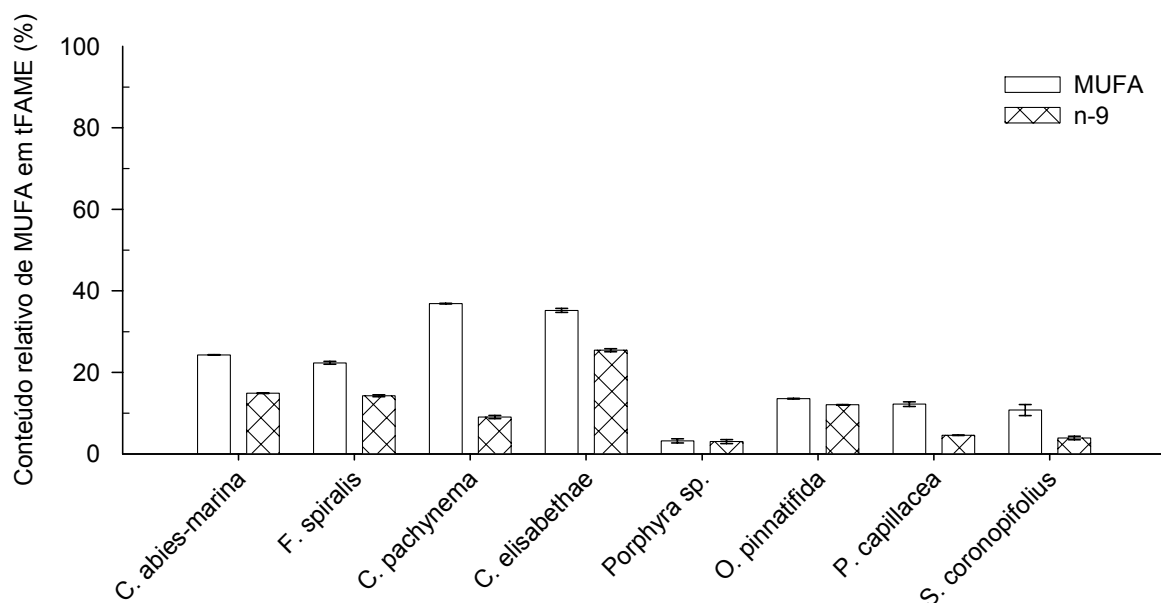


Gráfico 2 - Ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e ácidos gordos da família omega-9, do total de FAME, das macroalgas em análise (média $\pm$ desvio padrão, n=2 replicados por amostra).

A proporção de ácidos gordos monoinsaturados da família omega 9 é elevada, correspondendo quase sempre a mais de metade da fracção de MUFA.

4.2.3. Ácidos gordos polinsaturados (PUFA)

A percentagem total de ácidos gordos polinsaturados das macroalgas em estudo varia entre 33,11% $\pm$ 0,60 para a espécie *Chaetomorpha pachynema* e 4,89% $\pm$ 0,03 para a espécie *Pterocladia capillacea* do total de FAME (Gráfico 3).

A proporção de ácidos gordos da família omega 3 varia bastante entre as espécies estudadas sendo máxima para a *Cystoseira abies-marina* (20,02% $\pm$ 1,80) e mínima em *Chaetomorpha pachynema* (1,75% $\pm$ 0,14) do total de FAME. A proporção em ácidos gordos da família omega 6, à semelhança do anterior, varia bastante atingindo o valor máximo em *Chaetomorpha pachynema* (31,37% $\pm$ 0,74) e o mínimo em *Osmundea pinnatifida* (1,23% $\pm$ 0,03) do total de FAME (Quadro 7).

O ácido gordo polinsaturado mais abundante nas espécies estudadas é o ácido eicosatrenóico (C20:3 n-3) (Quadro 7).

Todas as algas são constituídas pelo ácido linoleico (C18:2 n-6). No entanto, o seu conteúdo relativo varia bastante, tendo valores mais elevados para *Cystoseira abies-marina* (5,62% $\pm$ 0,06), *Fucus spiralis* (8,66% $\pm$ 0,15), *Chaetomorpha pachynema* (18,54% $\pm$ 0,56) e *Codium elisabethae* (7,95% $\pm$ 0,07) do total de FAME, sendo inferior nas restantes espécies (Quadro 7).

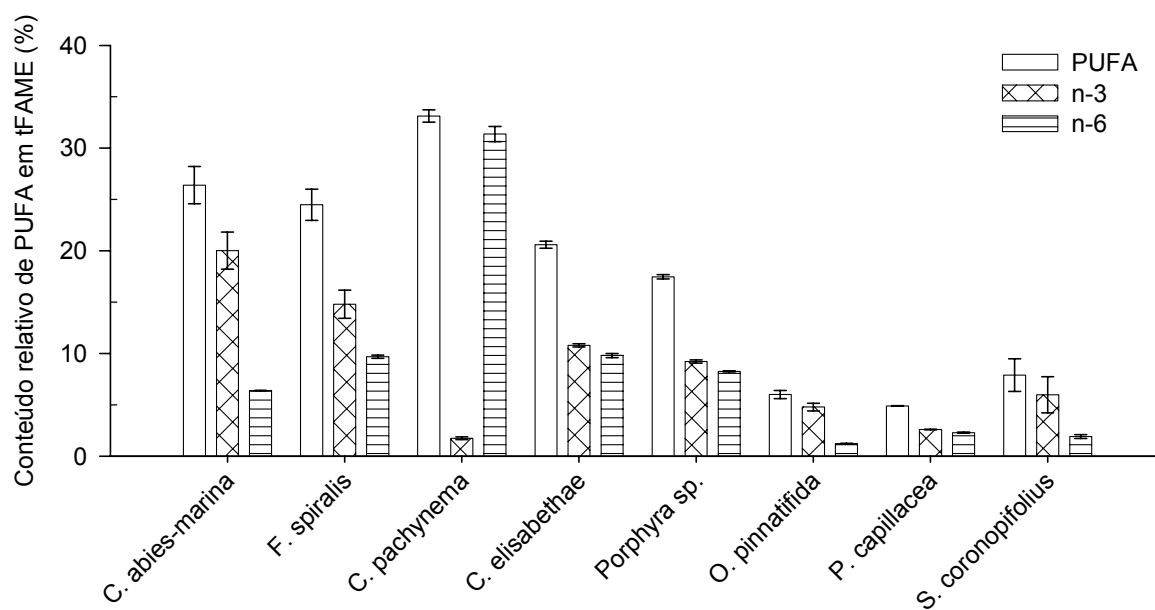


Gráfico 3 - Ácidos gordos polinsaturados (PUFA), omega-3 e omega-6, do total de FAME, das macroalgas em análise (média $\pm$ desvio padrão, n=2 replicados por amostra).

O ácido α -ALA (C18:3 n-3), é identificado apenas na alga vermelha *Porphyra sp.* (3,34% $\pm$ 0,13) (Quadro 7).

O ácido eicosadienóico (C20:2 n-6) está presente em todas as espécies, com excepção do *Codium elisabethae*, da *Osmundea pinnatifida* e da *Pterocladia capillacea*, com valores inferiores a 1% do conteúdo em ácidos gordos total (Quadro 7).

O ácido eicosatrienóico (C20:3 n-6), é identificado apenas na alga vermelha *Porphyra sp.* (5,36% $\pm$ 0,02) (Quadro 7).

O ácido eicosapentanoico (C20:5 n-3) é identificado apenas na alga verde *Chaetomorpha pachynema* (0,47% $\pm$ 0,12) (Quadro 7).

4.2.4. Ácidos gordos de configuração *trans* (TFA)

O ácido gordo linoleico (C18:2 n-6t), ou ácido *trans*-9,12 octadecadienóico, de configuração *trans* existe em algumas das espécies analisadas, sendo mais elevado em *Chaetomorpha pachynema*, com um valor de 11,32% $\pm$ 0,08 e nas espécies *Porphyra* sp., *Pterocladia capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius*, o seu valor é inferior a 1 % do total de FAME (Gráfico 4).

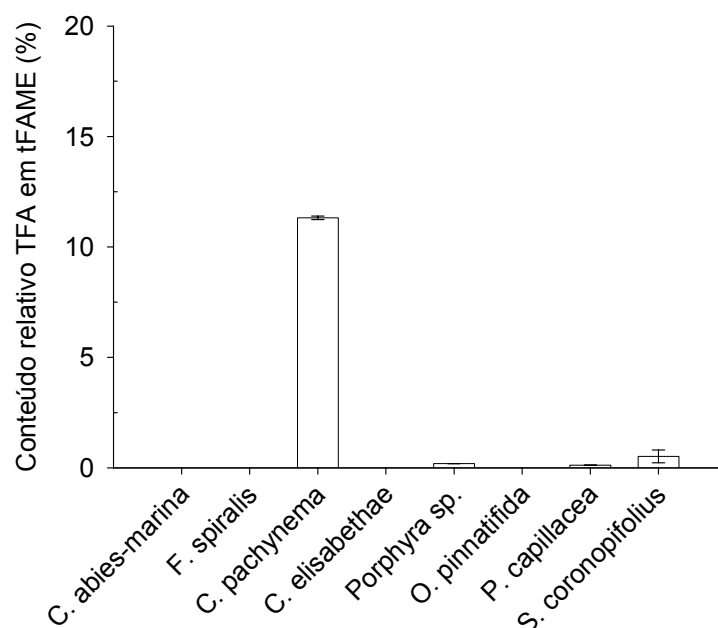


Gráfico 4 - Ácidos gordos *trans* (TFA), do total de FAME, das macroalgas em análise (média $\pm$ desvio padrão, n=2 replicados por amostra).

4.2.5. Índices nutricionais para as algas em estudo

Razão n-6/n-3

Os valores da razão n-6/n-3 foram baixos em todas as espécies (Gráfico 5), variando entre $1,41 \pm 0,00$ e $0,32 \pm 0,03$, com exceção da *Chaetomorpha pachynema* que apresenta uma razão n-6/n-3 muito elevada de $14,05 \pm 3,78$ (Quadro 7).

Razão h/H

A razão entre os ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos (h/H) foi baixa em todas as espécies (Gráfico 5), variando entre $1,64 \pm 0,09$ e $0,15 \pm 0,00$ (Quadro 7).

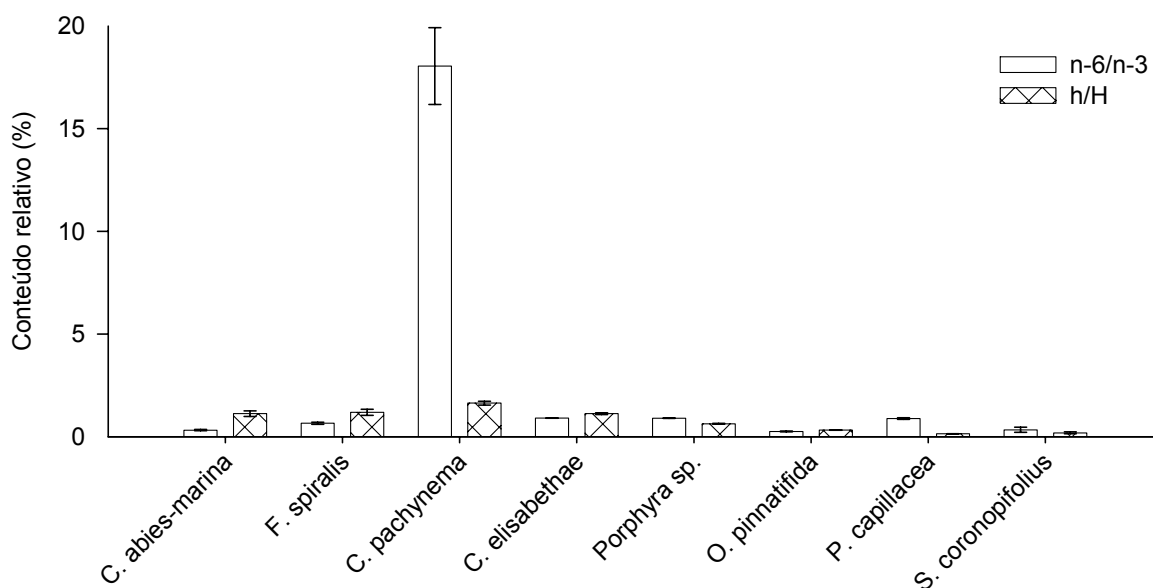


Gráfico 5 – Índices nutricionais das macroalgas em análise. n-6/n-3 (razão entre ácidos gordos omega-6 e omega-3) e h/H (razão entre ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos) (média $\pm$ desvio padrão, n=2 replicados por amostra).

4.2.6. Avaliação da semelhança da composição em FAME das espécies estudadas dentro de cada grupo taxonómico (Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta)

Pretendeu-se verificar a existência de uma relação entre os grupos de ácidos gordos (SFA, MUFA, PUFA), as famílias de ácidos gordos (n-3, n-6 e n-9) das espécies em estudo e

o grupo taxonómico ao qual pertencem Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta. O Gráfico 6 apresenta as fracções relativas de cada grupo e família de ácidos para as espécies em estudo.

Relativamente à composição em SFA, MUFA e PUFA existem diferenças (PERMANOVA, $p < 0,05$) entre os grupos taxonómicos das algas em estudo (castanhas, verdes e vermelhas) e entre as espécies de cada grupo. Os grupos taxonómicos em estudo são todos diferentes entre si (Pair-wise, $p < 0,05$), sendo que, a fracção que contribui com a maior diferença é a SFA (SIMPER), explicando, 50,76 % da diferença entre as algas castanhas e verdes, 64,10 % da diferença entre as algas castanhas e vermelhas e 67,86 % da diferença entre as algas verdes e vermelhas. As espécies dentro dos grupos taxonómicos são, também, diferentes entre si (Pair-wise, $p < 0,05$), excepto as duas espécies de algas castanhas (Pair-wise, $p > 0,05$). Nas algas verdes a fracção SFA explica 60,35% da diferença entre as várias espécies (SIMPER), sendo superior no *Codium elisabethae*. Nas algas vermelhas, *Porphyra* sp. é diferente das outras espécies, sendo esta diferença devida à fracção PUFA (Pair-wise, $p < 0,05$), que é superior nesta espécie (Anexo B).

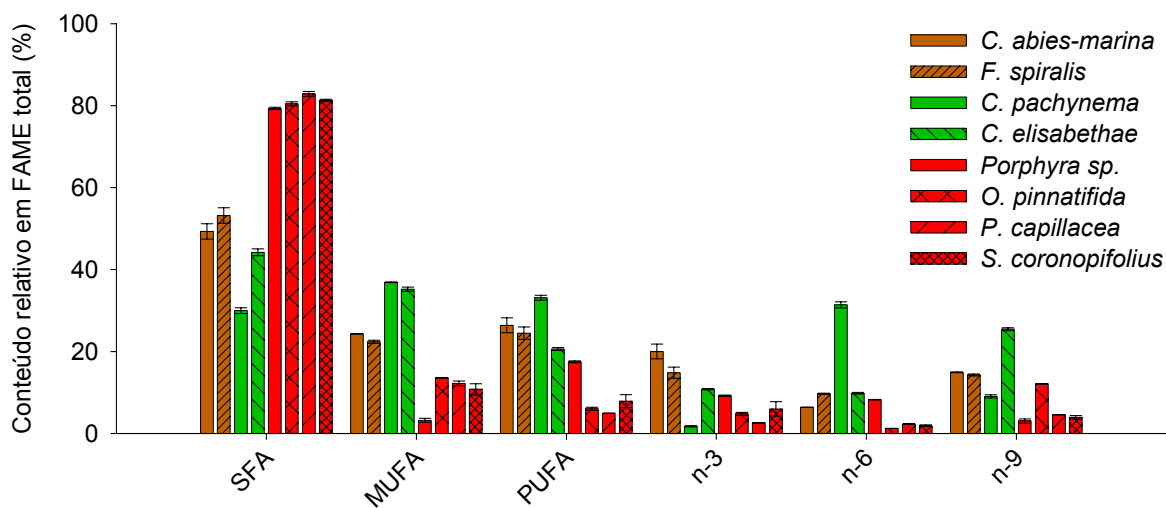


Gráfico 6 – Conteúdo relativo das várias famílias de ácidos gordos (ésteres metílicos) relativamente aos (FAME) totais das macroalgas em análise. SFA (ácidos gordos saturados); MUFA (ácidos gordos monoinsaturados); PUFA (ácidos gordos polinsaturados); n-3 (ácidos gordos omega-3); n-6 (ácidos gordos omega-6); n-9 (ácidos gordos omega-9) (média $\pm$ desvio padrão, $n=2$ replicados por amostra).

As famílias de ácidos gordos (n-3, n-6 e n-9) são diferentes entre os grupos taxonómicos das algas em estudo (castanhas, verdes e vermelhas) e entre as espécies (PERMANOVA, $p < 0,05$). Os grupos taxonómicos em estudo são todos diferentes entre si (Pair-wise, $p < 0,05$). A família n-6 explica 54,96 % da diferença entre as algas castanhas e verdes (SIMPER); a família n-3 explica 55,79 % da diferença entre as algas castanhas e vermelhas (SIMPER), sendo superior nas algas castanhas e a família n-6 explica 63,96 % da diferença entre as algas verdes e vermelhas (SIMPER). As espécies dentro dos grupos taxonómicos são também diferentes relativamente ao conteúdo em ácidos gordos das famílias n-3, n-6 e n-9 (Pair-wise, $p < 0,05$). A única exceção é a semelhança entre *Pterocladella capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius* (Pair-wise, $p > 0,05$), sendo a semelhança explicada em 95,21 % pela fracção n-3 (SIMPER). Nas algas castanhas a fracção n-3 explica 72,47 % das diferenças (SIMPER), sendo superior na *Cystoseira abies-marina*. Nas algas verdes a fracção n-6 explica 57,07 % das diferenças (SIMPER), sendo superior na *Chaetomorpha pachynema* (Anexo C).

5. DISCUSSÃO

As Rhodophyta são o grupo taxonómico dominante na zona intertidal da ilha de São Miguel (Neto, 2000a,b; Couto, 2003; Wallenstein & Neto, 2006). Devido à sua abundância, foi analisado um maior número de algas vermelhas, relativamente aos outros grupos. Assim, foram estudadas quatro espécies de algas vermelhas (*Porphyra* sp., *Osmundea pinnatifida*, *Pterocladia capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius*), duas espécies de algas verdes (*Chaetomorpha pachynema* e *Codium elisabethae*,) e duas espécies de algas castanhas (*Cystoseira abies-marina* e *Fucus spiralis*). O género *Sphaerococcus* foi analisado pela primeira vez neste estudo.

5.1. Teor de lípidos totais

Segundo Burtin (2003), os lípidos representam entre 1 e 5 % do peso seco das algas. O teor em lípidos das algas em análise está compreendido entre esses valores. Os resultados obtidos para as espécies *Cystoseira abies-marina*, *Fucus spiralis*, *Codium elisabethae*, *Chaetomorpha pachynema* e *Sphaerococcus coronopifolius* são reportados pela primeira vez neste estudo. Não existem dados sobre o género *Sphaerococcus* e outros autores obtiveram resultados semelhantes com outras espécies dos restantes géneros: *Cystoseira* (*Cystoseira osmundacea* - Khotimchenko *et al.*, 2002); género *Fucus* (*F. vesiculosus* - Fleurence *et al.*, 1994; *F. distichus*; Khotimchenko *et al.*, 2002; *F. serratus* – Kim *et al.*, 1996 e Marsham *et al.*, 2007); género *Chaetomorpha* (*C. linza* – Khotimchenko, 1993; *C. linum* - Khotimchenko *et al.*, 2002); género *Codium* (*C. fragile* – Khotimchenko, 1993; Xu *et al.*, 1998, obteve valores de lípidos totais entre os 7,3 e os 21%, para as espécies *C. duthiae*, *C. fragile*, *C. galeatum*, *C. muelleri*, *C. harveyi* e *C. pomoides*; McDermid & Stuercke, 2003). Os resultados obtidos para os géneros *Porphyra* e *Osmundea* são coincidentes com os reportados por outros autores: *Porphyra* (*P. amplissima* e *P. umbilicalis* - Blouin *et al.*, 2006; *Porphyra* sp. - Sánchez-Machado *et al.*, 2004 e Dawczynski *et al.*, 2007; *P. umbilicalis* - Fleurence, *et al.*, 1994) e *Osmundea pinnatifida* - Marsham *et al.*, 2007). Para o género *Pterocladia*, o teor em lípidos obtido foi relativamente baixo (0,06 g/100g), quando comparado com o valor de $2,3 \pm 0,5$ g/100g obtido por McDermid *et al.* (2007). As macroalgas possuem perfis de lípidos que podem variar quer geográfica, quer sazonalmente (Johns *et al.*, 1979; Nelson *et al.*, 2002b). Seria necessário voltar a colectar esta espécie, no mesmo local e na mesma altura do ano, de forma a avaliar a variação sazonal do teor em lípidos obtido.

5.2. Ácidos gordos

Existe uma grande tradição de consumo de algas marinhas no Extremo Oriente e no Pacífico, enquanto que nos países ocidentais, o principal uso de algas é como fonte de ficocolóides (alginatos, carragenatos e agar), agentes espessantes e gelificantes para vários fins industriais, incluindo o uso na confecção de alimentos (Burtin, 2003). O valor nutritivo das macroalgas marinhas varia com a espécie (Hwang *et al.*, 2007), podendo o conteúdo em ácidos gordos variar devido a factores ambientais e genéticos (Nelson *et al.*, 2002b).

Os ácidos gordos saturados, palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0) e monoinsaturado, oleico (C18:1 n-9), são os mais abundantes nas algas estudadas. Este resultado está de acordo com a literatura existente consultada quer para os géneros, quer para as espécies em estudo (género *Cystoseira* - Khotimchenko *et al.*, 2002; género *Fucus* - Fleurence *et al.*, 1994; Khotimchenko *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 1996; género *Chaetomorpha* - Khotimchenko, 1993; Khotimchenko *et al.*, 2002; género *Codium* - Khotimchenko, 1993, 1998; Xu *et al.*, 1998; género *Porphyra* (*P. amplissima* e *P. umbilicalis* - Blouin *et al.*, 2006; *Porphyra* sp. - Sánchez-Machado *et al.*, 2004 e Dawczynski *et al.*, 2007; *P. umbilicalis* - Fleurence, *et al.*, 1994). Para as espécies *Osmundea pinnatifida*, *Pterocladia capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius* não existem resultados publicados sobre a sua composição em ácidos gordos. Da mesma forma, os resultados obtidos para o teor em ácidos gordos saturados e monoinsaturados das espécies *Cystoseira abies-marina*, *Fucus spiralis*, *Codium elisabethae*, *Chaetomorpha pachynema*, *Osmundea pinnatifida*, *Pterocladia capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius* são reportados pela primeira vez no presente trabalho. O ácido gordo saturado mais abundante em *Porphyra* sp. foi o lignocérico (C24:0), seguido do palmítico, resultado que não está de acordo com os obtidos pelos autores acima referidos (em que o palmítico é o ácido gordo saturado mais abundante).

Os ácidos gordos polinsaturados (PUFA's), obtidos na dieta, têm efeito em diversos processos com impacto na saúde e em doenças crónicas como a regulação dos níveis de lípidos no plasma, função imune e cardiovascular, desenvolvimento neuronal e função visual. Os PUFA's ingeridos são distribuídos, virtualmente, por todas as células do corpo humano, tendo efeito na composição e função das membranas, síntese de eucosanóides, sinalização celular e na regulação da expressão de genes (Benatti *et al.*, 2004). O corpo humano não tem a capacidade de produzir os ácidos gordos α -ALA e LA, sendo por isso considerados essenciais. Os ácidos gordos α -ALA e LA, que provêm da dieta humana, são precursores do EPA e do DHA, e do AA, respectivamente (Su *et al.*, 1999). Neste estudo, todas as algas

analisadas são constituídas pelo ácido gordo LA, um ácido gordo essencial. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por diversos autores para o género ou para a espécie de alga em questão (género *Cystoseira* - Khotimchenko, *et al.*, 2002; género *Fucus* - Fleurence, *et al.*, 1994; Khotimchenko, *et al.*, 2002; Kim, *et al.*, 1996; género *Chaetomorpha* - Khotimchenko, 1993; Khotimchenko, *et al.*, 2002; género *Codium* - Khotimchenko, 1993, 1998; Xu, *et al.*, 1998; *Porphyra* - Blouin *et al.*, 2006, Sánchez-Machado *et al.*, 2004, Dawczynski *et al.*, 2007, Fleurence, *et al.*, 1994), com excepção das espécies *Osmundea pinnatifida*, *Pterocliadiella capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius*, para as quais não existem resultados publicados sobre o conteúdo em ácidos gordos. Apenas foram identificados os ácidos gordos α -ALA, na espécie *Porphyra* sp. ($3,34\% \pm 0,13$, %) do total de FAME e o EPA, na espécie *Chaetomorpha pachynema*. Outros autores obtiveram resultados semelhantes para o género *Porphyra* (*P. amplissima* e *P. umbilicalis* - Blouin *et al.*, 2006; *Porphyra* sp. - Sánchez-Machado *et al.*, 2004 e Dawczynski *et al.*, 2007; *P. umbilicalis* - Fleurence, *et al.*, 1994), com valores (em percentagem) compreendidos entre $0,23 \pm 0,16$ e $5,66 \pm 4,74$ e para o género *Chaetomorpha* (Khotimchenko, *et al.*, 2002), com um valor de 1,9 % do total de FAME, respectivamente. Contudo, segundo os autores supra mencionados, estes ácidos gordos foram também identificados nas outras espécies/géneros em estudo. Para as espécies *Osmundea pinnatifida*, *Pterocliadiella capillacea* e *Sphaerococcus coronopifolius* não existem resultados publicados. O facto destes dois ácidos gordos não terem sido identificados em todas as espécies em estudo, pode estar relacionado com um conjunto de factores: ambientais, geográficos e genéticos. De acordo com Dawes (1998) (*in* Marinho-Soriano *et al.*, 2006), as algas marinhas apresentam uma grande variação no conteúdo de nutrientes, que está relacionada com diversos factores ambientais como a temperatura da água, a salinidade, a luz e os nutrientes disponíveis. Sendo que, a composição em lípidos e ácidos gordos pode também variar no tempo (Honya *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 2002; Ivesa *et al.*, 2004; Kostetsky *et al.*, 2004; Khotimchenko, 2006, Renaud & Luong-Van, 2006). Nas três maiores classes de macroalgas, a composição em lípidos apresenta alguma sazonalidade. Os níveis de lípidos são mais elevados no Inverno e na Primavera e mais baixos no Verão (Johns *et al.*, 1979; Nelson *et al.*, 2002b). Segundo Kim *et al.* (1996), a proporção de ácidos gordos, na espécie *Fucus serratus*, pode depender da temperatura, da luz, dos níveis de azoto e da variação da salinidade na água do mar. Seriam necessários novos estudos, com recolhas das espécies analisadas, em igual período do ano (nos meses de Janeiro/Fevereiro) e locais de recolha, para confirmar os resultados obtidos.

5.3. Índices nutricionais

Com o aumento da quantidade de ácidos gordos n-6 nas dietas ocidentais, os produtos metabólicos eicosanóides provenientes do AA, especificamente as prostaglandinas, os tromboxanos, as leucotrinas, os ácidos gordos hidroxi- e as lipoxinas são formados em quantidades superiores àquelas que seriam de esperar, se fossem formados a partir de ácidos gordos n-3, especialmente a partir do EPA. Os eicosanóides provenientes do AA são biologicamente activos em pequenas quantidades e, se forem formados em grandes quantidades, contribuem para a formação de trombos e placas de gordura, desordens alérgicas e inflamatórias, particularmente em pessoas susceptíveis. Uma dieta rica em ácidos gordos n-6 altera o estado fisiológico normal para um estado fisiológico de características pró-tombóticas e pró-agregatórias, com o aumento da viscosidade do sangue, *vasospasm*, vasoconstrição e uma diminuição do tempo de hemorragias (Simopoulos, 2002). As espécies estudadas apresentam razões n-6/n-3 baixas, dentro dos limites considerados saudáveis por diversos autores/organizações (FAO/WHO, 1994; Simopoulos *et al.*, 1999; NCM, 2004) e em concordância com os resultados obtidos por outros autores para os respectivos géneros/espécies (género *Cystoseira*: *Cystoseira osmundacea* - Khotimchenko *et al.*, 2002; género *Fucus*: *F. vesiculosos* - Fleurence *et al.*, 1994, *F. distichus* - Khotimchenko *et al.*, 2002; *F. serratus* – Kim *et al.*, 1996); género *Codium*: *C. fragile* – Khotimchenko, 1993, *C. duthiae*, *C. fragile*, *C. galeatum*, *C. muelleri*, *C. harveyi* e *C. pomoides* - Xu *et al.*, 1998 e género *Porphyra* (*P. amplissima* e *P. umbilicalis* - Blouin *et al.*, 2006; *Porphyra* sp. - Sánchez-Machado *et al.*, 2004 e Dawczynski *et al.*, 2007; *P. umbilicalis* - Fleurence, *et al.*, 1994). Apenas a *Chaetomorpha pachynema* apresenta uma razão n-6/n-3 muito alta, quando comparada com as outras espécies analisadas e com o resultado de 0,18 obtido por Khotimchenko *et al.* (2002).

A determinação da proporção h/H é importante, uma vez que os ácidos gordos hipocolesterolémicos diminuem o colesterol-LDL (lipoproteína de baixa densidade), também denominado de mau colesterol e os ácidos gordos hipercolesterolémicos aumentam-no (Leite *et al.*, 2007). As algas estudadas apresentam uma relação entre os ácidos gordos hipocolesterolémicos e hipercolesterolémicos baixa, podendo ser consideradas um alimento saudável do ponto de vista do seu conteúdo em lípidos. Estudos clínicos mostram que dietas ricas em MUFA's (e baixas em SFA's) fazem diminuir o colesterol total no plasma e o colesterol-LDL, bem como dietas ricas em PUFA's ou baixas em lípidos (Berry *et al.*, 1991, Grundy *et al.* 1988, Ginsberg *et al.*, 1990). Os ácidos gordos saturados são considerados

hipercolesterolémicos e os PUFA's baixam a concentração de colesterol no sangue. Os MUFA's podem ser neutros ou ter um efeito hipercolesterolémico médio (Kris-Etherton & Yu, 1997). Neste estudo, as algas vermelhas apresentam uma fracção em SFA elevada, no entanto, a razão h/H é baixa. Mais recentemente, tem aumentado o interesse sobre o efeito colesterolémico individual de cada ácido gordo na concentração do colesterol plasmático total e das colesterol-lipoproteínas (Kris-Etherton & Yu, 1997).

5.4. Relação entre a composição em ácidos gordos e os grupos taxonómicos

A composição em ácidos gordos dos lípidos totais oferece, potencialmente, informação importante para a taxonomia das algas marinhas, uma vez que cada filo de macroalgas marinhas tem um perfil de ácidos gordos característico (Khotimchenko, 2003). Da análise estatística realizada verificou-se que os três grupos de algas em estudo (castanhas, verdes e vermelhas) são diferentes, em grande parte, devido ao seu conteúdo em SFA, n-6 e n-3. Esta análise revelou igualmente diferenças entre os organismos de cada grupo taxonómico, não se tendo observado uma homogeneidade entre as espécies. Isto sugere diferenças entre os grupos taxonómicos, que seria interessante comprovar através de um estudo dirigido a um maior número de espécies, dentro de cada grupo.

Um factor característico das algas verdes é a sua composição em α -ALA (Burtin, 2003). No entanto, no presente trabalho, nenhuma das espécies de algas verdes estudadas (*Chaetomorpha pachynema* e *Codium elisabethae*) tinha este ácido no seu perfil de ácidos gordos e *C. pachynema* apresentou na sua composição o EPA, um ácido particularmente comum em algas vermelhas e castanhas (Burtin, 2003). Este facto poderá estar relacionado com um conjunto de factores ambientais, geográficos e genéticos (ver ponto 5.2). Segundo Khotimchenko (2003), as espécies do género *Codium* possuem os ácidos palmítico, oleico, LA, α -ALA e hexadecatrienóico, como principais componentes, perfazendo no total cerca de 65% do total de ácidos gordos.

De um modo geral, as algas vermelhas e castanhas têm em comum uma maior abundância em ácidos gordos de vinte átomos de carbono como: o EPA e o AA (Burtin, 2003). Isso não foi observado no presente estudo. Vários autores (Johns *et al.*, 1979; Fleurence *et al.*, 1994; Kotmichenko *et al.*, 2002; Sánchez-Machado *et al.*, 2004; Blouin *et al.*, 2006; Dawczynski *et al.* 2007) referem a prevalência de PUFA's de vinte carbonos, especialmente o AA e o EPA, nas algas vermelhas. Por outro lado, Johns *et al.* (1979), afirmou que as algas vermelhas são caracterizadas, também, pelo seu conteúdo em ácido

palmítico (C16:0), que também apresentou elevado valor nas algas estudadas. As algas castanhas são caracterizadas por níveis elevados do ácido oleico (C18:1 n-9) (Johns *et al.*, 1979; Fleurence *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 1996; Khotimchenko *et al.*, 2002), facto observado no presente estudo para as espécies *Cystoseira abies-marina* e *Fucus spiralis* que possuem conteúdos elevados desse ácido gordo, quando comparadas com as outras espécies em estudo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Arquipélago dos Açores, o consumo de algas (*Fucus spiralis*, *Porphyra* sp. e *Osmundea pinnatifida*) é generalizado e aceite como prática comum em algumas ilhas. Contudo, apesar do uso alimentar conhecido das macroalgas acima referidas, não existem estudos científicos de aplicação biotecnológica, a nível regional, que aproveitem e desenvolvam os conhecimentos empíricos perpetuados, durante anos, pela população açoriana. Este trabalho visa acrescentar informação sobre as espécies consumidas localmente, bem como a outras espécies aqui estudadas (*Cystoseira abies-marina*, *Chaetomorpha pachynema*, *Codium elisabethae* e *Shpaerococcus coronopifolius*), ao nível da sua composição em lípidos e ácidos gordos, caracterizando um produto regional que poder ser explorado comercialmente. No futuro será conveniente determinar o teor em proteínas e compostos fenólicos totais de cada espécie, relacionando-os com a sua actividade antioxidante.

As macroalgas marinhas, por possuírem uma composição nutricional atractiva, em especial na sua componente de PUFA's e EFA's, podem ser fontes nutricionais muito importantes nos países ocidentais. Todas as algas estudadas são fontes importantes de ácidos gordos essenciais, nomeadamente o LA, bem como de PUFA's. Estas espécies poderão contribuir, de uma forma geral, para a manutenção e regulação de várias doenças características do estilo de vida Ocidental. As espécies *Chaetomorpha pachynema* e *Porphyra* sp. devem ser tidas em conta para estudos posteriores, por possuírem os ácidos gordos EPA e o α -ALA, respectivamente.

No presente trabalho verificou-se que os grupos taxonómicos estudados são diferentes, principalmente devido à sua proporção em ácidos gordos saturados, mas são necessários estudos posteriores, envolvendo um número maior de espécies e recolhas em todas as estações do ano, para detectar com maior precisão o perfil de ácidos gordos por grupo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Algae Research

[<http://www.nmnh.si.edu/botany/projects/algae/classification.htm>]

- Benatti, P., Peluso, G., Nicolai, R. & Calvani, M. (2004) Polyunsaturated Fatty Acids: Biochemical, Nutritional and Epigenetic Properties. *Journal of the American College of Nutrition* **23** (4), 281-302.
- Berry, E.M., Eisenberg, S., Haratz, D., Friedlander, Y., Norman, Y., Kaufmann, N.A. & Stein, Y. (1991) Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins - the Jerusalem Nutrition Study: high MUFA's vs high PUFA's. *American Journal of Clinical Nutrition* **53** (4), 899-907.
- Beydoun, M.A., Kaufman, J.S., Satia, J.A., Rosamond, W. & Folsom, A.R. (2007) Plasma n-3 fatty acids and the risk of cognitive decline in older adults: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *American Journal of Clinical Nutrition* **85** (4), 1103-1111.
- Black, W. A. (1950) The seasonal variation in weight and chemical composition of the common British Laminariaceae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **29** (1), 45-72.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37** (8), 911-917.
- Blouin, N., Calder, B.L., Perkins, B. & Brawley, S.H. (2006) Sensory and fatty acid analyses of two Atlantic species of *Porphyra* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* **18**, 79-81.
- Broughton, K.S., Johnson, C.S., Pace, B.K., Liebman, M. & Kleppinger, K.M. (1997) Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. *American Journal of Clinical Nutrition* **65** (4), 1011-1017.
- Bucher, H.C., Hengstler, P., Schindler, C. & Meier, G. (2002) N-3 Polyunsaturated Fatty

- Acids in Coronary Heart Disease: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *The American Journal of Medicine* **112** (4), 298-304.
- Burtin, P. (2003) Nutricional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry* **2** (4), 498-503.
- Carrillo, J. A. & M. Sansón (1999) *Algas. Hongos y fanerógamas marinas de Las Islas Canarias. Clave analítica*. Universidade de La Laguna, Canarias.
- Carlson, S.E. (1999) Long-chain polyunsaturated fatty acids and development of human infants. *Acta-Paediatrica* **88** (Suppl. 430), 72-77.
- Clamp, A.G., Ladha, S., Clark, D.C., Grimble, R.F. & Lund, E.K. (1997) The influence of dietary lipids on the composition and membrane fluidity of rat hepatocyte plasma membrane. *Lipids* **32** (2), 179-184.
- Clarke, K.R. & Gorley, R.N. (2001 & 2006) PRIMER v5 (& v6): User manual/tutorial, PRIMER-E, Plymouth UK.
- CLIMAAT (Interreg MAC 2.3/A3) - Clima e Meteorologia dos Arquipélagos Atlânticos
[<http://www.climaat.angra.uac.pt/>]
- Connor, W. & Connor, S.L. (2007) The importance of fish and docosahexaenoic acid in Alzheimer disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **85**, 929–30.
- Connor, W.E. (2000) Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **71** (suppl), 171S–5S .
- Connor, W.E. *vide* Connor, W.E. (1994) N-3 Fatty acids and heart disease. *In*: Kritchevsky D, Carroll KK, eds. Nutrition and disease update: heart disease. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society.
- Conquer, J.A. & Holub, B.J. (1996) Supplementation with an algae source of docosahexanoic acid increases (n -3) fatty acid status and alters selected risk factors for heart disease in vegetarian subjects. *Journal of Nutrition* **126**, 3032-9.

- Couto, R. P. (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.
- Davis, B.C. & Kris-Etherton, P.M. (2003) Achieving optimal essential fatty acid status in vegetarians: current knowledge and practical implications. *American Journal of Clinical Nutrition* **78** (suppl), 640–646.
- Dawczynski, C., Schubert, R. & Jahreis, G. (2007) Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry* **103**, 891-899.
- Dawes, 1998 *vide* Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A. & Moreira, W.S.C. (2006) Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technology* **97** (18), 2402-2406.
- de Lorgeril, M.; Renaud, S.; Mamelle, N.; Salen, P.; Martin, J.L.; Monjaud, I.; Guidollet, J.; Touboul P. & Delaye, J. (1994) Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* **343**:1454–1459.
- de Pablo, M.A. & Cienfuegos, G.A. (2000) Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunology and Cell Biology* **78** (1), 31–39.
- Erkkilä, A.T., Lehto, S., Pyörälä, K. & Uusitupa, M.I.J. (2003) n-3 Fatty acids and 5-y risks of death and cardiovascular disease events in patients with coronary artery disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **78** (1), 65-71.
- FAO & WHO (1995) Joint Consultation: *Fats and Oils in Human Nutrition*. Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization FAO Technical Papers.
[<http://www.fao.org/docrep/v4700e/v4700e00.htm>]
- FAO Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service (2007). *Aquaculture production: quantities 1950-2005*. FISHSTAT Plus - Universal software for fishery statistical time series [online or CD-ROM]. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

[<http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>]

- Fleurence, J. (1999) Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology* **10**, 25-28.
- Fleurence, J., Guitier, G., Mabeau, S. & Leray, C. (1994) Fatty acids from 11 marine macroalgae of the French Brittany coast. *Journal of Applied Phycology* **6**, 527-532.
- Gibson, R.A. & Makrides, M. (2000) n-3 Polyunsaturated fatty acid requirements of term infants. *American Journal of Clinical Nutrition* **71** (1), 251-255.
- Ginsberg, H.N., Barr, S.L., Gilbert, A., Karmally, W., Deckelbaum, R., Kaplan, K., Ramakrishnan, R., Holleran, S. & Dell, R.B. (1990) Reduction of plasma cholesterol levels in normal men on an American Heart Association Step 1 diet or a Step 1 diet with added monounsaturated fat. *New England Journal of Medicine* **322** (9), 574-579.
- Grundey, S.M., Florentin, L., Nix, D. & Whelan, M.F. (1988) Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for reducing raised levels of plasma cholesterol in man. *American Journal of Clinical Nutrition* **47** (6), 965-969.
- Guschina, I.A. & Harwood, J.L. (2006) Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Progress in Lipid Research* **45**, 160-186.
- Harper, C.R. & Jacobson, T.A. (2003) Beyond the Mediterranean diet: the role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. *Preventive Cardiology* **6** (3), 136-146.
- Harper, C.R. & Jacobson, T.A. (2005) Usefulness of Omega-3 Fatty Acids and the Prevention of Coronary Heart Disease. *American Journal of Cardiology* **96** (11), 1521-1529.
- 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** (1), 25-29.
- Hwang, E.K., Amano, H. & Park, C.S. (2007) Assessment of the nutritional value of

- Capsosiphon fulvens (Chlorophyta): developing a new species of marine macroalgae for cultivation in Korea. *Journal of Applied Phycology* **19** (6), 787-793.
- Ignarro, L.J., Balestrieri, M.L. & Napoli, C. (2007) Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: An update. *Cardiovascular Research* **73**, 326-340.
- Instituto Hidrográfico
[<http://www.hidrografico.pt/hidrografico/>]
- Iveša, L., Blažina, 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.
- James, M.L. & Cleland, L.G. (1997) Dietary n-3 fatty acids and therapy for rheumatoid arthritis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* **27** (2), 85-97.
- Johns, R.B., Nichols, P.D. & Perry, G.J. (1979) Fatty acid composition of ten marine algae from Australian waters. *Phytochemistry* **18** (5), 799-802.
- Jumpsen & Clandinin, 1995 *vide* Wroble, M., Mash, C., Williams, L. & McCall, R.B. (2002) Should long chain polyunsaturated fatty acids be added to infant formula to promote development? *Journal of Applied Developmental Psychology* **23** (1), 99-112.
- Khotimchenko, S.V. (1993) Fatty acids of green macrophytic algae from the sea of Japan. *Phytochemistry* **32** (5), 1203-1207.
- Khotimchenko, S.V. (2003) Fatty Acids of Species in the Genus *Codium*. *Botanica Marina* **46**, 456-460.
- Khotimchenko, S.V. (1995) Uncommon 16:1 (n-5) acid from *Dictyota dichotoma* and fatty acids of some brown algae of Dictyotaceae. *Phytochemistry* **38** (6), 1411-1415.
- Khotimchenko, S.V. (2006) Variations in lipid composition among different developmental stages of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta). *Botanica Marina* **49** (1), 34-38.

- Khotimchenko, S.V. & Kulikova, I.V. (1999) Lipids of two species of brown algae of the genus *Laminaria*. *Chemistry of Natural Compounds* **35** (1), 17-20.
- Khotimchenko, S.V., Vaskovsky, V.E. & Titlyanova, T.V. (2002) Fatty Acids of Marine Algae from the Pacific Coast of North Califórnia. *Botanica Marina* **45** (1), 17-22.
- Kim, M.-K., Dubacq, J.-P., Thomas, J.-C. & Giraud, G. (1996) Seasonal Variations of Triacylglycerols and Fatty Acids in *Fucus Serratus*. *Phytochemistry* **43** (1), 49-55.
- Kostetsky, E.Y., Goncharova S. N., Sanina N. M. & Shnyrov, V.L. (2004) Season influence on lipid composition of marine macrophytes. *Botanica Marina* **47** (2), 134-139.
- Kris-Etherton, P.M. & Yu, S. (1997) Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *American Journal of Clinical Nutricional* **65** (suppl), 1628-44S.
- Lee, R. E. (1999) *Phycology*. United Kingdom, Cambridge University Press.
- Leite, J., Lima, E. & Baptista, J. (2007) Azorean bovine milk conjugated linoleic acid. Effect of green pasture diet, storage and processing temperature. *Le Lait* **87**, 167–179. DOI: 10.1051/lait:2007008.
- Li, X., Fan, X., Han, L. & Lou, Q. (2002) Fatty acids of some algae from the Bohai Sea. *Phytochemistry* **59** (2), 157-161.
- Mansour, M.P., Frampton, D.M.F., Nichols, P.D., Volkman, J.K. & Blackburn, S.I. (2005) Lipid and fatty acid yield of nine stationary-phase microalgae: Applications and unusual C24C28 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Applied Phycology* **17**, 287-300.
- Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A. & Moreira, W.S.C. (2006) Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technology* **97** (18), 2402-2406.
- Marsham, S., Scott, G.W. & Tobin, M.L. (2007) Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds. *Food Chemistry* **100**, 1331-1336.

DOI:10.1016/j.foodchem.2005.11.029.

- Martin, C.A., Almeida, V.V., Ruiz, M.R., Visentainer, J.E.L., Matshushita, M., Souza, N.E. & Visentainer, J.V. (2006) Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. *Brazilian Journal of Nutrition* **19** (6), 761-770.
- McDermid, K.J. & Stuercke, B. (2003) Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *Journal of Applied Phycology* **15** (6), 513-524..
- McDermid, K.J., Stuercke, B., Balazs & George, H. (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.
- Mchugh, D.J. (2003) *A Guide to the Seaweed Industry*. FAO Fisheries Technical Paper 441, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
[<http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4765E/y4765e00.htm#Contents>]
- Morton, B., J.C. Britton & Martins, A.M.F. (1998) *Coastal Ecology of the Azores*, Sociedade Afonso Chaves, Ponta Delgada.
- Narayan, B., Miyashita, K. & Hosakawa, M. (2005) Comparative Evaluation of Fatty Acid Composition of Different Sargassum (Fucales, Phaeophyta) Species Harvested from Temperate and Tropical Waters. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **13** (4), 53-70.
- Nelson, M.M., Leighton, D.L., Phleger, C.F. & Nichols, P.D. (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, M.M., Phleger, C.F. & Nichols, P.D. (2002b) Seasonal Lipid Composition in Macroalgae of the Northeastern Pacific Ocean. *Botanica Marina* **45**, 58-65.
- Neto, A.I. (1992) Contribution to the taxonomy and ecology of the Azorean benthic marine algae. *Biological Journal of Linnean Society* **46**, 163-176.

- Neto, A.I. (2000a) Observations on the Biology and Ecology of Selected Macroalgae from the Littoral of São Miguel (Azores). *Botanica Marina* **43**, 483-498.
- Neto, A.I. (2000b) Ecology and dynamics of two intertidal algal communities on the littoral of the island of São Miguel (Azores). *Hydrobiologia* **432**, 135-147.
- Neto, A.I. (2001) Macroalgal species diversity and biomass of subtidal communities of São Miguel (Azores). *Helgoland Marine Research* **55**, 101-111.
- Neto, A.I., Tittley, A.L. & Farnham, W.F. (2000) Structure and Zonation of algal communities in the bay of São Vicent (São Miguel, Azores). *Arquipélago. Life and Marine Sciences Supplement 2* (Part A), 63-69.
- Neto A.I. & Tittley, I. (1995) Structure and Zonation of algal turf communities on the Azores: a numerical approach. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **4** (suppl), 487-504.
- Neto, A.I., Tittley, I. & Raposeiro, P.M. (2006) *Flora Marinha do Litoral dos Açores*. Secretaria Regional do Ambiente e do Mar.
- Nordic Council of Ministers (2004). Nordic nutrition recommendations 2004. 4th edition. Scanprint as, Århus 2005. Denmark.
- NP 5509, 2003. *Gorduras e Óleos de Origem Animal e Vegetal. Preparação de Ésteres Metílicos de Ácidos Gordos (ISSO 5509:2000)*. Instituto Português da Qualidade (IQA).
- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernández, Bozzo, C., Navarrete, E., Osorio, A. & Rios, A. (2006) Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry* **99** (1), 98-104.
- Parker, G.B., Gibson, N.A., Brotchie, H., Heruc, G., Rees, A.M. & Hadzi-Pavlovic, D. (2006) Omega-3 Fatty Acids and Mood Disorders. *American Journal of Psychiatry* **163**, 969-978.
- Reitan, K.I., Rainuzzo, J.R., Oie, G. & Olsen, Y. (1997) A review of the nutritional effects of

- algae in marine fish larvae. *Aquaculture* **155**, 207-221.
- Renaud, S.M. & Luong-Van, J.T. (2006) Seasonal variation in the chemical composition of tropical Australian marine macroalgae. *Journal of Applied Phycology* **18**, 381-387. DOI: 10.1007/s10811-006-9034-x.
- Richards – Rajadurai, N. (1990) Production, Marketing and Trade of Seaweeds. In *Technical Resource Papers Regional Workshop on the Culture and Utilization of Seaweeds*. Volume II Regional Seafarming Development and Demonstration, Project Ras/90/002. 27–31 August 1990, Cebu City. Philippines.
[<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB728E/AB728E00.htm#TOC>]
- Sanchez-Machado, D.I., Lopez-Cervantes, J., Lopez-Hernandez, J. & Paseiro-Losada, P. (2004) Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry* **85** (3), 439-444.
- Sanders, T.A.B. (2000) Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *American Journal of Clinical Nutrition* **71** (suppl), 176–178.
- SanGiovanni, J.P. & Chew, E.Y. (2005) The role of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Progress in retinal and eye research* **24** (1), 87-138.
- Santos-Silva, J., Bessa, R. & Silva, F. (2002) Effect 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.
- Sauerwald, T.U., Hachey, D.L., Jensen, C.L. & Heird, W.C. (1997) New insights into the metabolism of long chain polyunsaturated fatty acids during infancy. *European Journal of Medical Research* **21** (2), 88-92.
- Servel, M.-O., Claire, C., Derrien, A., Coiffard, L. & De Roeck-Holtzhauer, D.Y. (1994) Fatty acid composition of some marine microalgae. *Phytochemistry* **36** (3), 691-693.
- Sidhu, K.S. (2003) Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil.

- Regulatory Toxicology and Pharmacology* **38**, 336-344.
- Simopoulos, A.P. (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* **56**, 365–379.
- Simopoulos, A.P. (1994) Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and *trans* fatty acids? *Free radical biology & medicine* **17** (4), 367-72.
- Simopoulos, A.P. (2004) Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants in Edible Wild Plants. *Biological Research* **37**, 263-277.
- Simopoulos, A.P., Leaf, A. & Salem, N. (1999) Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Annals of nutrition & metabolism* **43** (2), 127-130.
- Sirot, V., Oseredczuk, M., Nawel Bemrah-Aouachria, N., Volatier, J.L. & Leblanc, J.C. (2008) Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France: CALIPSO study. *Journal of Food Composition and Analysis* **21** (1), 8-16.
- Socol, M.C.H. & Oetterer, M. (2003) Seafood as Functional Food. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **46** (3), 443-454.
- Stryer, L. (1995) *Biochemistry*. Freeman and Company, 4th edition, New York.
- Su, H.M., Bernardo, L., Mirmiran, M., Ma, X.H., Corso, T.N., Nathanielsz, P.W. & Brenna, J.T. (1999) Bioequivalence of dietary alpha-linolenic and docosahexaenoic acids as sources of docosahexaenoate accretion in brain and associated organs of neonatal baboons. *Pediatric Research* **45** (1), 87-93.
- Tittley, I. & Neto, A.I. (2000) A provisional classification of algal characterized rocky shore biotopes in the Azores. *Hydrobiologia* **440** (1), 19-25.
- Tittley, I., Neto, A.I. & Farnham, W.F. (1998) Marine algae of Flores. Azores: ecology and floristics. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **Sup. 5**, 463-479.
- van Den Hoek, C., Mann, D. G. & Jahns, H. M. (1995) *Algae - An introduction to phycology*.

United Kingdom, Cambridge University Press.

van Gelder, B.M., Tijhuis, M., Kalmijn, S. & Kromhout, D. (2007) Fish consumption, n-3 fatty acids, and subsequent 5-y cognitive decline in elderly men: the Zutphen Elderly Study. *American Journal of Clinical Nutrition* **85** (4), 1141-1147.

Wallenstein, F.F.M.M. & Neto, A.I. (In press) Intertidal rocky shore biotopes of the Azores: a quantitative approach. *Helgoland Marine Research*. DOI 10.1007/s10152-006-0035-6.

Wen, Z.-Y. & Chen, F. (2003) Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnology Advances* **21**, 273-94.

Wroble, M., Mash, C., Williams, L. & McCall, R.B. (2002) Should long chain polyunsaturated fatty acids be added to infant formula to promote development? *Journal of Applied Developmental Psychology* **23** (1), 99-112.

Xu, X.Q., Tran, V.H., Kraft, G. & Beardall, J. (1998) Fatty acids of six *Codium* species from southeast Australia. *Phytochemistry* **48** (8), 1335-1339.

Yu, S.; Derr, J.; Etherton, T.D. & Kris-Etherton, P.M. (1995) Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic *American Journal of Clinical Nutrition* **61**:1129-39.

ANEXO A - Solução metanólica de hidróxido de potássio, 2 Molar

Dissolver com ligeiro aquecimento, 13,1 g de hidróxido de potássio em 100 ml de metanol absoluto. Adicionar uma quantidade adequada de sulfato de sódio anidro para o secar. Filtrar até se obter uma solução límpida.

ANEXO B – Resultados da avaliação da semelhança da composição dos grupos (SFA, MUFA e PUFA) de ácidos gordos das espécies estudadas dentro de cada grupo taxonómico (Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta)

	gl	MS	Pseudo-F	P	Número de Permutações	F-ratio
Grupo	2	4313,6	1655,4	<0,0001	9891	Espécies
Espécies (grupo)	5	139,31	53,462	<0,0001	9942	Residual
Residual	8	2,6058				

Quadro 1B. PERMANOVA para grupos (SFA, MUFA e PUFA) e espécies dentro dos grupos taxonómicos, de ácidos gordos (gl – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; Pseudo-F - valor de F calculado; P – probabilidade).

	t	P	Número de permutações
Algas castanhas vs Algas verdes	15,036	0,03	247
Algas castanhas vs Algas vermelhas	33,463	0,0042	9501
Algas verdes vs Algas vermelhas	74,052	0,0027	9363

Quadro 2B. Teste “pair-wise” para grupos de ácidos gordos por grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

Grupo de AG's	Valor Médio	Valor Médio	Av.Sq.D ist	Sq.Dist/ SD	Contribuição (%)	Contribuição acumulada (%)
Algas Castanhas Algas Verdes						
SFA	51,2	37,1	256	1,16	50,76	50,76
MUFA	23,3	36,1	164	4,69	32,42	83,18
TFA	0	5,66	64,1	0,97	12,7	95,88
Algas Castanhas Algas Vermelhas						
SFA	51,2	80,9	887	5,58	64,1	64,1
PUFA	25,4	8,86	302	1,97	21,84	85,94
MUFA	23,3	10	194	1,49	14,05	99,99
Algas Verdes Algas Vermelhas						
SFA	37,1	80,9	1970	3,07	67,86	67,86
MUFA	36,1	10	694	2,92	23,9	91,75

Quadro 3B. Teste Simper para grupos de ácidos gordos por grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

	t	P(perm)	Unique perms	P(MC) (monte carlo permutation's)
Algas castanhas				
<i>C. abies-marina</i> , <i>F. spiralis</i>	1,8875	0,3337	3	0,1815
Algas verdes				
<i>C. pahynema</i> , <i>C. elisabethae</i>	19,117	0,3322	3	0,0019
Algas vermelhas				
<i>Porphyra</i> sp. , <i>O. pinnatifida</i>	24,567	0,3329	3	0,0009
<i>Porphyra</i> sp. , <i>P. capillacea</i>	37,118	0,3357	3	0,0006
<i>Porphyra</i> sp. , <i>S. coronopifolius</i>	7,3845	0,3433	3	0,0158
<i>O. pinnatifida</i> , <i>P. capillacea</i>	5,6977	0,3291	3	0,0288
<i>O. pinnatifida</i> , <i>S. coronopifolius</i>	1,9093	0,3314	3	0,163
<i>P. capillacea</i> , <i>S. coronopifolius</i>	2,059	0,3368	3	0,1619

Quadro 4B. Teste “pair-wise” para grupos de ácidos gordos por espécies de algas dentro dos grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

Grupo de AG's	Valor Médio	Valor Médio	Av.Sq.D ist	Sq.Dist/ SD	Contribuição (%)	Contribuição acumulada (%)
	<i>C. abies-marina</i>	<i>F. spiralis</i>				
SFA	49,3	53,2	18,6	1,08	64,13	64,13
PUFA	26,4	24,5	6,51	0,8	22,38	86,51
MUFA	24,3	22,3	3,92	3,34	13,49	100
	<i>C. pahynema</i>	<i>C. elisabethae</i>				
SFA	30	44,2	202	8,03	60,35	60,35
TFA	11,3	0	128	88,78	38,28	98,64
	<i>Porphyra sp.</i>	<i>O. pinnatifida</i>				
PUFA	17,3	6	127	15,36	53,86	53,86
MUFA	3,21	13,6	108	12,64	45,55	99,41
	<i>Porphyra sp.</i>	<i>P. capillacea</i>				
PUFA	17,3	4,77	157	36,13	61,33	61,33
MUFA	3,21	12,6	88,6	11,68	34,7	96,04
	<i>Porphyra sp.</i>	<i>S. coronopifolius</i>				
PUFA	17,3	7,37	99,9	3,28	61,45	61,45
MUFA	3,21	10,8	58,5	3,25	35,95	97,4
	<i>O. pinnatifida</i>	<i>P. capillacea</i>				
SFA	80,4	82,5	4,44	2,62	63,55	63,55
PUFA	6	4,77	1,6	1,99	22,87	86,42
MUFA	13,6	12,6	0,935	5,89	13,38	99,8
	<i>O. pinnatifida</i>	<i>S. coronopifolius</i>				
MUFA	13,6	10,8	8,73	1,4	63,68	63,68
PUFA	6	7,37	3,7	0,85	27,01	90,7
	<i>P. capillacea</i>	<i>S. coronopifolius</i>				
PUFA	4,77	7,37	8,52	1,07	59,23	59,23
MUFA	12,6	10,8	4,27	1,05	29,69	88,92
SFA	82,5	81,3	1,4	3,27	9,71	98,63

Quadro 5B. Teste Simper para grupos de ácidos gordos por espécies de algas dentro dos grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

ANEXO C - Resultados da avaliação da semelhança da composição das famílias (n-3, n-6 e n-9) de ácidos gordos das espécies estudadas dentro de cada grupo taxonómico (Phaeophyta, Chlorophyta e Rhodophyta)

	gl	MS	Pseudo-F	P	Número de Permutações	F-ratio
Grupo	2	803,34	650,52	0,0003	9900	Espécies
Espécies (grupo)	5	213,49	172,88	0,0001	9963	Residual
Residual	8	1,2349				

Quadro 1C. PERMANOVA para famílias (n-3, n-6 e n-9) e espécies dentro dos grupos taxonómicos, de ácidos gordos (Dt – graus de liberdade; MS – média dos quadrados; Pseudo-F - valor de F calculado; P – probabilidade).

	t	P	Número de permutações
Algas castanhas vs Algas verdes	19,395	0,0274	250
Algas castanhas vs Algas vermelhas	20,499	0,0046	9551
Algas verdes vs Algas vermelhas	38,125	0,0018	9494

Quadro 2C. Teste “pair-wise” para famílias (n-3, n-6 e n-9) de ácidos gordos por grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

Família de AG	Valor Médio	Valor Médio	Av.Sq.D ist	Sq.Dist/ SD	Contribuição (%)	Contribuição acumulada (%)
	Algas Castanhas	Algas Verdes				
n-6	8,03	20,6	277	0,97	54,96	54,96
n-3	17,4	6,27	152	1,21	30,29	85,25
n-9	14,6	17,3	74,3	1,63	14,75	100
	Algas Castanhas	Algas Vermelhas				
n-3	17,4	5,64	153	1,67	55,79	55,79
n-9	14,6	5,91	88,9	1,76	32,52	88,31
n-6	8,03	3,42	32	1,26	11,69	100
	Algas Verdes	Algas Vermelhas				
n-6	20,6	3,42	419	1,07	63,96	63,96
n-9	17,3	5,91	209	0,99	31,92	95,88

Quadro 3C. Teste Simper para famílias (n-3, n-6 e n-9) de ácidos gordos por grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

	t	P(perm)	Unique perms	P(MC) (monte carlo permutation's)
Algas castanhas				
<i>C. abies-marina</i> , <i>F. spiralis</i>	3,8486	0,3371	3	0,0458
Algas verdes				
<i>C. pahynema</i> , <i>C. elisabethae</i>	42,119	0,3399	3	0,0003
Algas vermelhas				
<i>Porphyra</i> sp. , <i>O. pinnatifida</i>	26,985	0,3392	3	0,001
<i>Porphyra</i> sp., <i>P. capillacea</i>	24,217	0,3421	3	0,0006
<i>Porphyra</i> sp., <i>S. coronopifolius</i>	5,353	0,3264	3	0,0154
<i>O. pinnatifida</i> , <i>P. capillacea</i>	28,834	0,335	3	0,0006
<i>O. pinnatifida</i> , <i>S. coronopifolius</i>	6,2782	0,3339	3	0,0114
<i>P. capillacea</i> , <i>S. coronopifolius</i>	2,6814	0,3328	3	0,1021

Quadro 4C. Teste “pair-wise” para famílias de ácidos gordos (n-3, n-6 e n-9) por espécies de algas dentro dos grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).

Família de AG	Valor Médio	Valor Médio	Av.Sq.D ist	Sq.Dist/ SD	Contribuição (%)	Contribuição acumulada (%)
	<i>C. abies-marina</i>	<i>F. spiralis</i>				
n-3	20	14,8	29,9	1,53	72,47	72,47
n-6	6,38	9,68	10,9	13,2	26,43	98,9
	<i>C. pahynema</i>	<i>C. elisabethae</i>				
n-6	31,4	9,8	466	17,27	57,07	57,07
n-9	9,07	25,4	268	18,59	32,88	89,96
n-3	1,75	10,8	82	26,88	10,04	100
	<i>Porphyra sp.</i>	<i>O. pinnatifida</i>				
n-9	3,04	12,1	81,9	11,11	54,21	54,21
n-6	8,25	1,23	49,4	68,91	32,72	86,93
n-3	9,21	4,78	19,7	6,79	13,07	100
	<i>Porphyra sp.</i>	<i>P. capillacea</i>				
n-3	9,21	2,6	43,8	25,33	53,53	53,53
n-6	8,25	2,29	35,6	42,03	43,5	97,04
	<i>Porphyra sp.</i>	<i>S. coronopifolius</i>				
n-6	8,25	1,91	40,3	20,99	75,58	75,58
n-3	9,21	5,98	12	1,29	22,52	98,1
	<i>O. pinnatifida</i>	<i>P. capillacea</i>				
n-9	12,1	4,56	56,6	57,99	90,47	90,47
	<i>O. pinnatifida</i>	<i>S. coronopifolius</i>				
n-9	12,1	3,93	66,5	11,24	94,94	94,94
	<i>P. capillacea</i>	<i>S. coronopifolius</i>				
n-3	2,6	5,98	13	1,34	95,21	95,21

Quadro 5C. Teste Simper para famílias (n-3, n-6 e n-9) de ácidos gordos por espécies de algas dentro dos grupos de algas (castanhas, verdes e vermelhas).