

Extração e caracterização de ácidos graxos ômega 3 por cultivo da microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd

Extraction and characterization of omega 3 fatty acids by cultivation of microalgae Nannochloropsis oculata (Droop) Hibberd

Nicolas Polly¹

Luiza Sehn Tomasi²

Carla Kereski Ruschel³

Aline Batista de Sousa⁴

Tania Denise Miskinis Salgado⁵

Resumo

Este artigo trata da extração e caracterização de ácidos graxos essenciais ômega 3, a partir da *Nannochloropsis oculata*. O objetivo foi cultivar a microalga, extrair os lipídios, utilizando hexano, e caracterizá-los por análises de infravermelho, cromatografia em camada delgada e índice de iodo. Os resultados demonstraram grande semelhança entre o óleo extraído da microalga e o óleo de peixe já comercializado, diferindo pela ausência de odor no óleo de microalga. Dessa forma, esse óleo de microalga poderá ser uma alternativa mais viável de suplemento alimentar para a indústria alimentícia, amenizando a deficiência nutricional de ω -3, principalmente para os vegetarianos.

Palavras-chave: Microalga. Ômega 3. Extração.

Abstract

This article deals with the extraction and characterization of essential omega-3 fatty acids from Nannochloropsis oculata. The objective was cultivate microalgae, extract lipids, using hexane and characterize them by infrared analysis, thin layer chromatography and iodine index. The results showed a great similarity between the oil extracted from the microalgae and the commercialized fish oil differing by the absence of odor in the microalgae oil. Thus, this microalgae oil may be a more viable alternative food supplement for food industry, mitigating the nutritional deficiency of omega 3, especially for vegetarians.

Keywords: Microalgae. Ômega 3. Extraction.

1 Técnico em Química pela Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha (FETLSVC), Novo Hamburgo, RS, Brasil. E-mail: kpolly.nicolas@gmail.com

2 Técnica em Química pela FETLSVC. E-mail: luizasehntomasi@gmail.com

3 Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil. Professora de Química na FETLSVC. E-mail: carlar@liberato.com.br

4 Doutoranda em Educação em Ciências pelo PPG em Educação em Ciências: Química da Vida e Saúde na UFRGS. Agente educacional na FETLSVC. E-mail: aline.sousa@liberato.com.br

5 Doutora em Ciências-Física Experimental e mestre em Engenharia pela UFRGS. Professora do Departamento de Físico-Química na UFRGS. E-mail: tania.salgado@ufrgs.br

Artigo recebido em 24.04.2019 e aceito em 02.07.2019.



1 Introdução

Os ácidos graxos, principais constituintes dos lipídios, são diferenciados pela cadeia carbônica que pode ser saturada, monoinsaturada e poli-insaturada, decorrente da presença ou não de ligações duplas. Ademais, os poli-insaturados são separados em três grandes famílias: ω -3 (ômega 3), ω -6 (ômega 6) e ω -9 (ômega 9) (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996). Dentre os ácidos graxos, há os chamados Ácidos Graxos Essenciais (AGE) que não podem ser biossintetizados pelo organismo humano e, portanto, devem ser obtidos essencialmente através da alimentação, são estes os ω -3 e ω -6. Os ômega 6 estão presentes de forma considerável nos óleos vegetais como de girassol, cártamo, milho, soja, algodão, entre outros (NOVELLO; FRANCESCHINI; QUINTILIANO, 2008). Já os ômega 3 podem ser encontrados nos óleos vegetais de linhaça e canola, porém tem como principais fontes os fitoplânctons (microalgas), as algas e os óleos de peixes. Os fitoplânctons também sintetizam os ácidos eicosapentaenóico (20:5) e docosahexaenóico (22:6), que não são encontrados nos demais óleos vegetais, mas, como se constituem na base da cadeia alimentar dos oceanos, são obtidos em grande concentração nos óleos de peixes e em peixes de águas frias e profundas, principalmente cavala, sardinha, salmão e truta (ANDRADE; CARMO, 2006).

Entretanto, alimentos marinhos que apresentam ω -3 são escassos na dieta ocidental, sendo assim, uma maneira de diminuir os problemas de deficiência alimentar são os suplementos alimentares e os alimentos fortificados. Para assegurar um consumo diário equilibrado de ácidos ω -3, segundo o Institute of Medicine (2005), esse deve ser maior que 0,6 gramas, com mínimas variações, quanto ao sexo e idade (para crianças de 4 a 8 anos o recomendado é 0,9 g, enquanto para mulheres grávidas, 1,4 g). O consumo equilibrado de ômega 3 ocasiona o desenvolvimento e manutenção do organismo e a prevenção e tratamento de diversas doenças, principalmente as doenças cardiovasculares, como hipertensão, prevenção primária de câncer, diminuição do colesterol e melhoria nos lipídios sanguíneos. Isso porque a ingestão de ômega 3 promove a produção de prostacilinas que inibem a agregação de plaquetas e dispersam as já formadas, ajuda na dilatação dos vasos e diminui o colesterol de baixa densidade (LDL-*Low Density Lipoprotein*), em torno de 20%. Consequentemente, facilita a circulação sanguínea, aliviando o esforço cardíaco e, logo, diminui o seu desgaste (LIMA *et al.*, 2000; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002).

Outrossim, desde o desenvolvimento fetal até o final do desenvolvimento bioquímico cerebral e da retina (por volta dos 2 anos), os AGE ômega 3 são extremamente importantes. Esses ácidos estão presentes na membrana celular e em níveis especialmente altos na retina e no cérebro, sendo o ácido docosahexaenóico (DHA) o mais importante dentre os ω -3, pois constitui mais de 35% do total dos AG presentes nesses órgãos. Como consequência, a deficiência desses ácidos está relacionada com uma diminuição na capacidade de aprendizagem, da acuidade visual e alteração nos eletrorretinogramas, podendo algumas dessas serem irreversíveis (LIMA *et al.*, 2004).

Além disso, durante a fase neonatal, os ácidos passam da mãe para o feto, através da placenta, acarretando numa diminuição das reservas maternas. Sendo assim, é fundamental garantir quantidade suficiente de ácidos ômega 3 na alimentação da mãe, tanto na gestação quanto na amamentação, sendo necessária uma maior atenção, quando há um curto tempo entre duas gravidezes e em caso de crianças prematuras. Além disso, é necessário que se faça um acompanhamento da alimentação da criança, mesmo após cessado o aleitamento materno, já que os esses ácidos são necessários para o seu desenvolvimento e, na maioria das vezes, não se encontram em formulações infantis de leites industrializados (LIMA *et al.*, 2004).

Segundo pesquisa do IBOPE (2018), 14% da população se declara vegetariana, o que representa quase 30 milhões de brasileiros, e esse percentual vem aumentando 1% ao ano desde 2012. Segundo Souza (2013, p. 3), tal comportamento pode ser motivado por diversas razões, dentre elas: preocupação com o meio ambiente, influência dos familiares e amigos, crenças, preocupação com a ética de criação e abate de animais e cuidado com a saúde pessoal; sendo as duas últimas as motivações mais comumente relatadas pelos mesmos. Porém, o vegetariano normalmente possui dificuldades em manter uma dieta que supra todas as necessidades nutricionais que o organismo necessita, seja por falta de conhecimento de quais alimentos consumir ou por falta de organização pessoal e controle da alimentação.

Os ômega 3 devem ser utilizados em maior quantidade pelos vegetarianos, devido ao fato de que nessa dieta não se consome peixes nem animais marinhos que contêm esses ácidos. Portanto, a ingestão deve ser otimizada ou deve-se complementar a alimentação com cápsulas de ômega 3, no entanto, as cápsulas comercializadas atualmente são majoritariamente compostas de óleos de origem

animal, inviabilizando seu consumo por esse público (COUCEIRO; SLYWITCH; LENZ, 2008, p. 371). Dessa forma, a utilização de óleos extraídos das microalgas não se restringe apenas a consumidores de produtos de origem animal, abrangendo também essa camada da população que vem ganhando, cada vez mais espaço e que, conforme a percepção de empresários do setor, representa um mercado que tende a crescer 40% ao ano (FACCIONI; BITELLOP *apud* GRAVE; LOPES, 2017, p. 54).

Existem inúmeras espécies de peixes marinhos que podem ser uma boa fonte de ômega 3. Porém, a carne, o óleo e outros produtos provenientes deles apresentam alguns problemas como: odor desagradável, baixa estabilidade e, principalmente, contaminação por metais pesados como: chumbo, cádmio e mercúrio, os quais apresentam grandes riscos à saúde. Por sua vez, o óleo extraído de microalgas não apresenta tais fatores, como também apresenta maior reprodutibilidade, isso porque os peixes dificilmente apresentam um mesmo tipo de óleo, já que esse varia entre espécies e peixes de uma mesma espécie, quando há variação na alimentação e no meio de cultivo, situações facilmente controladas para microalgas (DERNER *et al.*, 2006).

As microalgas, também denominadas fitoplânctons, são microrganismos procarióticos (cianobactérias) e eucarióticos (algas de dimensões microscópicas) fotossintéticos (dotados de clorofila *a*) que, devido a sua estrutura celular e seu padrão de reprodução vegetativo, podem viver em condições rigorosas tais como: lagos salinos adjacentes a desertos, e crescer rapidamente. Esses organismos são encontrados em todo mundo, a maioria distribuída nas águas, mas também vivem nas superfícies de alguns solos. Podem se apresentar como células isoladas, agrupadas na forma de colônias ou encadeadas como segmentos lineares de células. Porém, independentemente do caso, cada célula realiza todas as funções vitais, sem diferenciação de suas especializações (GRIS, 2011, p. 5).

Ainda, segundo Gris (2011, p. 7), o interesse por esses microrganismos reside no potencial de utilização de sua biomassa. Por seu conteúdo rico em vitaminas, proteínas e corantes naturais, dentre suas aplicações mais simples está a alimentação direta ou indireta de animais de interesse econômico (como moluscos, crustáceos e peixes) e na própria alimentação humana. Gris (2011, p. 7) também afirma que:

Algumas microalgas como *Porphyridium cruentum*, *Nannochloropsis* spp. e *Phaedactylum tricornutum* apresentam altas concentrações de lipídeos e de ácidos graxos

poli-insaturados (AGIPs) de cadeia longa, em especial os ácidos eicopentaenóico (EPA), docosahexaenóico (DHA) e aracdônico (AA) que são particularmente interessantes por apresentarem alto valor nutritivo.

Dentre as cerca de 100.000 espécies de microalgas conhecidas e estudadas, algumas apresentam destaque para o conteúdo lipídico, presente em sua composição bioquímica média, sendo tanto algas marinhas, quanto de água doce. As microalgas marinhas apresentam algumas vantagens importantes frente às de água doce, como o menor potencial de contaminação por bactérias e fungos, devido à natureza salina dos meios de cultivo e, projetando cultivos de larga escala, a utilização do menor volume possível de água doce, pois evita a concorrência com a produção de alimentos e com o próprio consumo humano e das indústrias. Nesse contexto, a *Nannochloropsis oculata*, que está representada na figura 1, é uma alga que se destaca, tanto por sua natureza marinha, sendo amplamente distribuída nos oceanos, quanto por seu conteúdo lipídico e bom potencial de produção dessas gorduras, devido à sua elevada capacidade de absorver gás carbônico. Sobressaindo-se, também, por serem produtoras do ácido eicosapentaenóico, importante ácido graxo poli-insaturado essencial (GRIS, 2011, p. 20).

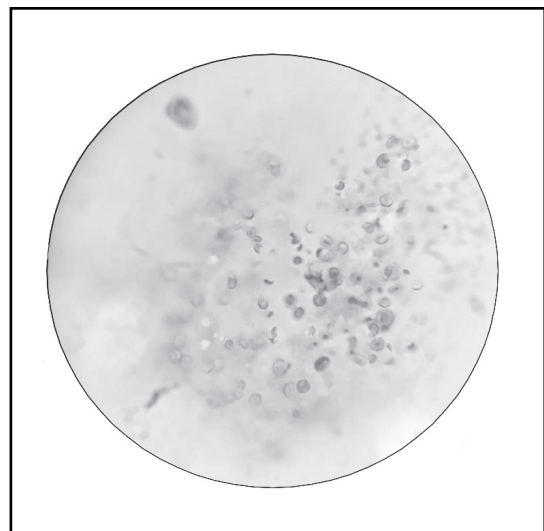


Figura 1 - Células da *Nannochloropsis oculata*
Fonte: Os autores (2018).

Nesse contexto, a atual produção de microalgas em larga escala é destinada principalmente à fabricação de biodiesel e à alimentação de peixes, crustáceos e outros animais marinhos, podendo ser realizada em tanques, lagoas ou fotobiorreatores. Há, também, as indústrias que utilizam

fotobiorreatores apenas para redução da emissão de CO₂ e, dessa forma, não utilizam a massa algal obtida em nenhuma produção. Alguns exemplos de empresas desse ramo são: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais (GIA), Earthrise Nutritionals, Cyanotech, Green Fuel Technologies, Algatech, Pulz e Gross (SOARES, 2010).

2 Materiais e métodos

2.1 Cultivo das microalgas

Para o crescimento do cultivo, introduzimos as microalgas que foram disponibilizadas para estudo pela Universidade Federal de Rio Grande (FURG), em meio F/2, previamente esterilizado, e fornecemos iluminação e aeração, utilizando lâmpadas fluorescentes de 20 W e uma bomba de ar conectada a um filtro, composto por uma pipeta preenchida de algodão esterilizado. Às extremidades das mangueiras, acoplou-se pedras porosas para quebrar as bolhas de ar e melhorar a aeração. O tempo de cultivo variou entre seis (6) a oito (8) dias, interrompidos, quando a coloração do meio se encontrava verde escuro, representado pela figura 2, antes de adquirir uma coloração amarelada, o que caracteriza a fase de declínio da microalga.

Figura 2 - Cultivo de *Nannochloropsis oculata* após sete (7) dias

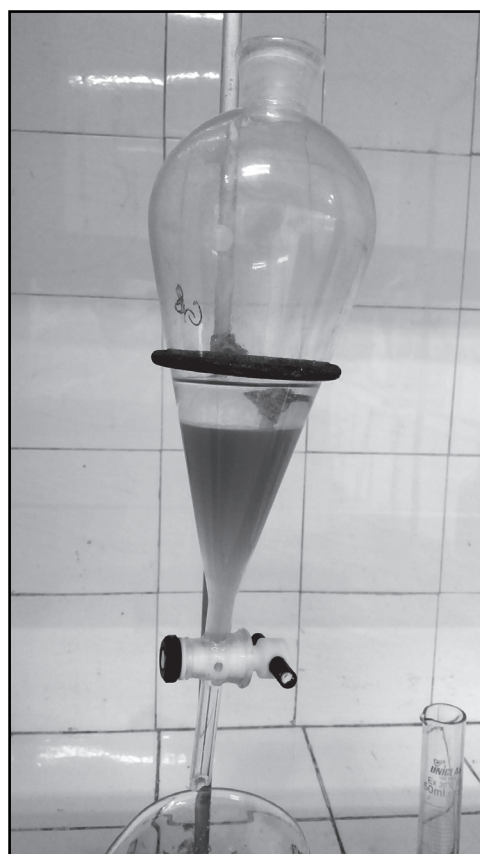


Fonte: Os autores (2018).

Para diminuir o volume de meio e, dessa forma, facilitar a extração, precipitou-se as microalgas pela mudança de pH, adicionando-se uma solução de hidróxido de sódio 10% até pH 10,5. Aguardou-se

a total precipitação, o sobrenadante foi retirado e o restante do meio de cultivo passou pelo ultrassom, durante 20 min, a fim de quebrar as células das microalgas, liberando os lipídios. Em seguida, cerca de 200 mL do meio foram introduzidos na pera de separação junto com 50 mL de solvente hexano, agitou-se a mistura e deixou-se em repouso para formar as duas (2) fases, situação representada pela figura 3.

Figura 3 - Extração de *Nannochloropsis oculata* com hexano



Fonte: Os autores (2018).

A fase inferior (aquosa) foi descartada enquanto a fase superior (orgânica) foi transferida para um erlenmeyer com tampa. Em seguida, toda a fase orgânica obtida foi introduzida na pera para a purificação, com o objetivo de retirar a clorofila observada no extrato. Para purificação, foi introduzido na pera solução saturada de NaCl, até que toda coloração esverdeada fosse retirada.

Após a purificação, o conteúdo da fase orgânica resultante foi transferido para um balão e utilizou-se o rotaevaporador a 70 °C, fim de recuperar o solvente e concentrar a amostra. O produto final foi conservado em recipiente fechado com refrigeração.

2.2 Análises de caracterização

Com a finalidade de analisar a composição e a qualidade do material extraído, realizou-se as análises de infravermelho (marca Pekin Elmer), de índice de iodo (II) e de cromatografia em papel, sempre da amostra em comparativo com o ômega 3 comercial, da marca Take Care®.

O espectro no infravermelho é baseado nas vibrações das ligações moleculares com o objetivo de determinar grupos. Com a finalidade de analisar a composição e a qualidade do material extraído, realizou-se a análise, pingando uma gota de óleo no cristal ATR do infravermelho, as bandas presentes no gráfico gerado foram analisadas e comparadas.

Na análise de II, a amostra foi pesada em um erlenmeyer com tampa, em balança analítica, entre 0,20 e 0,25 gramas. Essa massa foi diluída em clorofórmio (20 mL) e, em seguida, adicionou-se 20 mL de solução de Wijs (I2 em ácido acético + Cl2). O frasco foi rapidamente fechado, agitou-se levemente e deixou-se em repouso, no escuro, por 1 hora.

Posteriormente, adicionou-se 20 mL de solução de KI (iodeto de potássio) 15% e 50 mL de água e agitou-se. A mistura foi titulada com Na2S2O3 (tiosulfato de sódio), agitando-se vigorosamente até a coloração castanho amarelada. Adicionou-se 1 mL de amido e prosseguiu-se com a titulação até o desaparecimento da cor azul. Paralelamente, também se realizou a prova em branco.

Na cromatografia em papel, utilizou-se papel de

filtro, devidamente preparado como fase estacionária, e foram utilizadas duas misturas de solventes orgânicos apolares como fase móvel: mistura 1: butanol clorofórmio 1:1; mistura 2: hexano e acetato de etila 1:1. Na análise cromatográfica, o óleo extraído, o ômega 3 comercial e padrão de ácido linoleico aplicou-se no papel com auxílio de uma fibra de vidro. Pousou-se a base do papel no eluente que percorreu o papel até a marca determinada. Ele, então, foi seco e revelou-se as manchas de óleo com vapor de iodo e essas foram comparadas.

3 Resultados e discussões

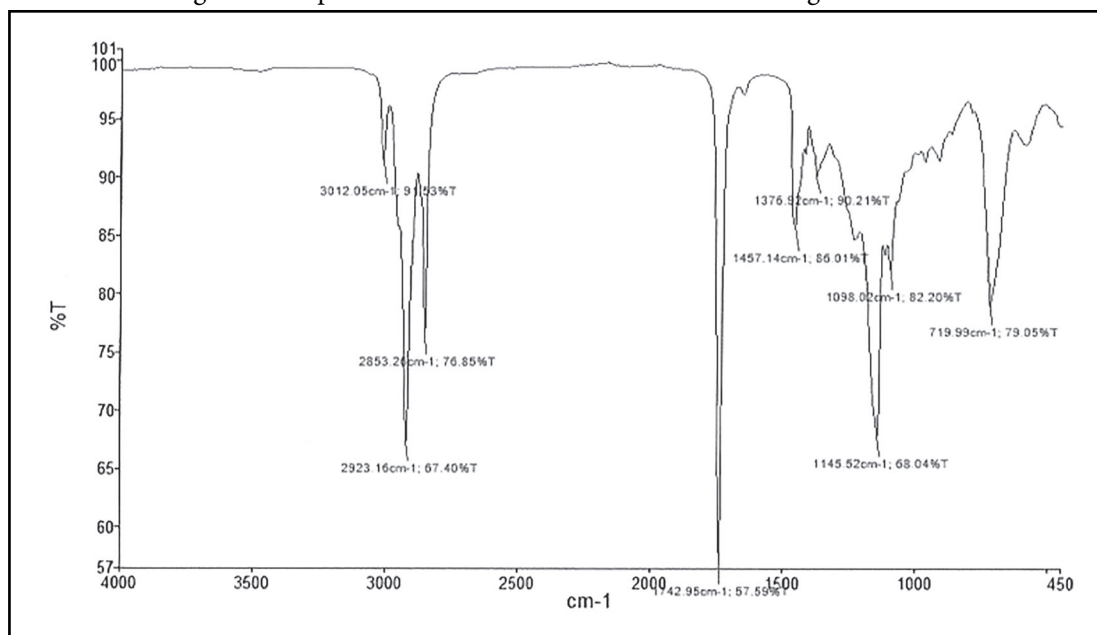
3.1 Extração

A extração com solvente hexano de, aproximadamente, seis (6) litros de meio de cultivo renderam em torno de 2 mL de óleo, um rendimento de 0.033%, pois, como se trata de microalgas, a biomassa se apresenta diluída. Em comparativo a outros trabalhos, Moraes e Costa (2008) identificaram uma concentração dentre 2,2% a 6,1% de óleo por biomassa seca. Porém, como não foi avaliado, a biomassa presente nos seis (6) litros de meio, a análise de rendimento é incerta.

3.2 Infravermelho

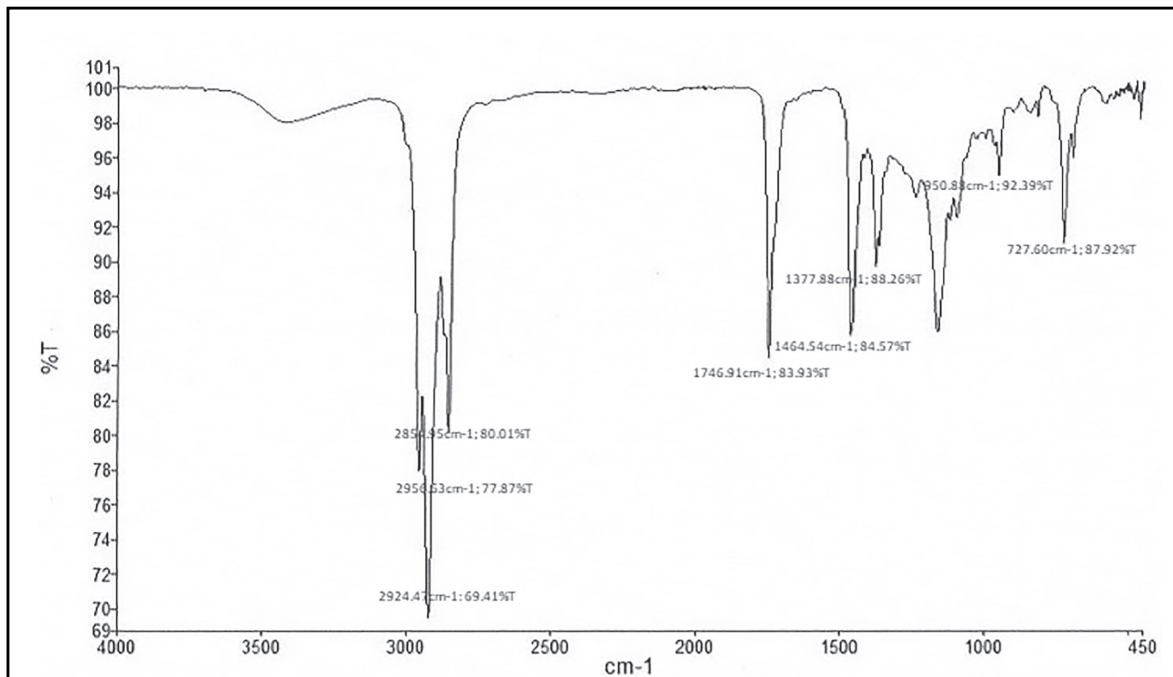
Os gráficos resultantes da espectroscopia por infravermelho realizada com ambas as amostras são mostrados nas figuras 4 e 5.

Figura 4 – Espectro de infravermelho da amostra de ômega comercial



Fonte: Os autores (2018).

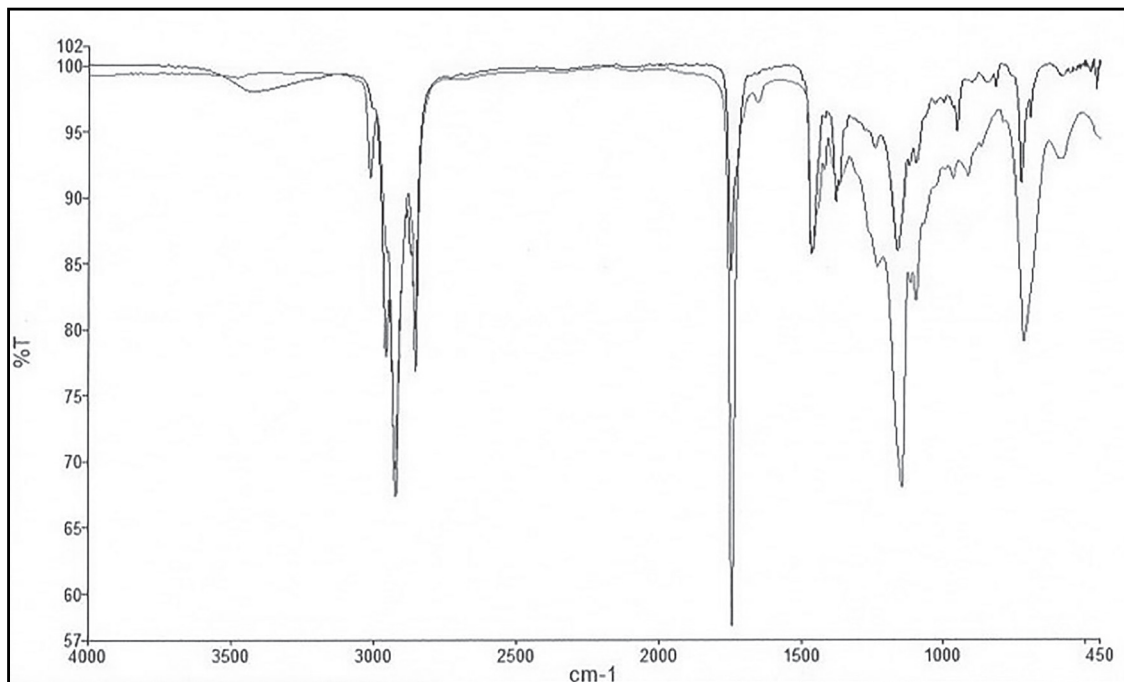
Figura 5 - Espectro de infravermelho da amostra de óleo extraído da *Nannochloropsis oculata*



Fonte: Os autores (2018).

A figura 6 mostra a sobreposição dos dois gráficos das figuras 4 e 5. Observa-se que a similaridade entre o ômega 3 extraído e o comercial é notável, mesmo que os picos não estejam na mesma intensidade.

Figura 6 – Comparativo entre os espectros de infravermelho de *Nannochloropsis oculata* e de ômega 3 comercial



Fonte: Os autores (2018).

Analisando-se os principais picos presentes em (quadro 1), com base nas informações encontradas em ambos os gráficos, verificou-se as ligações presentes na literatura (PAVIA *et al.*, 2015).

Quadro 1 - Análise dos principais picos obtidos no infravermelho

Pico do ω -3 comercial	Pico do ω -3 extraído	Resultado
2923.16 cm^{-1} ; 67,40%T	2924.47 cm^{-1} ; 69,41%T	-C-H estiramento
2853.26 cm^{-1} ; 76,85%T	2854.95 cm^{-1} ; 80,01%T	C=C dobramento fora do plano
1742.95 cm^{-1} ; 57,59%T	1746.91 cm^{-1} ; 83,93%T	C=O de éster
1457.14 cm^{-1} ; 86,01%T	1464.54 cm^{-1} ; 84,57%T	-CH ₃ dobramento
1376.92 cm^{-1} ; 90,21%T	1377,88 cm^{-1} ; 88,26%T	-CH ₃ dobramento
1145.52 cm^{-1} ; 68,04%T	1161.40 cm^{-1} ; 84,10%T	C-O de éster
719.99 cm^{-1} ; 79,05%T	727.60 cm^{-1} ; 87,92%T	=C-H dobramento fora do plano ou -(CH ₂)- deformação angular de cadeia

Fonte: Adaptado de Pavia *et al.* (2015).

Além disso, outros picos reforçam a estrutura de um éster, como os de 1145.52 para o ω -3 comercial e 1161.40, para o ω -3 extraído. Porém, outros picos não são muito exatos, em razão de haver mais de uma possibilidade com um mesmo resultado, assim sendo, os picos acima de 2800 cm^{-1} e menores que 1000 cm^{-1} expressam basicamente -CH₃ e -CH₂- e suas ligações.

3.3 Índice de iodo

Para o ômega 3 comercial, o II foi 65,21 mg de I₂/100g amostra, enquanto para o óleo extraído de *Nannochloropsis oculata*, 60,70 mg de I₂/100g amostra. Observa-se que a diferença entre a média dos resultados do índice de iodo do óleo comercial e do óleo extraído é de 4.51, que representa 6,90% da média do II comercial. Porém, o óleo extraído de *Nannochloropsis oculata* apresentava um maior grau de impurezas, principalmente hexano que não foi recuperado, o que acarretou em uma pequena diminuição no índice de iodo.

3.4 Cromatografia em papel

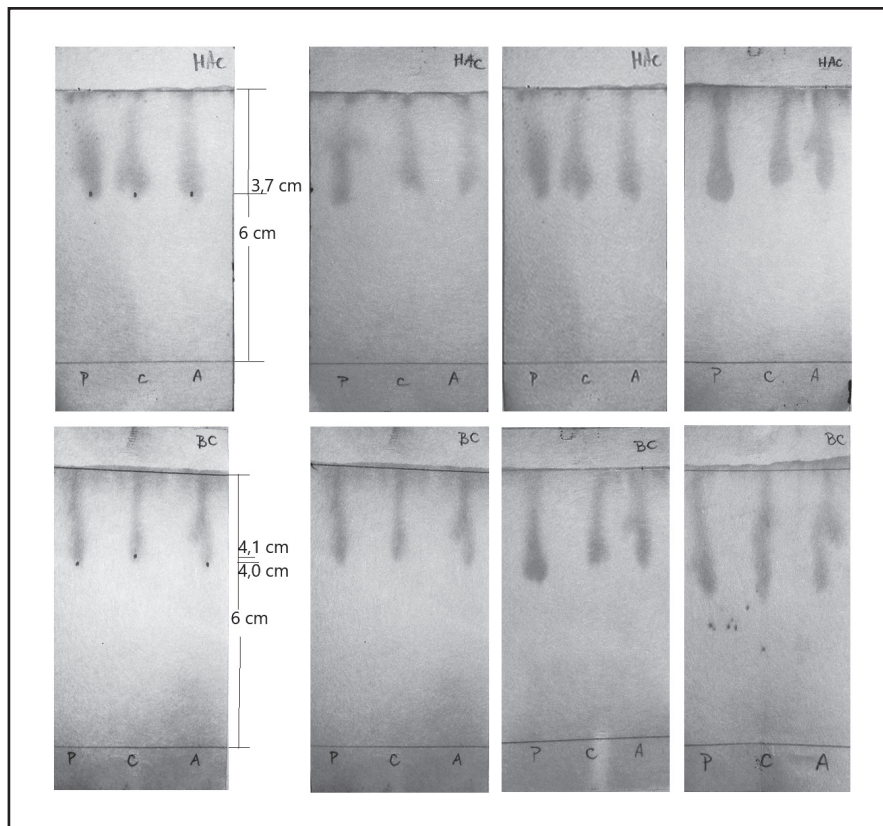
Os perfis cromatográficos, obtidos para a amostra de *Nannochloropsis oculata* (A), o ômega

3 comercial (C) e o padrão de ácido linoléico (P), nas duas fases móveis: hexano/acetato de etila (HAc) e butanol/clorofórmio (BC), são mostrados na figura 7.

Os cromatogramas da figura 7 mostram que o deslocamento da amostra, isto é, seu fator de retenção se apresentou muito semelhante aos obtidos pelo ômega 3 comercial e o padrão de ácido linoléico. Em alguns casos, houve um deslocamento das três manchas, isso pode ocorrer, devido à velocidade da fase, durante a corrida e diferença na estrutura da fibra do papel. O fator de retenção das três amostras foi entorno de 0,62 com o eluente HAc e 0,67 com BC. Portanto, é provável que o óleo obtido apresente uma equivalência da sua estrutura molecular em relação aos outros quanto ao tamanho de cadeia e polaridade.

Nos cultivos realizados por Morais e Costa (2008) foram encontradas nos lipídios concentrações de ácidos graxos poli-insaturados de 30,4% e 45,2% para os cultivos de *Chlorella kessleri* e *Chlorella vulgaris*, respectivamente. Portanto, a análise realizada de cromatografia em papel constatou a semelhança do óleo extraído com os óleos poli-insaturados, reforçando o grande teor deste, como apresentado em outras pesquisas.

Figura 7 - Cromatografia em papel da amostra de *Nannochloropsis oculata* (A), do ômega 3 comercial (C) e do padrão de ácido linoleico (P), nas duas fases móveis: hexano/acetato de etila (HAc) e butanol/clorofórmio (BC)



Fonte: Os autores (2018).

4 Considerações finais

Grande parte da população mundial apresenta deficiência de determinados nutrientes, dentre eles, os ácidos graxos essenciais ω -3. Isso se deve ao aumento indiscriminado do consumo de AG ω -6, enquanto o consumo de peixes e animais marinhos vem diminuindo, gerando desequilíbrio nutricional entre esses dois nutrientes. Como atualmente já existem concentrados de ω -3, produzidos com óleo de peixe, os quais obtêm os ácidos graxos, através da alimentação que é caracterizada por ser majoritariamente microalgas, a pesquisa focou na extração dos ácidos graxos, provenientes das microalgas, com o intuito de permitir sua posterior adição na indústria de alimentos fortificados, atenuando essa deficiência alimentar e, assim, atendendo às necessidades de uma parcela da população.

A hipótese de pesquisa foi confirmada, uma vez que foi possível extrair e caracterizar o ômega 3 da microalga *Nannochloropsis oculata*. Além do cultivo e da extração terem sido de fácil realização, a caracterização demonstrou tratar-se de um óleo de composição e qualidade muito semelhantes ao óleo

comercializado, proveniente de peixes. Contudo, verifica-se que, de acordo com a literatura, o óleo proveniente de peixes ocasiona sabor e odor característicos nos alimentos. Portanto, futuros trabalhos de investigação, empregando análise sensorial poderão ser feitos, com vistas a investigar seu potencial para uso como fortificante alimentar.

Outrossim, percebe-se que o principal objeto de estudos sobre o óleo extraído de microalgas, os quais investigam sua aplicabilidade à produção de biodiesel, pode ser considerado um desperdício do potencial nutricional proporcionado pelo ômega 3 das microalgas.

Dando continuidade à pesquisa, pretende-se realizar um estudo sobre a aceitação do óleo de microalgas no enriquecimento de alimentos e sobre a inserção dos óleos em alimentos amplamente consumidos, determinando também as concentrações ideais para essa implementação. Por fim, pretende-se realizar uma análise sensorial para avaliar a percepção dos consumidores acerca desse novo produto, de forma a propor uma forma de contribuir para amenizar o desequilíbrio nutricional, decorrente da falta de ômega 3 na alimentação ocidental.

Referências

- ANDRADE, P. M. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanoides, inflamação e imunidade. *MN-Metabólica*, v. 8, n. 3, p. 135-143, 2006. Disponível em: <http://laszlo.ind.br/admin/artigos/arquivos/prisciladematto%20machadoandrademmetab%C3%83%C2%B3licav8n3.pdf>. Acesso em: 9 mar. 2018.
- COUCEIRO, P.; SLYWITCH, E.; LENZ, F. **Padrão alimentar da dieta vegetariana**. 2008. Disponível em: http://www.cookie.com.br/site/wp-content/uploads/2014/11/padrao_alimentar_da_dieta_vegetariana.pdf. Acesso em: 27 jul. 2018.
- DERNER, R. B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 6, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000600050>. Acesso em: 19 ago. 2018.
- GRAVE, M. T. Q.; LOPES, M. I. **Desafios da atenção interdisciplinar na qualidade de vida - Resumos CCBS/Univates 2016**. Lajeado: Univates, 2017. Disponível em: <http://csbc2017.mackenzie.br/public/files/4-encompif/17.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2018.
- GRIS, L. R. S. **Produção da Microalga *Nannochloropsis oculata* em Fotobiorreator Ailift**. 2011. 168 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/29403/000776581.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 20 jul. 2018.
- IBOPE. **14% da população se declara vegetariana**. 2018. Disponível em: <http://www.ibopeinteligencia.com/noticias-e-pesquisas/14-da-populacao-se-declara-vegetariana/>. Acesso em: 12 ago. 2018.
- INSTITUTE OF MEDICINE, FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients)**. Washington, DC: National Academy, 2005.
- LIMA, F. E. L. *et al.* Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. *Revista de Nutrição*, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 73-80, 2000. Disponível em: <https://goo.gl/uiYFhZ>. Acesso em: 7 mar. 2018.
- LIMA, M. F. *et al.* Ácido Graxo Ômega 3 Docosaheptaenóico (Dha: C22:6 N-3) e desenvolvimento neonatal: aspectos relacionados a sua essencialidade e suplementação. *Nutrire*, São Paulo, v. 28, p. 65-77, 2004. Disponível em: https://naturalis.com.br/pdf/DHA/artigo_01.pdf. Acesso em: 30 abr. 2018.
- MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1245-1251, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542008000400032&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 15 ago. 2018.
- NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. A importância dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. *Revista Salus*, Guarapuava, vol. 2, n. 1, jan./jun. 2008. Disponível em: <http://revistas.unicentro.br/index.php/salus/article/view/694>. Acesso em: 9 mar. 2018.
- PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. Washington: Cengage Learning, 2015.
- SOARES, D. **Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo**. 2010. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1884/22075>. Acesso em: 18 ago. 2018.
- SOUZA, A. C. A. A. *et al.* Fatores relevantes para o comportamento de consumidores vegetarianos. In: SEMINÁRIOS EM ADMINISTRAÇÃO, 16., 2013, São Paulo. *Anais [...]*. São Paulo: FEA/USP, 2013. Disponível em: <http://sistema.semead.com.br/16semead/resultado/trabalhosPDF/212.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2018.
- SUÁREZ-MAHECHA, H. *et al.* Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 101-110, 2002. Disponível em: ftp://ftp.sp.gov.br/ftpcesca/Suarez_mahecha.pdf. Acesso em: 10 mar. 2018.
- VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácido graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. *Química Nova*, São Paulo, v. 19, n. 4, 1996. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol19No4_400_v19_n4_10.pdf. Acesso em: 9 mar. 2018.

