MICROALGAS Nannochloropsis sp. e Spirulina sp. E SEU POTENCIAL COMO FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS

PRISCILA TESSMER SCAGLIONI[1], KELLY CRISTINA MASSAROLO[2], ELIANA BADIALE FURLONG[3]

RESUMO

As biomassas de *Nannochloropsis* sp. e *Spirulina* sp. foram caracterizadas quanto a composição de diferentes ácidos graxos, visando definir o potencial funcional como fonte de ácidos graxos essenciais. A extração dos lipídios foi realizada a frio com mistura de clorofórmio:metanol, para derivatização dos ácidos graxos foi empregado o reagente BF_3 sob refluxo, e a identificação e quantificação deles foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a detector por ionização de chama. A biomassa de *Nannochloropsis* ps. apresentou 3%, 87% e 11% de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, respectivamente. Enquanto que a biomassa de *Spirulina* sp. continha 31%, 63% e 6% destas mesmas classes de ácidos graxos. Sendo que o composto majoritário encontrado na biomassa de *Nannochloropsis* sp. foi o ácido elaídico (62%) e na *Spirulina* sp. o palmitoléico (41%). A proporção de ácidos graxos quanto a presença de insaturações mostrou que a *Nannochloropsis* sp. apresenta o dobro de poliinsaturados comparativamente a *Spirulina* sp.

PALAVRAS-CHAVES: CG-DIC. ESTERIFICAÇÃO. MICROALGA.

MICROALGAE NANNOCHLOROPSIS SP. AND SPIRULINA SP. AND ITS POTENTIAL AS A SOURCE OF ESSENTIAL FATTY ACIDS

ABSTRACT

The biomasses of Nannochloropsis sp. and Spirulina sp. were characterized as the composition of different fatty acids, aiming to define the functional potential as a source of essential fatty acids. The extraction of the lipids was carried out in the cold with a mixture of chloroform: methanol, for the fatty acids derivatization the reagent BF_3 was used under reflux, and the identification and quantification of them were carried out in a gas chromatograph coupled to a flame ionization detector. The biomass of Nannochloropsis sp. showed 3%, 87% and 11% saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, respectively. While, the biomass of Spirulina sp. contained 31%, 63% and 6% of these same classes of fatty acids. Being that the majority compound found in the biomass of Nannochloropsis sp. was elaidic acid (62%) and in the Spirulina sp. the palmitolenic acid (41%). The proportion of fatty acids in the presence of unsaturation showed that Nannochloropsis sp. has twice the polyunsaturated content compared to Spirulina sp.

KEYWORDS: GC-FID. ESTERIFICATION. MICROALGA.

[1]Discente – Universidade Federal do Rio Grande (FURG)/EQA/PPG-ECA – e-mail: priscilascaglioni@gmail.com
[2]Discente – Universidade Federal do Rio Grande (FURG)/EQA/PPG-ECA – e-mail: kelly_massa@hotmail.com
[3]Docente – Universidade Federal do Rio Grande (FURG)/EQA/PPG-ECA – e-mail: dqmebf@furg.br

1. INTRODUÇÃO

As microalgas, que estão distribuídas em mais de 200.000 espécies, têm papel vital na ecologia do planeta, sendo responsáveis por 45% da produtividade global, além de ser a base da cadeia alimentar aquática. Algumas espécies podem ser utilizadas nas indústrias farmacêutica e alimentar, como fonte suplementar de ácidos graxos, proteínas, carboidratos, pigmentos e vitaminas. Na aquicultura, as microalgas são utilizadas para a manutenção da qualidade da água e como fonte alimentar complementar para os indivíduos do cultivo [5]. Outras espécies (*Chlorella vulgaris, Chlorella sorokiniana, Scenedesmus obliquus*) são empregadas há algum tempo no tratamento de efluentes domésticos e industriais [34, 30], o que as tornam promissoras como fonte de compostos antimicrobianos.

As microalgas podem ser utilizadas como fonte de energia renovável, que incluem metano, produzido pela digestão anaeróbica de sua biomassa [31], biohidrogênio [9] e biodiesel derivado dos lipídios [7]. A produção de biodiesel tem recebido considerável atenção nos últimos anos por ser um combustível biodegradável, renovável e não-tóxico e as microalgas têm sido sugeridas como potenciais produtoras deste combustível, devido a sua alta eficiência fotossintética, alta produção de biomassa e rápido crescimento, quando comparadas com outros vegetais [21].

Para que as microalgas tenham custo competitivo como uma fonte para biocombustíveis, a espécie utilizada precisa apresentar alta eficiência fotossintética e grande rendimento na produção de lipídios [18]. Portanto, antes da fase de escalonamento (aumento na escala de produção) para a produção de biodiesel, é necessária a caracterização do conteúdo de lipídios e ácidos graxos das espécies para a identificação de cepas com alto rendimento, além da determinação das condições ideais de cultivo que permitam a maior produção de ácidos graxos.

Os lipídios nas microalgas, além de serem componentes estruturais, exercem funções como produtos de reserva [16]. Estes lipídios são incorporados aos animais marinhos através da dieta e aos humanos através do consumo de frutos do mar [17]. Além disso, os lipídios podem ter diferentes aplicações biotecnológicas.

O conteúdo de lipídios nas microalgas em média pode variar entre 1 e 70%, podendo alcançar 90% de seu peso seco [20]. O teor de lipídios das microalgas pode ser alterado, dependendo do estado fisiológico das algas, de sua fase de crescimento

e das condições do meio, como temperatura, salinidade e nutrientes. Segundo Thompson Jr. [32] uma deficiência de nutrientes causa um contínuo decréscimo nas taxas de crescimento. Porém, sob estas circunstâncias, muitas espécies de microalgas continuam sintetizando ácidos graxos ativamente. Na falta da usual utilização dessas substâncias, isto é, construção de novas membranas, as células convertem os ácidos graxos em triglicerídeos. O conteúdo dos ácidos graxos das microalgas e a transformação deste em triglicerídeos dependem não somente das espécies, mas também das condições do meio, incluindo a sua composição, aeração, intensidade luminosa, temperatura e tempo de cultivo [8].

No entanto, considerando-se que espécies do gênero *Spirulina*, *Nannochloropsis* e *Chlorella* são usadas como suplementos alimentares para humanos e animais de criação, é interessante verificar o seu potencial como fonte de ácidos graxos essenciais ou com funções especiais na produção de alimentos, visto que o investimento para cultivo é elevado e poderia ser direcionado a aplicações mais específicas.

Microalgas do gênero *Nannochloropsis* são amplamente distribuídas nos oceanos e apresentam elevado potencial de absorver CO_2 que resultam na sua alta produtividade e conteúdo lipídico [3]. Elas também se destacam por serem produtoras de um importante ácido graxo poli-insaturado essencial, o ácido eicopentanóico (EPA) [16, 36].

O componente em maior concentração na biomassa da *Spirulina* é a proteína, variando entre 64 e 74%. As proteínas que possuem maior potencial econômico são as biliproteínas, sendo que a *Spirulina* possui duas biliproteínas: c-ficocianina e aloficocianina. Os lipídios e carboidratos variam entre 6 a 13% e 12 a 20%, respectivamente. A composição de pigmentos da *Spirulina* é típica de uma cianobactéria, a única clorofila presente é a clorofila α, que tem seu peso variando entre 0,8 e 1,5% do peso seco. É considerada excelente fonte de pró-vitamina A (β-caroteno) e de ferro biodisponível, além de outros minerais, compostos fenólicos, ácido gama linoléico e outros ácidos graxos essenciais [2, 35].

A produção de lipídios pelas microalgas vem estimulando os pesquisadores a aumentarem os esforços na busca por cepas com capacidade de acumular maiores teores de lipídios, e na investigação das condições em que essa produção possa ocorrer, além de ser melhorada em rendimento, também mostrar perfis de ácidos graxos que possam ser adotados para exercer atividade funcional. Considerando a disponibilidade em biomassa das microalgas *Nannochloropsis* sp. e *Spirulina* sp., o

presente estudo teve como objetivo estimar a composição de ácidos graxos de ambas microalgas, visando inferir sobre o potencial funcional delas de forma a direcionar sua aplicação de forma mais específica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cultivo das biomassas de microalgas e preparo das amostras

A biomassa de *Spirulina* sp. (LEB-18) foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), localizado em Rio Grande, RS. Produzida em condições de agitação em tanques de fibra de vidro com água da lagoa Mangueira (33° 30' 13" S e 53° 08' 59" O), suplementado com 20% (v/v) de meio Zarrouk. A biomassa da microalga foi separada por filtração após atingir a concentração de 1 g L^{-1} [22].

A biomassa de *Nannochloropsis* sp. (NANN-OCUL-1) foi cultivada no Laboratório de Fitoplâncton e Micro-organismos Marinhos da FURG, em meio f/2 [12], salinidade 28 (Unidades Práticas de Salinidade), a 20 °C, 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$ e fotoperíodo 12 h claro / escuro [4].

As biomassas das microalgas, coletadas e centrifugadas, foram secas em secadores de bandejas a 50 °C durante 5 h, moídas até 32 mesh, embaladas a vácuo e armazenadas à 4°C até a realização das determinações analíticas.

2.2 Extração lipídica

A extração lipídica foi realizada de acordo com Folch, Lees e Sloane-Stanley [11], consistiu em primeiramente homogeneizar a amostra com KCl 0,88% (1:1 m:v); a extração foi realizada através da adição de clorofórmio:metanol (2:1), submissão ao banho ultra-sônico por 5 min, e posterior centrifugação a 3220 x *g* por 10 min, o sobrenadante foi recolhido (as etapas de extração foram realizadas três vezes). Para remoção de qualquer resíduo aquoso, foi realizada partição com KCl 0,88% e passagem do extrato por Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado em estufa com circulação de ar a 65 °C.

2.3 Esterificação lipídica

Para a análise de ácidos graxos por cromatografia a gás, é necessário aplicar procedimentos de esterificação para converter os ácidos graxos em compostos mais voláteis, tais como ésteres metílicos de ácidos graxos. Para isso, ao lipídio extraído

anteriormente foram adicionados 5 mL de KOH 0,5 M em metanol, sendo mantidos sob refluxo durante 15 min. A segunda etapa consistiu em adicionar BF_3 20% e metanol (1:1) e retornar ao refluxo pela metade do tempo, cerca de 7 min. Posteriormente foi realizada partição com adição de 15 mL de éter de petróleo e 15 mL de NaCl saturado, sendo recolhida a fração éter e repetido o procedimento por três vezes. As três porções resultantes foram unidas, passaram por lavagem com água destilada e filtração com Na_2SO_4 anidro para frasco âmbar estéril. Todo o solvente foi evaporado e armazenado a temperatura de congelamento até o momento da determinação cromatográfica [19].

2.4 Separação e identificação dos ácidos graxos

Para separar e identificar a mistura de ácidos graxos esterificados foi empregado cromatógrafo a gás (Shimadzu 2010 Plus, Japão), equipado com injetor split/splitless, coluna capilar RTX®-1 (30 m x 0,25 mmID x 0,25 µm) e detector por ionização de chama (DIC). O gás de arraste foi hélio em uma vazão de 1,25 mL min^{-1} e as temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 260°C, sendo o volume injetado de 1 µL. As condições cromatográficas de separação foram temperatura inicial da coluna 50 °C, elevando-se para 200°C, a taxa de 6 °C min^{-1}, permanecendo nesta temperatura por 4 min; na segunda rampa de temperatura a taxa de aumento foi 2 °C min^{-1} até 240 °C, permanecendo por 10 min.

Os ácidos graxos esterificados obtidos anteriormente foram solubilizados com 1 mL de diclorometano para injeção no cromatógrafo. A comparação dos tempos de retenção com padrões de ésteres metílicos foi usada para identificação do perfil dos ácidos graxos e quantificada pela normatização das áreas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas microalgas, a quantidade de lipídios produzidos, bem como o perfil de ácidos graxos, pode mudar com base nas condições ambientais. Os triglicerídeos são formados principalmente por ácidos graxos saturados e monoinsaturados, enquanto os ácidos graxos poli-insaturados são componentes importantes das membranas das microalgas, que apresentam respostas rápidas às mudanças ambientais, como variações de temperatura, luz e pH [13]. O pH alcalino pode levar à acumulação de triglicerídeos e a uma diminuição dos lipídios da membrana. Durante as mudanças

súbitas do meio ambiente, como o aumento do pH, a síntese de ácidos graxos poli-insaturados pode ser mais lenta e os triglicerídeos ricos em ácidos graxos poli-insaturados podem doar grupos acilo aos lipídios polares para permitir a reorganização das membranas e uma resposta mais rápida de adaptação das células [15].

As microalgas marinhas apresentam os seus lipídios bioencapsulados pela parede celular [24], entre eles de especial interesse estão os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), incluindo os ômegas-3, eicosapentaenóico (EPA - C20:5) e docosahexaenóico (DHA – C22:6), e os ômegas-6 linoléico (C18:2) e aracdônico (AA – C20:4) [33]. Estes ácidos graxos são derivados dos ácidos graxos essenciais os quais são sintetizados pelos vegetais, mas não pelos animais [27]. Diferentemente, as microalgas, plantas superiores não sintetizam PUFA de cadeia muito longas como AA, EPA, e DHA [10, 14]. As microalgas contêm todas as desaturases encontradas nas plantas superiores, além de diversas desaturases adicionais que podem produzir esses PUFA de cadeia longa [1], sendo as maiores produtoras de EPA e DHA [24].

No caso das microalgas estudadas neste trabalho, as características biológicas e as respostas aos meios de desenvolvimento delas estão refletidas nos perfis distintos de ácidos graxos de cada uma delas (Tabela 1), conforme acima discutido.

CAMPOS, BARBARINO e LOURENÇO [6] determinaram a composição química de diferentes espécies de microalgas, incluindo a *N. oculata,* obtendo um perfil de ácidos graxos com 34,6% de saturados, 35,3% de monoinsaturados e 26,8% de poli-insaturados. O interesse pelos lipídios dos micro-ogranismos incluem também os fungos, e segundo OLIVEIRA et al. [23], os lipídios do *R. oryzae* são compostos principalmente por 33,6% de ácido oleico (C18:1n9), 29,3% de ácido palmítico (C16: 0), 14,6% linoléico (C18: 2n6), 8,7% esteárico (C18:0) e 4,6% linolênico. Os ácidos oleicos, palmíticos e linoleicos também foram relatados como prevalentes em várias espécies de fungos [29].

O composto majoritário encontrado na biomassa de *Nannochloropsis* sp. foi o ácido elaídico (62%), a forma trans do ácido oleico. Na natureza, o ácido elaídico é encontrado no leite de ruminantes e a ele se atribui atividade antioxidante diferenciada, a presença dele também é comum em gorduras hidrogenadas [25,26]. Os percentuais de ácido elaído encontrado abre a possibilidade de explorar a microalga produtora como fonte dele, visto tratar-se de um importante solvente para a indústria farmacêutica. Na biomassa de *Nannochloropsis* sp. também foram encontrados em relativa abundância quatro ácidos graxos essenciais na biomassa de *Nannohloropsis* sp., γ-linolênico (6,9,12-Octadecatrienóico), α-linolênico (9,12,15-

Octadecatrienóico), araquidônico (5,8,11,14-Eicosatetraenóico) e timnodônico (5,8,11,14,17-Eicosapentaenóico) do grupo ômega 6.

TABELA 1 - Composição de ácidos graxos (%) das biomassas de *Nannochloropsis* sp. e *Spirulina* sp.

Ácido graxo	*Nannochloropsis* sp.	*Spirulina* sp.
C14:1	-	0,1
C15:1	0,3	-
C16:0	2,9	7,3
C16:1	24,4	41,2
C17:0	-	0,2
C17:1	-	0,1
C18:0	-	24,0
C18:1n9	62,1	21,6
C18:2n6	1,6	2,3
C18:3n6 (essencial)	1,6	0,9
C18:3n3 (essencial)	1,1	1,3
C20:1n9	-	0,1
C20:2	-	0,8
C20:3n6	-	0,4
C20:4n6 (essencial)	6,4	-
C20:5n3 (essencial)	0,2	-
Total saturado	2,9	31,4
Total monoinsaturado	86,8	63,1
Total poli-insaturado	10,9	5,6

Na biomassa de *Spirulina* sp., o palmitoléico foi predominante (41%), seguido do esteárico (24,0%) e oleico (21,6%). Outro aspecto interessante nesta biomassa foi o elevado teor de ácidos graxos saturados (31,4%), comparativamente a *Nannochloropsis* sp. onde esses ácidos graxos foram encontrados em concentrações ao redor de 15 vezes menores (2,9%). Os ácidos graxos poli-insaturados presentes na *Nannochloropsis* sp. constituiram o dobro (10,9%) dos mesmos apresentados pela *Spirulina* sp. (5,6%). Cabe salientar que, os teores destes ácidos graxos são

importantes para uso em alimentos ou suplementos alimentares, pois os poli-insaturados tendem a abaixar o nível sanguíneo de colesterol, enquanto os saturados a elevar [28]. Neste sentido, embora já seja rotina o uso de *Spirulina* sp em alimentos e suplementos destinados ao consumo humano, a *Nannochloropsis* sp ainda não possui rotina de aplicação em alimentos destinados a humanos ou animais terrestres, porém este perfil a torna interessante para tal.

4. CONCLUSÕES

O perfil de ácidos graxos das biomassas de *Nannochloropsis* sp. e *Spirulina* sp. apresentaram-se diferentes, com maior teor de saturados (31,4%) na *Spirulina* sp. e insaturados na *Nannochloropsis* sp. (97,7%), com o destaque para a presença de ácido elaídico. Dentre os ácidos graxos insaturados, os essenciais foram cerca de cinco vezes maiores (9,3%) na *Nannochloropsis* sp. em relação a *Spirulina* sp (2,2%). Portanto, a caracterização lipídica das microalgas pode contribuir para melhor aplicação de suas biomassas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] ALONSO, D.L.; MAROTO, F.G. Plants as 'chemical factories' for the production of polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology advances**, v. 18, n. 6, p. 481-497, 2000.

[2] BELAY, A. The potential application of Spirulina *(Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. **Journal American Nutraceutical Association**, v. 5, n. 2, p. 27-48, 2002.

[3] BORGES, L.V. **Caracterização do potencial de absorção do dióxido de carbono atmosférico por microalgas utilizadas na aquicultura para geração de um mecanismo de desenvolvimento limpo (MDL)**. 2005. 57 f**. Dissertação** (Mestrado em Oceanografia) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2005.

[4] BORGES, L.; MORÓN-VILLARREYES, J.A.; D'OCA, M.G.M.; ABREU, P.C. Effects of flocculants on lipid extraction and fatty acid composition of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 4449-4454, 2011.

[5] BROWN, M.R. Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. Avances en nutrición acuícola. In: VI. MEMORIAS DEL VI SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, 2002, Cancún, **Anais…** Cancún. Quintana Roo, 2002.

[6] CAMPOS, V.B.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S.O. Crescimento e composição química de dez espécies de microalgas marinhas em cultivos estanques. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 339-347, 2010.

[7] CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

[8] DUNSTAN, G.A.; VOLKMAN, J.K.; BARRTT, S.M.; LEROI, J.M.; JEFFREY, S.V. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae). **Phytochemistry**, v. 35, n. 1, p. 155-161, 1993.

[9] DUTTA, D.D.; CHAUDHURI, S.; BHATTACHARYA, S.K. Hydrogen production by cyanobacteria. **Microbial Cell Factories**, v. 4, n. 1, p. 36, 2005.

[10] DYER, J.; STYMNE S.; GREEN, A.G.; CARLSSON, A.S. High-value oils from plants. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 640-655, 2008.

[11] FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

[12] GUILLARD, R.R.L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, W. L.; CHANLEY, M. H. (eds) **Culture of Marine Invertebrate Animals**, New York, USA. Plenum, p. 29-60, 1975.

[13] GUSCHINA, I.A.; HARWOOD, J.L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. **Progress in lipid research**, v. 45, n. 2, p. 160-186, 2006.

[14] HARWOOD, J. L.; GUSCHINA, I. A. The versatility of algae and their lipid metabolism. **Biochimie**, v. 91, n. 6, p. 679-684, 2009.

[15] KHOZIN-GOLDBERG. I.; SHRESTHA, P.; COHEN, Z. Mobilization of arachidonyl moieties from triacylglycerols into chloroplastic lipids following recovery from nitrogen starvation of the microalga Parietochloris incisa. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1738, n. 1, p. 63-71, 2005.

[16] LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos, SP. RiMa, 2006.

[17] MANSOUR, M.P.; FRAMPTON, D.M.F.; NICHOLS, P.D.; VOLKMAN, J.K., BLACKBURN, S.I., Lipid and fatty acid yield of nine stationary-phase microalgae: applications and unusual C 24–C 28 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, n. 4, p. 287-300, 2005.

[18] MCGINNIS, K.M.; DEMPSTER, T.A.; SOMMERFELD, M.R. Characterization of the growth and lipid content of the diatom *Chaetoceros muelleri*. **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 1, p. 19-24, 1997.

[19] METCALFE, L.D.A.A.; SCHMITZ, J.R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 514-515, 1966.

[20] METTING, F.B. Biodiversity and application of microalgae. **Journal of industrial microbiology**, v. 17, n. 5-6, p. 477-489, 1996.

[21] MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. **Bioresource technology**, v. 97, n. 6, p. 841-846, 2006.

[22] MORAIS, M.G.; RADMANN, E.M.; ANDRADE, M.R.; TEIXEIRA, G.G.; BRUSCH, L.R.F.; COSTA, J.A.V. Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. **Aquaculture**, v. 294, p. 60-64, 2009.

[23] OLIVEIRA, M.S.; FEDDERN, V.; KUPSKI, L.; CIPOLATTI, E.P.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L.A. Changes in lipid, fatty acids and phospholipids composition of whole rice bran after solid-state fungal fermentation. **Bioresource technology**, v. 102, n. 17, p. 8335-8338, 2011.

[24] PATIL, V.; KALLQVIST, T.; OLSEN, E.; VOGT, G.; GISLEROD, H.R. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. **Aquaculture International**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2007.

[25] PELLEGRINI, L.G.; PELLEGRIN, A.C.R.S.; GUSSO, A.P.; MATTANNA, P.; CASSANEGO, D.B. Análise do perfil de ácidos graxos do leite bovino caprino e ovino. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 7, n. 1, 2012.

[26] SANIBAL, E.A.A.; MANCINI FILHO, J. Perfil de ácidos graxos trans de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 27-31, 2004.

[27] SAYANOVA, O.V.; NAPIER, J.A. Eicosapentaenoic acid: biosynthetic routes and the potential for synthesis in transgenic plants. **Phytochemistry**, v. 65, n. 2, p. 147-158, 2004.

[28] SCHERR, C.; GAGLIARDI, A.C.M.; MINAME, M.H.; SANTOS, R.D. Fatty acid and cholesterol concentrations in usually consumed fish in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 104, n. 2, p. 152-158, 2015.

[29] SILVA, T. I.; SOUSA, E.; PEREIRA, P.T.; FERRÃO, A.M.; ROSEIRO, J.C. Cellular fatty acid profiles for the differentiation of Penicillium species. **FEMS microbiology letters**, v. 164, n. 2, p. 303-310, 1998.

[30] SINGH, R.; BIRRU, R.; SIBI, G. Nutrient removal efficiencies of *Chlorella vulgaris* from urban wastewater for reduced eutrophication. **Journal of Environmental Protection**, v. 8, n. 01, p. 1, 2017.

[31] SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

[32] THOMPSON, G. A. Lipids and membrane function in green algae. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, v. 1302, n. 1, p. 17-45, 1996.

[33] VARGAS, M.A.; RODRIGUEZ, H.; MORENO, J.; OLIVARES, H.; DEL CAMPO, J.A.; RIVAS, J.; GUERRERO, M.G. Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria. **Journal of Phycology**, v. 34, n. 5, p. 812-817, 1998.

[34] VÍLCHEZ, C.; LOBATO, M.V. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 20, p. 562-572, 1997.

[35] VON-DER, W.D.; DILLON, J.C.; FALQUET, J. ***Malnutrition:* a silent massacre**. Geneve. Antenna Technology, 13p., 2000.

[36] ZOU, N.; ZHANG, C.; COHEN, Z.; RICHMOND, A. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). **European Journal of Phycology**, v.35, n.2, p.127-133, 2000.