

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica**

**USO DE BIOMASSA DE MICROALGAS E SEUS  
DERIVADOS EM ALIMENTOS**

**Fernanda Rebelo Carnevalli**

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências  
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. João Carlos Monteiro de Carvalho

São Paulo

2021

## **Sumário**

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>2</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>4</b>
<b>OBJETIVO.....</b>	<b>9</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>10</b>
<b>1. Metabólitos de Interesse.....</b>	<b>11</b>
1.1. Ômega 3.....	11
1.2. Vitamina B12.....	16
1.3. Proteínas.....	21
<b>2. Aplicações em alimentos.....</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>33</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>SIGLA</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
AESA	Agência Europeia De Segurança Alimentar
AFA	Ácido Alfa-Linolênico
AHA	<i>American Heart Association</i>
ANVISA	Agência Nacional De Vigilância Sanitária
CAGR	<i>Compound Annual Growth Rate</i>
CAPES	Coordenação De Aperfeiçoamento De Pessoal De Nível Superior
DAS	Ácido Estearidônico
DHA	Ácido Docosahexaenóico
DPA	Ácido Docosapentaenóico
EPA	Ácido Eicosapentaenóico
FAO	<i>Food and Agriculture Association</i>
GRAS	<i>Generally Rated as Safe</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
OMS	Organização Mundial Da Saúde
SCP	<i>Single Cell Protein</i>

## RESUMO

CARNEVALLI, F.R. **Uso de Biomassa de Microalgas e seus Derivados em Alimentos**. 2021. no. 41. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

**Palavras-chave:** Microalgas, nutrição, alimentos funcionais, alimentos inovadores, vegetarianismo.

**INTRODUÇÃO:** “Microalga” é o termo taxonômico usado para se referir às algas microscópicas, unicelulares, coloniais e filamentosas, juntamente às cianobacterias. Esse grupo tem ganhado atenção de diferentes nichos industriais devido à ampla gama de metabólitos e possíveis subprodutos da biomassa de microalgas, encontrados em teores aparentemente promissores. Algumas de tais aplicações são na aquacultura, em biocombustíveis, nas indústrias cosméticas, farmacêuticas, nutracêuticas e de alimentos. É importante que avaliações sejam feitas em relação ao uso desses microrganismos e/ou seus derivados em alimentos, tangenciando especialmente necessidades nutricionais não atendidas pela população vegetariana e vegana, que não consome produtos de origem animal. Destacam-se, nesse sentido, microalgas fontes de proteínas, de ácidos graxos Ômega 3, de diferentes vitaminas (vitaminas A e B, por exemplo), betacaroteno, fibras, e betacaroteno. **OBJETIVO:** Esse trabalho teve como objetivo, por meio de revisão bibliográfica de artigos e livros publicados, verificar a presença, quantidade e qualidade dos nutrientes oriundos das microalgas, além de estudar as possíveis aplicações em alimentos, considerando a viabilidade econômica e possível aceitação mercadológica. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Como ferramenta para o desenvolvimento do trabalho, artigos científicos e textos de especialistas foram buscados em bases de dados científicos, utilizando palavras-chave relacionadas às microalgas e suas aplicações. Para a seleção e priorização de artigos, a data de publicação, o idioma utilizado, a disponibilidade na íntegra foram ponderados. **RESULTADOS:** Para obter maior profundidade na análise, foram percorridos e discutidos a fundo a caracterização do teor de três nutrientes em específico: ácidos graxos poli insaturados Ômega 3, vitamina B12 e proteínas. Foram escolhidos esses metabólitos por apresentarem ao mesmo tempo ampla importância nas funções fisiológicas e severas consequências quando em valor séricos deficientes, o que pode ocorrer na população que não consome alimentos de origem animal. Foram encontrados diversos estudos sobre tais metabólitos, que analisavam tanto a presença, quanto o teor, e até mesmo a absorção e manutenção dos nutrientes em estudos clínicos. Considerando os dados constatados, os ácidos Ômega 3 e as proteínas foram encontradas em quantidades deveras satisfatórias, além de possuírem boa biodisponibilidade, ainda que ambos os parâmetros variem entre as espécies de microalgas. Por sua vez, foi constatado que a vitamina B12, ainda que encontrada com alto teor, há relatos que a maior parte da mesma não se encontra na forma ativa da vitamina, o que dificultaria seu uso como uma fonte deste micronutriente. **CONCLUSÃO:** A partir das evidências levantadas, é possível concluir que as microalgas possuem potencial a ser explorado num mercado com demandas não atendidas, conferindo aos alimentos enriquecimentos nutricionais importantes. Todavia, para que tal prática seja realmente disseminada e consolidada, se faz necessário mais investimento, por parte da indústria principalmente, para que o processo de cultivo e extração seja aprimorado e mais viável financeiramente.

## INTRODUÇÃO

Não há um consenso na definição de no que consistem as “algas”, e tampouco as “microalgas”. “Alga” não é um termo taxonômico, mas sim o nome popular adotado para designar os organismos aparentemente primitivos, com características de planta, que geralmente realizam fotossíntese e que não são plantas terrestres (BOLTON, 2016). Esse vasto grupo, no qual estão presentes os filos *Charophyta*, *Chlorarachniophyta*, *Chlorophyta*, *Cryptophyta*, *Cyanophyta*, *Dinophyta*, *Euglenophyta*, *Glaucophyta*, *Haptophyta*, *Heterokontophyta* e *Rhodophyta*, compreende organismos de dezenas de metros, como os kelps multicelulares, até cianobactérias e algas verdes, que possuem até 1,5 µm (BARKIA; SAARI; MANNING, 2019).

A diferenciação das macroalgas para as microalgas é feita de acordo com o tamanho, mas também não é perfeitamente delineada. Todavia, consideram-se no grupo das microalgas as algas eucariotas, microscópicas, unicelulares, coloniais e filamentosas; e as cianobactérias, bactérias procarióticas fotossintetizantes, (BOROWITZKA, 2018).

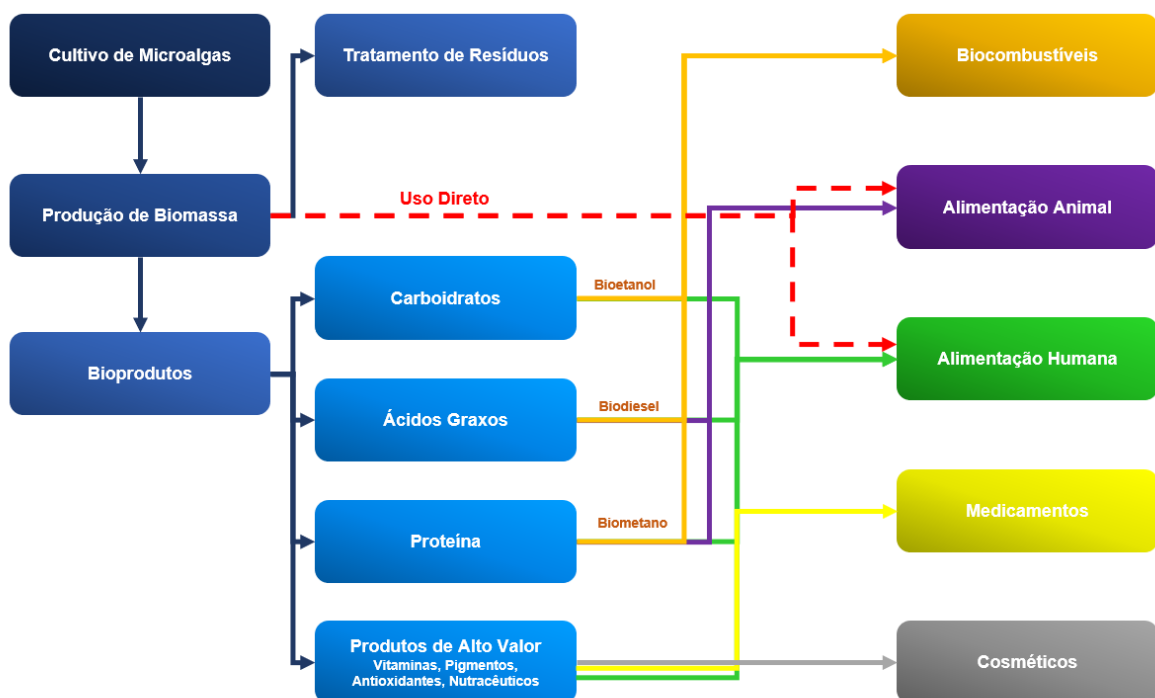
É possível afirmar que as algas são as grandes responsáveis pela vida na terra: aproximadamente 50% de todo o oxigênio liberado na atmosfera é produto da fotossíntese por elas realizada, e, em especial, pelas microalgas, além deste grupo ter basicamente sido o precursor de todas as plantas terrestres. E, ademais de sua importância ambiental, as algas também possuem um grande potencial econômico e social. Entretanto, enquanto macroalgas são usadas pela humanidade desde pelo menos 2700 A.C na alimentação, medicina, agricultura e cosmetologia, o emprego das microalgas é relativamente recente e pouco explorado: de mais de 50.000 espécies identificadas, apenas 30.000 foram estudadas e menos de 10 são comercializadas (DE SOUZA et al., 2019; NETHRAVATHY et al., 2019).

A cronologia da indústria de microalgas se inicia nos anos 60 no Japão, com a primeira produção em grande escala com culturas de *Chlorella*, seguida pela produção de *Spirulina (Arthrospira)* no México nos anos 70. Durante a década de 80, existiam 46 fábricas de larga escala de microalgas na Ásia, que juntas produziam mais de 1 tonelada de microalga por mês, e, também nessa década, a cultura de *Dunaliella salina* para produção de β-caroteno na Austrália a tornou uma potência na indústria

de microalgas, junto com Israel e nos Estados Unidos, nos quais foram inauguradas plantas importantes no mesmo período. Atualmente, estima-se que o mercado de microalgas produza 5.000 toneladas finais de biomassa anualmente, gerando um faturamento de aproximadamente US\$1,25 bilhões por ano, sem incluir os produtos derivados, e que terá uma taxa de crescimento anual composto (*CAGR*) de 5% até 2023 (NETHRAVATHY et al., 2019) (KHAN; SHIN; KIM, 2018).

O potencial das microalgas pode ser aplicado a diferentes áreas da ciência: como combustível renovável, na indústria biofarmacêutica e nutracêutica, no tratamento de resíduos, na agricultura, usadas como biofertilizantes e inoculantes, e na aquicultura, como ilustrado na Figura 1, onde as aplicações nutricionais, que serão o foco deste estudo, estão destacadas em verde. Outro fator importante são os atributos do grupo que o qualificam para uso industrial: os organismos são capazes de crescerem em condições inóspitas, possuem metabolismo altamente adaptável sob situações de stress e são capazes de acumular diversos tipos de metabolitos em sua estrutura, incluindo vários com potenciais bioativos, como ácidos graxos essenciais, esteroides, pigmentos, proteínas, vitaminas, enzimas e carboidratos (DE SOUZA et al., 2019; NETHRAVATHY et al., 2019).

**Figura 1: Aplicações industriais das microalgas. (Adaptado DE SOUZA et al., 2019; KHAN; SHIN; KIM, 2018)**



Uma vez que a biomassa de microalgas é aplicada em tantos segmentos diferentes, o valor associado aos seus produtos finais, mesmo considerando apenas dentro do ramo alimentício, é extremamente variado.

O pesquisador Matos, da Universidade Federal de Santa Catarina, publicou uma extensa revisão em 2017 em que foram reunidos os preços médios empregados nas diferentes aplicações da biomassa de diversas espécies de microalgas: suplementos alimentares, a partir de *Spirulina* e *Chlorella* visando o aproveitamento de suas proteínas e vitaminas; Hidrocolóides, usados como agentes gelificantes, espessantes ou emulsificantes; ácidos graxos, principalmente poli insaturados de cadeia longa, os ômega 3; e pigmentos, como o  $\beta$ -caroteno, a Astaxantina e as Ficobiliproteínas. Os valores médios de venda constatados possuem ampla variação, não só entre diferentes aplicações, mas também dentro diferentes graus de pureza do produto final: como destacado no Quadro 1, os agentes emulsificantes são os de menor valor, variando de 3 a 8 dólares por quilograma, e o mercado de pigmentos o mais rentável, com valores do quilograma podendo chegar a 25 mil dólares (Matos, 2017).

**Quadro 1: Preços associados a cada produto alimentício das microalgas. Dados expressos em dólares por quilo. (MATOS, 2017)**

Aplicação	Produto	Microalga	Preço (US\$/kg)
Suplementação/ Enriquecimento Alimentar	Proteínas Unicelulares (SCP)	<i>Spirulina</i>	20
		<i>Chlorella</i>	44
	Ácidos Graxos Poli Insaturados Ômega 3	<i>C. cohnii</i>	140
		<i>Schizochytrium</i>	
Indústria Alimentícia	Fibra Solúvel $\beta$ -1,3-glucano	<i>Porphyridium</i>	20-25
	Goma Agar	<i>Gelidium</i>	20-23
	Goma Carragena	<i>Chondrus crispus</i>	10-12
	Agentes Emulsificantes	<i>Chlorella</i>	3-8
Pigmentos	$\beta$ -Caroteno	<i>D. salina</i>	300-3.000
	Astaxantina	<i>H. pluvialis</i>	2.500
	Ficobiliproteínas	<i>Spirulina</i>	3.000-25.000
		<i>Porphyridium</i>	

A demanda pela ampliação do uso de biomassa microalgal em alimentos vem da percepção de que nosso sistema alimentar não é sustentável, tanto no cenário atual, no qual aproximadamente 52 milhões de crianças se encontram em estado de desnutrição, condição responsável por 45% da mortalidade infantil, quanto num futuro não tão distante: se estima que até 2050, teremos 2 bilhões a mais de habitantes vivendo no planeta, e realizando previsões de acordo com o modelo atual de produção

e consumo, não haverá nem água e terra produtiva suficiente. Portanto, se faz necessário buscar fontes alternativas e inovadoras de alimentos nutritivos (MATOS, 2017; NETHRAVATHY et al., 2019).

Além de necessidade social, outro fator que também impulsiona o emprego das microalgas é mercadológico: a crescente busca pela adoção de uma alimentação livre de produtos de origem animal, popularmente conhecida como “Veganismo”, cujo conceito é definido pela *Vegan Society* como o modo de viver que exclui, dentro do possível, todas as formas em que haja exploração e crueldade aos animais (THE VEGAN SOCIETY, 2020), leva ao maior interesse pelos alimentos funcionais. De acordo com o *Google Trends*, as buscas pelo assunto “Veganismo” e “Alimentos Funcionais” dobraram em cinco anos (GOOGLE LLC, 2020).

Alimentos funcionais são definidos pela ANVISA como aqueles que possuem outros benefícios além de nutrir, por possuírem em sua formulação ingredientes que possam auxiliar em alguma função corporal (ANVISA, 2018). As microalgas tanto podem ser classificadas como alimentos funcionais, em decorrência de seus componentes bioativos, que possuem evidências de propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, imunomoduladoras, antimicrobianas, antivirais e quimioprotetoras, quanto podem simplesmente enriquecer o alimento, pelos macros e micronutrientes presentes nelas (CZERWONKA et al., 2018).

Como já mencionado, um dos maiores interesses nas microalgas é como fonte de proteína: algumas das principais espécies exploradas, *Arthrospira platensis* (*Spirulina*), *A. maxima*, *Chlorella sp*, *Dunaliella bardawil* e *Dunaliella salina* possuem entre 20% e 60% da sua biomassa composta por proteína. E, por exemplo, as proteínas da *Spirulina* possuem alta biodisponibilidade, são ricas em quase todos os aminoácidos, e mesmo com isoleucina sendo levemente menor que a albumina do ovo ou a caseína do leite, é bem superior às outras fontes proteicas vegetais, e inclusive foram usadas em estudos com crianças subnutridas e em pacientes com HIV, mostrando resultados positivos de ganho de peso (NAZIH; BARD, 2018).

Além de proteína, biomassa de microalgas também é composta predominantemente por carboidratos, cuja composição varia entre as espécies, e por lipídeos. A fração lipídica é de grande interesse no ramo da nutrição porque, dentre esses ácidos graxos, há elevado teor de ácido linoleico, gama-linoleico, oleico e Ômega 3 (DHA e EPA), os quais são considerados componentes funcionais por

prevenirem inflamação e doenças cardiovasculares, e que normalmente são obtidos a partir de peixes gordurosos, então, dessa forma, as microalgas são fontes alternativas, sustentáveis e veganas para esta classe de compostos.

A composição de micronutrientes, vitaminas e minerais, das microalgas são igualmente relevantes, especialmente para adeptos de uma dieta vegetariana ou vegana: possuem alto teor de vitaminas A, C, E e diversas do complexo B, incluindo B12, a qual é um dos únicos nutrientes que precisam ser suplementados, pelo fato da quantidade diária sugerida ser praticamente impossível de ser atingida numa alimentação tradicional sem carne; a quantidade de cálcio e fósforo é comparável à do leite e extremamente biodisponível, devido à ausência de oxalatos e fitatos; e o teor de ferro é significativamente maior do que o de muitos cereais, principais fontes de ferro dos vegetarianos ou veganos (NAZIH; BARD, 2018). A vasta presença de vitaminas A e E é responsável pelas alegações de propriedades antioxidantes das microalgas, muito estudadas para a prevenção do estresse oxidativo e de doenças cardiovasculares, por exemplo (ASSUNÇÃO et al., 2017).

Entretanto, apesar do vasto potencial e das diferentes possíveis aplicações da biomassa de microalgas, esta não é uma matéria-prima livre de desafios em relação a sua produção, registro, comercialização e efeitos de longo prazo. Devem ser considerados aspectos de custo e dificuldade de produção, aceitação sensorial do consumidor e a discussão de perfis de toxicidade de espécies menos consolidadas (BARKIA; SAARI; MANNING, 2019; DE SOUZA et al., 2019).

No geral, o principal desafio para o uso desta matéria-prima envolve o alto custo e a viabilidade econômica, uma vez que a produção requer os passos de cultivo, extração e biorefinamento, e todos eles possuem gargalos relacionados à biotecnologia e à engenharia, que devem ser solucionados a fim de tornar a produção mais escalonada e lucrativa. As indústrias deste ramo são concentradas, já bem estabelecidas e fechadas em relação a divulgação de informações de custo de produção, então estudos neste ramo são escassos de informação (DE SOUZA et al., 2019).

Além disso, também deve ser considerada a aceitação do consumidor, especialmente importante quando se tratam, como neste caso, de alimentos não convencionais no ocidente. Alguns estudos já mostraram que a *Spirulina* pode ter efeitos negativos nos atributos sensoriais dos alimentos, entretanto, um estudo

alemão de 2018 da Universidade de Gotinga em diversos países da Europa procurou analisar as percepções de consumidores sobre alimentos enriquecidos com esta cianobactéria. Foi encontrado que alimentos enriquecidos com microrganismos fotossintetizantes como este, vão de encontro com alguns dos benefícios buscados por consumidores, como comidas “saudáveis” e “inovadoras”, e que participantes com conhecimento prévio das microalgas, determinado pela frequência de consumo, são mais inclinados a aceitar mais facilmente os produtos. Portanto, além dos desafios sensoriais, também deve ser feito um trabalho de ampla divulgação não só dos produtos, mas também, e primeiramente, desta matéria-prima (GRAHL et al., 2018).

Ademais, deve-se reforçar a estrutura regulatória e de vigilância sanitária envolvida na produção e registro de alimentos com biomassa de microalgas. Apesar dos muitos benefícios e abundância de espécies em potencial, mais estudos para determinar as faixas de toxicidade são necessários, uma vez que há certa controvérsia na literatura. Enquanto a *Spirulina* já foi considerada como “geralmente segura”, com a certificação GRAS (“Generally Recognized as Safe”), pelo FDA, existe evidência do risco tanto dessa mesma espécie em altas concentrações, que pode desencadear diarreia, náusea e vômito, quanto de outras, como a *Chlorella*, que também em consumo excessivo pode levar a alergias, náusea e vômito (BARKIA; SAARI; MANNING, 2019; MATOS, 2017).

## **OBJETIVO**

O presente trabalho propõe verificar as aplicações, as propriedades, os benefícios, e os desafios no uso da biomassa de microalgas em alimentos, visando, principal, mas não exclusivamente, as oportunidades e carências do mercado de alimentos veganos.

O objetivo deste estudo é estudar o vasto potencial não explorado das microalgas, as inúmeras possíveis aplicações das mesmas em alimentos, e, em igual medida, a grande demanda mercadológica e social que existe e cresce de forma exponencial. Busca-se identificar por que tal demanda e interesse nesse grupo de organismos tem sido aumentado e quais de fato são os benefícios existentes e alegados em tais produtos, e quais são os desafios envolvidos na ampliação da comercialização desses alimentos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Para a compilação dos dados necessários para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados textos e publicações de especialistas consultados em bases de dados científicos, como *Web of Science*, *Elsevier*, *Scielo*, *PubMed*, *SciFinder*, *Google Scholar*), site da CAPES, bem como revistas e jornais científicos, além de publicações de órgãos oficiais de saúde, como a ANVISA e a OMS, por exemplo.

Para identificação e seleção das fontes de relevância para este trabalho foram utilizados os critérios de ano de publicação, dando preferência para as mais recentes, relação do assunto com o tema em discussão, disponibilidade do texto na íntegra e idioma da escrita (inglês e português). Posteriormente as informações foram agrupadas por subtemas para facilitar a consulta, desenvolvimento do texto e referenciamento.

Para a pesquisa, foram utilizados como palavras-chaves termos como microalgas, microalgas + nutrição, microalgas + alimentos funcionais, microalgas + alimentos, excluindo artigos não relacionados a nutrição humana.

## **RESULTADOS**

A fim de identificar, quantificar e entender o verdadeiro potencial nutricional e mercadológico do emprego de biomassa de microalgas como aditivos em alimentos, cada um de seus ativos deve ser vastamente discutido separadamente: vitaminas, como a vitamina A, com propriedades antioxidantes, por exemplo, vitaminas do complexo B, dentre as quais pode ser citada a B12, cuja deficiência traz efeitos gravíssimos, os carotenoides, que além de serem ingredientes funcionais, também são importantes corantes alimentícios, os polissacarídeos, que vem sendo estudados por suas propriedades anti-inflamatórias e até antineoplásicas, suas proteínas, ricas em teor e em perfil de aminoácidos, e ácidos graxos poli-insaturados, por exemplo, o ômega 3, o qual também possui diversas possíveis aplicações em saúde. Neste trabalho serão estudados o Ômega 3, a Vitamina B12 e as Proteínas, devido ao fato destas serem os metabólitos de maior interesse e com maior espaço mercadológico dentro do universo vegano, uma vez que atualmente são principalmente oriundos de fontes de origem animal (ADARME-VEGA et al., 2012; ASSUNÇÃO et al., 2017; BARKA; BLECKER, 2016; CHAIKLAHAN et al., 2013; JALILIAN; NAJAFPOUR; KHAJOUEI, 2019; KURD; SAMAVATI, 2015; LE GOFF et al., 2019).

## 1. Metabólitos de Interesse

### 1.1. Ômega 3

Ácidos graxos são ácidos orgânicos que possuem pelo menos um grupo carboxílico e longa cadeia carbônica, e, de acordo com o número de duplas ligações, eles são classificados em ácidos graxos saturados ou insaturados. Esse grupo de compostos na mesma medida que desempenha uma enorme gama de funções fisiológicas no corpo humano, desde a organização de membranas celulares, incluindo formação de balsa lipídica e fluidez da membrana, ao metabolismo, servindo como fonte energética, até a precursores de importantes mediadores lipídicos de inflamação e hormônios, além de, quando em excesso ou disfunção, também serem associados como fator crítico de diversas doenças com alta prevalência mundial: doenças cardiovasculares, neurológicas, hepáticas, entre outras (CHEN; LIU, 2020; KRIS-ETHERTON; PETERSEN, 2019).

Dentro dessa família de substâncias, existem os ácidos conhecidos popularmente como Ômega 3, que são por sua vez um grupo de moléculas poli-insaturadas, e alguns de seus representantes são: ácido alfa-linolênico (AFA), ácido estearidônico (SDA), ácido docosapentaenóico (DPA), ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), os dois últimos sendo os mais estudados. Se tratam de ácidos essenciais, produzidos pelo nosso corpo em baixas quantidades, precisando ser ingeridos na alimentação, especialmente a partir de peixes ou crustáceos, ou até mesmo na forma de suplementos.(OLIVER et al., 2020)

O interesse comercial nesses ácidos escalonou nos últimos anos devido às alegações de propriedades de promoção de saúde e ação preventiva contra doenças. A alegação de propriedade funcional aceita pela ANVISA para alimentos contendo EPA e DHA é o suposto auxílio na manutenção valores adequados de triglicérides, em associação a estilo de vida e hábito de alimentar saudáveis, e considerando uma concentração mínima de 40mg por porção de alimento (ANVISA, 2018). Apesar da ingestão regular de Ômega 3 ser incentivada por órgãos de renome internacional, como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a *American Heart Association* (AHA) e a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (AESA), a falta de padronização da dose recomendada, segundo o Quadro 2, é um empecilho para a consolidação do produto no mercado de maneira efetiva (OLIVER et al., 2020).

**Quadro 2: Dose recomendada por diferentes órgãos de saúde da ingestão de Ômega 3 por dia. Dados expressos em mg/dia (NICHOLS; PETRIE; SINGH, 2010).**

<b>País</b>	<b>Organização</b>	<b>Dose Recomendada</b>
Austrália	Ômega Workshop	300-400
Reino Unido	<i>Scientific Advisory Committee on Nutrition</i>	450
Austrália	<i>National Heart Foundation</i>	500
Canada	<i>American Dietetic Association and Dietitians of Canada</i>	500
Organização Mundial da Saúde	FAO	250-2000
Estados Unidos	<i>American Heart Association</i>	2000-4000

O mecanismo mais bem aceito para este benefício é a ação antioxidante direta do EPA nos vasos sanguíneos, afetando desenvolvimento e estabilidade de placas arterioscleróticas: sua estrutura lipofílica e tamanho molecular permite que ele se insira de forma efetiva nas partículas de lipoproteínas e consiga capturar os radicais livres, interferindo na oxidação lipídica, e em diversas cascatas de transdução de sinais ligadas a inflamação e disfunção endotelial. Dessa forma, o EPA diminui a formação cristalina de placas de colesterol, melhora a função endotelial dos vasos e diminui a forma oxidada de colesterol LDL (*Low-Density Lipoprotein*). O DHA também possui atividade antioxidante, mas se distribui de forma diferente no corpo, tendo maior ação nos tecidos do sistema nervoso, onde atua na organização de membranas neuronais e retinóides (KRIS-ETHERTON; PETERSEN, 2019).

Além dessa propriedade já bem estabelecida, existem inúmeras outras vertentes de estudos, inclusive em fase clínica, de possíveis propriedades dessa família de ácidos: demência, diabetes, osteoporose, alguns tipos de câncer e até como adjuvante no tratamento da COVID-19, possivelmente podendo ser usado para evitar a chamada “tempestade de citocinas” em casos graves (OLIVER et al., 2020).

É estimado que o mercado de Ômega 3 movimentou 2,5 bilhões de dólares em 2019, e que o mesmo crescerá a uma taxa fixa (CAGR) até 2027 de 7%. Apesar da categoria mais importante deste mercado ser o de Suplementos e Alimentos funcionais, as crescentes descobertas de outros benefícios associados a esta classe

de moléculas, indica que seu uso como ativo farmacêutico ganhará importância (OLIVER et al., 2020).

Atualmente, as fontes de EPA e DHA para suplementação e adição em alimentos com segurança e efetividade aprovadas pela ANVISA são o óleo de peixe, óleo de krill, óleo de fungo *Mortierella Alpina*, e óleo de biomassa de microalga *Schizochytrium sp*, sendo o primeiro a fonte majoritária (ANVISA, 2019).

O aumento populacional e do conhecimento dos benefícios associados à inserção de peixes na dieta contribuem para o aumento da demanda deste alimento, sendo assim, a cultura de peixes em aquacultura cresce como alternativa (OECD-FAO, 2021). Entretanto, uma vez que os peixes não são os principais produtores primários de EPA e DHA, o teor desses ácidos na carne dependem da dieta dos animais, que na aquacultura muitas vezes é constituída de substituintes terrestres, causando uma significativa diminuição na quantidade de Ômega 3 no produto final (SPRAGUE; DICK; TOCHER, 2016).

Sendo assim, têm-se recorrido às fontes alternativas de Ômega 3, visando atender à demanda crescente, evitando a diminuição do teor de EPA e DHA, e também responder ao questionamento sobre sustentabilidade da pesca, que vem ganhando cada vez mais força (SPRAGUE; DICK; TOCHER, 2016).

Nesse cenário, as microalgas em específico se tornam uma fonte deveras promissora por serem as produtoras primárias de EPA e DHA no ecossistema marinho e por crescerem em uma vasta gama de tipos de cultura: autotrófica, aquela onde elas coletam energia da luz como energia e usam o CO<sub>2</sub> como fonte de carbono, mixotrófica, na qual são usados tanto substratos carbônicos orgânicos quanto inorgânicos, e heterotrófica, que pode ser mais vantajosa, por ser sem luz, exigir espaços relativamente menores, e eliminar o risco de contaminação por poluentes químicos, o que implica na potencial viabilidade de produção em todo o mundo (GUPTA et al., 2013). Neste caso, particularmente, tem que se cultivar as microalgas em condições de esterilidade devido ao crescimento em meio rico, onde pode haver contaminações severas com bactérias e/ou fungos.

É possível encontrar um grande número de estudos que buscam caracterizar e quantificar a presença e perfil de ácidos graxos oriundos da biomassa das microalgas,

que, em sua maioria, é feita por cromatografia, sendo a gasosa bastante observada. Não obstante, diversos desses estudos buscam investigar maneiras de otimizar o processo de produção, ao mudar parâmetros como salinidade e concentração de substrato no meio de cultura, exposição a diferentes radiações, seleção de linhagens e até mesmo engenharia genética.

Os resultados obtidos mostram grande variação entre espécies, como mostrado no Quadro 3, sendo que as que possuem maior teor de EPA são as da espécie *Pavlova lutheri*, caracterizada com até 28% do ácido, em porcentagem de massa, em relação ao total de ácidos graxos. Vale ressaltar que, para esta espécie, os três estudos resultaram em valores muito próximos, o que provavelmente se deu pelo uso de métodos analíticos similares (cromatografia gasosa e detector de ionização de chama) e por dois deles serem trabalhos com a participação de um mesmo autor, Freddy Guihéneuf, do Departamento de Biologia Genética, do Instituto Universitário de Tecnologia de Laval, na França (CARVALHO; MALCATA, 2005; GUIHÉNEUF et al., 2009, 2010).

Por outro lado, os estudos encontrados para a quantificação do teor de ácidos Ômega 3 na espécie *Isochrysis galbana* chamam atenção pela enorme discrepância: enquanto o estudo realizado na Noruega em 2007 encontrou uma concentração de apenas 1,0%, outro trabalho realizado no Japão três anos depois, chegou a 20% de EPA. Enquanto o primeiro trabalho detalha toda a configuração dos biorreatores, das condições de cultura, do processo de quantificação e análise estatística, o segundo o faz de maneira muito mais sucinta, o que dificulta a comparação metodológica mais aprofundada, mas nos informa que ambos usaram cromatografia gasosa e detecção por feixe iônico. Além disso, a tese do artigo japonês gira em torno da análise de otimização do crescimento celular, e o teor de EPA não chega a ser discutido na conclusão. Sendo assim, pode-se entender que a grande discrepância se dá ou por influência das origens das linhagens de microalgas, onde em um caso foi colhida de lagos da Noruega, e no outro não é especificado; distintas condições para cultivo e secagem da biomassa; diferentes métodos estatístico de análise (PATIL et al., 2007; YAGO et al., 2010).

**Quadro 3: quantificação de EPA, ou de EPA+DHA, ou do total de ácidos Ômega 3, de acordo com diferentes estudos registrados na literatura. Dados expressos em % (m/m) de ácidos graxos totais. (BHOSALE; RAJABHOJ; CHAUGULE, 2010; BYREDDY, 2016; CARVALHO; MALCATA, 2005; GUIHÉNEUF et al., 2009, 2010; GUPTA et al., 2013; HU et al., 2008; LIN et al., 2019; PATIL et al., 2007; PETRIE et al., 2010; SANG et al., 2012; SCOTT et al., 2011; VAN WAGENEN et al., 2012; YAGO et al., 2010).**

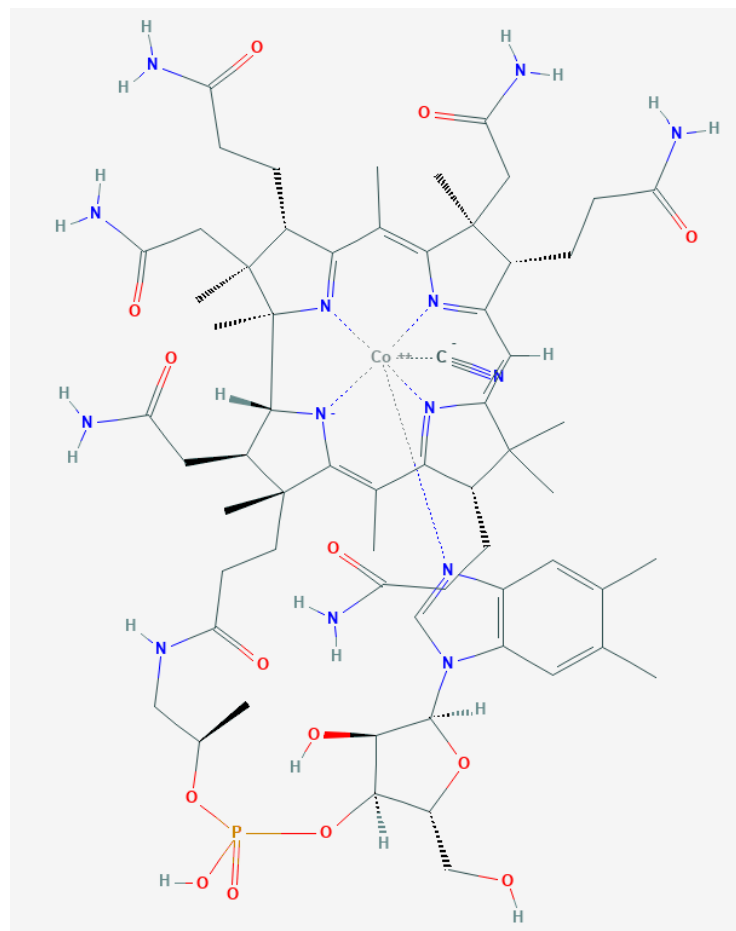
Referência	Espécie	Teor	Ácido
(BHOSALE; RAJABHOJ; CHAUGULE, 2010)	<i>Dunaliella salina</i>	21,4%	EPA
(PATIL et al., 2007)	<i>Isochrysis galbana</i>	21,4%	EPA
(YAGO et al., 2010)	<i>Isochrysis galbana</i>	1,0%	EPA
(LIN et al., 2019)	<i>Monoraphidium sp.</i>	20,0%	EPA
(PATIL et al., 2007)	<i>Nannochloropsis oceanica</i>	9,6%	EPA
(VAN WAGENEN et al., 2012)	<i>Nannochloropsis sp.</i>	24,0%	EPA
(PETRIE et al., 2010)	<i>Nannochloropsis sp.</i>	28,0%	EPA + DHA
(PATIL et al., 2007)	<i>Oocystis sp.</i>	26,7%	EPA
(GUIHÉNEUF et al., 2010)	<i>Pavlova lutheri</i>	4,2%	EPA
(CARVALHO; MALCATA, 2005)	<i>Pavlova lutheri</i>	28,0%	EPA + DHA
(GUIHÉNEUF et al., 2009)	<i>Pavlova lutheri</i>	27,7%	EPA
(PATIL et al., 2007)	<i>Pavlova sp.</i>	27,0%	EPA
(HU et al., 2008)	<i>Pavlova viridis</i>	23,2%	EPA
(PATIL et al., 2007)	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	24,1%	EPA
(SANG et al., 2012)	<i>Pinguicoccus pyrenoidosus</i>	30,6%	EPA + DHA
(PATIL et al., 2007)	<i>Porphyridium cruentum</i>	20,8%	EPA
(PATIL et al., 2007)	<i>Rhodomonas baltica</i>	29,5%	EPA
(BYREDDY, 2016)	<i>Schizochytrium sp.</i>	8,0%	Ômega 3 Total
(PATIL et al., 2007)	<i>Tetraselmis sp.</i>	41,8%	EPA
(PATIL et al., 2007)	<i>Tribonema sp.</i>	21,4%	EPA
(BYREDDY, 2016)	<i>Ulkenia sp.</i>	21,4%	Ômega 3 Total

Sendo assim, a viabilidade do uso de biomassa de microalgas para produção e obtenção de ácidos Ômega 3 é possível, mas o escalonamento do mesmo para uma presença mais significativa envolve muitos desafios a serem enfrentados: a seleção de cepas, otimização de cultura e tecnologias de extração e purificação dos produtos (KHAN; SHIN; KIM, 2018). Todavia, já existem esforços sendo feito em pesquisas nessas áreas: algumas espécies, como a *Phaeodactylum tricornutum* e a *Chlorococcum sp.*, já tiveram seu material genético completamente sequenciado, e existem diversos estudos em cima disso que procuram modificá-las geneticamente, afim de aumentar a expressão de algum gene para produção de metabólitos de interesse, não exclusivamente Ômega 3 (MAEDA et al., 2019; OLIVER et al., 2020).

## 1.2. Vitamina B12

Vitamina B12 é um termo usado para definir o conjunto das cobalaminas, as quais são compostos contendo cobalto e um núcleo corrin, com atividades biológicas de vitamina. As formas de coenzimas ativas desta vitamina, cuja fórmula estrutural está descrita na Figura 2, são a metil cobalamina e deoxiadenosilcobalamina. (BUTOLA et al., 2020)

**Figura 2: Forma estrutural da Vitamina B12. (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021)**



A vitamina B12 desempenha um papel fundamental em diversas funções fisiológicas, algumas delas sendo a síntese de DNA e nucleoproteínas, na eritropoiese normal, na síntese de mielina e na replicação celular, por exemplo. O mecanismo para tais ações é por doações de metila para fosfolipídios membranares, neurotransmissores, aminas, DNA e RNA e proteínas de mielina, transformação do metil tetrahydrofolato, a forma ativa do folato, o qual ajuda na síntese de nucleotídeos e DNA, ajuda na isomerização do metilmalonil-CoA para succinil-CoA pela malonil-

CoA mutase, além de auxiliar na conversão da homocisteína, responsável por diversos dos efeitos observados na deficiência de vitamina B12, em metionina (BUTOLA et al., 2020; RAINA et al., 2014).

A deficiência de vitamina B12 é causada principalmente pela ingestão insuficiente da mesma, mas não é limitada a ela: anemia perniciosa, doenças gástricas, gastrite atrófica crônica, doença pancreática, ressecção do íleo, crescimento de bactérias, transtornos genéticos, anestesia por óxido nitroso, infecção por HIV, e até mesmo tratamento de diabetes mellitus tipo dois tratado com metformina, são todas causas possíveis (BUTOLA et al., 2020).

Tal deficiência possui implicações clínicas severas e importantes, que incluem: anomalias no desenvolvimento, como defeitos no tubo neural, de fetos de gestantes com baixos níveis de vitamina B12; disfunção cognitiva severa, por aumento de estresse oxidativo, que leva a influxo de cálcio e apoptose; osteoporose, devido à diminuição de densidade mineral nos ossos; degeneração macular, que leva a perda de visão, e perda de força muscular e peso em idosos; e sintomas psicológicos, como irritabilidade, mudanças de personalidade, depressão, demência e ocasionalmente psicose, além de uma pior resposta ao tratamento com antidepressivos (BAHTIRI et al., 2015; BJÖRKEGREN; SVÄRDSUDD, 2001; BUTOLA, 2020; PAWLAK; RUSHER, 2013; RUMBAK et al., 2012).

A vitamina B12 pode ser obtida a partir de alimentos cuja origem seja tanto de animais como de micro-organismos, em ordem decrescente de teor: fígado, mariscos, atum, levedura nutricional, salmão, carne bovina, leite, iogurte, queijos, ovos e carne de peru, como descrito no Quadro 4. Considerando que a vasta maioria dos produtos listados no Quadro 4 são excluídos de uma dieta vegetariana ou vegana e a ingestão de vitamina B12 recomendada, de acordo com o Quadro 5, as pessoas adeptas de tal estilo de vida são extremamente propensas a apresentarem deficiência de tal vitamina, e a sofrerem com todas as consequências da mesma.

**Quadro 4: Teor de Vitamina B12 por tipo de alimento. Dado expresso em microgramas (AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE, 2020)**

Alimento	Porção	Microgramas por porção
Bife de fígado	85g	70,7
Mariscos	85g	17
Atum	85g	9,3
Levedura Nutricional Fortificada	41g	8,3-24
Salmão	85g	2,6
Carne Bovina	85g	2,4
Leite Semi Desnatado	250ml	1,3
Iogurte Desnatado	170g	1
Queijo Cheddar	42,5g	0,5
Ovo	1 um	0,5
Peru	85g	0,3
Tempeh	100g	0,1
Banana	1 um	0
Pão	1 fatia	0
Morangos	100g	0
Feijão	100g	0
Espinafre	100g	0

**Quadro 5: Dose recomendada de ingestão diária de vitamina B12 por idade e por país. Valores expressos em microgramas por dia (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005; AGOSTONI et al., 2015; HEALTH CANADA, 2010; INSTITUTE OF MEDICINE; FOOD AND NUTRITION BOARD, 2021; NORDIC COUNCIL OF MINISTERS, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008)**

Faixa Etária	Europa (EFSA)	Países Nórdicos (NCM)	Organização Mundial de Saúde (OMS)	Canadá (HC)	EUA (NIH)	Brasil (ANVISA)
4m-12m	-	0,5	0,7	0,5	0,5	0,5
7m-6a	1,5	-	-	-	-	-
1a-2a	-	0,6	-	-	-	-
1a-3a	-	-	0,9	0,9	0,9	0,9
1a-4a	-	-	-	-	-	-
2a-5a	-	0,8	-	-	-	-
4a-6a	-	-	1,2	-	-	1,2
4a-7a	-	-	-	-	-	-
4a-8a	-	-	-	1,2	1,2	-
6a-9a	-	1,3	-	-	-	-
7a-10a	2,5	-	1,8	-	-	1,8
9a-13a	-	-	-	1,8	1,8	-
10a-13a	-	-	-	-	-	-
10a-18a	-	2,0	2,4	-	-	-
11a-14a	3,5	-	-	-	-	-
13a-19a	-	-	-	-	-	-
14a-18a	-	-	-	2,4	2,4	-
15a-17a	4,0	-	-	-	-	-
>18a	4,0	2,0	2,4	2,0	2,4	2,4
Gestantes	4,5	2,0	2,6	2,6	2,6	2,8
Lactantes	5,0	2,6	2,8	2,8	2,8	2,8

Uma vasta revisão bibliográfica de 2014 da *East Carolina University* nos Estados Unidos, publicado no *European Journal of Clinical Nutrition* analisou diversos estudos que avaliavam a prevalência da deficiência de cobalamina dentro da população vegetariana de diferentes idades, chegando à conclusão de que até 86% dos adultos e idosos apresentaram baixos níveis de vitamina B12. Esse mesmo comportamento foi observado em 17%-39% das gestantes, grupo que apresenta uma necessidade ainda maior de ingestão do nutriente, até 33% das crianças e adolescentes e 45% dos bebês (PAWLAK; BABATUNDE, 2014).

Apesar da suplementação ou a ingestão de comidas fortificadas resolver a questão de maneira satisfatória, parte das pessoas evita tais soluções tanto pela preconceção e aversão a produtos considerados artificiais, quanto pela falta de informação sobre a incidência da deficiência de vitamina B12 e suas consequências (RIZZO et al., 2013).

Uma vez que alimentos fortificados e laticínios por si só não são considerados fontes suficientes de vitamina B12, e a suplementação não é tolerada por algumas pessoas, é crescente a busca pela maior exploração de fontes alternativas de cobalamina tem se fortalecido (RIZZO et al., 2016).

É neste contexto em que entra a biomassa de microalgas, que possuem potencial para alto teor de vitamina B12 (RIZZO et al., 2016). Alguns estudos quantificam tais teores em diferentes espécies de microalgas: *klamath* (*Aphanizomenon flos aquae*) apresentou em torno de 31,1 até 34,3 microgramas, *Chlorella* entre 52,0 até 211,0 dependendo do estudo e *Spirulina* (*Arthrospira*) de 6,2 até 244,3 microgramas a cada 100 gramas de biomassa seca (Quadro 6) (JALILIAN; NAJAFPOUR; KHAJOU EI, 2019; RIZZO et al., 2016).

**Quadro 6: Teor de vitamina B12 em diferentes espécies de microalgas. Valores expressos em microgramas a cada 100 gramas de biomassa seca (JALILIAN; NAJAFPOUR; KHAJOU EI, 2019; RIZZO et al., 2016).**

<b>Espécie</b>	<b>Teor</b>	<b>Método de Quantificação</b>	<b>Referência</b>
<i>Klamath</i>	31,1-34,3	IF-Quimiluminescência	(RIZZO et al., 2016)
<i>Chlorella</i>	200,9-211,6	IF-Quimiluminescência	(RIZZO et al., 2016)
<i>Spirulina</i> ( <i>Arthrospira</i> )	127,2-244,3	Microbiológico	(RIZZO et al., 2016)
<i>Spirulina</i> ( <i>Arthrospira</i> )	6,2-17,4	IF-Quimiluminescência	(RIZZO et al., 2016)
<i>Chlorella</i>	169,1-177,5	HPLC	(JALILIAN; NAJAFPOUR; KHAJOU EI, 2019)
<i>Spirulina</i> ( <i>Arthrospira</i> )	211,0	HPLC	(MAHMOUD; SABAE, 2018)
<i>Chlorella</i>	52,0	HPLC	(MAHMOUD; SABAE, 2018)

Todavia, apesar de estudos comprovarem a presença da simbiose de microalgas com os microrganismos produtores de vitamina B12, garantindo sua produção, devido à complexidade da molécula final da cobalamina, é necessário um arranjo extremamente específico e delicado para garantir que o produto final seja a forma bioativa da vitamina, e não a pseudovitamina, como é o caso de 80% das 127-244 microgramas presentes a cada 100 gramas de *Spirulina*. Além de bioatividade da molécula, a hidrofobicidade do complexo também pode vir a ser um problema, uma vez que ele é retido no corpo por menos tempo, assim sendo menos absorvido e excretado mais rapidamente. (PEREIRA; SIMÕES; SILVA, 2019)

Já existem inclusive estudos clínicos avaliando a melhora do teor laboratorial de vitamina B12 e seus marcadores em indivíduos veganos ou vegetarianos com a ingestão de microalgas: num estudo aberto de três meses da Universidade de Wageningen na Holanda, 5 crianças com deficiência de B12 apresentaram melhora clínica após consumo de *Klamath* (0,1-2,7 microgramas de B12 por dia), mas o volume corpuscular médio se deteriorou posteriormente, o que não aconteceu com os outros 6 indivíduos com dieta baseada em peixes ou com suplementos, o que mostra que existem indícios da biodisponibilidade da vitamina B12 em microalgas não ser suficiente (DAGNELIE; VAN STAVEREN; VAN DEN BERG, 1991). Já outro estudo da Universidade de Commonwealth na Virgínia nos Estados Unidos chegou a uma

conclusão contrária: das 17 pessoas vegetarianas ou veganas com deficiência de B12, 88% dos indivíduos apresentaram melhora clínica de B12 e marcadores associados após 60 dias de ingestão de 9g de *Chlorella* diariamente. A divergência dos resultados pode estar relacionada com a dose de vitamina B12 administrada, uma vez que no primeiro estudo concentração diária era de até 2,7 microgramas e no segundo, 21 microgramas. (MERCHANT; PHILLIPS; UDANI, 2015).

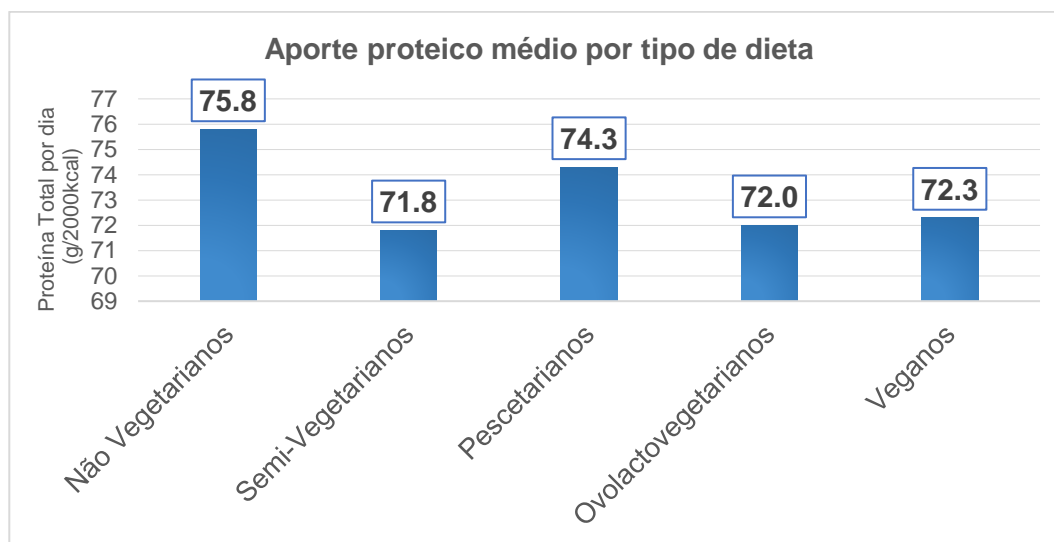
Sendo assim, apesar da biomassa de microalgas estar sendo cada vez mais exploradas com a premissa de serem usadas para suprir a carência de cobalamina em dietas sem produtos de origem animal, ainda carecem estudos mais substanciais para garantir a presença suficiente da forma bioativa da vitamina e sua biodisponibilidade, de forma a não arriscar uma má suplementação, que pode ter efeitos severos na saúde dos indivíduos. Estudos de biossíntese de vitaminas do complexo B em microalgas poderiam colaborar para aprofundar o conhecimento nesta área, bem como ampliar a produção utilizando técnicas de engenharia genética.

### **1.3. Proteínas**

Uma grande preocupação relacionada à saúde das pessoas adeptas de dietas vegetarianas ou veganas é o aporte insuficiente de proteínas na dieta, devido à ausência da ingestão de proteína animal, e a possível baixa biodisponibilidade da proteína de fontes vegetais.

Alguns estudos buscam inclusive mapear o perfil nutricional de pessoas adeptas à diferentes níveis de dieta vegetariana e se o baixo nível sérico de proteína compõe tal perfil: em 2013, pesquisadores da Universidade de Loma Linda nos Estados Unidos analisaram dados de formulários auto preenchidos por 71.751 indivíduos americanos ou canadenses, e concluíram que a variação de proteína diária ingerida a cada 2000 kcal é similar comparando indivíduos não vegetarianos, semi vegetarianos (dieta mista), pescitariantes (na qual a proteína animal é somente de peixes), ovolactovegetarianos (onde se ingere ainda ovos e produtos lácteos) e veganos (nenhum tipo de produto de origem animal), como mostrado no Gráfico 1 (RIZZO et al., 2013).

**Gráfico 1: Aporte médio de proteína total por dia, por tipo de dieta. Valores expressos em gramas a cada 2000 kcal de dieta total (RIZZO et al., 2013).**



Em contra ponto, um trabalho de desenho transversal realizado na Indonésia em 2015, na *Brawijaya University*, analisou 65 indivíduos veganos e procurou correlação entre a baixa ingestão de proteína e anemia, concluindo que 42,3% dos pacientes não apresentavam aporte diário de proteína vegetal suficiente, e deles, 29,5% apresentaram anemia (NUGROHO; HANDAYANI; APRIANI, 2015).

Fontes tradicionais vegetais de alto teor de proteína são no geral as leguminosas, mas as microalgas têm sido encaradas como uma alternativa cada vez mais promissora, apesar que ainda pouco explorada.

O teor de proteína da biomassa de microalgas varia tanto pela espécie em questão, pelas condições do meio de cultura e pelo método aplicado para a extração e quantificação, o que é sumarizado de acordo com as informações no Quadro 7.

**Quadro 7: teor de proteína em diferentes espécies de microalgas e alimentos tradicionais. Valores expressos em porcentagem de massa (LUPATINI et al., 2017; MOTA et al., 2018; WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018; ZANELLA; VIANELLO, 2020).**

<b>Espécie</b>	<b>Quantidade de Proteína</b>	<b>Referência</b>
<i>Spirulina platensis</i>	62,0%	(WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018)
<i>Spirulina platensis</i>	38,8%	(LUPATINI et al., 2017)
<i>Chlorella sp.</i>	41,5%	(WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018)
<i>Chlorella sp.</i>	42,4%-57,8%	(MOTA et al., 2018)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	20,5%-27,9%	
<i>Nanochloropsis gaditana</i>	47,0%	(ZANELLA; VIANELLO, 2020)
<i>Nanochloropsis granulata</i>	45,8%	
<i>Nanochloropsis limnetica</i>	37,0%	
<i>Nanochloropsis oceanica</i>	14,5%	
<i>Nanochloropsis oculata</i>	22,6%	
<i>Nanochloropsis salina</i>	18,1%-36,2%	
<i>Nanochloropsis sp</i>	30,3%	
<i>Nanochloropsis sp</i>	38,4%	(WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018)
<i>Mychonastes homosphaera</i>	10,7%-14,6%	(MOTA et al., 2018)
<i>Phaeodactylum</i>	33,6%	(WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018)

De um modo geral, microalgas do gênero *Nanochloropsis*, obtiveram teor de proteína similares em diferentes estudos. Em um trabalho de 2020 da Universidade de Pádua que analisou diversas espécies do gênero, concluiu que, em média, elas apresentam entre 50% e 55% de teor proteico quando cultivadas em meio com abundância de nutrientes, mas tal teor decaiu de 25% até 30% quando o meio é deficiente em nutrientes. Já outro estudo sobre o mesmo tipo de microalgas, realizado

pela Universidade de Hohenheim em Stuttgart em 2018, chegou ao valor de 38% de proteína (WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018; ZANELLA; VIANELLO, 2020).

Por sua vez, a microalga do gênero *Arthrospira*, também conhecida como *Spirulina*, obteve resultados com maiores variações em diferentes trabalhos. Como se observa no Quadro 7, os valores oscilaram entre 62% ((LUPATINI et al., 2017; WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018) e 38,8% (LUPATINI et al., 2017), em cultivos realizados na Universidade de Hohenheim e na Universidade Tecnológica do Paraná, respectivamente. Tal diferença pode ser pela origem da amostra utilizada ou pelo método de extração das proteínas, uma vez que o método de cálculo da concentração de proteína foi feito da mesma forma, multiplicando a concentração de nitrogênio por um fator fixado, que foi menor no trabalho de Lupatini et al., 2017. É importante mencionar que outro fator que determina o teor de proteínas na biomassa de *Arthrospira* é a forma de condução do cultivo, uma vez que em condições limitadas de fornecimento de nitrogênio o teor de proteínas na biomassa pode ser drasticamente reduzido, com valores menores que 17% (SASSANO et al., 2010).

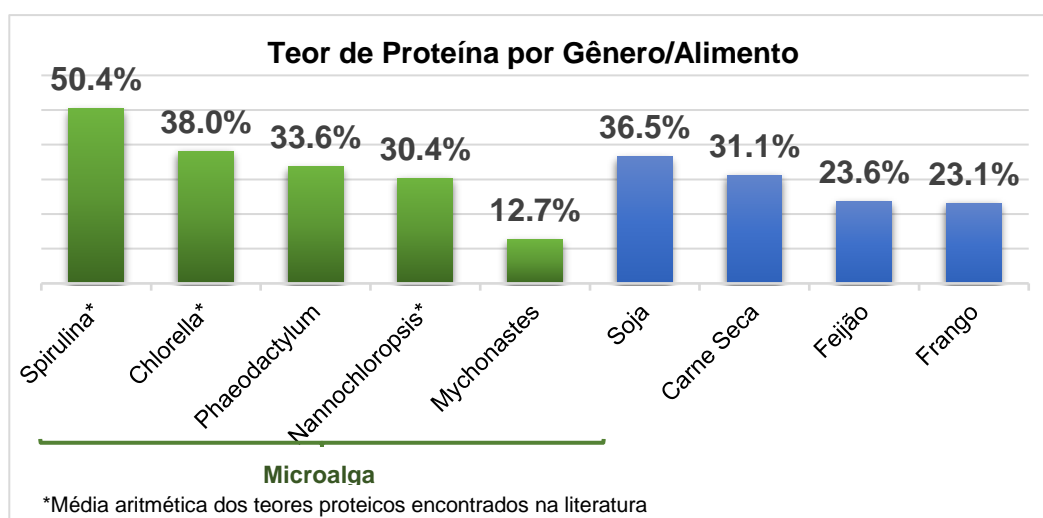
Algumas espécies da microalga do gênero *Chlorella* também foram analisadas pelo estudo de Stuttgart, que chegou à uma média de 41% de proteína. Pesquisadores da Universidade Federal do Rio de Janeiro também estudaram tal gênero em 2018, constatando uma concentração de proteína entre 42% e 58% para uma das espécies (*Chlorella sp.*) e 20% até 28% para outra (*Chlorella sorokiniana*) (MOTA et al., 2018; WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018).

Algumas outras espécies menos conhecidas foram quantificadas: M. Mota da Universidade Federal do Rio de Janeiro estudou *Mychonastes homosphaera* no trabalho mencionado acima, constatando um teor de proteína menor, variando entre 11% e 15% de proteína em massa de biomassa seca; e K. Wild da Universidade de Hohenheim também analisou a *Phaeodactylum tricornutum* no trabalho de 2018 já abordado, apurando uma concentração de proteína mais relevante, em torno de 34% (MOTA et al., 2018; WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018).

Apesar do teor proteico da biomassa de microalgas apresentar uma ampla faixa de variação, é possível compará-lo à concentração de proteína encontrada em fontes convencionais, oriundas de animais e vegetais. Grãos de soja possuem em torno de

36% de proteína, carne seca 31%, feijão 24%, e frango 23%, que são todas porcentagens aquém da maioria dos teores supracitados de espécies de microalgas, como comparado no gráfico 2 (CHANG; ZHANG, 2017).

**Gráfico 2: Teor de proteína por gênero de microalga, em comparação com fontes tradicionais do nutriente. Valores expressos em porcentagem de massa (CHANG; ZHANG, 2017; LUPATINI et al., 2017; MOTA et al., 2018; WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018; ZANELLA; VIANELLO, 2020).**



Ademais do teor quantitativo de proteína obtida de biomassa de microalgas, outros fatores devem ser avaliados para o emprego da mesma na alimentação: a composição de aminoácidos e a biodisponibilidade.

Em relação ao primeiro, no geral a biomassa de microalgas apresenta bom balanceamento de aminoácidos, seguindo como parâmetro as frações sugeridas como ideais pela OMS para aminoácidos essenciais, os quais estão presentes em proporção satisfatória principalmente na *Chlorella vulgaris*, e apresentam carência de dois ou três tipos em espécies do gênero da *Spirulina*; e usando como referência alimentos comuns, como ovo, soja e milho, no caso dos aminoácidos não essenciais: nestes, as microalgas analisadas possuem baixo teor de arginina, histidina e serina (Quadro 8) (AMORIM et al., 2020).

**Quadro 8: perfil de aminoácidos de diferentes alimentos e espécies de microalgas, em comparação com os teores recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Valores expressos em gramas de aminoácido a cada 100 gramas de proteína total (AMORIM et al., 2020).**

	Aminoácido	FAO/OMS	Ovos	Soja	Milho	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella bardawil</i>	<i>Spirulina maxima</i>	<i>Spirulina platensis</i>
AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS	Isoleucina	4	6,6	5,3	3,4	3,8	4,2	6,0	6,7
	Leucina	7	8,8	7,7	11,2	8,8	11,0	8,0	9,8
	Valina	5	7,2	5,3	4,9	5,5	5,8	6,5	7,1
	Lisina	5,5	5,3	6,4	3,2	8,4	7,0	4,6	4,8
	Fenilalanina + Tirosina	6	10,0	8,7	8,9	8,4	9,5	8,8	10,6
	Metionina + Cisteína	3,5	5,5	3,2	3,3	3,6	3,5	1,8	3,4
	Triptofano	1	1,7	1,4	4,4	2,1	0,7	1,4	0,3
	Histidina	-	2,4	2,6	-	2,0	1,8	1,8	2,2
AMINOÁCIDOS NÃO ESSENCIAIS	Treonina	-	5,0	4,0	3,7	4,8	5,4	4,6	6,2
	Alanina	-	-	5,0	7,2	7,9	7,3	6,8	9,5
	Arginina	-	6,2	7,4	5,1	6,4	7,3	6,5	7,3
	Ac. Aspártico	-	11,0	1,3	6,8	9,0	10,4	8,6	11,8
	Ac. Glutâmico	-	12,6	19,0	17,6	11,6	12,7	12,6	10,3
	Glicina	-	4,2	4,5	4,1	5,8	5,5	4,8	5,7
	Prolina	-	4,2	5,3	8,5	4,8	3,3	3,9	4,2
	Serina	-	6,9	5,8	4,6	4,1	4,6	4,2	5,1

Já em termos de biodisponibilidade, que significa quanto da proteína ingerida pode ser digerida e absorvida, e é influenciada por diversos fatores, como a taxa de trânsito gástrico, motilidade intestinal, hidrólise luminal e absorção pela mucosa, estudos de dietas experimentais contendo a *Nannochloropsis* indicaram uma digestão de proteína aparente entre 84% e 89%, e um valor biológico, ou seja, quanto da proteína não só é absorvida, mas poderá ser usada pelas células, de 59% a 61% (FAN et al., 2014; ZANELLA; VIANELLO, 2020).

## 2. Aplicações em alimentos

Tradicionalmente, a biomassa de microalgas é utilizada na nutrição humana na forma de pó, comprimidos, cápsulas ou líquidos. Entretanto, devido à vasta gama de nutrientes que vêm sendo cada vez mais explorados, inovações nas formas de aplicação estão sendo cada vez mais estudadas.

A adição direta da biomassa da microalgas nas formulações alimentares tem sido uma estratégia promissora, como, por exemplo, o uso de *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis*, *Tetraselmis suecica*, *Scenedesmus almeriensis* e *Nannochloropsis gaditana* na panificação como ingredientes funcionais: as duas primeiras foram testadas com o objetivo de aumentar o ferro e selênio em palitos de pão, e melhorar a estabilidade da cor e textura; e as outras no pão integral, de tal forma que a maciez, a mastigação e a resistência do produto não foi afetada (GARCÍA-SEGOVIA et al., 2017; URIBE-WANDURRAGA et al., 2019; WELLS et al., 2017).

Atualmente, algumas das fontes de proteína alternativas às tradicionais, leite e ovo, são a ervilha, a batata ou o arroz, por exemplo. Todavia, as três opções apresentam baixa solubilidade e perfil gustatório ruim em baixo pH, dificultando seus usos na formulação de bebidas proteicas. Um trabalho publicado em 2020 pela Universidade de Hohenheim em Stuttgart analisou o efeito sensorial e funcional de dispersões aquosas de extratos proteicos de *Chlorella protothecoides* em diferentes valores de pH, visando verificar a viabilidade da adição de tal extrato como fonte alternativa de proteína em bebidas proteicas. Constatou-se então que as microalgas apresentam bom perfil de solubilidade e boas características sensoriais em todas as faixas de pH (GROSSMANN et al., 2020).

Um extenso trabalho realizado na Universidade de Sfax, na Tunísia, em 2017, analisou o impacto sensorial e nutricional do enriquecimento de iogurte com diferentes concentrações de pó de *Spirulina*. Algumas das conclusões no eixo sensorial podem vir a serem sinais de atenção quando é cogitada a produção e comercialização deste tipo de produto: quanto maior era a concentração da microalga, mais a firmeza do produto final era prejudicada, devido à quebra da gelificação, porém a viscosidade não era alterada. Além disso, a aceitação sensorial do iogurte fortificado, medida por um painel de avaliadores, foi inversamente proporcional à concentração de *Spirulina*

acrescentada: parâmetros de cor, aroma, textura, sabor e aceitação geral, se reduziram conforme a concentração cresceu. Considerando a menor concentração testada (0,25%), a aceitação foi similar ao iogurte comum, e, com isso, os atributos nutricionais foram testados nessa concentração: o iogurte acrescido da microalga possuía mais proteína, mais fibras, ferro, cálcio e magnésio, mantendo os níveis de carboidratos e gorduras. Sendo assim, o produto com baixa concentração de microalga parece uma inovação viável, que além de promover enriquecimento funcional, também funcionou como corante e estabilizador da cor do produto final (BARKALLAH et al., 2017).

Um estudo da Universidade de Varsóvia, em 2018, publicou achados semelhantes aos supracitados, mas na análise da edição da mesma espécie de microalgas, *Spirulina*, em cookies: mesmo a mínima adição dela já causa forte alteração na cor, e no geral as características sensoriais, tanto de sabor, quanto de maciez, são crescentemente afetadas com a concentração da *Spirulina*. Todavia, a conclusão também foi similar: considerando a grande concentração de bioativos, a menor concentração já leva a benefícios relevantes e acarreta em alterações mínimas. Sendo assim, aqui também foi considerado que o uso das microalgas pode vir a ser interessante e viável em alimentos (ONACIK-GÜR; ZBIKOWSKA; MAJEWSKA, 2018).

## **DISCUSSÃO**

Os hábitos alimentares das pessoas estão em constante processo de mudança. Atualmente, dentre diversas tendências, uma que vem ganhando força é a do Veganismo: estima-se que 10% da população já segue uma dieta vegetariana. Com isso, cria-se uma oportunidade mercadológica e um novo perfil de necessidade nutricional a serem entendidos e explorados (THE VEGAN SOCIETY, 2019).

É neste contexto em que as microalgas estão sendo vistas como elementos de grande valor e promessa, com uma vasta gama de aplicações, que vão de farmacêuticas, como antineoplásicas e anti-inflamatórias, a nutracêutica, como antioxidantes, até nutricionais, como proteínas e vitaminas (COBOS et al., 2020).

Apesar da extensa lista de possibilidades supracitadas, foram aprofundados neste estudo três aspectos que representam uma carência na dieta vegetariana: ômega 3, vitamina B12 e proteínas.

Os Ômega 3, ácidos graxos poli insaturados de cadeia longa, cuja dupla ligação é presente no terceiro carbono a partir da extremidade oposta à carboxila, são de amplo interesse na indústria de saúde, principalmente, mas não obstante, pela sua ação antioxidante nos vasos sanguíneos, a qual impede o desenvolvimento e afeta a estabilidade de placas arterioscleróticas, levando a um aumento de colesterol LDL. Além da ação dislipidêmica, evidências mostram possíveis propriedades contra a demência, diabetes, osteoporose e alguns tipos de câncer. A ingestão escassa de Ômega 3 é associada a diversas patologias neurológicas, como a maior incidência de transtornos psiquiátricos, devido à aceleração da atrofia da matéria cinzenta e branca do cérebro de pessoas de meia idade, principalmente em regiões envolvidas na fisiopatologia de tais transtornos; e inflamatórias no geral, como disfunções intestinais (FU et al., 2021; MCNAMARA; ALMEIDA, 2019). Essa classe de moléculas possui uma demanda não atendida dentre a população vegana porque a grande fonte dietética dela é através de peixes e frutos do mar, e mesmo o suplemento oral é majoritariamente feito com óleo de peixe (KRIS-ETHERTON; PETERSEN, 2019; OLIVER et al., 2020).

Para este fim, as microalgas se mostram promissoras e viáveis, uma vez que este organismo é o produtor primário de ômega 3, e, apesar do teor final obtido apresentar grande variação entre espécies e até mesmo método empregado na quantificação, é possível atingir em média de 20% a 28% de EPA com as espécies mais comuns (BHOSALE; RAJABHOJ; CHAUGULE, 2010; BYREDDY, 2016; CARVALHO; MALCATA, 2005; GUIHÉNEUF et al., 2009, 2010; GUPTA et al., 2013; HU et al., 2008; LIN et al., 2019; PATIL et al., 2007; PETRIE et al., 2010; SANG et al., 2012; SCOTT et al., 2011; VAN WAGENEN et al., 2012; YAGO et al., 2010).

Já em relação à vitamina B12, alimentos de origem animal são suas principais fontes, uma vez que a quantidade de origem vegetal é tão ínfima, que não seria possível um consumo diário tal qual o aporte recomendado pelas agências de saúde fosse atingido. Entretanto, apesar de ser possível garantir que a B12 seja de fato produzida pelas microalgas, associando-as com as bactérias produtoras e garantindo

um mutualismo pelas condições de cultivo, o que leva a uma produção satisfatória, em torno de no máximo 200 microgramas a cada 100 gramas de biomassa seca. Estudos mostram que, devido à complexidade da molécula, é extremamente difícil que, do produto extraído, boa parte dele se trate da forma ativa da vitamina, e não do que é chamado de pseudovitamina. Para apoiar tal constatação, além dos estudos sobre a molécula, já foram realizados estudos clínicos que não mostraram uma melhora sustentada no nível sérico de B12 dos participantes tratados com extrato de microalgas, os quais logo apresentaram declínio de tal teor (BUTOLA et al., 2020; PAWLAK; BABATUNDE, 2014; PAWLAK; RUSHER, 2013). Sendo assim, com a tecnologia disponível, evidências indicam que as microalgas não devem ser creditadas como uma boa fonte de B12, ou na alimentação ou até mesmo em suplementação oral. Outros estudos devem ser feitos com associação das microalgas a diferentes espécies de bactérias para observar se, nessas condições, são obtidas biomassas com quantidade de vitamina B12 adequadas para tais suplementações.

O aporte proteico hoje se levanta como uma preocupação em saúde para a população vegana, que exclui de sua alimentação as grandes fontes tradicionais de proteína, como carnes e laticínios, e recorre para vegetais e leguminosas, geralmente já presentes no prato tradicional brasileiro, mas em quantidade aquém à necessária. Neste cenário, as microalgas vêm sendo investigadas como uma possível alternativa por não só possuírem um bom teor proteico, de algumas espécies sendo até maior que de fontes animais, como um bom perfil de aminoácidos essenciais e não essenciais, principalmente na *Chlorella vulgaris*, a qual apresenta níveis baixos apenas de isoleucina, e também uma boa biodisponibilidade (HEMPEL; MAIER, 2016; RIZZO et al., 2013; WILD; STEINGASS; RODEHUTSCORD, 2018).

Com essas três características, a biomassa de microalgas e seus extratos proteicos se provam excelentes candidatos para uso em preparações alimentícias.

Em relação às aplicações práticas e recepção mercadológica da biomassa de microalgas em alimentos, de maneira mais tradicional, ainda que não tão consolidada, é o uso deste tipo de micro-organismos em pó, em comprimidos ou em cápsulas. Entretanto, tem se estudado cada vez mais a adição direta em comidas ou bebidas, de diferentes tipos: pães, biscoitos, macarrão, “snacks”, bebidas proteicas e iogurtes, por exemplo (Figura 3) (LAFARGA, 2019). De maneira geral, o que foi concluído é que

a biomassa de microalgas provoca uma alteração sensorial importante, em sabor, textura e aceitação geral, mas que, devido à alta concentração de bioativos, ao acrescentá-la em quantidade mínima, já são alcançadas vastas melhorias nutricionais e a aceitação pelo consumidor é pouco alterada (GRAHL et al., 2018).

**Figura 3: Produtos alimentícios com adição de microalgas. Da esquerda para a direita: Chocolate 70% (The Algae Factory); barra de cereais (Lubs); biscoitos recheados (Lee Biscuits); batida láctea (Happy Planet Foods); palitos de pão (Maverick Makers Snacks); biscoitos (Gullón); barra de proteína (Simply Raw); patê (Sol Natural), biscoitos (Evasis Edibles); suco (Frecious); suco (Evasis Edibles); chocolate (Majami); barra de proteína (Greenic); salgadinho (SC Honest Fields Europe); (vii) Orange and Chlorella bites (Grupo Dulcesol, Spain, <http://www.dulcesol.com/>); sopa (Vesana Superfoods) (LAFARGA, 2019).**



Além da própria questão sensorial, num estudo realizado em três países europeus sobre diversos produtos acrescidos de biomassa de microalgas, constatou-se que um grande fator para a aceitação dos mesmos foi o conhecimento prévio sobre as microalgas, e no caso da *Spirulina*, gênero mais bem disseminado, seu uso como ativo em alimentos: consumidores que já conheciam a classe, apresentaram

tendência muito maior de responder positivamente aos produtos avaliados (GRAHL et al., 2018).

Mesmo com todos os benefícios e possibilidades de aplicação, um grande embargo referente à consolidação e à popularização do uso de biomassa de microalgas em alimentos é a viabilidade financeira: mesmo elas sendo microrganismos de fácil adaptabilidade e suportarem condições pouco favoráveis, o custo de produção ainda é alto, superior à outras fontes de proteína, por exemplo, principalmente pela falta de escalabilidade da produção, e ainda não haver demanda e tecnologia específica para muitas produções de larga escala. Além disso, existe o gargalo regulatório, especialmente em mercados rígidos como o europeu, e a aceitação do consumidor para alimentos inovadores, se fazendo necessários estudos de mercado e ações de marketing voltadas para as alegações funcionais e ao público aberto à inovação (HENCHION et al., 2017).

Para ultrapassar as barreiras financeiras supracitadas, são necessários desenvolvimentos no âmbito da biotecnologia industrial para a otimização da produção de biomassa de microalga e seus derivados, além de ser possível a adoção de alternativas como o aproveitamento dos resíduos na produção de biocombustíveis. Já quanto aos entraves regulatórios e de aceitação de consumidores, deve haver um esforço da indústria para movimentar o diálogo sobre a importância e potencial desses ativos, afim de refinar o fluxo regulatório e gerar consciência e maior familiaridade no consumidor (LUPATINI et al., 2017).

## **CONCLUSÃO**

As microalgas são uma classe de microrganismos capazes de acumular moléculas bioativas com vasto potencial para uso nutricional, como já citado, que abrangem desde vitaminas e minerais, até proteínas e ácidos graxos.

Afim de entender se a biomassa de microalgas ou seus ativos podem ou devem mesmo ser usados como aditivos em alimentos, não só deve se avaliar a presença dos nutrientes buscados, mas também seu teor, biodisponibilidade, qualidade, viabilidade de obtenção industrial, impacto no produto final e aceitação do consumidor.

Considerando tais requisitos, pela revisão bibliográfica realizada, conclui-se que alguns dos nutrientes presentes na biomassa de microalgas se apresentam

indiscutivelmente favoráveis quanto ao uso em alimentos, como é o caso das proteínas, com bom teor, biodisponibilidade, e perfil de aminoácidos.

Já outras aplicações, como o ômega 3, apesar dos dados se mostrarem promissores e o uso já ser regularizado pela ANVISA, não se encontram muitos produtos no mercado, mostrando uma conscientização que pode ser trabalhada.

Em contraponto, o uso da biomassa de microalgas para obtenção de vitamina B12 não aparenta ser vantajoso, pelo menos através dos métodos disponíveis atualmente, devido ao produto final apresentar baixo teor de vitamina verdadeira.

Em resumo, ainda são necessários estudos que corroborem ou neguem as vastas possíveis aplicações, e que também divulguem ao público geral os possíveis benefícios oriundos do consumo dos alimentos acrescidos de biomassa de microalgas, mas também falta maior interesse da indústria, o qual levaria à viabilidade da ampliação do uso das microalgas em alimentos, de modo que o segmento seria desenvolvido ao seu pleno potencial comercial.

## REFERÊNCIAS

ADARME-VEGA, T. C. et al. Microalgal biofactories: a promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production. **Microbial Cell Factories**, 25 jul. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RESOLUÇÃO-RDC Nº 269**. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269\\_22\\_09\\_2005.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269_22_09_2005.html)>. Acesso em: 19 maio. 2021.

AGOSTONI, C. et al. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for cobalamin (vitamin B12). **EFSA Journal**, v. 13, n. 7, p. 64, 1 jul. 2015.

AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. **FoodData Central**. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/?query=b12>>. Acesso em: 19 maio. 2021.

AMORIM, M. L. et al. Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–27, 2020.

ANVISA. **Resolução - RDC Nº 54, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2012**. Disponível em:

<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054\\_12\\_11\\_2012.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054_12_11_2012.html)>.

Acesso em: 28 mar. 2021.

ANVISA. **Anvisa Esclarece: 277 - Alimentos Funcionais e Novos Alimentos.**

Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p\\_p\\_id=baseconhecimentoportlet\\_WAR\\_baseconhecimentoportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-2&p\\_p\\_col\\_pos=1&p\\_p\\_col\\_count=2&\\_baseconhecimentoportlet\\_WAR\\_baseconhecimentoportlet\\_a](http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p_p_id=baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_a)>. Acesso em: 28 mar. 2021

ASSUNÇÃO, M. F. G. et al. Screening microalgae as potential sources of antioxidants. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 865–877, 1 abr. 2017.

BAHTIRI, E. et al. Relationship of homocysteine levels with lumbar spine and femur neck BMD in postmenopausal women. **Acta Reumatologica Portuguesa**, v. 2015, n. 4, p. 355–362, 2015.

BARKA, A.; BLECKER, C. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.** v. 20, n. 3, p. 427-436. 2016

BARKALLAH, M. et al. Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 323–330, 1 out. 2017.

BARKIA, I.; SAARI, N.; MANNING, S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. **Marine Drugs**. 2019.

BHOSALE, R. A.; RAJABHOJ, M. P.; CHAUGULE, B. B. *Dunaliella salina* Teod. as a prominent source of eicosapentaenoic acid. **International Journal on Algae**, v. 12, n. 2, p. 185–189, 2010.

BJÖRKEGREN, K.; SVÄRDSUDD, K. Serum cobalamin, folate, methylmalonic acid and total homocysteine as vitamin B12 and folate tissue deficiency markers amongst elderly Swedes - A population-based study. **Journal of Internal Medicine**, v. 249, n. 5, p. 423–432, 2001.

BOLTON, J. J. What is aquatic botany?- And why algae are plants: The importance of non-taxonomic terms for groups of organisms. **Aquatic Botany**, v. 132, p. 1–4, 1 jul. 2016.

BOROWITZKA, M. A. Biology of microalgae. In: **Microalgae in Health and Disease**

**Prevention.** Elsevier, 2018. p. 23–72.

BUTOLA, L. K. Status of vitamin b12 in type 2 diabetes mellitus patients taking metformin based oral hypoglycemic agent-a cross sectional study Original article : Status of vitamin b12 in type 2 diabetes mellitus patients taking metformin based oral hypoglycemic agent. **Indian Journal of Basic and Applied Medical Research.** v. 9, n. 1, p. 18-26. 2020.

BUTOLA, L. K. et al. Vitamin B12 - Do You Know Everything? **Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences**, v. 9, n. 42, p. 3139–3146, 19 out. 2020.

BYREDDY, A. R. Thraustochytrids as an alternative source of omega-3 fatty acids, carotenoids and enzymes. **Lipid Technology**, v. 28, n. 3–4, p. 68–70, 1 abr. 2016.

CARVALHO, A. P.; MALCATA, F. X. Optimization of  $\omega$ -3 fatty acid production by microalgae: crossover effects of CO<sub>2</sub> and light intensity under batch and continuous cultivation modes. **Marine Biotechnology**, v. 7, n. 4, p. 381–388, 4 ago. 2005.

CHAIKLAHAN, R. et al. Polysaccharide extraction from Spirulina sp. and its antioxidant capacity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 58, p. 73–78, jul. 2013.

CHANG, S. K. C.; ZHANG, Y. Protein Analysis. In: **Food Analysis**. 2017. p. 315–331.

CHEN, J.; LIU, H. Molecular Sciences Review Nutritional Indices for Assessing Fatty Acids: A Mini-Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5965, 2020.

COBOS, M. et al. Nutritional evaluation and human health-promoting potential of compounds biosynthesized by native microalgae from the Peruvian Amazon. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 8, 1 ago. 2020.

CZERWONKA, A. et al. Anticancer effect of the water extract of a commercial Spirulina (Arthrospira platensis) product on the human lung cancer A549 cell line. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, p. 292–302, 1 out. 2018.

DAGNELIE, P. C.; VAN STAVEREN, W. A.; VAN DEN BERG, H. Vitamin B-12 from algae appears not to be bioavailable. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 695–697, 1 mar. 1991.

DE SOUZA, M. P. et al. Potential of Microalgal Bioproducts: General Perspectives and

Main Challenges. **Waste and Biomass Valorization**. Springer Netherlands, 1 ago. 2019.

FAN, X. et al. Marine algae-derived bioactive peptides for human nutrition and health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 38, p. 9211–9222, 24 set. 2014.

FU, Y. et al. Review Article Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity. **Hindawi Mediators of Inflammation**. 2021.

GARCÍA-SEGOVIA, P. et al. Effect of microalgae incorporation on physicochemical and textural properties in wheat bread formulation. **Food Science and Technology International**, v. 23, n. 5, p. 437–447, 1 jul. 2017.

GOOGLE LLC. **Google Trends**. Disponível em: <<https://trends.google.com.br/>>. Acesso em 30 mar. 2021.

GRAHL, S. et al. Consumer-Oriented Product Development: The Conceptualization of Novel Food Products Based on Spirulina (*Arthrospira platensis*) and Resulting Consumer Expectations. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

GROSSMANN, L. et al. Sensory properties of aqueous dispersions of protein-rich extracts from *Chlorella protothecoides* at neutral and acidic pH. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1344–1349, 1 fev. 2020.

GUIHÉNEUF, F. et al. Combined effects of irradiance level and carbon source on fatty acid and lipid class composition in the microalga *Pavlova lutheri* commonly used in mariculture. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 369, n. 2, p. 136–143, 28 fev. 2009.

GUIHÉNEUF, F. et al. Effect of UV stress on the fatty acid and lipid class composition in two marine microalgae *Pavlova lutheri* (Pavlovophyceae) and *Odontella aurita* (Bacillariophyceae). **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 5, p. 629–638, 2010.

GUPTA, A. et al. Exploring potential use of Australian thraustochytrids for the bioconversion of glycerol to omega-3 and carotenoids production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 78, p. 11–17, 5 set. 2013.

HEALTH CANADA. **Dietary Reference Intakes**. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy->

eating/dietary-reference-intakes/tables/reference-values-vitamins-dietary-reference-intakes-tables-2005.html#shr-pg0>. Acesso em: 18 maio. 2021.

HEMPEL, F.; MAIER, U. G. Microalgae as solar-powered protein factories. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. Springer New York LLC, 2016. v. 896 p. 241–262.

HENCHION, M. et al. Future protein supply and demand: Strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. **Foods**, v. 6, n. 7, p. 1–21, 1 jul. 2017.

HU, C. et al. Variation of lipid and fatty acid compositions of the marine microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae) under laboratory and outdoor culture conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 7, p. 1209–1214, 14 jul. 2008.

INSTITUTE OF MEDICINE; FOOD AND NUTRITION BOARD. **Vitamin B12 - Health Professional Fact Sheet**. Disponível em: <<https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminB12-HealthProfessional/#en1>>. Acesso em: 19 maio. 2021.

JALILIAN, N.; NAJAFPOUR, G. D.; KHAJOU EI, M. Enhanced Vitamin B12 Production using *Chlorella vulgaris*. **International Journal of Engineering, Transactions A: Basics**, v. 32, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2019.

KHAN, M. I.; SHIN, J. H.; KIM, J. D. The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. **Microbial Cell Factories**. BioMed Central Ltd., 5 mar. 2018.

KRIS-ETHERTON, P.; PETERSEN, K. New Insights into Mechanisms of Action for Omega-3 Fatty Acids in Atherothrombotic Cardiovascular Disease. **Current Artherosclerosis Reports**, v. 21, n. 2, 2019.

KURD, F.; SAMAVATI, V. Water soluble polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction and in vitro anti-cancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 498–506, 1 mar. 2015.

LAFARGA, T. Effect of microalgal biomass incorporation into foods: Nutritional and sensorial attributes of the end products. **Algal Research**. Elsevier B.V., 1 ago. 2019.

LE GOFF, M. et al. Microalgal carotenoids and phytosterols regulate biochemical mechanisms involved in human health and disease prevention. **Biochimie**. Elsevier

B.V., 1 dez. 2019.

LIN, Y. et al. Monoraphidium sp. HDMA-20 is a new potential source of  $\alpha$ -linolenic acid and eicosatetraenoic acid. **Lipids in Health and Disease**, v. 18, n. 1, 4 mar. 2019.

LUPATINI, A. L. et al. Protein and carbohydrate extraction from *S. platensis* biomass by ultrasound and mechanical agitation. **Food Research International**, v. 99, n. Pt 3, p. 1028–1035, 1 set. 2017.

MAEDA, Y. et al. Genome analysis and genetic transformation of a water surface-floating microalga *Chlorococcum* sp. FFG039. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–7, 1 dez. 2019.

MAHMOUD, A. M.; SABAE, S. A. Culture and Biorefinery of Two Freshwater Microalgae; *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* As Vitamins Sources. **Innovative Scientific Information & Services Network**. 2018.

MATOS, Â. P. The Impact of Microalgae in Food Science and Technology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 94, n. 11, p. 1333–1350, 26 nov. 2017.

MCNAMARA, R. K.; ALMEIDA, D. M. Omega-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and progressive neuropathology in psychiatric disorders: A review of translational evidence and candidate mechanisms. **Harvard Review of Psychiatry**. Lippincott Williams and Wilkins, 1 mar. 2019.

MERCHANT, R. E.; PHILLIPS, T. W.; UDANI, J. Nutritional Supplementation with *Chlorella pyrenoidosa* Lowers Serum Methylmalonic Acid in Vegans and Vegetarians with a Suspected Vitamin B12 Deficiency. **Journal of Medicinal Food**, v. 18, n. 12, p. 1357–1362, 1 dez. 2015.

MOTA, M. F. S. et al. Colorimetric protein determination in microalgae (Chlorophyta): association of milling and SDS treatment for total protein extraction. **Journal of Phycology**, v. 54, n. 4, p. 577–580, 1 ago. 2018.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Vitamin B12 | C63H89CoN14O14P** - **PubChem**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitamin-B12#section=2D-Structure>>. Acesso em: 18 maio. 2021.

NAZIH, H.; BARD, J. M. Microalgae in human health: Interest as a functional food. In: **Microalgae in Health and Disease Prevention**. Elsevier, 2018. p. 211–226.

NETHRAVATHY, M. U. et al. Recent Advances in Microalgal Bioactives for Food, Feed, and Healthcare Products: Commercial Potential, Market Space, and Sustainability. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 6, p. 1882–1897, 1 nov. 2019.

NICHOLS, P. D.; PETRIE, J.; SINGH, S. Long-Chain Omega-3 Oils-An Update on Sustainable Sources. **Nutrients**, v. 2, p. 572–585, 2010.

NORDIC COUNCIL OF MINISTERS. **Nordic Nutrition Recommendations 2012**. v. 5, 2014

NUGROHO, F. A.; HANDAYANI, D.; APRIANI, Y. Asupan Protein Nabati Dan Kejadian Anemia Wanita Usia Subur Vegan. **Jurnal Gizi dan Pangan**, v. 10, n. 3, p. 165–170, 2015.

OECD-FAO. **OECD iLibrary | OECD Agriculture Statistics**. Disponível em: <[https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/data/oecd-agriculture-statistics\\_agr-data-en](https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/data/oecd-agriculture-statistics_agr-data-en)>. Acesso em: 30 mar. 2021.

OLIVER, L. et al. Producing omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of sustainable sources and future trends for the EPA and DHA market. **Resources**. MDPI AG, 1 dez. 2020.

ONACIK-GÜR, S.; ZBIKOWSKA, A.; MAJEWSKA, B. Effect of Spirulina (*Spirulina platensis*) addition on textural and quality properties of cookies. **Italian Journal of Food Science**, v. 30, n. 1, p. 1–12, 30 jan. 2018.

PATIL, V. et al. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. **Aquaculture Int**. v. 15, p. 1–9, 2007.

PAWLAK, R.; BABATUNDE, T. The prevalence of cobalamin deficiency among vegetarians assessed by serum vitamin B12: a review of literature. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 541–548, 2014.

PAWLAK, R.; RUSHER, D. R. A Review of 89 Published Case Studies of Vitamin B12 Deficiency. **J Hum Nutr Food Sci**.v. 1, n. 2, p. 1008-1021. 2013

PEREIRA, J.; SIMÕES, M.; SILVA, J. L. Microalgal assimilation of vitamin B12 toward the production of a superfood. **Journal of Food Biochemistry**. Blackwell Publishing Ltd, , 2019.

PETRIE, J. R. et al. Metabolic engineering of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in plants using an acyl-CoA  $\Delta 6$ -desaturase with  $\omega 3$ -preference from the marine microalga *Micromonas pusilla*. **Metabolic Engineering**, v. 12, n. 3, p. 233–240, 1 maio 2010.

RAINA, S. et al. How common is Vitamin B12 deficiency - A report on deficiency among healthy adults from a medical college in rural area of North-West India. **International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases**, v. 4, n. 4, p. 241, 2014.

RIZZO, G. et al. Vitamin B12 among Vegetarians: Status, Assessment and Supplementation. **Nutrients**, v. 8, n. 12, 29 nov. 2016.

RIZZO, N. S. et al. Nutrient Profiles of Vegetarian and Nonvegetarian Dietary Patterns. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 113, n. 12, p. 1610–1619, 1 dez. 2013.

RUMBAC, I. et al. Bone mineral density is not associated with homocysteine level, folate and vitamin B12 status. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 285, n. 4, p. 991–1000, abr. 2012.

SANG, M. et al. Effects of temperature, salinity, light intensity, and pH on the eicosapentaenoic acid production of *Pinguicoccus pyrenoidosus*. **Journal of Ocean University of China**, v. 11, n. 2, p. 181–186, 3 jun. 2012.

SCOTT, S. D. et al. Use of raw glycerol to produce oil rich in polyunsaturated fatty acids by a thraustochytrid. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 3, p. 267–272, 7 mar. 2011.

SPRAGUE, M.; DICK, J. R.; TOCHER, D. R. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006-2015. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 22 fev. 2016.

SASSANO, L.A.G.; GIOIELLI, L.A.; FERREIRA, L.S.; RODRIGUES, M.S.; SATO, S.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J.C.M. Evaluation of the composition of continuously-cultivated *Arthrospira (Spirulina) platensis* using ammonium chloride as nitrogen source. **Biomass & Bioenergy**, v. 34, p. 1732-1738, 2010.

THE VEGAN SOCIETY. **Definition of Veganism**. Disponível em: <<https://www.vegansociety.com/go-vegan/definition-veganism>>. Acesso em 28 mar

2021

THE VEGAN SOCIETY. **Statistics | The Vegan Society**. Disponível em: <<https://www.vegansociety.com/news/media/statistics>>. Acesso em: 22 maio. 2021.

URIBE-WANDURRAGA, Z. N. et al. Effect of microalgae addition on mineral content, colour and mechanical properties of breadsticks. **Food and Function**, v. 10, n. 8, p. 4685–4692, 1 ago. 2019.

VAN WAGENEN, J. et al. Effects of light and temperature on fatty acid production in *Nannochloropsis salina*. **Energies**, v. 5, n. 3, p. 731–740, 2012.

WELLS, M. L. et al. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **Journal of Applied Phycology**, 2017.

WILD, K.; STEINGASS, H.; RODEHUTSCORD, M. Variability in nutrient composition and in vitro crude protein digestibility of 16 microalgae products. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 5, p. 1306–1319, 1 out. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B 12 deficiencies**. 2008.

YAGO, T. et al. Effect of Wavelength of Intermittent Light on the Growth and Fatty Acid Profile of the Haptophyte *Isochrysis galbana*. In: **Global Change: Mankind-Marine Environment Interactions**. Springer Netherlands, 2010. p. 43–45.

ZANELLA, L.; VIANELLO, F. Microalgae of the genus *Nannochloropsis*: Chemical composition and functional implications for human nutrition. **Journal of Functional Foods**, v. 68, 1 maio 2020.