

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

**POTENCIAL DE APLICAÇÃO DE LIPÍDIOS DE MICROALGAS EM
PRODUTOS
DE INTERESSE INDUSTRIAL**

DANILO MARTINI ROSOLIA

**SÃO PAULO
2023**

DANILO MARTINI ROSOLIA

**POTENCIAL DE APLICAÇÃO DE LIPÍDIOS DE MICROALGAS EM
PRODUTOS
DE INTERESSE INDUSTRIAL**

Trabalho de conclusão do curso apresentado à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo como requisito para obtenção do título de bacharel em Farmácia e Bioquímica.

Orientador:

Prof. Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho

**SÃO PAULO
2023**

RESUMO

Introdução: Microalgas são um grupo heterogêneo de organismos unicelulares fotossintetizantes que possuem uma ampla riqueza metabólica, incluindo uma vasta gama de moléculas bioativas, as quais, aliadas com sua reconhecida capacidade de fixar CO₂, tornam os referidos organismos uma fonte promissora, sustentável e natural de compostos bioativos com potencial de aplicação desde tratamentos médicos até alimentos. **Objetivo:** realizar um levantamento bibliográfico sobre os principais lipídios obtidos de microalgas, seus métodos de extração, suas principais características e possíveis produtos nos quais podem ser aplicadas. **Método:** pesquisa de artigos científicos, livros e teses, em bancos de dados eletrônicos, preferencialmente publicados nos últimos 20 anos. **Resultados:** a partir dos dados obtidos foi possível elencar quais são os principais carotenoides e ácidos graxos encontrados nas microalgas, suas propriedades antioxidantes, imunomoduladoras, pró-vitamínicas, antitumorais, antiarrítmicas e sua aplicabilidade em medicamentos, cosméticos, suplementos, além de alimentos funcionais. **Conclusão:** As microalgas são uma fonte promissora de compostos bioativos para um amplo número de produtos de interesse farmacêutico, com potencial de atender diversos nichos de mercado. Um dos principais empecilhos para melhora da viabilidade econômica do processo é o extenso custo associado as etapas “downstream” da sua obtenção industrial.

ABSTRACT

Introduction: Microalgae are a heterogeneous group of unicellular photosynthetic organisms that have a wide metabolic wealth, including a wide range of bioactive molecules, which, combined with their recognized ability to fix CO₂, make these organisms a promising, sustainable and natural source of bioactive compounds with potential application from medical treatments to food. **Objective:** Develop a bibliographic survey on the main lipids obtained from microalgae, their extraction methods, main characteristics and possible products in which they can be applied. **Method:** research of scientific articles, books and thesis, in electronic databases, preferably published in the last 20 years. **Results:** from the data obtained, it was possible to list the main carotenoids and fatty acids found in microalgae, their antioxidant, immunomodulatory, provitamin, antitumor, antiarrhythmic properties and applicability in medicines, cosmetics, supplements, in addition to functional foods. **Conclusion:** Microalgae are a promising source of bioactive compounds for a wide range of products of pharmaceutical interest, with potential to attend different applications. One of the main obstacles to improving the economic viability of the process is the extensive cost associated with the “downstream” stages of its industrial production.

LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

ALA	Ácido Alfa linolênico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
DHA	Ácido Docosaeaxenoico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
GADD45	<i>Growth Arrest and DNA Damage inducible protein</i>
GLUT4	transportador de glicose 4
GRAS	Generally Recognized as Safe
LA	Ácido Linoleico
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LOX-5	Lipo-oxigenase 5
LOX-15	Lipo-oxigenase 15
LTB ₅	Leucotrieno B ₅
MAPK	Proteínas Quinases Ativadas por Mitógeno
NF-κB	Factor nuclear kappa B
PGE ₃	Prostaglandina E ₃
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	2
LISTA DE ABREVIATURAS.....	3
INTRODUÇÃO.....	5
METODOLOGIA.....	6
RESULTADOS E DISCUSÃO.....	6
Métodos de Extração.....	6
Visão Geral.....	6
Métodos Clássicos.....	7
Abordagens Inovadoras.....	9
Biorrefinarias.....	12
Derivados do Prenol.....	12
Carotenoides.....	12
Vitaminas.....	24
Derivados de Ácidos Graxos.....	28
Ácidos Graxos Poli-insaturados.....	28
Outros Ácidos Graxos.....	32
CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

INTRODUÇÃO

Microalgas são um grupo de microrganismos unicelulares, com taxonomia muito diversa, incluindo organismos procariotos e eucariotos, capazes de realizar fotossíntese (BUX, 2013). Tais organismos possuem uma riqueza metabólica muito grande, sendo capazes de produzir uma ampla variedade de moléculas bioativas as quais podem apresentar benefícios à saúde humana (VIEIRA; PASTRANA; FUCIÑOS, 2020).

Seu papel no ecossistema é fundamental, pois estima-se que as microalgas sejam responsáveis por 40% de toda fotossíntese no planeta (MORENO-GARRIDO, 2008). Elas constituem parte do fitoplâncton e são a principal fonte trófica de diversos ecossistemas aquáticos (CAÑAVATE, 2019).

A reconhecida capacidade das microalgas de fixar CO₂ (BILANOVIC et al., 2009), que é considerado um gás-estufa, torna sua cultura benéfica ao meio ambiente e uma alternativa sustentável de obtenção de moléculas bioativas para diversos produtos de uso humano (FERNANDES; CORDEIRO, 2021), incluindo de interesse farmacêutico, como medicamentos, cosméticos, alimentos e suplementos.

O uso de microalgas como fonte alimentos é aceito por agências regulatórias em diferentes países (GOHARA-BEIRIGO et al., 2022) e associa a fixação do CO₂ com a busca em suprir o déficit nutricional no mundo e o fenômeno de insegurança alimentar (SHEKH et al., 2022). Este fenômeno também pode ser combatido com o uso também de microalgas na obtenção de produtos industriais que empregam uso de plantações para serem produzidos. Ao diminuir o uso de terras agricultáveis (GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009), há potencialmente mais áreas disponíveis para cultivo de alimento.

Por fim, a demanda crescente por produtos que não utilizam insumos de origem animal também coaduna com emprego de moléculas bioativas obtidas de microalgas. O consumo de produtos cosméticos ou até mesmo de suplementos destinados a indivíduos que fazem dietas alimentares vegetarianas ou veganas pode ser um nicho mercadológico muito relevante (NICOLETTI, 2016).

A riqueza metabólica das microalgas abrange moléculas bioativas como proteínas, carboidratos e lipídios, sendo que estes chegam a representar mais de 35% da massa seca de algumas espécies (HUERLIMANN; DE NYS; HEIMANN, 2010).

A definição de lipídios é muitas vezes complexa, sem um consenso internacional, pois necessita abranger uma grande diversidade de moléculas muitas das quais são quimicamente heterogêneas, guardando relação entre si apenas pela solubilidade em solventes não polares e insolubilidade em água (DE LUCA et al., 2021).

Uma das proposições mais abrangentes quanto a definição lipídica foi feita pelo grupo de pesquisa associado ao consórcio *Lipid Maps*, que desenvolveu uma classificação bastante ampla, com uma abordagem baseada na estrutura química e no mecanismo de biossíntese das moléculas lipídicas (SUBRAMANIAM et al., 2011).

Todas as moléculas lipídicas foram classificadas por estes pesquisadores em oito grupos diferentes: derivados de ácidos graxos, derivados do prenol, derivados do esterol, glicerolípídeos, glicerofosfolípídeos, esfingolípídeos, glicolípídeos e policetídeos (FAHY et al., 2011).

Devido à grande diversidade de espécies das microalgas, e considerando toda sua riqueza, é possível encontrar exemplos de diversas moléculas que desempenham diversas funções celulares importantes, possuem alta demanda e preços relativamente elevados no

mercado, como, por exemplo, carotenoides, tais quais o β -caroteno, a astaxantina, lycopeno, zeaxantina, ácidos graxos poli-insaturados, como EPA e DHA, bem como vitaminas, entre outras moléculas.

O mercado global de carotenoides é projetado como 1,7 bilhão de dólares em 2020 e espera-se que atinja o valor de 2 bilhões em 2027. Dentre eles, destaca-se a molécula com maior valor agregado, a astaxantina, com mercado de aproximadamente 192 milhões de dólares em 2020 (MUSSAGY; KHAN; KOT, 2022). Os ácidos graxos poli-insaturados também possuem um mercado global ainda maior, sendo avaliado em 2019 em 2,49 bilhões de dólares (OLIVER et al., 2020).

Apesar do grande potencial apresentado pelas microalgas, a viabilidade econômica do processo enfrenta gargalos, principalmente relacionados as operações unitárias pós cultura celular, chamado de processamento “downstream” (GIFUNI et al., 2019).

Sendo assim, o presente trabalho busca descrever quais são os principais lipídios obtidos de microalgas passíveis de serem obtidos em quantidades significativas, citando suas principais propriedades bioativas ou outras características relevantes, possíveis produtos nos quais podem ser incorporados, além das principais técnicas de extração que são empregadas e das novas metodologias que vem sendo propostas.

METODOLOGIA

Foi realizado levantamento bibliográfico na literatura científica em bancos de dados de publicações eletrônicas tais quais Scopus, ScienceDirect, GoogleScholar, PubMed e Scielo, em busca de materiais como artigos científicos, teses e livros que versavam sobre métodos de extração lipídica, cultivo de microalgas e moléculas bioativas sintetizadas por microalgas, como carotenoides, ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas. Na busca, foram utilizados preferencialmente materiais publicados nos últimos 20 anos, entretanto, publicações mais antigas foram citadas em referências históricas ou quando continham informações relevantes ao trabalho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Métodos de Extração

1.1. Visão Geral

A escolha das etapas de processamento “downstream” utilizadas são de grande importância para a viabilidade econômica do emprego de lipídios oriundos de microalgas, pois chegam a representar aproximadamente 40% do custo total do processo, muitas vezes em decorrência da natureza diluída do meio obtido de culturas autotróficas (GIFUNI et al., 2019).

O método de extração deve ser capaz de extrair a molécula de interesse sem degradá-la, deve ser capaz de extrair quantidades apreciáveis a partir da biomassa e não deve comprometer a sustentabilidade que norteia a opção pelo emprego de microalgas (GALLEGO et al., 2018). Este último fator está intimamente relacionado com a geração de resíduos, dispêndio de recursos naturais, de energia e de tempo. Também deve levado em

consideração o tamanho do investimento inicial em equipamentos e o custo da mão de obra capacitada.

As técnicas de extração mais comuns empregadas até o momento são baseadas na extração de lipídeos oriundos de alimentos, principalmente a partir de matérias-primas de origem animal. As características da matéria prima e da molécula que se busca isolar influenciam diretamente na escolha do método de extração: o uso de temperaturas altas pode melhorar o rendimento da extração de lipídios totais da biomassa em algumas técnicas, mas há o risco de degradar compostos bioativos termolábeis presentes (ZHOU et al., 2022).

A partir dos trabalhos de ZHOU et al., 2022 os métodos de extração podem ser classificados em clássicos e abordagens inovadoras. Nesta última, o autor inclui técnicas novas e até mesmo a adaptação de métodos clássicos assistidos por novas tecnologias como micro-ondas e ultrassom. Eles podem ou não estar associados a um pré-tratamento com o objetivo de aumentar seu rendimento e/ou diminuir o tempo de extração.

Segundo a classificação dos autores de GALLEGGO et al., 2018 alguns métodos elencados como abordagens inovadoras foram considerados verdes em certas condições específicas. Também foi citado o conceito de biorrefinaria, na qual são extraídas uma ampla gama de compostos da mesma biomassa, em diversas etapas extrativas verdes diferentes.

1.2. Métodos clássicos

São classificados como métodos clássicos, técnicas de extração que empregam solventes orgânicos como Soxhlet, Folch e Bligh-Dyer, já muito bem descritas na literatura sendo que a mais antiga delas, o Soxhlet, data ainda da segunda metade do século XIX. No geral, possuem operação simples, de baixo custo, longos períodos de extração, apresentam riscos aos operadores e meio ambiente, além da geração de resíduos devido ao emprego de solventes orgânicos em larga escala.

1.2.1. Soxhlet

O método de Soxhlet foi proposto em 1879, com objetivo de quantificar lipídios totais presentes no leite (Soxlet, 1879). É considerada a técnica de referência para comparação da eficiência de uma determinada técnica de extração de lipídeos (ZHOU et al., 2022).

A técnica se baseia em adicionar a biomassa em um cartucho e colocá-lo no equipamento, conforme representado na figura 1. À medida que o solvente é aquecido, ele evapora e passa pelo condensador onde condensa (ainda quente) e goteja sobre a biomassa no cartucho. À medida que o volume no tubo extrator aumenta e excede a altura do sifão, todo o solvente orgânico contendo os lipídios é drenado para o balão. Com o aquecimento constante do solvente, este continua ebullindo, condensando, gotejando sobre a biomassa e sendo drenado pelo sifão novamente para o balão. A cada ciclo a quantidade de lipídios aumenta no recipiente, pois devidos a suas características físico-químicas ele continua retido no balão, independente da ebulação do solvente (WEGGLER et al., 2020).

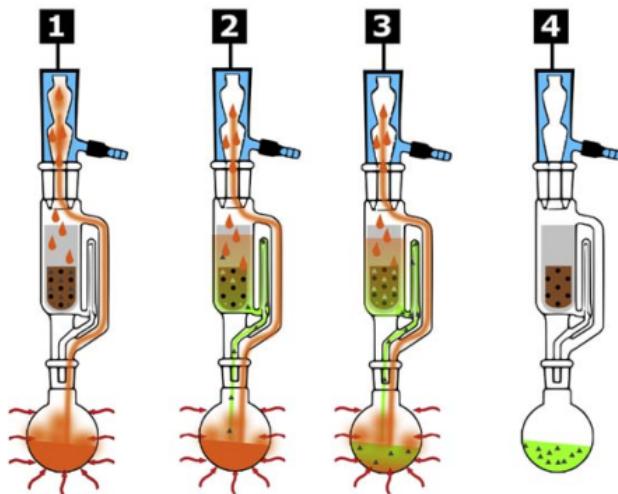


Figura 1: adaptada de (WEGGLER et al., 2020) mostra a dinâmica de funcionamento de um Soxhlet. Em [1] o solvente (em laranja) é aquecido, evaporado, condensado e goteja sobre o analito (em marrom); em [2] o solvente contendo os lipídeos (em verde) são drenados para o balão; em [3] as etapas 1 e 2 continuam ocorrendo, aumentando a concentração de lipídios e em [4] há a representação a extração completa do analito.

Dentre suas principais vantagens podemos citar a simplicidade no manuseio, baixo custo de investimento inicial em equipamento, alta eficiência na extração lipídica, independente de efeitos de matriz e treinamento relativamente fácil dos operadores (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

Dentre as desvantagens podemos citar o longo tempo de operação, as temperaturas elevadas de ebulição do solvente, que juntos podem levar a degradação de moléculas termolábeis, além do extenso uso de solventes orgânicos, nocivos ao meio ambiente e geram resíduos que necessitam de descarte especializado (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998).

1.2.2. Folch

O método de Folch foi proposto em 1957 a partir de estudos para purificação de lipídios cerebrais. Consistia em um processo de duas etapas: inicialmente o tecido era homogeneizado na presença de uma mistura de clorofórmio e metanol 2:1 (v/v) realizando-se uma filtração no final da etapa. Em seguida o filtrado era colocado em contato com água em proporção clorofórmio, metanol e água de 8:4:3 para que as substâncias hidrofílicas fossem separadas dos lipídios (FOLCH; LEES; STANLEY, 1957). Por fim, a fase com o solvente orgânico era separada e posteriormente evaporada para obtenção dos lipídeos (ZHOU et al., 2022).

É considerada uma técnica simples e rápida, bastante útil para situações em que é necessário realizar extração em um número grande de amostras. Entretanto os solventes utilizados são bastante tóxicos, sendo prejudiciais tanto para a saúde dos operadores quanto ao meio ambiente (ZHOU et al., 2022). Devido ao perigo do armazenamento de grandes quantidades de clorofórmio, o aumento da escala para proporções industriais pode ser inviável (JESUS et al., 2019).

1.2.3. Bligh-Dyer

Este método de extração foi publicado em 1959, desenvolvido a partir de estudos de deterioração de lipídios em amostras de peixe congelado para análise do tecido muscular de bacalhau (BLIGH; DYER, 1959).

Nesta técnica, o tecido é homogeneizado na presença uma mistura de clorofórmio e metanol 1:2 (v/v), e, em seguida, é adicionada uma parte de clorofórmio e depois mais uma parte de água diretamente na mistura. Por fim o material é filtrado e adicionado a uma proveta graduada para que ocorra a separação de fases (BLIGH; DYER, 1959).

A principal vantagem da técnica de Bligh-Dyer sobre Folch é o menor dispêndio de solvente orgânico pois a primeira utiliza 3 partes de mistura clorofórmio metanol (1:2) para cada parte de amostra, enquanto a segunda usa 20 partes de mistura clorofórmio metanol (2:1) para cada parte de amostra (IVERSON; LANG; COOPER, 2001).

Outra vantagem de destaque é que o método de Bligh-Dyer apresentou ótima eficiência de extração de ácidos graxos totais da biomassa da *Chlorella pyrenoidosa* quando foi levado em conta o dispêndio de solvente, chegando próximo a 8,52 mg por ml enquanto na técnica de Folch se aproximou de 3,73 mg por ml (JESUS et al., 2019).

As principais desvantagens estão associadas ao uso de solventes orgânicos que são prejudiciais para saúde humana e para a natureza (ZHOU et al., 2022), tornando complexo seu emprego em escala industrial (JESUS et al., 2019).

1.2.4. Hara e Radin

A busca pelo uso de solventes menos tóxicos levou a publicação, em 1978, de uma técnica que utilizava uma mistura de n-hexano e isopropanol 3:2 (v/v) na extração de lipídeos presentes no cérebro de ratos ou camundongos (HARA; RADIN, 1978).

Para realizar a extração, são adicionados 18 mL da mistura de hexano isopropanol (3:2) a uma massa de 1 g de tecido cerebral, submetido em seguida a homogeneização. A mistura é filtrada e os sólidos ressuspensos, homogeneizados e filtrados novamente (HARA; RADIN, 1978). A seguir, ambos os filtrados são transferidos a um funil de separação onde uma solução salina é adicionada e a separação de fases ocorre (JESUS et al., 2019).

Dentre as principais vantagens deste método extrativo proposto é a menor toxicidade dos reagentes (SAINI et al., 2021) e um melhor custo-benefício para extração de 1 kg de biomassa se comparada as outras técnicas, pois os o valor de mercado atual dos reagentes é mais baixos (JESUS et al., 2019).

Dentre as principais desvantagens deste método, há uma menor capacidade de extração de ácidos graxos totais da biomassa de *Chlorella pyrenoidosa*, com eficiência próxima a 54,8%, fato atribuído a menor polaridade do isopropanol se comparada ao metanol (JESUS et al., 2019).

1.3. Abordagens Inovadoras:

Em contraposição aos métodos clássicos, extensivamente estudados e utilizados na extração de lipídeos de microalgas, ZHOU et al. 2022 cita novas técnicas, a adição de pré-tratamentos ou a busca por reagentes verdes como abordagens inovadoras para a etapa extrativa.

As novas técnicas estão associadas a extração pelo uso de fluidos supercríticos, por líquidos pressurizados e pela aplicação de campo elétrico pulsado. A associação de diferentes metodologias ou o pré-tratamento das amostras a ultrassom, microssondas ou digestão enzimática também são citadas. Por fim, a busca de solventes verdes para serem usados nas técnicas clássicas são outro vértice deste esforço.

1.3.1. Fluido Supercrítico

Fluido supercrítico é o nome dado a uma substância que se encontra com pressão e temperatura acima de seu ponto crítico, apresentando propriedades em comum com os líquidos e os gases (SAPKALE et al., 2010). Trata-se de uma fase homogênea, com uma viscosidade próxima aos gases, uma densidade próxima aos líquidos e uma difusividade intermediária entre os referidos estados (MENDIOLA et al., 2013).

O dióxido de carbono é a substância química mais empregada para a extração de materiais de origem natural, como, por exemplo, biomoléculas de microalgas, devido às condições mais brandas que o CO₂ atinge o ponto crítico, 31,2 °C e 73,8 bar (GALLEGO et al., 2018), tornando possível a extração de compostos termolábeis (ZHOU et al. 2022). Adicionalmente, apresenta baixo custo, pode ser obtido como um subproduto industrial e passa para o estado gasoso de forma rápida à temperatura ambiente. Ademais, esta técnica de extração já foi incluída na categoria GRAS, pela legislação que trata de alimentos nos Estados Unidos da América (GALLEGO et al., 2018).

Alguns estudos demonstraram que a extração por fluido supercrítico de dióxido de carbono foi capaz de extrair 92% dos lipídeos totais da biomassa, contendo 59% de ácidos graxos poli-insaturados (LORENZEN et al., 2017). A referida técnica de extração foi empregada nas espécies de microalga do gênero *Schizochytrium* levando à obtenção de extratos de óleos ricos em ácidos graxos tipo ω₃ (ZINNAI et al., 2016).

As desvantagens do processo são a polaridade relativamente baixa do dióxido de carbono, o que dificulta a extração de compostos relativamente polares, exigindo o uso de cossolventes como etanol (GALLEGO et al., 2018) e o alto investimento inicial necessário nos equipamentos, principalmente em escala industrial (ZHOU et al. 2022).

1.3.2. Líquidos Pressurizados

A técnica de extração por líquidos pressurizados utiliza solventes a altas pressões e altas temperaturas, sempre abaixo do ponto crítico. O objetivo é subir a pressão para que o solvente permaneça líquido, com viscosidade diminuída e solubilidade aumentada, ajudando sua penetração na matriz e aumentando as taxas de transferência de massa. Isto resulta em uso de menores quantidades de solvente e diminuição do tempo de extração (GALLEGO et al., 2018).

Tais princípios permitem até mesmo o uso da água como solvente, pois a uma temperatura próxima a 250 °C a constante dielétrica do líquido fica próxima a 37,5% do seu valor em temperatura ambiente, diminuindo sua polaridade para valores próximos a solventes orgânicos como metanol e etanol (GALLEGO et al., 2018).

As principais vantagens do método é o uso de menores quantidades de solvente orgânico quando este for necessário, sua possibilidade de ser uma extração verde com uso de água como solvente e alta eficiência de extração (ZHOU et al. 2022). Desvantagens são

o maior custo de investimento inicial no equipamento e, devido às altas temperaturas, pode não ser o método mais indicado para a extração de compostos termolábeis.

1.3.3. Campo Elétrico Pulsado

Esta técnica de extração é baseada no fenômeno de eletroporação: a aplicação de um campo elétrico pulsado na amostra pode romper a membrana celular ou causar poros temporários, extravasando seu conteúdo intracelular (ZHOU et al. 2022).

É um método de extração muito aplicado na indústria alimentícia, por conseguir preservar consideravelmente o valor nutricional e as qualidades sensoriais do alimento.

Pode ser aplicada de forma individual ou até mesmo em combinação com métodos de extração clássicos, como Bligh-Dyer, que comprovadamente aumentou a extração lipídica da microalga *Chlorella pyrenoidosa* (HAN et al., 2019).

A extração por campo elétrico pulsado é uma das técnicas que menos geram poluentes, permite o processamento de grandes quantidades de material uma vez, que pode ser feita de forma contínua e pode ser operada de forma simples (ZHOU et al. 2022). Uma das desvantagens durante a sua aplicação pode haver aumento de temperatura da amostra degradando moléculas mais lábeis (GÜNERKEN et al., 2015).

1.3.4. Pré-tratamento e Associações

Uma das vertentes das abordagens alternativas para extração lipídica é realizar um pré-tratamento ou até mesmo associar técnicas mais modernas com métodos clássicos de extração para aumento na eficiência de extração, diminuição do tempo necessário ou da energia dispendida (ZHOU et al. 2022).

Pré-tratamentos podem ser feitos com campo elétrico pulsado, ação enzimática, ultrassom, além da associação com o aquecimento por micro-ondas (ZHOU et al. 2022).

Associações com uso de micro-ondas a técnicas como Bligh-Dyer e Folch são capazes de aumentar significativamente o rendimento da extração lipídica. Entretanto não são indicados para a extração de compostos bioativos, principalmente termolábeis.

Por outro lado, o pré-tratamento com enzimas ocorre a pressão e temperatura ambiente, reduzindo o gasto energético e aumentando a possibilidade de extração de compostos bioativos (ZHANG et al., 2018). O uso de hidrolases como pectinase, celulase, hemicelulase e papaína concomitantemente foi capaz de dobrar a eficiência de extração lipídica da biomassa de *Nannochloropsis* (HE et al., 2020).

1.3.5 Outros Reagentes Verdes

Alguns pesquisadores também buscam solventes verdes apropriados para serem usados nos métodos clássicos de extração. Uma das melhores alternativas encontradas foi a mistura de 2-metiltetrahidrofurano com álcool isoamílico utilizado em Bligh-Dyer, mas a eficiência em relação a extração de ácidos graxos totais foi inferior a obtida pela mistura de clorofórmio e metanol, além de um custo total com reagentes ter sido quase 30 vezes maior do que a técnica de Hara e Radim (JESUS et al., 2019).

1.4. Biorrefinarias:

O conceito de biorrefinarias possui origem nas refinarias de petróleo, nas quais o óleo cru passa por fracionamento em combustíveis e diversos coprodutos, inclusive de considerável valor agregado (GÜNERKEN et al., 2015).

O delineamento deste conceito ocorreu devido a uma alta procura por fontes energéticas alternativas, como o biodiesel obtido de microalgas, entretanto o alto custo operacional e o vultoso investimento inicial tornariam o processo economicamente inviável (CHEW et al., 2017).

Objetivando contornar esta dificuldade, passou-se a buscar a realização de uma extração ampla, fracionando a ampla diversidade de biocompostos de alto valor agregado, presentes nas microalgas, como ácidos graxos poli-insaturados, carotenos, xantinas, vitaminas, entre outros, úteis às indústrias farmacêutica, cosmética e de alimentos (CHEW et al., 2017).

O processo de extração deve ser verde e passa a ocorrer em diversas etapas para obter produtos com diferentes propriedades químicas. Por exemplo etapas sequenciais de extração por dióxido de carbono supercrítico, depois pela técnica de líquidos expandidos por gás usando etanol e CO₂ supercrítico, seguido por extração em etanol puro e, por fim, água (GILBERT-LÓPEZ et al., 2015).

2. Moléculas derivadas do Prenol

São um grupo abrangente de moléculas, as quais são definidas como derivadas da condensação de unidades de isopreno (FAHY et al., 2011). Incluem uma extensa gama de moléculas bioativas como carotenos, xantofilas (DE LUCA et al., 2021) e até mesmo algumas vitaminas tais quais a vitamina A e a vitamina E (LIPID MAPS, 2021).

2.1. Carotenoides

Os carotenoides são uma classe de moléculas derivadas do tetraterpeno, estrutura formada por oito unidades de isopreno encadeadas de forma a totalizar 40 carbonos. Sua nomenclatura é feita com base nos seus dois grupos terminais, que podem ser de 7 tipos, denotados por uma letra grega diferente (NOVOVESKÁ et al., 2019).

Os carotenoides podem ser classificados como lineares, tal qual o licopeno, ou cílicos como o β-caroteno. A presença ou ausência de oxigênio é também uma característica fundamental para sua classificação: moléculas compostas exclusivamente por carbono e hidrogênio são denominadas carotenos enquanto os seus derivados oxigenados são chamados de xantofilas como pode ser observado na figura 2 (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

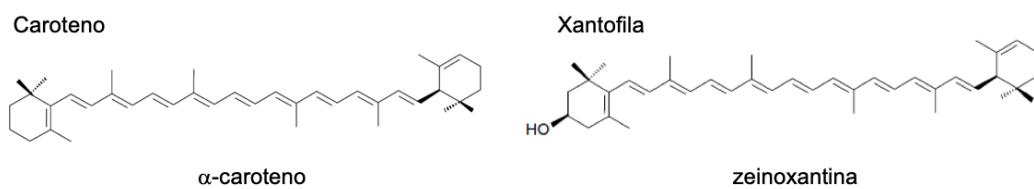


Figura 2: diferenças entre carotenos e xantofilas, adaptado de (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016)

Devido as propriedades de absorção de radiação eletromagnética no intervalo do espectro visível, principalmente dos 400 nm a 550 nm, são a origem da cor amarela, laranja e vermelha de diversas plantas, frutas e algas (NOVOVESKÁ et al., 2019).

2.1.1. Carotenos

Os principais exemplos de carotenos que podem ser encontrados em microalgas são o β -caroteno e o licopeno (DOLGANYUK et al., 2020).

2.1.1.1. β -caroteno

O β -caroteno é uma molécula de fórmula C₄₀H₅₆, representada na figura 3, formada por dois anéis terminais β na sua estrutura (NOVOVESKÁ et al., 2019)

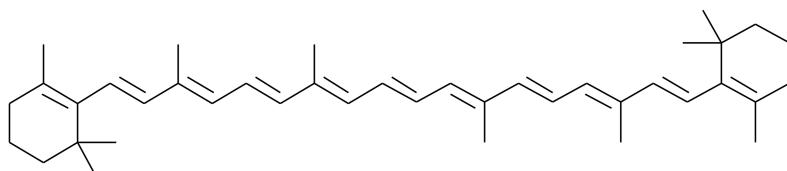


Figura 3: Molécula de β -caroteno, adaptado de (ANAND; MOHAN; BHARADVAJA, 2022)

Suas funções celulares estão associadas ao auxílio da captação de energia no processo fotossintetizante redirecionando os elétrons captados para a clorofila A (RAVEN; EVERET; EICHHORN, 2014) e principalmente no seu forte caráter antioxidante, capaz de extinguir eficientemente o oxigênio singlete e interromper a cadeia de propagação na formação de radicais livres (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

Uma característica marcante do β -caroteno é sua coloração laranja clara, devido a sua absorção de luz no espectro visível, com valor máximo próximo 450 nm, associada a seu grande número de ligações duplas conjugadas (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007). Tal característica lhe confere propriedades corantes, sendo empregadas como aditivo em alimentos e bebidas há décadas no Brasil (BRASIL, 1977), sendo também aprovado como corante alimentício pela Comissão Europeia (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020).

Uma das principais funções biológicas do β -caroteno é ser um precursor da vitamina A, podendo inclusive chamado de pró-vitamina A (VON LINTIG, 2012). A deficiência da vitamina A pode gerar problemas como cegueira noturna, xeroftalmia e maior incidência de infecções (EZZATI et al., 2004). A ingestão pode ser feita por meio de suplementos de vitamina A autorizados pela ANVISA, os quais possuem limites máximos estabelecidos na legislação. Este limite específico se aplica somente a vitamina A pré-formada e não a de suplementos formulados exclusivamente com β -caroteno (BRASIL, 2021).

Até 2019 estava disponível no sítio Web da ANVISA uma “lista das alegações de propriedade funcional ou de saúde” na qual constava o ingrediente aceito e uma alegação padronizada de sua propriedade funcional. Nela, o β -caroteno não constava como ingrediente com propriedade funcional (BRASIL, 2019).

Diversos estudos *in vivo* e *in vitro* apontaram potencial atividade anticâncer do β -caroteno extraído de *Dunaliella salina*, com efeitos antileucêmicos (CHUANG et al., 2014)

e pró apoptóticos sobre células de câncer de próstata (JAYAPPRIYAN et al., 2013). Além disso, estudos de coortes apontaram que um alto consumo de α e β -caroteno na dieta está associado com um menor risco de câncer gástrico (LARSSON et al., 2007).

Entretanto outros estudos observaram que a suplementação com maiores quantidades de β -caroteno em certos grupos, tais quais fumantes e pessoas expostas a asbestos, pode ocasionar maior risco de desenvolver câncer de pulmão (DRUESNE-PECOLLO et al., 2010). Uma possível causa para este fenômeno pode ser associada ao comportamento pró-oxidante que o β -caroteno pode exercer quando consumido em grandes quantidades (HONDA, 2020).

Vale destacar que há possíveis efeitos benéficos do consumo de β -caroteno em outras doenças crônicas não transmissíveis, como por exemplo a diabetes tipo 2, pois estudos associaram dietas ricas em α -caroteno e β -caroteno com um menor risco no desenvolvimento da doença (SLUIJS et al., 2015).

Por fim, devido as suas características antioxidantes e boa permeabilidade na pele, o β -caroteno é uma molécula interessante para o uso em formulações de protetor solar, uma vez que é protetora quanto aos danos do sol e tem ação de anti-envelhecimento. Uma de suas limitações, principalmente em relação a quantidade empregada, é a reconhecida capacidade de deixar manchas alaranjadas na pele (ARCT; MIELOCH, 2016).

O β -caroteno pode ser encontrado naturalmente nas microalgas das espécies *Chlorella zofingiensis*, *Coelastrella striolata*, *Cocomyxa onubensis*, *Dunaliella sp.* e *Arthrospira sp.* (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020) com destaque para a *Dunaliella salina*, que possui até 10% da sua massa seca de β -caroteno (CEZARE-GOMES et al., 2019), sendo empregada industrialmente para obtenção da molécula (BOGACZ-RADOMSKA; HARASYM, 2018).

2.1.1.2. Licopeno

O licopeno, representado na imagem 4, é uma molécula linear, altamente insaturada, composta exclusivamente por carbono e hidrogênio, com fórmula química $C_{40}H_{56}$, que apresenta 11 duplas ligações conjugadas e 2 insaturações não conjugadas (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020).

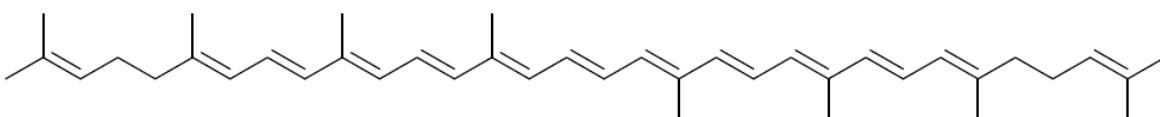


Figura 4: estrutura do licopeno (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020)

Esta estrutura distinta constitui o cromóforo responsável por uma forte cor vermelha, devido absorção máxima de luz visível próxima ao 470 nm (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007) e pela sua forte capacidade antioxidante (SHI; MAGUER, 2000). É uma molécula altamente lipofílica que, pela ausência dos anéis β -ionona, não consegue agir como pró-vitamina A (VAN BREEMEN; PAJKOVIC, 2008).

Além de ser um importante pigmento em vegetais, como o tomate, (BRESINSKY et al., 2012) o licopeno é um intermediário importante na síntese de outros carotenoides, tais quais o β -caroteno, luteína, zeaxantina e violaxantina (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

A propriedade bioativa mais importante do licopeno é sua potente capacidade antioxidante, sendo considerado o carotenoide que mais eficientemente extingue o oxigênio na forma singlete (CONN; SCHALCH; TRUSCOTT, 1991).

O licopeno tem uma ampla aplicabilidade em alimentos, partindo do simples uso como corante até aditivos em produtos funcionais. O emprego da molécula como corante de bebidas e alimentos é feito há décadas, autorizado à época pelo Anexo II da Resolução Nº 44 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1977).

Na lista das alegações de propriedade funcional ou de saúde disponível no sítio Web da ANVISA até ano de 2019, o licopeno era um dos ingredientes com propriedade funcional reconhecida pois ela “tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres” (BRASIL, 2019).

A área nutracêutica é um dos principais mercados para molécula, considerando seu amplamente conhecido papel na prevenção do câncer, principalmente na redução do risco de desenvolver câncer de próstata (VAN BREEMEN; PAJKOVIC, 2008). Também foram descritos efeitos benéficos para o sistema cardiovascular, inibindo a hipertrofia cardíaca (ZENG et al., 2019) e diminuindo o risco de desenvolver outras doenças cardiovasculares como hipertensão (FERREIRA-SANTOS et al., 2018) e acidentes vasculares encefálicos (CHENG et al., 2017). Para tanto, a ANVISA permite a formulação de suplementos contendo licopeno, desde que não seja ultrapassado o limite diário máximo recomendado de 8 mg (BRASIL, 2018a).

Devido às suas propriedades antioxidantes, o licopeno se mostra adequado para integrar formulações antienvelhecimento (MARCHENA et al., 2020), proteger a pele dos danos da radiação UV (ANDREASSI et al., 2004), bem como diminuir a rugosidade da pele (DARVIN et al., 2008).

Além das conhecidas fontes vegetais, o licopeno foi identificado nas microalgas da espécie *Chlorella marina*, que inclusive apresentou em diferentes estudos propriedades anticâncer (RENJU; MURALEEDHARA KURUP; BANDUGULA, 2014) e anti-inflamatórias (RENJU; MURALEEDHARA KURUP; SARITHA KUMARI, 2012).

2.1.2. Xantofilas

Todas as xantofilas possuem oxigênio ligado em sua estrutura, seja na forma de um grupamento cetona (cantaxantina), epóxido (violaxantina) ou hidroxila (zeaxantina). As principais xantofilas encontradas em microalgas são astaxantina, zeaxantina, luteína e violaxantina (DOLGANYUK et al., 2020).

2.1.2.1. Astaxantina

É uma xantofila de fórmula molecular $C_{40}H_{52}O_4$, de coloração vermelho alaranjada derivada do β -caroteno, caracterizada pela presença de uma cetona α,β -insaturada e um grupamento hidroxila nos anéis terminais β -ionona (figura 5), além de 13 duplas ligações na sua estrutura (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020). Geralmente é encontrada na natureza

na forma esterificada com uma ou duas moléculas de ácidos graxos (CEZARE-GOMES et al., 2019), devido a maior solubilidade e maior estabilidade a oxidação (UDAYAN; ARUMUGAM; PANDEY, 2017).

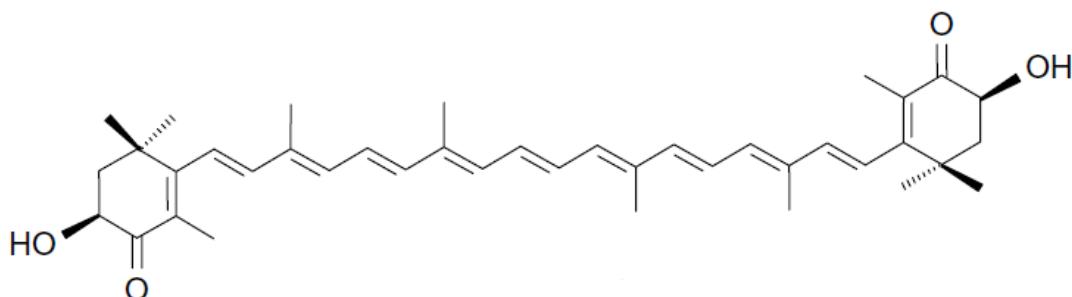


Figura 5: estrutura da astaxantina, adaptado de (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016)

A astaxantina possui em sua estrutura dois carbonos assimétricos, resultando em diferentes isômeros: o 3S, 3'S que é amplamente distribuído na natureza (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020) e predominante na microalga *Haematococcus pluvialis* (CEZARE-GOMES et al., 2019) enquanto o isômero 3R, 3'R é de ocorrência mais rara na natureza, sendo o isômero principal encontrado nos crustáceos do ártico da espécie *Euphausia superba* (FOSS; RENSTRØM; LIAAEN-JENSEN, 1987) e na levedura *Phaffia rhodozyma* (ANDREWES; STARR, 1976).

A principal propriedade bioativa da astaxantina é sua forte capacidade antioxidante, reconhecidamente superior à do β-caroteno e da vitamina E (CEZARE-GOMES et al., 2019). Alguns autores chegam a afirmar que as propriedades antioxidantes da astaxantina são 65 vezes mais potentes que a vitamina C e 50 vezes maior que a da vitamina E no tocante a proteção de membranas celulares (EKPE; INAKU; EKPE, 2018).

Um dos fatores-chave que leva a astaxantina promover tantos benefícios à saúde é a sua interação com membranas lipídicas (SNELL; CARBERRY, 2022), pois a presença de grupamentos polares como a cetona e hidroxila nas suas extremidades permite que a molécula encoste na bicamada lipídica (DAVINELLI; NIELSEN; SCAPAGNINI, 2018), estabilizando-a, diminuindo sua fluidez e agindo como antioxidante (PARK et al., 2010) neutralizando oxigênio tipo singlete e interrompendo a cadeia de propagação na formação de radicais livres (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

Esta capacidade é particularmente importante para células reconhecidas por ser especialmente susceptíveis a danos na membrana celular por estresse oxidativo, como, por exemplo, células imunes que apresentam altas porcentagens de ácidos graxos poli-insaturados na sua membrana plasmática e são reconhecidas pela alta capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio pode estar associado com as propriedades imunomoduladoras da astaxantina (PARK et al., 2010).

Diversas pesquisas demonstraram os numerosos benefícios do consumo de produtos contendo astaxantina, como: efeito imunomodulador (PARK et al., 2010), ação protetiva contra o câncer, com reconhecida inibição do crescimento de tumores de mama em camundongos (CHEW et. al. 1999) e contra hiperplasia e câncer prostáticos pela inibição da enzima 5-α-redutase (SATHASIVAM; KI, 2018). A astaxantina também foi capaz de reduzir a carga bacteriana e inflamação gástrica em camundongos colonizados por

Helicobacter pylori (BENNEDSEN et al., 2000), proteger contra estresse oxidativo induzido por radiação UVA (O'CONNOR; O'BRIEN, 1998), despenhar ação protetora sobre o cérebro, retina e medula espinal (CEZARE-GOMES et al., 2019), proteger contra degeneração macular relacionada ao envelhecimento (EKPE; INAKU; EKPE, 2018), abrandar os efeitos da diabetes em ratos (OTTON et al., 2010), prevenir o desenvolvimento de fibrose hepática, inibir a oxidação do LDL (MONROY-RUIZ et al., 2011), além de reduzir a pressão arterial em ratos hipertensos por mecanismos relacionados ao óxido nítrico e ao sistema renina angiotensina (SATHASIVAM; KI, 2018). Entretanto, diferentemente do β-caroteno, a astaxantina não possui capacidade de agir como pró-vitamina A (AMBATI et al., 2014).

A ANVISA já permite a produção de suplementos de astaxantina para adultos não gestantes e lactantes, com um limite diário máximo recomendado de 6 mg (ANVISA, 2018a), aceitando também a alegação funcional da sua “ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres” (BRASIL, 2019).

Na área cosmética, o emprego da astaxantina se mostra promissor, principalmente focado em produtos para proteção solar e antienvelhecimento para a pele. A exposição da pele a radiação solar sem qualquer tipo de proteção causa queimaduras e desencadeia processos de envelhecimento, foto-oxidação (GUERIN; HUNTLEY; OLAIZOLA, 2003) além de inflamação. Acredita-se que a astaxantina possa contribuir como componente de uma formulação de protetor solar por três principais mecanismos: a absorção de radiação UV, a neutralização da formação de radicais livres formados pela incidência do ultravioleta e a inibição de metaloproteinases da matriz, que são entendidas como agentes que participam do envelhecimento e do dano que a radiação solar inflige a pele (EKPE; INAKU; EKPE, 2018). Estudos também indicaram que a astaxantina pode prevenir o espessamento da pele e diminuir a perda de colágeno quando há dano à pele causado por radiação UV (HONDA, 2020).

A principal fonte de obtenção industrial é a síntese orgânica tradicional, que obtém uma mistura racêmica dos isômeros (3S, 3'S), (3R, 3'S), (3R, 3'R) na proporção 1:2:1 (CEZARE-GOMES et al., 2019) a um custo bem inferior do produto obtido naturalmente. A síntese orgânica é particularmente interessante para produtos de menor valor agregado e uso não humano, sendo que alguns autores levantam preocupações quanto a ação dos isômeros quirais e o maior risco da presença de intermediários ou subprodutos da rota de síntese (DAVINELLI; NIELSEN; SCAPAGNINI, 2018). Os produtos de maior qualidade tendem a utilizar astaxantina de origem natural, como as obtidas de microalgas.

Dentre as diferentes espécies de microalgas conhecidas, a fonte mais importante de astaxantina é da espécie *Haematococcus pluvialis* que acumula aproximadamente 3% da sua biomassa seca da molécula (CEZARE-GOMES et al., 2019), sendo inclusive aceita como fonte de ésteres de astaxantina pela Instrução Normativa nº 28 de 2018 (BRASIL, 2018a). Outras microalgas como *Chlorella zofingiensis* e *Chlorococcum sp.* também contém o pigmento, mas em menor quantidade (GUERIN; HUNTLEY; OLAIZOLA, 2003).

2.1.2.2. Cantaxantina

É uma xantofila de fórmula molecular C₄₀H₅₂O₂, representada na figura 6, com coloração avermelho escura, com uma estrutura muito semelhante a astaxantina, mas com

a presença de hidrogênios no lugar das hidroxilas que estão presentes nos anéis terminais β -ionona.

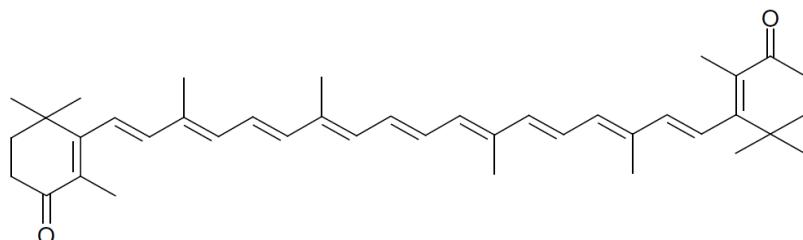


Figura 6: estrutura da cantaxantina (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020)

A sua coloração é consequência dos cromóforos formados pelas duplas insaturações conjugadas, formando uma molécula capaz de absorver luz no espectro visível com comprimento de onda próximo a 470 nm (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007). Isto confere a molécula uma propriedade corante, cuja utilização é permitida na indústria de alimentos, medicamentos e cosméticos (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020). O uso como corante de alimentos e bebidas é permitido nos EUA foi liberado há décadas no Brasil (BRASIL, 1977).

A cantaxantina pode ser naturalmente encontrada em fungos, microalgas, plantas e bactérias (ESATBEYOGLU; RIMBACH, 2016), sendo inicialmente identificada e descrita nos cogumelos da espécie *Cantharellus cinnabarinus* (HAXO, 1950).

É considerada, juntamente a astaxantina, um carotenoide secundário com grande capacidade antioxidante (CEZARE-GOMES et al., 2019), a qual é atribuída, por alguns autores, a presença do grupamento cetona conjugado com o esqueleto carbônico poliênico. A cantaxantina se mostra capaz de combater radicais livres tipo peroxinitrito (RODRIGUES; MARIUTTI; MERCADANTE, 2012), espécies reativas de oxigênio e extinguir oxigênio tipo singlete (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

Dentre os benefícios à saúde atribuídos ao consumo do carotenoide, pode-se citar a queda da peroxidação lipídica e aumento da atividade da enzima glutationa peroxidase e superóxido dismutase em ratos com dieta rica em gordura e colesterol (SHIH et al., 2007), além do aumento da atividade da catalase e superóxido dismutase em camundongos suplementados com cantaxantina. A diminuição da oxidação de LDL e colesterol também foram verificadas *in vitro*, e se mostram promissoras para evitar o desenvolvimento de outras doenças cardiovasculares (ESATBEYOGLU; RIMBACH, 2016). Ademais, foram descritas propriedades imunomoduladoras no modelo animal e protetivas contra o desenvolvimento de câncer de cólon em ratos (TANAKA et al., 1995), potencialmente associada com a capacidade da cantaxantina induzir a proliferação de *Gap-junctions* (ESATBEYOGLU; RIMBACH, 2016).

Uma das características da cantaxantina é sua capacidade de corar a pele humana devido a depósitos na epiderme e região subcutânea. Esta propriedade permitiu o uso da molécula para intervenções em diversos tratamentos dermatológicos, como, por exemplo, para vitiligo. Entretanto, o consumo diário de cantaxantina pode apresentar efeitos adversos, de forma que seu uso para corar a pele ainda não foi aprovado pela agência regulatória americana (PANGESTUTI et al., 2020).

Dentre as diversas microalgas produtoras de cantaxantina, destaca-se *Chlorella emersonii*, *Scenedesmus komarekii*, e principalmente *Chlorella zofingiensis*, que em certas condições, pode biossintetizar astaxantina e a cantaxantina simultaneamente (CEZARE-GOMES et al., 2019).

2.1.2.3. Violaxantina

É uma xantofila de fórmula molecular C₄₀H₅₆O₄, representada na figura 7, de coloração alaranjada, com 9 duplas insaturações conjugadas, um grupamento epóxido em cada um dos seus anéis terminais e que absorve radiação do espetro visível em um comprimento de onda próximo aos 442 nm (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007).

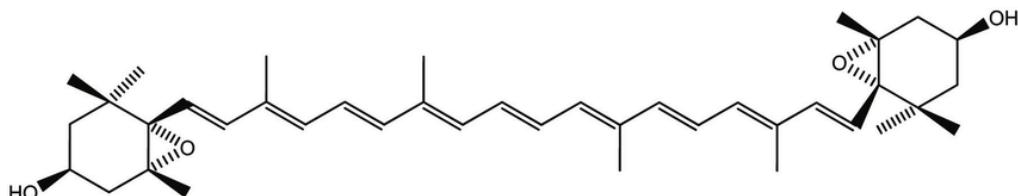


Figura 7: estrutura da violaxantina adaptado de (SHAHIDI et al., 2019)

A molécula foi isolada por Kuhn e Winterstein da planta *Viola tricolor* (KARRER; HELFENSTEIN, 1932). Sua principal função biológica é a fotoproteção do sistema fotossintético contra os danos causados pelo excesso de incidência luminosa, pois a conversão de violaxantina em zeaxantina está intrinsecamente relacionada a dissipação do excesso de energia por calor, também chamada de “non-photochemical quenching” (AVENSON et al., 2008). Essa conversão é reversível e se dá pela ação da enzima violaxantina de-epoxidase (ESKLING; ARVIDSSON; AKERLUND, 1997).

Sua coloração alaranjada permite com que a violaxantina possa ser utilizada como um corante, tendo sido permitido para o uso em bebidas e alimentos no Brasil há décadas (BRASIL 1977; BRASIL 1988).

No tocante a propriedades bioativas, foram descritos efeitos anti-inflamatórios por testes *in vitro*, por meio da diminuição dos níveis de óxido nítrico e prostaglandina E₂. Os pesquisadores sugerem que este efeito anti-inflamatório é baseado na inibição da via de sinalização de NF-κB, sendo promissor para o tratamento de doenças inflamatórias (SOONTORNCHAIBOON; JOO; KIM, 2012). Foi observado que a violaxantina também inibe a proliferação de células de câncer de mama MS-7 induzindo alterações bioquímicas típicas de apoptose (PASQUET et al., 2011) e parece ter correlação negativa com a proliferação de células de câncer de cólon (CASTRO-PUYANA et al., 2017). Também foi descrita capacidade moderada de inibição da glicoproteína-P, associada a resistência a múltiplas drogas no tratamento de tumores (WANG et al., 2010).

A violaxantina também é um componente interessante para dermocosméticos, principalmente protetores solares, pois a molécula apresenta propriedades fotoprotetoras contra os efeitos da radiação UVB em fibroblastos humanos, evitando a perda da viabilidade celular e a produção elevada de espécies reativas de oxigênio (KIM et al., 2018).

São exemplos de microalgas produtoras de violaxantina: *Chlorella ellipsoidea* (SOONTORNCHAIBOON; JOO; KIM, 2012); *Dunaliella tertiolecta* (PASQUET et al., 2011) e *Nannochloropsis sp.* como *N. gaditana* (RYCKEBOSCH et al., 2014).

2.1.2.4. Fucoxantina

É uma xantofila de fórmula molecular $C_{42}H_{58}O_6$, representada na figura 8, com estrutura bastante peculiar, caracterizada pela presença de um grupamento semelhante a um aleno e um grupo epóxido (MIYASHITA et al., 2011). Este pigmento também possui coloração intensamente alaranjada e sua absorção máxima no espectro visível se dá no comprimento de onda de 447 nm (MEDINA PEREZ et al., 2019).

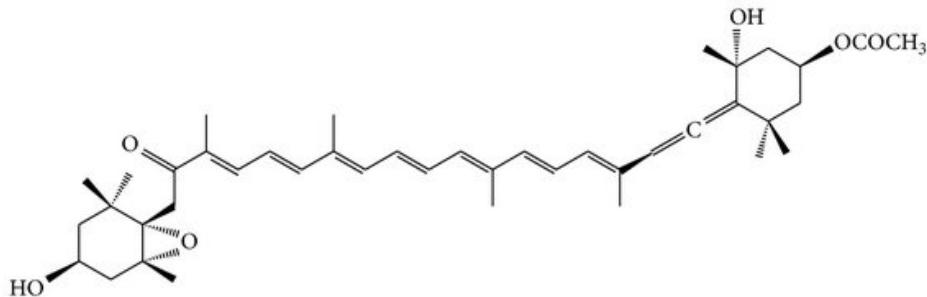


Figura 8: estrutura da fucoxantina, adaptada de ZHANG et al., 2015

A fucoxantina foi inicialmente isolada em 1914 nas algas pardas das espécies *Dictyota sp.*, *Fucus sp.* e *Laminaria sp.* (WILLSTÄTTER; PAGE, 1914). É um pigmento de alto valor agregado, próximo a 11 euros por mg (NUNES et al., 2019), apesar de ser um dos carotenoides mais abundantes da natureza, abrangendo 10% do total encontrado na natureza (MIYASHITA; HOSOKAWA, 2017).

Sua função biológica está associada ao processo de fotossíntese, auxiliando na captação de luz e transferência de energia (KIM et al., 2012). Além disso, a ela é atribuída parte de mecanismos antioxidantes e fotoprotetivos em algas (JEEVANANDAM et al., 2020).

Já foram descritas numerosas propriedades bioativas da fucoxantina, tais quais capacidade antioxidante, efeito citoprotetor, anti-inflamatório, antidiabético, antibesidade e anticâncer (LOURENÇO-LOPES et al., 2021).

A capacidade antioxidante já foi descrita em diversos estudos *in vitro*, como os níveis reduzidos de fragmentação de DNA, espécies reativas de oxigênio em células de rim expostas a H₂O₂ (HEO et al., 2008); baixo dano celular, produção de EROs e níveis de glutationa aumentados em hepatócitos linhagem BNL CL2 expostos a triacetato nitrílico férrico (LIU; LIANG; HU, 2011) e de fibroblastos irradiados com UV-B, que foram protegidos, com a adição da fucoxantina, de dano oxidativo mensurado pelos níveis de EROs e de fragmentação no DNA (HEO; JEON, 2009). Esta proteção aparenta também ser mediada pelo aumento da expressão do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), mecanismo que está envolvido com a proteção antioxidante (LOURENÇO-LOPES et al., 2021).

Diversos outros efeitos foram descritos como a proteção contra o desenvolvimento de câncer de diversas linhagens diferentes, apresentando efeitos antiangiogênicos, uma inibição da proliferação celular, além da indução de processos apoptóticos, sendo que a ação da fucoxantina pode ser dar em diferentes vias de sinalização, incluindo proteína Bcl-2, MAPK, NFkB, Caspases e GADD45 (KUMAR; HOSOKAWA; MIYASHITA, 2013).

Ademais, os efeitos anti-inflamatórios da molécula foram descritos ao inibir a produção de NO pela inibição da enzima óxido nítrico sintase. Foram observadas também

a inibição da ciclo-oxigenase 2, diminuição dos níveis de TNF- α e interleucinas 1b e 6 (LOURENÇO-LOPES et al., 2021).

Pesquisadores demonstraram efeitos antidiabéticos da fucoxantina pela regulação no nível de glicose e insulina no sangue pela promoção do receptor adrenérgico $\beta 3$ e do GLUT4, com supressão da expressão da proteína quimiotática de monócitos, a MCP-1 (WANG et al., 2018). A propriedade antibesidade da molécula foi publicada em estudo que comprovou aumento da indução da proteína desacopladora 1 (UCP1) em tecido adiposo branco, aumentando a termogênese e o gasto energético (MAEDA et al., 2005).

A proteção que a fucoxantina pode proporcionar à pele pode torná-la interessante para a aplicação em dermocosméticos. Foi constatado que a molécula tem propriedades protetoras da pele, principalmente dos danos causados por radiação UV, pois em modelos *in vivo* demonstrou-se capaz de aumentar a expressão de filagrina, que ajuda na formação da barreira cutânea (MATSUI et al., 2016).

A mais tradicional fonte natural de obtenção da fucoxantina são macroalgas, com destaque a da espécie *Undaria pinnatifida*, cuja fração lipídica contém aproximadamente 9,6% da molécula (MAEDA et al., 2008). A obtenção a partir de microalgas ainda é incipiente, mas aparenta ser muito promissora uma vez que a espécie *Phaeodactylum tricornutum* possui concentração de fucoxantina pelo menos 10 vezes maior que outras macroalgas (KIM et al., 2012) e pode ser obtida com o uso de fotobiorreatores em condições otimizadas, controladas, limpas e disponíveis de forma perene (LOURENÇO-LOPES et al., 2021).

2.1.2.5. Luteína

É uma molécula classificada como xantofila também chamada de β,ϵ -caroteno-3,3'-diol, de fórmula molecular $C_{40}H_{56}O_2$, representada na figura 9, com apenas 10 duplas insaturações conjugadas na sua estrutura, o que lhe confere coloração mais amarelada (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020). Seu pico máximo de absorção de luz no espectro visível é em comprimento de onda próximo a 445 nm (YUHAS et al., 2011).

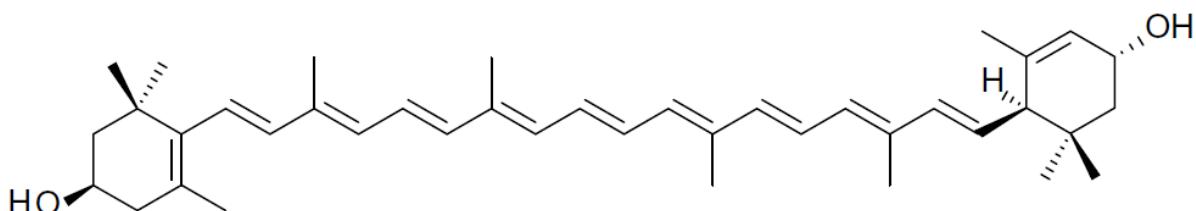


Figura 9: estrutura da luteína (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020)

Sua caracterização ocorreu em meados do século XIX, período em que diversos grupos de pesquisa buscavam estudar pigmentos presentes em animais e plantas. Ao mesmo tempo que pesquisadores na Itália estudavam os pigmentos presentes em corpos lúteos, na Inglaterra Johann Ludwig Thudichum também conduziu estudos relacionados a pigmentos amarelos encontrados em animais e plantas, sendo creditado a ele, em seu trabalho publicado em 1869, a identificação do pigmento como pertencente a uma nova classe química (SOURKES, 2009), nomeando-o de luteína (WILLIAMS; DAVIES; COUCH, 1963).

A função da molécula nos vegetais está associada ao processo de fotossíntese, constituindo componentes essenciais para absorção de fótons e transferência de energia para as clorofitas (OTHMAN; MOHD ZAIFUDDIN; HASSAN, 2014). Outra função muito importante despenhada pela luteína é a proteção contra danos oxidativos causados por EROs, as vezes fotoinduzidos (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004).

A característica cor amarelada da luteína faz com que o pigmento seja usado como corante alimentício em diversas partes do mundo, tendo sido inclusive aprovado pela comissão europeia (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020). Seu uso no Brasil como corante em alimentos e bebidas é permitido há décadas (BRASIL, 1977).

Dentre as propriedades atribuídas à luteína, destaca-se a capacidade antioxidante que foi observada em testes *in vitro* e *in vivo*. A luteína apresenta capacidade de extinguir radicais do tipo superóxido e a peroxidação lipídica *in vitro*. A administração por via oral provou-se capaz de inibir a geração de superóxido em macrófagos em até 70%, além de aumentar, em camundongos, a atividade de enzimas como catalase e superóxido dismutase no sangue (SINDHU; PREETHI; KUTTAN, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aceita a alegação funcional que “A luteína tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres” (BRASIL, 2019) e permite a formulação de suplementos contendo a molécula, recomendando uma dose diária máxima de 20 mg (BRASIL, 2018a).

Também foram descritas diversas propriedades bioativas para a referida molécula, com destaque a sua ação protetiva sobre a visão. A luteína é uma das moléculas encontradas em maior concentração na mácula lútea, região localizada na porção central e posterior da retina, contendo grande número de fotorreceptores e sendo responsável pela visão central e acuidade visual. Acredita-se que a luteína age como fator protetor da mácula lútea, na prevenção da degeneração macular relacionada à idade devido a dois principais mecanismos: a forte absorção de luz visível no comprimento de 445 nm (figura 10), faixa de energia mais intensa associada ao azul, funcionando como “filtro” foto protetivo, e por fim, o efeito antioxidante intrínseco a molécula, levando a uma diminuição da geração de EROs e da peroxidação lipídica numa região rica em ácidos graxos poli-insaturados. Esta proteção antioxidante também é responsável pela proteção do cristalino contra EROs, uma das causas associadas ao desenvolvimento de catarata (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004).

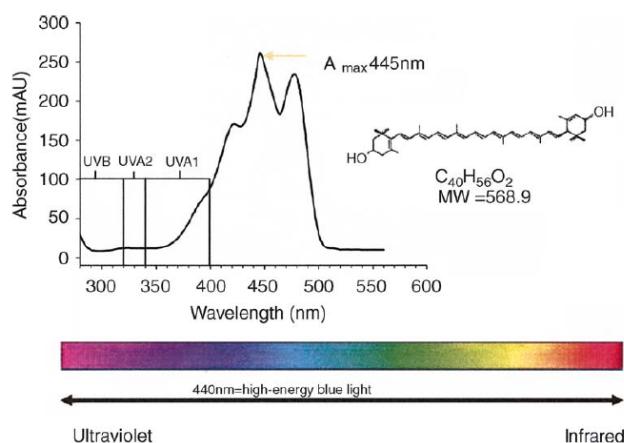


Figura 10: espectro de absorção da luteína com destaque a seu pico próximo ao comprimento de onda de 445 nm, permitindo com que a molécula funcione como um agente fotoprotetor filtrando a luz azul de maior energia (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004).

A luteína também possui propriedades antimutagênicas e antiproliferativas, além de vários estudos epidemiológicos correlacionarem inversamente o consumo de luteína e zeaxantina com o desenvolvimento de diversos tipos de câncer de mama, pulmão, ovário, colón retal, esôfago, demonstrando o potencial papel das moléculas na quimioprevenção do câncer (RIBAYA-MERCADO; BLUMBERG, 2004).

Também foi descrita a capacidade da luteína melhorar a resposta imunológica, diminuir o dano oxidativo da pele induzido por exposição ao UV e reduzir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (BHOSALE; BERNSTEIN, 2005).

A luteína comercialmente vendida é obtida, geralmente, de fontes vegetais como pétalas de flores do gênero *Tagetes*. As microalgas podem ser fontes mais vantajosas que plantas, pois apresentam taxa de crescimento 5 a 10 vezes maior, não ocupam terras aráveis e sua coleta não sofre com a sazonalidade (LIN; LEE; CHANG, 2015). São exemplos de microalgas produtoras de luteína *Chlorella protothecoides*, *Chlorella sorokiniana* (CORDERO et al., 2011) e *Scenedesmus almeriensis* (MOLINO et al., 2020).

2.1.2.6. Zeaxantina

É uma xantofila também chamada β,β -caroteno-3,3'-diol, representada na figura 11, um isômero da luteína pela posição de uma dupla insaturação (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020) de fórmula molecular $C_{40}H_{56}O_2$, com coloração amarelo alaranjado quando cristalizada (SAJILATA; SINGHAL; KAMAT, 2008), apresentando seu pico máximo de absorção de luz no espectro visível no comprimento de onda de 452 nm quando a acetona é empregada como solvente (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007). Esta coloração permite com que a molécula seja empregada como corante alimentício (TORREGROSA-CRESPO et al., 2018).

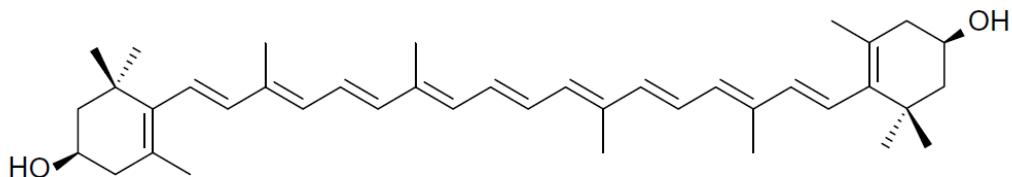


Figura 11: estrutura da zeaxantina (FARKAS; BENCSIK; DELI, 2020)

A primeira descrição da zeaxantina foi feita em um artigo publicado em 1929 por pesquisadores que estudaram, isolaram e caracterizaram pigmentos extraídos do milho (KARRER; SALOMON; WEHRLI, 1929).

Sua função biológica está associada ao ciclo das xantofilas, no qual a violaxantina é convertida reversivelmente em zeaxantina para dissipar o excesso de energia oriundo da incidência luminosa, evitando danos no aparelho fotossintético (AVENSON et al., 2008). Suas propriedades antioxidantes também propiciam a proteção do organismo contra danos associados ao estresse oxidativo (BOUYAHYA et al., 2021).

As reconhecidas propriedades antioxidantes da zeaxantina levaram a Agência Nacional de Vigilância Sanitária autorizar a formulação de suplementos contendo zeaxantina, com dose diária máxima recomendada de 3 mg. A alegação funcional relativa à proteção antioxidante da molécula também é aceita pela agência (BRASIL, 2019).

Dentre os principais benefícios à saúde relacionados ao consumo da zeaxantina, é possível frisar o risco reduzido do desenvolvimento da degeneração macular e de catarata relacionados à idade (JIA et al., 2017). Diversos estudos buscaram também determinar o efeito da ingestão de luteína e zeaxantina sobre diferentes tipos de câncer. Apesar que em alguns casos houve resultados divergentes, de forma geral a referida mistura de xantofilas parece agir como fator protetivo contra o desenvolvimento de algumas formas de câncer (RIBAYA-MERCADO; BLUMBERG, 2004).

Uma tendência de mercado em valorizar a zeaxantina de origem natural parece estar se intensificando, principalmente pela busca de materiais com maior atividade e qualidade. As microalgas se mostram uma alternativa interessante, pois não são extraídas de alimentos, não ocupam terras aráveis e não dependem de sazonalidade. As espécies *Chlorella ellipsoidea* e *Porphyridium cruentum* (CEZARE-GOMES et al., 2019) são destaques para a produção de zeaxantina.

2.2. Vitaminas

2.2.1. Vitamina A

Também chamada de retinol, é uma vitamina lipossolúvel descrita e nomeada há mais de 100 anos, com fórmula molecular $C_{20}H_{30}O$, representada na figura 12. Sua estrutura é de um álcool primário com anel β -ionona na outra extremidade da cadeia carbônica central poli-insaturada. A estrutura da cadeia central permite que exista isomeria geométrica sendo que a forma com disposição totalmente trans é considerada a verdadeira vitamina A (BLANER, 2015; DE BITENCOURT, 2013).

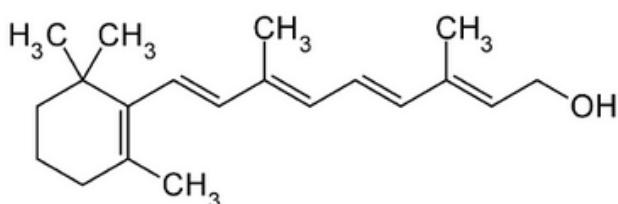


Figura 12: estrutura do retinol (HUBBE et al., 2019).

Sua importância biológica está associada na manutenção da visão, da imunidade, do crescimento, do desenvolvimento e da reprodução masculina e feminina. A deficiência de vitamina A está associada a xeroftalmia, anemia, propensão a quadros infecciosos graves, pouco crescimento e até mesmo, em casos extremos, óbito (WEST, 2015).

O papel biológico do retinol para a visão está associado ao ciclo visual, que ocorre nos fotorreceptores da retina (DE BITENCOURT, 2013). A proteína rodopsina, que é ancorada à membrana das células, é composta por um cromóforo de 11-cis retinal associado a proteína opsina por uma base de Shiff que se encontra protonada (RANDO, 2001). Ao ser exposto a luz, o cromóforo isomeriza de cis para trans passando por diversos intermediários instáveis, com destaque da transformação da metarodopsina I em metarodopsina II, desencadeando a ativação de uma cascata de tradução de sinal associada à resposta visual (MATTHEWS, 1963; RANDO, 2001). Por fim, há uma hidrólise separando a opsina do trans-retinaldeído, que é reduzido a trans retinol. O ciclo visual se

completa quando o cromóforo é isomerizado para forma cis, oxidado e ligado a opsina, formando novamente a rodopsina (BLANER, 2015).

Os outros papéis biológicos da vitamina A, relacionados a imunidade, crescimento, desenvolvimento e reprodução estão associados a capacidade do ácido retinóico, um metabólito do retinol, agir como regulador de transcrição, por meio dos receptores de ácido retinóico e receptores dos retinóides X tipo α, β e γ, atuando sobre mais de 500 genes responsivos a vitamina A (BLANER, 2015).

As aplicações da molécula na área farmacêutica são bastante abrangentes, sendo utilizados em suplementos autorizados por diversas agências regulatórias no mundo (BRASIL, 2018a), em alimentos e cosméticos.

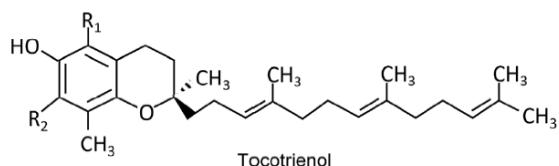
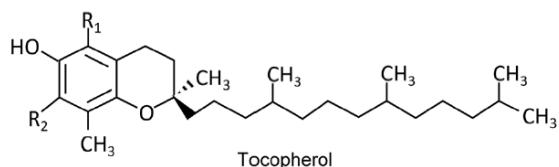
Diversos alimentos fonte de vitamina A têm origem animal, como fígado, queijo, ovos e peixes (BLANER, 2015). Microrganismos fotossintetizantes podem ser consumidos juntamente a outros vegetais fontes de retinol, com a vantagem de não ocuparem terra arável. Um exemplo é a cianobactéria da espécie *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) considerada segura para consumo inclusive pelo FDA (GOHARA-BEIRIGO et al., 2022), mostrando-se uma alternativa viável para incorporação em alimentos funcionais, vantajosos também em países com insegurança alimentar, combatendo a deficiência de vitamina A.

O retinol também se sobressai devido as aplicações na área cosmética, pois é uma das moléculas que mais retarda o envelhecimento da pele, sendo inclusive liberado pelo FDA como agente com ação antirrugas (ZASADA; BUDZISZ, 2019).

Os microrganismos fotossintetizantes se mostram uma fonte interessante de vitamina A, com destaque para a *Arthrospira platensis*, muitas vezes chamada de “superalimento” (WANG et al., 2007), além das pertencentes aos gêneros *Tetraselmis* e *Chaetoceros*, com respectivamente 0,42 e 0,1 mg de retinol por grama de massa úmida, valor consideravelmente maior que o encontrado na laranja e cenoura (DEL MONDO et al., 2020).

2.2.2. Vitamina E

São um conjunto de moléculas lipofílicas, de ocorrência natural, composto por quatro tocoferóis e quatro trienóis, todos contendo um anel cromanol, variando entre si pelos substituintes do anel, conforme representado na figura 13. Os tocoferóis possuem na posição 2 do anel um radical fitano saturado enquanto os tocotrienóis têm uma cadeia isoprenólica com três duplas insaturações no mesmo local (NIKI; ABE, 2019). Dentre elas, a molécula mais potente quanto ao potencial antioxidante e atividade biológica é o α-tocoferol, de fórmula molecular C₂₉H₅₀O₂ (TRABER; BRUNO, 2020).



	α	β	γ	δ
R ₁	CH ₃	CH ₃	H	H
R ₂	CH ₃	H	CH ₃	H

Figura 13: estrutura das moléculas de vitamina E (NIKI; ABE, 2019).

Sua principal função biológica é a atividade antioxidante exercida principalmente sobre ácidos graxos poli-insaturados, devido à lipofilicidade da molécula. O seu mecanismo antioxidante consiste na interrupção da reação em cadeia envolvida na peroxidação lipídica, principalmente na extinção de radicais peroxil, protegendo membranas e lipoproteínas. Outra propriedade notável é a capacidade de prevenção a ferroptose, que é uma forma de morte programada não apoptótica e independente de caspases, induzida por peroxidação lipídica principalmente nas membranas mitocondriais, induzindo distúrbios na homeostase bioenergética (TRABER; BRUNO, 2020).

A deficiência de vitamina E está associada com problemas neurológicos como ataxia e hemólise devido à fragilidade da membrana dos eritrócitos, podendo causar anemia (NIKI; TRABER, 2012). A suplementação de vitamina E em humanos se mostrou inversamente relacionadas a defeitos de formação do tubo neural e a ocorrência de abortos espontâneos (TRABER; BRUNO, 2020), demonstrando assim a importância do seu consumo durante a gravidez. A formulação de suplementos contendo vitamina E é permitida pela Anvisa para gestantes, lactantes e indivíduos com idade superior a um ano de idade (BRASIL, 2018a).

Ademais, acredita-se que o consumo da vitamina E atue como um fator protetivo contra doenças cardiovasculares ao diminuir a peroxidação lipídica e modular processos inflamatórios, importante em doenças como a aterosclerose (MATHUR et al., 2015).

A utilização de microrganismos fotossintetizantes como alimento funcional com o objetivo de combater possíveis deficiências da vitamina E pode ser promissor, com destaque a *Arthrospira platensis*, que chega a produzir até $3,4 \cdot 10^3$ mg de α-tocoferol por quilograma de biomassa (WANG et al., 2007). A produção em *Dunaliella sp.*, mesma que produz β-caroteno, é de 123,4 mg, maior inclusive do que o encontrado no óleo de soja (GOHARA-BEIRIGO et al., 2022).

Ainda na área de alimentos, os tocoferóis podem ser utilizados como aditivos para preservação da qualidade do produto (KIM et al., 2008), já sendo permitido pela Anvisa como antioxidante (BRASIL, 2018b).

Sua aplicação também é interessante na área cosmética, pois pesquisadores já associaram os tocoferóis com a diminuição do eritema e edema causados pela radiação UV, além de se mostrar um agente antienvelhecimento, diminuindo a formação de rugas e tumores na pele (LUPO, 2001).

Devido à presença de três centros quirais no tocoferol, de maneira que a síntese orgânica leva a formação de uma mistura racêmica de diversos isômeros, diferentemente, os vegetais sintetizam o isômero com a quiralidade RRR, sendo que as principais fontes naturais dos tocoferóis pertencem ao reino vegetal (TRABER; BRUNO, 2020). Já foram descritas microalgas capazes de biossintetizar fotossinteticamente apenas o isômero RRR, como a *Stichococcus bacillaris* cepa siva2011 (SIVAKUMAR; JEONG; LAY, 2014).

As microalgas são uma alternativa de fonte natural que não utiliza terras aráveis. Além das espécies já mencionadas, podemos citar os gêneros *Tetraselmis*, *Nannochloropsis* e *Chaetoceros*, capazes de produzir até 6,32 mg, 4,72 mg e 1,63 mg de tocoferóis por grama de massa seca (DEL MONDO et al., 2020).

2.2.3. Vitamina K

A vitamina K é encontrada na natureza em, pelo menos, duas formas diferentes, K₁ e K₂, tendo em comum a presença da 2-metil-1,4-naftoquinona em sua estrutura e variando apenas os substituintes na posição 3' (FERLAND, 2020). Na vitamina K₁, também chamada de filoquinona (KLACK; CARVALHO, 2006), há a presença de um substituinte fitano na posição 3' e a vitamina K₂, chamada de menaquinona, é caracterizada pela presença de polímeros de isopreno de comprimento variável, contendo normalmente 6 a 10 unidades isopreno, apesar de existirem moléculas com até 13 unidades (FERLAND, 2020) como pode ser observado na figura 14. A vitamina K também existe na forma K₃ e K₄, entretanto elas são formas sintéticas, não ocorrendo de forma natural (MLADĚNKA et al., 2021).

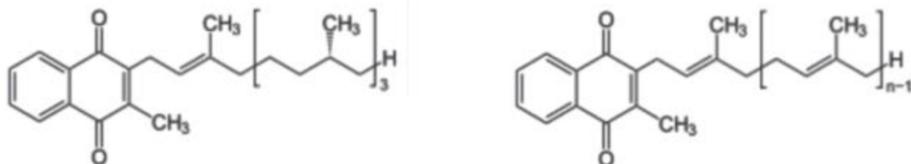


Figura 14: estrutura das vitaminas K₁ à esquerda e K₂ à direita, adaptada de (AZUMA; INOUE, 2019)

Esta vitamina foi descoberta em 1929 pelo pesquisador Henrik Dam ao associá-la com suas propriedades anti-hemorrágicas. A classificação como vitamina K foi feita em 1935 com a escolha da letra oriunda de “*Koagulation*” em dinamarquês (EL ASMAR; NAOUM; ARBID, 2014). A principal função biológica da molécula é agir como um cofator para que os resíduos do ácido glutâmico sejam carboxilados e formem o ácido γ -carboxiglutâmico, aminoácido necessário na síntese dos fatores II, VII, IX e X associados ao fenômeno de coagulação sanguínea (KLACK; CARVALHO, 2006). O referido aminoácido também está associado a osteocalcina, proteína que modula a mineralização da matriz extracelular óssea, e a periostina, uma glicoproteína que participa do crescimento e reparo de tecidos conjuntivos que sofreram danos (MLADĚNKA et al., 2021).

A suplementação em indivíduos com deficiência de vitamina K é muito importante para evitar hemorragias. A ANVISA permite a formulação de suplementos que contém a vitamina para os mais variados grupos populacionais (BRASIL, 2018a). Outro uso, agora na área cosmética, é a formulação de cremes para uso tópico visando ao desaparecimento da pigmentação associada a hematomas (LOPES; SPERETTA; BENTLEY, 2007).

Microrganismos fotossintetizantes podem ser fontes de vitamina K, principalmente filoquinona (K_1), com destaque a cianobactéria da espécie *Anabaena cylindrica*, capaz de produzir 200,25 µg/g de massa seca, seguida pela microalga *Tetraselmis suecica*, que acumula 28 µg/g. A vitamina K_2 teve presença reportada em algumas microalgas (DEL MONDO et al., 2020), mas ainda não quantificada de forma ampla.

3. Ácidos Graxos

Ácidos graxos podem ser definidos como moléculas contendo um grupamento carboxila e uma cadeia carbônica a qual, geralmente, contém de quatro a 28 carbonos, podendo ser saturada ou poli-insaturada (MOSS; SMITH; TAVERNIER, 2019).

Os ácidos graxos saturados não possuem duplas ligações, os monoinsaturados possuem apenas uma e os poli-insaturados tem duas ou mais duplas instaurações. Esta última categoria pode ser classificada quanto a posição da primeira dupla ligação a partir da extremidade metila, levando geralmente a denominação ω -3 ou ω -6 (SAINI; KEUM, 2018).

3.1. Ácidos Graxos Poli-insaturados

3.1.1. Ácido Docosaeaxenoico (DHA) e Ácido Eicosapentaenoico (EPA)

O DHA é um ácido graxo que possui fórmula molecular $C_{22}H_{32}O_2$ (figura 15), com seis duplas insaturações em sua cadeia carbônica, pertencendo a classe dos ω -3 e sendo referido sucintamente como C22:6 ω -3. O EPA é um ácido graxo de fórmula molecular $C_{20}H_{30}O_2$ (figura 15) com cinco duplas ligações, também pertencendo a classe dos ω -3. Apesar de não serem considerados essenciais no *stricto sensu* ao organismo humano, seu consumo por meio da alimentação é muito importante (SAINI; KEUM, 2018), pois a produção endógena é mínima (VON SCHACKY, 2021).

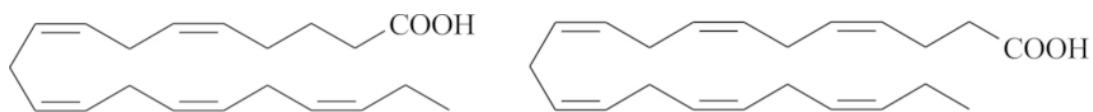


Figura 15: Estrutura do EPA à esquerda e do DHA à direita, adaptado de YI et al., 2014

Os benefícios à saúde proporcionados pelo consumo de DHA e EPA são bastante significativos, incluindo redução do risco de ocorrência de doenças cardiovasculares como pressão alta, arritmia e acidente vascular encefálico, participação na formação do sistema nervoso (GOHARA-BEIRIGO et al., 2022), atuação como agente anti-inflamatório, além de exercer proteção contra o desenvolvimento de câncer, osteoporose e diabetes (SAINI; KEUM, 2018).

Os ácidos graxos poli-insaturados são precursores muito importantes de metabólitos bioativos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas, maresinas e resolvinas. Os ácidos graxos ω -3 muito frequentemente são substratos para metabólitos de ação anti-inflamatória e benéficos a saúde, pela ação de enzimas como a LOX-5, LOX-15, COX-2 (GURR et al., 2016).

Por exemplo, o EPA pode ser metabolizado pela COX-2 formando a PGE₃, uma prostaglandina com ação antiarritmica, ou pela LOX-5 formando a LTB₅, de ação anti-inflamatória ou até mesmo formar resolvinas E₁ e E₂, de ação anti-inflamatória, que atuam principalmente no término de episódios agudos de inflamação (GURR et al., 2016).

Já o DHA é substrato para diversas enzimas, podendo ser convertido na protectina D₁, de ação neuroprotetora, pela ação da LOX-15; na maresina R₁, de ação anti-inflamatória, muito potente pela ação da LOX-12 e nas resolvinas D₁ a D₄, pela ação das enzimas LOX-15 e LOX-5 (DUVALL, 2016; GURR et al., 2016).

Os ácidos graxos poli-insaturados ω-3, principalmente o DHA e EPA, desempenham um importante papel no desenvolvimento e na homeostase do sistema nervoso. O DHA é um lipídeo fundamental para o processo de formação e funcionamento do sistema nervoso central e da retina, sendo considerado nutriente essencial durante a gravidez e no período de amamentação. O DHA é o ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa mais abundante no sistema nervoso central, periférico e da retina, presente em quantidades significativas nos fosfolipídeos da substância cinzenta do encéfalo, fazendo com que a molécula seja fundamental para neurogênese e sinaptogênese durante a gestação e primeiros anos de vida (ECHEVERRÍA et al., 2017). Ademais, o DHA possui uma forte ação neuroprotetiva, pois sua deficiência está fortemente correlacionada com atrofia das regiões do córtex e do hipocampo (KHALID et al., 2022). Um dos fatores protetivos associados ao DHA é um de seus metabólitos, a maresina R₁, também chamada de neuroprotectina, que se mostrou capaz de dificultar o avanço de doenças crônicas degenerativas, tais quais o Alzheimer, além de outros quadros clínicos associados a processos inflamatórios (SAITO-SASAKI; SAWADA; NAKAMURA, 2022).

Também é creditado ao consumo de EPA e DHA como um fator protetivo contra o desenvolvimento de diferentes tipos de câncer (VAUGHAN; HASSING; LEWANDOWSKI, 2013). Estudos demonstraram a capacidade do DHA inibir a proliferação e a invasão do câncer de mama, inclusive de forma mais eficiente que o EPA (RAHMAN et al., 2013). Adicionalmente, já foram descritas capacidade de induzir apoptose e inibir o crescimento de células tumorais *in vitro* e *in vivo*, além de aumentar a eficácia de quimioterapias ao aumentar a sensitividade de diferentes linhagens de células cancerosas aos medicamentos administrados (MOLOUDIZARGARI et al., 2018).

O consumo de ácidos graxos ω-3 está claramente associado a riscos reduzidos do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, tais quais hipertensão, arritmia, infarto do miocárdio e trombose (ADARME-VEGA et al., 2012). Por exemplo, o DHA e EPA podem gerar metabólitos como tromboxano A₃, antitrombótico (MASON, 2020; FISCHER, 1983), além de tromboxano B₃, vasodilatador e anticoagulante (GURR et al, 2016). Também já foi descrita a capacidade do EPA e DHA em diminuir os níveis séricos de triglicérides, cujos altos níveis já foram extensamente publicados como fator de risco para diversas doenças cardiovasculares (KLINGEL et al., 2019). Metabólitos de ácidos graxos também podem atenuar doenças cardiovasculares associadas a processos inflamatórios, como por exemplo a aterosclerose, por meio da síntese de numerosos metabólitos anti-inflamatórios (KLINGEL et al., 2019). Dos diferentes ácidos graxos ω-3 testados, estudos creditam ao EPA maior atividade bioativa cardioprotetora (TOTH, 2022; KHAN, 2021).

O referido perfil anti-inflamatório associado aos metabólitos dos ácidos graxos ω-3 também podem se mostrar eficazes, ou, pelo menos, promissores, no tratamento de outras doenças inflamatórias como, por exemplo, artrite reumatoide (NAVARINI et al., 2017). Em

modelo animal foi realizado em estudo com camundongos nos quais era induzida artrite por colágeno, sendo possível observar que uma dieta rica em DHA foi capaz de diminuir a inflamação e os danos nas articulações (OLSON et al., 2013).

Tendo em vista o grande número de benefícios à saúde proporcionados pelos ácidos graxos ω-3 e devido necessidade da sua obtenção pela alimentação, o mercado para produtos alimentícios e suplementos é bastante rico. A formulação de suplementos contendo EPA e DHA é permitida no Brasil, para gestantes, lactantes e maiores de 19 anos, com uma dose máxima diária de 2000 mg, sendo o DHA oriundo de atum ou das microalgas *Schizochytrium sp.*, *Ulkenia sp.* e *Cryptocodinium cohnii* (BRASIL, 2018a). A alegação funcional associada aos produtos é que o “consumo de ácidos graxos ômega 3 auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos...” (BRASIL, 2019).

As propriedades dos ácidos graxos ω-3 tornam eles matérias-primas interessantes para a área cosmética e cosmeceutica, como combate a processos inflamatórios que são associados ao fotoenvelhecimento, ação como fator protetivo contra câncer de pele fruto da exposição à radiação UV, diminuindo o estresse oxidativo e inflamação contínuos que podem induzir à carcinogênese (HUANG et al., 2018), além de integrar formulações para mitigar irritações na pele (BRUNT; BURGESS, 2017).

O tamanho do mercado para produtos contendo ω-3 é bastante amplo, havendo espaço para os que contêm matérias-primas originadas de microalgas, pois elas são uma alternativa mais sustentável comparada às matérias-primas obtidas pela pesca. Inclusive, produtos com ω-3 oriundo de microalgas são opção para o mercado vegetariano ou vegano. Ademais, tocante aos aspectos sensoriais, os produtos de origem microalgal, apesar da presença de compostos orgânicos voláteis (GOHARA-BEIRIGO et al., 2022), não apresentam o forte cheiro característico do óleo extraído de peixes, o que pode ser tornar vantagem para determinados consumidores. Por fim, o uso de microalgas diminui a preocupação de acúmulo de metais pesados nos lipídeos de peixes, que ocorrem por bioacumulação na cadeia alimentar (LEE et al., 2016)

O consumo de alimentos funcionais contendo microalgas ricas em ácidos graxos poli-insaturados também pode ser uma alternativa viável para indivíduos que buscam diminuir o consumo de produtos de origem animal ou também para situações de combate a insegurança alimentar.

Existem microalgas que sintetizam quantidades relevantes de EPA e DHA, como por exemplo as do gênero *Thraustochytrium sp.* o qual contém $8,76 \times 10^2$ mg de EPA a cada 100 g de massa seca e $1,35 \times 10^4$ mg de DHA a cada 100 g massa seca (SCOTT et al., 2011). Para efeito de comparação, segundo a literatura, espécies de salmão apresentam em média $1,4 \times 10^3$ mg da mistura de EPA + DHA por 100 g de massa úmida enquanto outros peixes como a enguia podem conter até 840 mg de mistura EPA + DHA por 100 g de massa úmida de peixe (SPRAGUE, 2020; BRANCIARI, 2020). Em termos de comparação de massa seca, um estudo com 12 espécies de peixe do Mar Negro determinou que a maior concentração de EPA + DHA foi de 750 mg por 100 g de massa seca em *Trachurus trachurus* (HUANG et al., 2012).

3.1.2. Ácido Alfa-linolênico (ALA)

O ácido α-linolênico, é um ácido carboxílico de fórmula molecular C₁₈H₃₀O₂, representado na figura 16, com 3 duplas insaturações entre átomos de carbono, sendo a

primeira delas presente no terceiro carbono da cadeia, classificando-a no grupo dos ω -3. A molécula é considerada essencial para o organismo humano, uma vez que não pode ser sintetizada pelo organismo, sendo necessário seu consumo por meio da alimentação (DELORGERIL; SALEN, 2004).

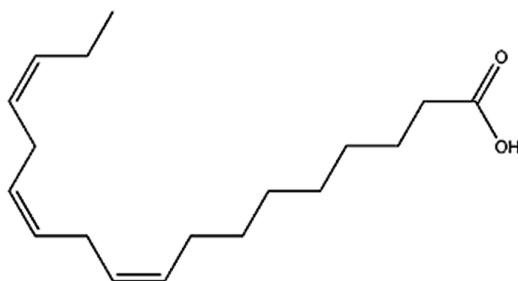


Figura 16: Estrutura do ALA (ISTIFLI et al., 2019)

Diversos pesquisadores descreveram propriedades antitumorais associadas ao emprego do ALA em modelo *in vitro* e *in vivo*. Células de câncer de mama, das linhagens MCF-7, BT-474, MDA-MB-231 e MDA-MB-468, quando expostas ao ácido graxo apresentaram diminuição de crescimento e indução de apoptose, o que torna a molécula uma candidata para complementar tratamentos (WIGGINS et al., 2015). Estudos *in vivo* em camundongos com câncer de mama da linhagem MCF-7 mostraram que a suplementação da dieta com óleo de linhaça, rico em ALA, diminuiu o tamanho dos tumores, a proliferação das células tumorais e aumentou a apoptose (TRUAN; CHEN; THOMPSON, 2010). Ademais, foram descritos efeitos antitumorais sobre células de câncer de cólon humanas, como das linhagens HT29 e HCT116 (CHAMBERLAND; MOON, 2014), além da inibição do crescimento de células de carcinoma gástrico das linhagens MGC e SGC (DAI et al., 2013).

Além dos efeitos antitumorais, pesquisadores demonstraram em modelo animal que a administração de ALA com cisplatina diminui os efeitos nefrotóxicos induzidos pelo medicamento (ISTIFLI et al., 2019).

Também foram reportadas propriedades cardioprotetoras do ALA principalmente na doença arterial coronariana e na manutenção da saúde do coração de forma geral, pois o ALA é inclusive um precursor dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa ω -3, como o DHA e o EPA (STARK; CRAWFORD; REIFEN, 2008).

A ANVISA permite a formulação de suplementos de ALA para grupos populacionais de 4 a 8 anos de idade, com uma dose diária recomendada de 0,135 g, e de 9 a 18 anos, com uma dose de 0,24 g, o que não é permitido com DHA e EPA atualmente (BRASIL, 2018a).

Já foram descritas microalgas produtoras de ALA, como, por exemplo, uma fração de alto valor agregado obtida do fracionamento dos lipídeos de *Chlorella sorokiniana* na produção de biodiesel (PARSAEIMEHR et al., 2015). Também foram obtidos resultados com *Chlorella pyrenoidosa* (KOKKILIGADDA; PANDEY; RONDA, 2017) e *Desmodesmus sp.* (SIJIL; SARADA; CHAUHAN, 2019), apresentando uma produtividade de até 15.9 mg L⁻¹ dia⁻¹ de ALA (NAGAPPAN; VERMA, 2018).

3.1.3. Ácido Linoleico (LA)

O LA é um ácido graxo que possui fórmula molecular C₁₈H₃₂O₂, reapresentado na figura 17, com duas duplas insaturações em sua cadeia carbônica, nas posições 9 e 12, pertencendo a classe dos ω-6 e referido sucintamente como C18:2 ω-6. É considerado essencial para o organismo humano, sendo necessário seu consumo por meio da alimentação.

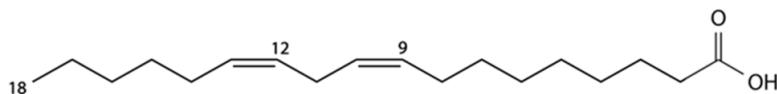


Figura 17: Estrutura do linoleico, adaptado de ISLAM; CHRISTOPHER; ALAM, 2020

Os ácidos graxos ω-6 são moléculas bioativas importantes no organismo humano, pois é a partir delas que são sintetizados lipídeos que participam dos processos de inflamação, vasoconstrição e agregação plaquetária (SAINI; KEUM, 2018), motivo pelo qual esta classe é considerada potencialmente pró-infamatória (MARANGONI et al., 2020). Exemplos de moléculas que mediam esta ação são biossintetizadas por meio da conversão do ácido araquidônico pela COX em tromboxano A₂, prostaglandina A₂, E₂ e I₂ e pela LOX em leucotrienos B₄, C₄ e E₄ (SAINI; KEUM, 2018).

Diversas pesquisas enfatizaram que o consumo de quantidades modestas de LA pode gerar benefícios à saúde, principalmente na redução do risco de incidência da doença arterial coronariana (MARANGONI et al., 2020). Apesar de essencial, seu excesso não é benéfico à saúde, pois estudos associaram o excesso de consumo do ácido graxo pode apresentar efeito indutor de inflamação e crescimento tumoral em animais. Assim, autores enfatizam que o consumo de LA deve ocorrer, entretanto em quantidades limitadas com valores ideais ainda não estabelecidos (JANDACEK, 2017).

A formulação de suplementos contendo LA é permitida pela Anvisa para um amplo grupo populacional, tais quais lactantes, gestantes, maiores de 19 anos, indivíduos entre 9 e 18 anos e até mesmo entre 4 a 8 anos de idade (BRASIL, 2018a).

A deficiência nutricional de LA pode levar a retardo no crescimento e aparecimento de lesões na pele, uma vez que é importante para a manutenção da integridade da barreira cutânea (WHELAN; FRITSCHÉ, 2013).

O LA pode ser encontrado em diferentes microrganismos fotossintetizantes, como *Spirulina sp.* (ÖTLEŞ; PIRE, 2001), *Chlorella sp.* e *Chlorococcum sp.* (SAHU et al., 2013), raramente excedendo 20% dos ácidos graxos detectados.

3.2. Outros Ácidos Graxos

Outros ácidos graxos encontrados em abundância nas microalgas incluem ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oleico, e ácidos totalmente saturados, sem a presença de duplas ligações, como o ácido palmítico.

O ácido palmítico, também denominado de ácido hexadecanóico, possui fórmula molecular C₁₆H₃₂O₂, representado na figura 18, e ponto de fusão à 62,5 °C (RÄHSE, 2020).

Seu nome deriva do óleo de palma, material a partir do qual foi isolado pelo pesquisador francês Edmond Frémy no ano de 1840 (HENDERSON; OSBORNE, 2000).

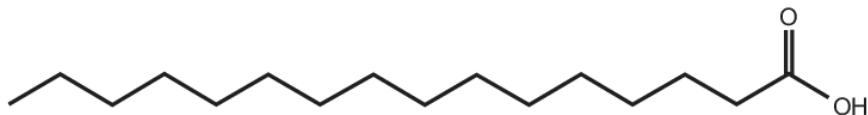


Figura 18: Estrutura do ácido palmítico, adaptado de SHAH; COX, 2009

Uma utilização farmacêutica importante para o material é na área cosmética, pois é um dos componentes da secreção sebácea da pele, a qual ajuda a fortificar o chamado manto ácido da pele (RÄHSE, 2020), associado a proteção natural contra microrganismos (SCHMID-WENDTNER; KORTING, 2007). Com o aumento da idade, a proporção de ácido palmítico secretado diminui, tornando interessante seu uso em cremes direcionados para um público de pele madura (RÄHSE, 2020).

Misturas de ácido esteárico com palmítico são as mais amplamente utilizadas na área cosmética, com ênfase no emprego em cremes. Inclusive a mistura de 40 % de ácido oleico com 50% de ácido palmítico pode integrar creme para as mãos e outros produtos com sensação leve e seca, com pouca maciez (IWATA; SHIMADA, 2013). Ademais, sais de ácido palmítico podem ser utilizados como agentes emulsificantes (BAKI; ALEXANDER, 2015) e podem integrar as formulações de sabões (IWATA; SHIMADA, 2013).

Do ponto de vista alimentar, o ácido palmítico é muito encontrado em alimentos que utilizam óleos vegetais e produtos de origem animal (SIKORSKI; KOLAKOWSKA, 2019). Inclusive, no estudo de diversas amostras de margarina, o ácido palmítico foi o ácido graxo dominante em todas elas (PĀDUREĀ, 2022).

O ácido oleico é um ácido graxo com a fórmula molecular C₁₈H₃₄O₂, representado na figura 19, que apresenta uma dupla ligação no nono carbono da cadeia, pertencendo ao grupo dos ω-9, muitas vezes sendo referido como C18:1 ω-9. Devido a sua disposição estrutural, o ácido oleico apresenta isomeria geométrica e sua configuração pode ser *cis* ou *Z* (RÄHSE, 2020).

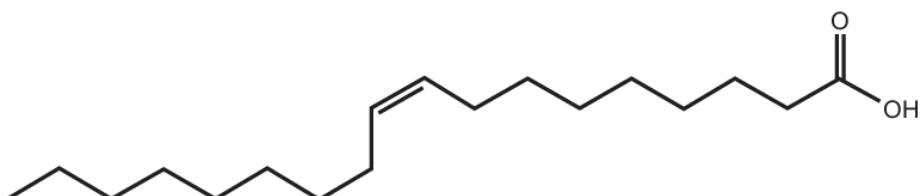


Figura 19: Estrutura do ácido palmítico, adaptado de SHAH; COX, 2009

Diferentes atividades bioativas foram associadas ao ácido oleico, como melhora na cicatrização de feridas, aumento da absorção de fármacos, redução dos níveis de pressão arterial, redução de processos inflamatórios, além de efeito antitumoral por meio da inibição da proliferação celular e expressão de oncogênes (SALES-CAMPOS et al., 2013).

Na área cosmética também há boa aplicabilidade do ácido oleico, pois ele pode ser facilmente absorvido pela pele, aumentando a permeabilidade e receptividade da barreira cutânea por ingredientes ativos lipofílicos dos cosméticos (RÄHSE, 2020). Alguns autores afirmam que o referido ácido graxo é comumente empregado em cremes para cuidado com a pele, devido as suas propriedades emolientes e modificadoras de textura (MAO et. al.,

2013). Ademais, seus sais podem integrar a formulações de sabões e produtos de higiene (IWATA; SHIMADA, 2013).

Microrganismos fotossintetizantes, como algumas cepas de *Arthrosphaera* podem sintetizar até 46% dos seus lipídios isolados na forma de ácido palmítico (ÖTLEŞ; PIRE, 2001) enquanto as microalgas *Leptolyngbya sp.*, *Oscillatoria marina* e *Oscillatoria acuta* chegam a produzir mais de 65% dos seus lipídeos detectados de ácido oleico (SAHU et al., 2013).

Apesar de não serem os lipídios principais, em termos financeiros, que se busca no cultivo de microalgas, são uma fração muitas vezes presente, que pode ser isolada em uma extração do tipo biorrefinaria e que apresenta aplicações de interesse farmacêutico, além do uso para conversão em biodiesel, que é um biocombustível.

CONCLUSÃO

As microalgas mostram-se abundantes fontes de compostos bioativos, com ampla aplicabilidade farmacêutica, no campo medicinal, na área cosmética, cosmeceutica, na área de suplementos, alimentos funcionais e convencionais devido as mais diversas atividades biológicas de suas moléculas, tais quais propriedades imunomoduladoras, pró-vitamínicas, antitumorais, antioxidantes, anti-hipertensivas e antiarrítmicas.

Produtos formulados a base de microalgas ou de compostos lipídicos delas extraídos, podem atender a necessidade de diversas áreas mercadológicas, atendendo o interesse de diversos grupos consumidores, inclusive atingindo ampla gama populacional, mostrando-se uma fonte natural promissora e versátil.

A pesquisa com microalgas é um campo bastante fértil, compreendendo busca de novas moléculas bioativas, novas aplicações para compostos já descobertos, alterações genéticas para aumentar sua produtividade e, principalmente, na realização de melhorias nas técnicas de processamento “downstream” para aperfeiçoar a viabilidade econômica do processo industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES-RODRIGUES, A.; SHAO, A. The science behind lutein. **Toxicology Letters**, v. 150, n. 1, p. 57–83, abr. 2004.
- AMBATI, R. et al. Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications — A Review. **Marine Drugs**, v. 12, n. 1, p. 128–152, 7 jan. 2014.
- ANAND, R.; MOHAN, L.; BHARADVAJA, N. Disease prevention and treatment using β-carotene: The ultimate provitamin A. **Revista brasileira de farmacognosia: órgão oficial da Sociedade Brasileira de Farmacognosia**, v. 32, n. 4, p. 491–501, 2022.
- ANDREASSI, M. et al. Antioxidant activity of topically applied lycopene. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 18, n. 1, p. 52–55, jan. 2004.
- ANDREWES, A. G.; STARR, M. P. (3R,3'R)-astaxanthin from the yeast Phaffia rhodozyma. **Phytochemistry**, v. 15, n. 6, p. 1009–1011, jan. 1976.
- ARCT, J.; MIELOCH, M. β-carotene in skin care. **Polish Journal of Cosmetology**, 19(3): 206-213, 05 set. 2016.

AVENSON, T. J. et al. Zeaxanthin Radical Cation Formation in Minor Light-harvesting Complexes of Higher Plant Antenna. *Journal of Biological Chemistry*, v. 283, n. 6, p. 3550–3558, fev. 2008.

AZUMA, K.; INOUE, S. Multiple modes of vitamin K actions in aging-related musculoskeletal disorders. *International journal of molecular sciences*, v. 20, n. 11, p. 2844, 2019.

BAKI, G.; ALEXANDER, K. S. **Introduction to cosmetic formulation and technology**. Nashville, TN, USA: John Wiley & Sons, 2015.

BENNEDSEN, M. et al. Treatment of *H. pylori* infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunology Letters*, v. 70, n. 3, p. 185–189, dez. 2000.

BHOSALE, P.; BERNSTEIN, P. S. Microbial xanthophylls. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 68, n. 4, p. 445–455, 7 jul. 2005.

BILANOVIC, D. et al. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations – Response surface methodology analysis. *Energy conversion and management*, v. 50, n. 2, p. 262–267, 2009.

BLANER, W. S.; LI, Y. Vitamin A Metabolism, Storage and Tissue Delivery Mechanisms. *The Retinoids*, p. 1–34, 12 jun. 2015.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1 ago. 1959.

BOGACZ-RADOMSKA, L.; HARASYM, J. β-Carotene – properties and production methods. *Food Quality and Safety*, v. 2, n. 2, p. 69–74, 20 jun. 2018.

BOUYAHYA, A. et al. Sources, health benefits, and biological properties of zeaxanthin. *Trends in Food Science & Technology*, v. 118, p. 519–538, dez. 2021.

BRANCIARI, R. et al. Nutritional Value and Contaminant Risk Assessment of Some Commercially Important Fishes and Crawfish of Lake Trasimeno, Italy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 7, p. 2545, 8 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução nº 44 de 1977**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 nov. 1977. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cnnpa/1977/res0044_00_00_1977.html>. Acesso em: 21 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução nº 4, de 24 de Novembro de 1988**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de nov. 1988. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1988/res0004_24_11_1988.html>. Acessado em: 17 fev. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução Normativa – IN nº 28, de 26 de julho de 2018** “Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares”. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de jul. 2018a. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/IN_28_2018_COMP.pdf/db9c7460-ae66-4f78-8576-dfd019bc9fa1> Acessado em: 24 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 239, de 26 de julho de 2018** “Estabelece os aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em suplementos alimentares.”. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 de jul. 2018b. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898839/%283%29RDC_239_2018_COMP.pdf/603b8242-989f-41c3-a9ad-0da61dd59b0c#:~:text=Estabelece%20os%20aditivos%20alimentares%20e,e%20IV%20alido%20ao%20art.> Acessado em: 07 mar. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Alegações de propriedade funcional aprovadas Busca Anvisa**, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas_anvisa.pdf> Acessado em: 21 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de alegação de propriedade funcional e de saúde para substâncias bioativas presentes em alimentos e suplementos alimentares** Guia nº 55 – Versão 1, 2021. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6358888/Guia+55_2021_vers%C3%A3o+1+de+25+11+2021.pdf/3e7d36b7-c14f-4feb-8028-041fb2fe78ac>. Acessado em: 21 jan. 2023.

BRESINSKY, A. et al. **Tratado de botânica de Strasburger**. 36 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

BRUNT, E. G.; BURGESS, J. G. The promise of marine molecules as cosmetic active ingredients. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 40, n. 1, p. 1–15, 4 dez. 2017.

BUX, F. **Biotechnological applications of microalgae**: Biodiesel and value-added products. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2013.

CAÑAVATE, J. P. Advancing assessment of marine phytoplankton community structure and nutritional value from fatty acid profiles of cultured microalgae. **Reviews in aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 527–549, 2019.

CEZARE-GOMES, E. A. et al. Potential of Microalgae Carotenoids for Industrial Application. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, n. 3, p. 602–634, 1 jul. 2019.

CHAMBERLAND, J. P.; MOON, H.-S. Down-regulation of malignant potential by alpha linolenic acid in human and mouse colon cancer cells. **Familial Cancer**, v. 14, n. 1, p. 25–30, 22 out. 2014.

CHEW, B. P. et al. A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice in vivo. **Anticancer Research**, v. 19, n. 3A, p. 1849–1853, 1 maio 1999.

CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53–62, abr. 2017.

CHENG, H. M. et al. Lycopene and tomato and risk of cardiovascular diseases: A systematic review and meta-analysis of epidemiological evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 141–158, 25 set. 2017.

CONN, P. F.; SCHALCH, W.; TRUSCOTT, T. GEORGE. The singlet oxygen and carotenoid interaction. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 11, n. 1, p. 41–47, out. 1991.

CORDERO, B. F. et al. Enhancement of Lutein Production in Chlorella sorokiniana (Chlorophyta) by Improvement of Culture Conditions and Random Mutagenesis. **Marine Drugs**, v. 9, n. 9, p. 1607–1624, 20 set. 2011.

DAI, J. et al. Effects of polyunsaturated fatty acids on the growth of gastric cancer cells in vitro. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 1, 10 maio 2013.

DARVIN, M. et al. Cutaneous concentration of lycopene correlates significantly with the roughness of the skin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 3, p. 943–947, ago. 2008.

DAVINELLI, S.; NIELSEN, M.; SCAPAGNINI, G. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. **Nutrients**, v. 10, n. 4, p. 522, 22 abr. 2018.

DE BITENCOURT, A.P.G. Papel das vitaminas lipossolúveis no metabolismo, c2013. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2013/10/vitam_lipoAna.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2023.

DE LUCA, M. et al. Lipids from Microalgae for Cosmetic Applications. **Cosmetics**, v. 8, n. 2, p. 52, 17 jun. 2021.

DEL MONDO, A. et al. Challenging microalgal vitamins for human health. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, 2 nov. 2020.

DE LORGERIL, M.; SALEN, P. Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 14, n. 3, p. 162–169, jun. 2004.

DOLGANYUK, V. et al. **Microalgae**: A Promising Source of Valuable Bioproducts. **Biomolecules**, v. 10, n. 8, p. 1153, 1 ago. 2020.

DUVALL, M. G.; LEVY, B. D. DHA and EPA-derived resolvins, protectins, and maresins in airway inflammation. **European Journal of Pharmacology**, v. 785, p. 144–155, ago. 2016.

ECHEVERRÍA, F. et al. Docosahexaenoic acid (DHA), a fundamental fatty acid for the brain: New dietary sources. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 124, p. 1–10, set. 2017.

EKPE, L.; INAKU, K.; EKPE, V. Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases a review. **Journal of Molecular Pathophysiology**, v. 7, n. 1, p. 1, 2018.

EL ASMAR, M.; NAOUM, J.; ARBID, E. Vitamin K Dependent Proteins and the Role of Vitamin K2 in the Modulation of Vascular Calcification: A Review. **Oman Medical Journal**, v. 29, n. 3, p. 172–177, 15 maio 2014.

ESATBEYOGLU, T.; RIMBACH, G. Canthaxanthin: From molecule to function. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 6, p. 1600469, 15 nov. 2016.

ESKLING, M.; ARVIDSSON, P.-O.; AKERLUND, H.-E. The xanthophyll cycle, its regulation and components. **Physiologia Plantarum**, v. 100, n. 4, p. 806–816, ago. 1997.

EZZATI, M. et al. **Comparative quantification of health risks**: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. Geneva: World Health Organization, Cop, 2004.

FAHY, E. et al. Lipid classification, structures and tools. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1811, n. 11, p. 637–647, nov. 2011.

FARKAS, Á.; BENCSIK, T.; DELI, J. Carotenoids as Food Additives. Em: **Pigments from Microalgae Handbook**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 421–447.

FERNANDES, T.; CORDEIRO, N. Microalgae as sustainable biofactories to produce high-value lipids: Biodiversity, exploitation, and biotechnological applications. **Marine drugs**, v. 19, n. 10, p. 573, 2021.

FERLAND, G. Vitamin K. **Present Knowledge in Nutrition**, p. 137–153, 2020.

FERREIRA-SANTOS, P. et al. Lycopene-supplemented diet ameliorates cardiovascular remodeling and oxidative stress in rats with hypertension induced by Angiotensin II. **Journal of Functional Foods**, v. 47, p. 279–287, ago. 2018.

FISCHER, S.; WEBER, P. C. Thromboxane A3 (TXA3) is formed in human platelets after dietary eicosapentaenoic acid (C20:5ω3). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 116, n. 3, p. 1091–1099, nov. 1983.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, maio de 1957.

FOSS, P.; RENSTRØM, B.; LIAAEN-JENSEN, S. Natural occurrence of enantiomeric and Meso astaxanthin 7*-crustaceans including zooplankton. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: **Comparative Biochemistry**, v. 86, n. 2, p. 313–314, jan. 1987.

GALLEGÓ, R. et al. Green Extraction of Bioactive Compounds from Microalgae. **Journal of Analysis and Testing**, v. 2, n. 2, p. 109–123, abr. 2018.

GIFUNI, I. et al. Current bottlenecks and challenges of the microalgal biorefinery. **Trends in biotechnology**, v. 37, n. 3, p. 242–252, 2019.

GILBERT-LÓPEZ, B. et al. Downstream processing of Isochrysis galbana: a step towards microalgal biorefinery. **Green Chemistry**, v. 17, n. 9, p. 4599–4609, 2015.

GOHARA-BEIRIGO, A. K. et al. Microalgae trends toward functional staple food incorporation: Sustainable alternative for human health improvement. **Trends in Food Science & Technology**, v. 125, p. 185–199, jul. 2022.

GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269–274, 2009.

GUERIN, M.; HUNTLEY, M. E.; OLAIZOLA, M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. **Trends in Biotechnology**, v. 21, n. 5, p. 210–216, 1 maio 2003.

GÜNERKEN, E. et al. Cell disruption for microalgae biorefineries. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 2, p. 243–260, mar. 2015.

HAN, S.-F. et al. Application of pulse electric field pretreatment for enhancing lipid extraction from Chlorella pyrenoidosa grown in wastewater. **Renewable Energy**, v. 133, p. 233–239, abr. 2019.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, v. 90, n. 1, p. 420–426, out. 1978.

HAXO, F. Carotenoids of the Mushroom Cantharellus cinnabarinus. **Botanical Gazette**, v. 112, n. 2, p. 228–232, dez. 1950.

HE, Y. et al. Sustainable biodiesel production from the green microalgae Nannochloropsis: Novel integrated processes from cultivation to enzyme-assisted extraction and ethanolysis of lipids. **Energy Conversion and Management**, v. 209, p. 112618, abr. 2020.

HEO, S.-J. et al. Cytoprotective effect of fucoxanthin isolated from brown algae Sargassum siliquastrum against H₂O₂-induced cell damage. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 1, p. 145–151, 22 jul. 2008.

HENDERSON, J.; OSBORNE, D. J. The oil palm in all our lives: how this came about. **Endeavour**, v. 24, n. 2, p. 63–68, jun. 2000.

HEO, S.J.; JEON, Y.J. Protective effect of fucoxanthin isolated from Sargassum siliquastrum on UV-B induced cell damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology**, v. 95, n. 2, p. 101–107, 4 maio 2009.

HONDA, M. Nutraceutical and Pharmaceutical Applications of Carotenoids. Em: **Pigments from Microalgae Handbook**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 449–469.

HUANG, L.-T. C. et al. Fatty acid composition of 12 fish species from the Black Sea. **Journal of food science**, v. 77, n. 5, p. C512-8, 2012.

HUANG, T.-H. et al. Cosmetic and Therapeutic Applications of Fish Oil's Fatty Acids on the Skin. **Marine Drugs**, v. 16, n. 8, p. 256, 30 jul. 2018.

HUBBE, M. et al. Analytical staining of cellulosic materials: A review. **Bioresources**, v. 14, n. 3, p. 7387–7464, 2019.

HUERLIMANN, R.; DE NYS, R.; HEIMANN, K. Growth, lipid content, productivity, and fatty acid composition of tropical microalgae for scale-up production. **Biotechnology and bioengineering**, v. 107, n. 2, p. 245–257, 2010.

ISLAM, M. S.; CHRISTOPHER, L. P.; ALAM, M. N. Separation and purification of ω-6 linoleic acid from crude tall oil. **Separations**, v. 7, n. 1, p. 9, 2020.

ISTIFLI, E. S. et al. Alpha-linolenic acid confers protection on mice renal cells against cisplatin-induced nephrotoxicity. **Cytotechnology**, v. 71, n. 5, p. 905–914, 2019.

IVERSON, S. J.; LANG, S. L. C.; COOPER, M. H. Comparison of the bligh and dyer and folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. **Lipids**, v. 36, n. 11, p. 1283–1287, nov. 2001.

IWATA H.; SHIMADA K. **Formulas, Ingredients and Production of Cosmetics**. Tokyo, Springer Japan, 2013.

JANDACEK, R. J. Linoleic Acid: A Nutritional Quandary. **Healthcare**, v. 5, n. 2, p. 25, 20 maio 2017.

JAYAPPRIYAN, K. R. et al. In vitro anticancer activity of natural β-carotene from Dunaliella salina EU5891199 in PC-3 cells. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 99–105, abr. 2013.

JEEVANANDAM, J. et al. The bioeconomy of production of microalgal pigments. Em: **Pigments from Micro-algae Handbook**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 325–362.

JESUS, S. S. et al. Comparison of several methods for effective lipid extraction from wet microalgae using green solvents. **Renewable Energy**, v. 143, p. 130–141, dez. 2019.

JIA, Y.P. et al. The Pharmacological Effects of Lutein and Zeaxanthin on Visual Disorders and Cognition Diseases. **Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry**, v. 22, n. 4, 20 abr. 2017.

KARRER, P.; SALOMON, H.; WEHRLI, H. Pflanzenfarbstoffe XIV. Über einen Carotinoidfarbstoff aus Mais: Zeaxanthin (1. Mitteilung). **Helvetica Chimica Acta**, v. 12, n. 1, p. 790–792, 1929.

KARRER, P.; HELFENSTEIN, A. Plant Pigments. **Annual Review of Biochemistry**, v. 1, n. 1, p. 551–580, jun. 1932.

KHALID, W. et al. Functional behavior of DHA and EPA in the formation of babies brain at different stages of age, and protect from different brain-related diseases. **International Journal of Food Properties**, v. 25, n. 1, p. 1021–1044, 5 maio 2022.

KHAN, S. U. et al. Effect of omega-3 fatty acids on cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis. **EClinicalMedicine**, v. 38, p. 100997, ago. 2021.

KIM, S. M. et al. A Potential Commercial Source of Fucoxanthin Extracted from the Microalga Phaeodactylum tricornutum. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 7, p. 1843–1855, 28 fev. 2012.

KIM, H. et al. The Protective Effect of Violaxanthin from Nannochloropsis oceanica against Ultraviolet B-Induced Damage in Normal Human Dermal Fibroblasts. **Photochemistry and Photobiology**, v. 95, n. 2, p. 595–604, 21 nov. 2018.

KLACK, K.; CARVALHO, J. F. DE. Vitamina K: metabolismo, fontes e interação com o anticoagulante varfarina. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 46, n. 6, p. 398–406, dez. 2006.

KLINGEL, S. L. et al. EPA and DHA have divergent effects on serum triglycerides and lipogenesis, but similar effects on lipoprotein lipase activity: a randomized controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 110, n. 6, p. 1502–1509, 1 dez. 2019.

KOKKILIGADDA, S.; PANDEY, B.; RONDA, S. R. Effect of plant growth regulators on production of alpha-linolenic acid from microalgae Chlorella pyrenoidosa. **Sādhanā**, v. 42, n. 10, p. 1821–1824, out. 2017.

KUMAR, S.; HOSOKAWA, M.; MIYASHITA, K. Fucoxanthin: A Marine Carotenoid Exerting Anti-Cancer Effects by Affecting Multiple Mechanisms. **Marine Drugs**, v. 11, n. 12, p. 5130–5147, 16 dez. 2013.

LARSSON, S. C. et al. Vitamin A, retinol, and carotenoids and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 2, p. 497–503, 1 fev. 2007.

LEE, J.-B. et al. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs), heavy metals and omega-3 fatty acids in commercially available Korean functional fish oil supplements. **International journal of food science & technology**, v. 51, n. 10, p. 2217–2224, 2016.

LIN, J.H.; LEE, D.J.; CHANG, J.S. Lutein production from biomass: Marigold flowers versus microalgae. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 421–428, maio 2015.

LIPID MAPS. **Structure Database (LMSD)**, c2021. Disponível em: <<https://www.lipidmaps.org/databases/lmsd/LMPR01090058>>. Acesso em: 17 jan. 2023.

LIU, C.-L.; LIANG, A.-L.; HU, M.-L. Protective effects of fucoxanthin against ferric nitrilotriacetate-induced oxidative stress in murine hepatic BNL CL.2 cells. **Toxicology in Vitro**, v. 25, n. 7, p. 1314–1319, out. 2011.

LOPES, L. B.; SPERETTA, F. F. F.; BENTLEY, M. V. L. B. Enhancement of skin penetration of vitamin K using monoolein-based liquid crystalline systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 32, n. 3, p. 209–215, 1 nov. 2007.

LOURENÇO-LOPES, C. et al. Biological action mechanisms of fucoxanthin extracted from algae for application in food and cosmetic industries. **Trends in Food Science & Technology**, v. 117, p. 163–181, 1 nov. 2021.

LORENZEN, J. et al. Extraction of microalgae derived lipids with supercritical carbon dioxide in an industrial relevant pilot plant. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, n. 6, p. 911–918, 15 mar. 2017.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; GARCÍA-AYUSOL, E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, n. 1-2, p. 1–10, ago. 1998.

LUPO, M. P. Antioxidants and vitamins in cosmetics. **Clinics in Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 467–473, jul. 2001.

MAEDA, H. et al. Fucoxanthin from edible seaweed, Undaria pinnatifida, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 332, n. 2, p. 392–397, jul. 2005.

MAEDA, H. et al. Seaweed carotenoid, fucoxanthin, as a multi-functional nutrient. **Asia Pac. J. Clin. Nutr.** 2008;17:196–199.

MAO, G. et al. Oleic acid disorders stratum corneum lipids in Langmuir monolayers. **Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids**, v. 29, n. 15, p. 4857–4865, 2013.

MARANGONI, F. et al. Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects. **Atherosclerosis**, v. 292, p. 90–98, 1 jan. 2020.

MARCHENA, A. M. et al. Lycopene and Melatonin: Antioxidant Compounds in Cosmetic Formulations. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 33, n. 5, p. 237–243, 2020.

MASON, R. P.; LIBBY, P.; BHATT, D. L. Emerging Mechanisms of Cardiovascular Protection for the Omega-3 Fatty Acid Eicosapentaenoic Acid. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 40, n. 5, p. 1135–1147, maio 2020.

MATHUR, P. et al. Tocopherols in the Prevention and Treatment of Atherosclerosis and Related Cardiovascular Disease. **Clinical Cardiology**, v. 38, n. 9, p. 570–576, 14 ago. 2015.

MATSUI, M. et al. Protective and therapeutic effects of fucoxanthin against sunburn caused by UV irradiation. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 132, n. 1, p. 55–64, set. 2016.

MATTHEWS, R. G. et al. Tautomeric Forms of Metarhodopsin. **Journal of General Physiology**, v. 47, n. 2, p. 215–240, 1 nov. 1963.

MEDINA PEREZ, E. B. et al. Fucoxanthin from marine microalga Isochrysis galbana: optimization of extraction methods with organic solvents. **Dyna**, v. 86, n. 210, p. 174–178, 2019.

MENDIOLA, J. A. et al. CHAPTER 6. Supercritical Fluid Extraction. **Green Chemistry Series**, p. 196–230, 2013.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. et al. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1145–1150, 1 jan. 2007.

MIYASHITA, K. et al. The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 7, p. 1166–1174, 23 mar. 2011.

MIYASHITA, K.; HOSOKAWA, M. Fucoxanthin in the management of obesity and its related disorders. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 195–202, set. 2017.

MLADĚNKA, P. et al. Vitamin K – sources, physiological role, kinetics, deficiency, detection, therapeutic use, and toxicity. **Nutrition Reviews**, v. 80, n. 4, 2 set. 2021.

MOLINO, A. et al. Enhancing Biomass and Lutein Production From *Scenedesmus almeriensis*: Effect of Carbon Dioxide Concentration and Culture Medium Reuse. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 21 abr. 2020.

MOLOUDIZARGARI, M. et al. Effects of the polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA, on hematological malignancies: a systematic review. **Oncotarget**, v. 9, n. 14, 5 fev. 2018.

MONROY-RUIZ, J. et al. Astaxanthin-enriched-diet reduces blood pressure and improves cardiovascular parameters in spontaneously hypertensive rats. **Pharmacological Research**, v. 63, n. 1, p. 44–50, jan. 2011.

MORENO-GARRIDO, I. Microalgae immobilization: current techniques and uses. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 3949–3964, 2008.

MOSS, G. P.; SMITH, S.; TAVERNIER, D. Glossary of class names of organic compounds and reactivity intermediates based on structure (IUPAC Recommendations 1995). **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 8-9, p. 1307–1375, 3 jul. 2019.

MUSSAGY, C. U.; KHAN, S.; KOT, A. M. Current developments on the application of microbial carotenoids as an alternative to synthetic pigments. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 62, n. 25, p. 6932–6946, 2022.

NAGAPPAN, S.; KUMAR VERMA, S. Co-production of biodiesel and alpha-linolenic acid (omega-3 fatty acid) from microalgae, *Desmodesmus sp.* MCC34. **Energy Sources Part A Recovery Utilization and Environmental Effects**, v. 40, n. 24, p. 2933–2940, 2018.

NAVARINI, L. et al. Polyunsaturated fatty acids: any role in rheumatoid arthritis? **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, 10 out. 2017.

NICOLETTI, M. Microalgae nutraceuticals. **Foods** (Basel, Switzerland), v. 5, n. 3, p. 54, 2016.

NIKI, E.; ABE, K. CHAPTER 1. Vitamin E: Structure, properties and functions. Em: **Vitamin E**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2019. p. 1–11.

NIKI, E.; TRABER, M. G. A History of Vitamin E. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 61, n. 3, p. 207–212, 2012.

NUNES, N. et al. Evaluation of fucoxanthin contents in seaweed biomass by vortex-assisted solid-liquid microextraction using high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. **Algal Research**, v. 42, p. 101603, set. 2019.

O'CONNOR, I.; O'BRIEN, N. Modulation of UVA light-induced oxidative stress by β -carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. **Journal of Dermatological Science**, v. 16, n. 3, p. 226–230, mar. 1998.

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**, v. 9, n. 12, p. 148, 2020.

OLSON, M. V. et al. Docosahexaenoic acid reduces inflammation and joint destruction in mice with collagen-induced arthritis. **Inflammation Research**, v. 62, n. 12, p. 1003–1013, 6 set. 2013.

OTHMAN, R.; MOHD ZAIFUDDIN, F. A.; HASSAN, N. M. Carotenoid Biosynthesis Regulatory Mechanisms in Plants. **Journal of Oleo Science**, v. 63, n. 8, p. 753–760, 2014.

ÖTLEŞ, S.; PIRE, R. Fatty Acid Composition of Chlorella and Spirulina Microalgae Species. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 84, n. 6, p. 1708–1714, 1 nov. 2001.

OTTON, R. et al. Astaxanthin ameliorates the redox imbalance in lymphocytes of experimental diabetic rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 186, n. 3, p. 306–315, 5 ago. 2010.

PĂDUREȚ, S. The Quantification of Fatty Acids, Color, and Textural Properties of Locally Produced Bakery Margarine. **Applied Sciences**, v. 12, n. 3, p. 1731, 8 fev. 2022.

PANGESTUTI, R. et al. Cosmetics and Cosmeceutical Applications of Microalgae Pigments. Em: **Pigments from Microalgae Handbook**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 611–633.

PARK, J. et al. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, n. 1, p. 18, 2010.

PARSAEIMEHR, A. et al. Simultaneous improvement in production of microalgal biodiesel and high-value alpha-linolenic acid by a single regulator acetylcholine. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 11, 2015.

PASQUET, V. et al. Antiproliferative Activity of Violaxanthin Isolated from Bioguided Fractionation of Dunaliella tertiolecta Extracts. **Marine Drugs**, v. 9, n. 5, p. 819–831, 11 maio 2011.

RAHMAN, M. M. et al. DHA is a more potent inhibitor of breast cancer metastasis to bone and related osteolysis than EPA. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 141, n. 3, p. 341–352, 24 set. 2013.

RAHSE, W. **Cosmetic creams: Development, manufacture and marketing of effective skin care products**. Berlim, Germany: Blackwell Verlag, 2019.

RANDO, R. R. The Biochemistry of the Visual Cycle. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 7, p. 1881–1896, 30 maio 2001.

RAVEN, P. H.; EICHHORN, S. E.; EVERET, R. F. **Biologia Vegetal – 8^a Edição**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2014.

RENJU, G. L.; MURALEEDHARA KURUP, G.; SARITHA KUMARI, C. H. Anti-inflammatory activity of lycopene isolated fromChlorella marinaon Type II Collagen induced arthritis inSprague Dawleyrats. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 35, n. 2, p. 282–291, 14 dez. 2012.

RENJU, G. L.; MURALEEDHARA KURUP, G.; BANDUGULA, V. R. Effect of lycopene isolated from Chlorella marina on proliferation and apoptosis in human prostate cancer cell line PC-3. **Tumor Biology**, v. 35, n. 11, p. 10747–10758, 30 jul. 2014.

RIBAYA-MERCADO, J. D.; BLUMBERG, J. B. Lutein and Zeaxanthin and Their Potential Roles in Disease Prevention. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 23, n. sup6, p. 567S587S, dez. 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Food carotenoids: chemistry, biology, and technology**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2016.

RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Scavenging Capacity of Marine Carotenoids against Reactive Oxygen and Nitrogen Species in a Membrane-Mimicking System. **Marine Drugs**, v. 10, n. 12, p. 1784–1798, 20 ago. 2012.

RYCKEBOSCH, E. et al. Influence of extraction solvent system on extractability of lipid components from different microalgae species. **Algal Research**, v. 3, p. 36–43, jan. 2014.

SAHU, A. et al. Fatty acids as biomarkers of microalgae. **Phytochemistry**, v. 89, p. 53–58, maio 2013.

SAINI, R. K.; KEUM, Y.-S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — **A review**. **Life Sciences**, v. 203, p. 255–267, jun. 2018.

SAINI, R. K. et al. Advances in Lipid Extraction Methods-A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 13643, 20 dez. 2021.

SAITO-SASAKI, N.; SAWADA, Y.; NAKAMURA, M. Maresin-1 and Inflammatory Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1367, 25 jan. 2022.

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KAMAT, M. Y. The Carotenoid Pigment Zeaxanthin—A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 7, n. 1, p. 29–49, jan. 2008.

SALES-CAMPOS, H. et al. An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 201–210, 1 fev. 2013.

SATHASIVAM, R.; KI, J.-S. A Review of the Biological Activities of Microalgal Carotenoids and Their Potential Use in Healthcare and Cosmetic Industries. **Marine Drugs**, v. 16, n. 1, p. 26, 12 jan. 2018.

SCHILLER, J. et al. Matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry in lipid and phospholipid research. **Progress in Lipid Research**, v. 43, n. 5, p. 449–488, set. 2004.

SCHMID-WENDTNER M.H.; KORTING.H.C. **PH and skin care**. Berlim, Germany: ABW Wissenschaftsverlagsgesellschaft, 2007.

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, mar. 2011.

SHAH, S.; COX, A. G. Article commentary: A role for IR-β in the free fatty acid mediated development of hepatic insulin resistance? **Biochemistry insights**, v. 2, p. BCI.S2996, 2009.

SHAHIDI, F. et al. Utilization of marine by-products for the recovery of value-added products. **Journal of food bioactives: an official scientific publication of the International Society of Nutraceuticals and Functional Foods (ISNFF)**, v. 6, 2019.

SHEKH, A. et al. Microalgae cultivation: photobioreactors, CO₂ utilization, and value-added products of industrial importance. **Journal of chemical technology and biotechnology** (Oxford, Oxfordshire: 1986), v. 97, n. 5, p. 1064–1085, 2022.

SHI, J.; MAGUER, M. L. Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 1, p. 1–42, jan. 2000.

SHIH, C.-K. et al. β-Carotene and canthaxanthin alter the pro-oxidation and antioxidation balance in rats fed a high-cholesterol and high-fat diet. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 59–66, 19 jul. 2007.

SIJIL, P. V.; SARADA, R.; CHAUHAN, V. S. Enhanced accumulation of alpha-linolenic acid rich lipids in indigenous freshwater microalga *Desmodesmus* sp.: The effect of low-temperature on nutrient replete, UV treated and nutrient stressed cultures. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 404–415, fev. 2019.

SIKORSKI, Z. Z. E.; KOLAKOWSKA, A. (EDS.). **Chemical, biological, and functional aspects of food lipids**. 2. ed. Londres, England: CRC Press, 2019

SINDHU, E.R.; PREETHI, K.C.; KUTTAN R. Antioxidant activity of carotenoid lutein in vitro and in vivo. **Indian J Exp Biol.** 48(8):843-8. Ago. 2010

SIVAKUMAR, G.; JEONG, K.; LAY, J. O., Jr. Biomass and RRR- α -tocopherol production in *Stichococcus bacillaris* strain siva2011 in a balloon bioreactor. **Microbial cell factories**, v. 13, n. 1, p. 79, 2014.

SLUIJS, I. et al. Dietary intake of carotenoids and risk of type 2 diabetes. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 25, n. 4, p. 376–381, abr. 2015.

SNELL, T. W.; CARBERRY, J. Astaxanthin Bioactivity Is Determined by Stereoisomer Composition and Extraction Method. **Nutrients**, v. 14, n. 7, p. 1522, 6 abr. 2022.

SOONTORNCHAIBOON, W.; JOO, S. S.; KIM, S. M. Anti-inflammatory Effects of Violaxanthin Isolated from Microalga Chlorella ellipsoidea in RAW 264.7 Macrophages. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, n. 7, p. 1137–1144, 2012.

SOURKES T. The discovery and early history of carotene. **Bull Hist Chem**. v. 34, n. 1, p. 32, 2009.

SPRAGUE, M. et al. Variation in the nutritional composition of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets with emphasis on EPA and DHA contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 94, p. 103618, dez. 2020.

STACHOWIAK, B.; SZULC, P. Astaxanthin for the Food Industry. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2666, 2 maio 2021.

STARK, A. H.; CRAWFORD, M. A.; REIFEN, R. Update on alpha-linolenic acid. **Nutrition Reviews**, v. 66, n. 6, p. 326–332, 2 jun. 2008.

TANAKA, T. et al. Suppression of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by dietary administration of naturally occurring xanthophylls astaxanthin and canthaxanthin during the postinitiation phase. **Carcinogenesis**, v. 16, n. 12, p. 2957–2963, 1995.

TORREGROSA-CRESPO, J. et al. Exploring the Valuable Carotenoids for the Large-Scale Production by Marine Microorganisms. **Marine Drugs**, v. 16, n. 6, p. 203, 8 jun. 2018.

TRABER, M. G.; BRUNO, R. S. Vitamin E. **Present Knowledge in Nutrition**, p. 115–136, 2020.

TRUAN, J. S.; CHEN, J.-M.; THOMPSON, L. U. Flaxseed oil reduces the growth of human breast tumors (MCF-7) at high levels of circulating estrogen. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 54, n. 10, p. 1414–1421, 27 abr. 2010.

UDAYAN, A.; ARUMUGAM, M.; PANDEY, A. Nutraceuticals From Algae and Cyanobacteria. Em: **Algal Green Chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 65–89.

VAN BREEMEN, R. B.; PAJKOVIC, N. Multitargeted therapy of cancer by lycopene. **Cancer Letters**, v. 269, n. 2, p. 339–351, out. 2008.

VAUGHAN, V. C.; HASSING, M-R.; LEWANDOWSKI, P. A. Marine polyunsaturated fatty acids and cancer therapy. **British Journal of Cancer**, v. 108, n. 3, p. 486–492, 8 jan. 2013.

VIEIRA, M. V.; PASTRANA, L. M.; FUCIÑOS, P. Microalgae encapsulation systems for food, pharmaceutical and cosmetics applications. **Marine drugs**, v. 18, n. 12, p. 644, 2020.

VON LINTIG, J. Provitamin A metabolism and functions in mammalian biology. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 5, p. 1234S1244S, 10 out. 2012.

VON SCHACKY, C. Importance of EPA and DHA Blood Levels in Brain Structure and Function. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1074, 25 mar. 2021.

WANG, L. et al. Antioxidant activity of Spirulina platensis extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, v. 105, n. 1, p. 36–41, 2007.

WANG, L. et al. Bioactivities of the edible brown seaweed, Undaria pinnatifida: A review. **Aquaculture**, v. 495, p. 873–880, out. 2018.

WANG, Q. et al. Reversal of Multidrug Resistance by Natural Substances from Plants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 17, p. 1757–1768, 1 dez. 2010.

WEGGLER, B. A. et al. Inlets and sampling. **Separation Science and Technology**, v. 12, p. 141–203, 2020. WEST, K. P. Epidemiology and Prevention of Vitamin A Deficiency Disorders. **The Retinoids**, p. 505–527, 12 jun. 2015.

WHELAN, J.; FRITSCHE, K. Linoleic Acid. **Advances in Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 311–312, 1 maio 2013.

WIGGINS, A. K. A. et al. α -Linolenic Acid Reduces Growth of Both Triple Negative and Luminal Breast Cancer Cells in High and Low Estrogen Environments. **Nutrition and Cancer**, v. 67, n. 6, p. 1001–1009, 2 jul. 2015.

WILLIAMS, W. P.; DAVIES, R. E.; COUCH, J. R. The Utilization of Carotenoids by the Hen and Chick. **Poultry Science**, v. 42, n. 3, p. 691–699, maio 1963.

WILLSTÄTTER, R.; PAGE, H. J. Untersuchungen über Chlorophyll. XXIV. Über die Pigmente der Braunalgen. **Justus Liebig's Annalen der Chemie**, v. 404, n. 3, p. 237–271, 1914.

YI, T. et al. Comparative analysis of EPA and DHA in fish oil nutritional capsules by GC-MS. **Lipids in Health and Disease**, v. 13, n. 1, dez. 2014.

YUHAS, R. et al. A method for the measurement of lutein in infant formula. **Food and nutrition sciences**, v. 02, n. 02, p. 145–149, 2011.

ZASADA, M.; BUDZISZ, E. Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. **Advances in Dermatology and Allergology**, v. 36, n. 4, p. 392–397, 2019.

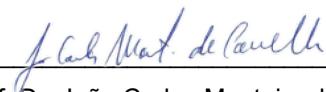
ZENG, J. et al. Lycopene protects against pressure overload-induced cardiac hypertrophy by attenuating oxidative stress. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 66, p. 70–78, abr. 2019.

ZHANG, H. et al. Fucoxanthin: A Promising Medicinal and Nutritional Ingredient. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1–10, 2015.

ZHANG, Y. et al. Optimization of enzymatic hydrolysis for effective lipid extraction from microalgae Scenedesmus sp. **Renewable Energy**, v. 125, p. 1049–1057, set. 2018.

ZHOU, J. et al. Extraction of lipids from microalgae using classical and innovative approaches. **Food Chemistry**, v. 384, p. 132236, 1 ago. 2022.

ZINNAI, A. et al. Supercritical fluid extraction from microalgae with high content of LC-PUFAs. A case of study: Sc-CO₂ oil extraction from *Schizochytrium* sp. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 126–131, out. 2016.


Prof. Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho
Assinatura do Orientador


Danilo Martini Rosolia
Assinatura do Aluno