



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ
ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ, ΔΡ. ΤΣΙΚΟΥ ΔΑΝΙΕΛΑ
ΤΕΧΝΙΚΟΣ ΣΥΜΒΟΥΛΟΣ: ΣΟΦΙΑ-ΑΝΤΙΓΟΝΗ ΤΣΑΤΣΟΥΛΗ, ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΡΙΑ ΕΡΓΟΥ,
THERACELL**

**ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ ΕΥΓΕΝΙΑ
Α.Μ.: 00106
ΛΑΡΙΣΑ, 2022**

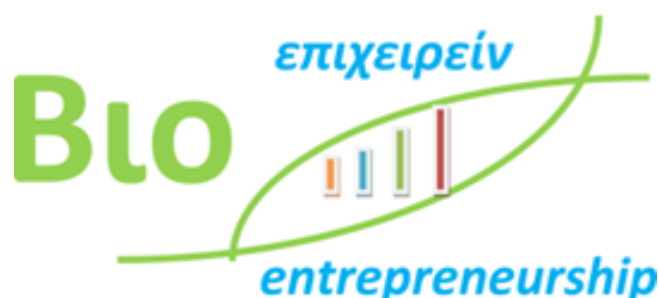


UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY



NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION
INSTITUTE OF CHEMICAL BIOLOGY

**INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES
IN
BIOENTREPRENEURSHIP**



MASTER THESIS

**UTILIZATION OF BIOACTIVE INGREDIENTS FROM MICROALGAE IN THE
FOOD AND COMETICS INDUSTRY**

**SUPERVISOR: ASSISTANT PROFESSOR, DR. TSIKOU DANIELA
TECHNICAL ADVISOR: SOFIA-ANTIGONI TSATSOULI, PROJECT MANAGER, THERACELL**

**CHRISTODOULOU EVGENIA
00106
LARISSA, 2022**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στο

ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ

που απονέμει το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε συνεργασία με τη Theracell Advanced Biotechnology S.A.

Εγκρίθηκε την από την τριμελή εξεταστική επιτροπή:

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ	ΥΠΟΓΡΑΦΗ
Τσίκου Δανιέλα	Επίκουρος Καθηγήτρια	
Ψαρρά Άννα-Μαρία	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια	
Παπαδοπούλου Καλλιόπη	Καθηγήτρια	

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους τους ανθρώπους, που συνέβαλαν στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας και ιδιαίτερα:

Την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, Δρ. Δανιέλα Τσίκου, για την πολύτιμη υποστήριξη της, τις παραγωγικές συμβουλές και υποδείξεις, καθώς και για το άριστο κλίμα συνεργασίας, που διαμόρφωσε. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής μου Δρ. Άννα-Μαρία Ψαρρά και Δρ. Καλλιόπη Παπαδοπούλου, καθώς και την εταιρεία Theracell Advanced Biotechnology S.A., η οποία μου έδωσε τη δυνατότητα να υλοποιήσω την παρούσα εργασία.

Από το κομμάτι των ευχαριστιών δεν θα μπορούσαν να λείπουν οι γονείς μου, η αδερφή μου, οι φίλες και οι φίλοι μου, τους οποίους ευχαριστώ που με στήριξαν και με στηρίζουν σε όλη την πορεία μου, εκπαιδευτική και επαγγελματική.

Περιεχόμενα

Περίληψη	6
Abstract.....	7
Σκοπός	8
1. Εισαγωγή	9
2. Κύριο μέρος	11
2.1 Μικροφύκη στη Βιομηχανία Τροφίμων και Καλλυντικών	11
2.2 Μέθοδοι καλλιέργειας μικροφυκών και εκχύλισης βιοδραστικών τους συστατικών	13
2.2.1 Μέθοδοι καλλιέργειας μικροφυκών.....	14
2.2.2 Μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού βιοδραστικών ουσιών από μικροφύκη	19
2.3 Προκλήσεις στην παραγωγή μικροφυκών σε επίπεδο βιομηχανικής κλίμακας	22
2.4 Κατηγορίες βιοδραστικών συστατικών	23
2.4.1 Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs)	24
2.4.2 Χρωστικές ουσίες	27
2.4.2.1 Χλωροφύλλες	28
2.4.2.2 Καροτενοειδή	30
2.4.2.3 Φυκοχολοπρωτεΐνες	33
2.4.3 Υδατάνθρακες	35
2.4.4 Πρωτεΐνες, πεπτίδια και αμινοξέα	36
2.4.5 Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία	39
2.5 Μικροφύκη και Βιομηχανία Τροφίμων	46
2.6 Μικροφύκη στη Βιομηχανία Καλλυντικών	51
2.7 Ρυθμιστικά θέματα για την εμπορευματοποίηση και κατανάλωση.....	54
2.8 Προκλήσεις και ευκαιρίες της αγοράς και μελλοντικές προοπτικές.....	57
3. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	59
4. Βιβλιογραφία.....	60

Περίληψη

Τα μικροφύκη είναι μονοκύτταροι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, που έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν σε ακραία περιβάλλοντα και λόγω της τεράστιας βιοποικιλότητάς τους αποτελούν ένα σχεδόν αναξιοποίητο πόρο. Έχουν κινήσει το ενδιαφέρον της ερευνητικής κοινότητας μαζί με τη βιομηχανία, κυρίως αυτής των τροφίμων και των καλλυντικών, καθώς μπορούν και παράγουν μία ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων, όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίες έχουν ευεργετικές ιδιότητες στην υγεία του ανθρώπου. Αυτές οι ενώσεις έχουν υψηλή αξία και κάποιες ήδη έχουν ενσωματωθεί σε ορισμένα προϊόντα τροφίμων και καλλυντικών, που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Τα υπάρχοντα προϊόντα τροφίμων και καλλυντικών φαίνεται να είναι δυνατόν να αντικατασταθούν από προϊόντα, που τους έχουν ενσωματωθεί συστατικά από μικροφύκη, καθώς είναι φιλικότερα προς το περιβάλλον και ασφαλή και συμβαδίζουν με την τωρινή επιθυμία των καταναλωτών για προϊόντα, που είναι όσο το δυνατόν πιο φυσικά. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες στρατηγικές και τεχνικές σε κάθε στάδιο παραγωγής των μικροφυκών σε επίπεδο βιομηχανικής κλίμακας για την απομόνωση αυτών των πολύτιμων βιοδραστικών ενώσεων. Ωστόσο, οι δυσκολίες σε κάθε στάδιο της παραγωγής μικροφυκών και τα ζητήματα ασφάλειας παραμένουν μια σημαντική πρόκληση στην εμπορευματοποίηση προϊόντων μικροφυκών με οικονομικά αποδοτικό τρόπο. Γι' αυτό το λόγο οι ερευνητές συνεχίζουν να μελετούν τα μικροφύκη και τις τεχνικές καλλιέργειάς τους, για να ανακαλύψουν και να αποδείξουν όλο και περισσότερες ιδιότητες τους, οι οποίες να βρίσκουν εφαρμογή σε διάφορους τομείς της βιομηχανίας, θέτοντάς τους εμπορικά βιώσιμους και πιο φιλικούς προς το περιβάλλον. Η συγκεκριμένη εργασία μελετά και αναλύει τις τεχνικές κάθε σταδίου παραγωγής των μικροφυκών σε επίπεδο βιομηχανικής κλίμακας, τις προκλήσεις που αντιμετωπίζονται στο κάθε στάδιο, τις κατηγορίες των βιοδραστικών ενώσεων που απομονώνονται από τα μικροφύκη και τις ευεργετικές ιδιότητες της καθεμίας στην ανθρώπινη υγεία. Εξετάζεται η εμπορική αξιοποίηση αυτών των ουσιών στη βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών και γίνεται αναφορά στα ρυθμιστικά θέματα, που αφορούν την εμπορευματοποίηση και την κατανάλωσή τους.

Λέξεις κλειδιά: μικροφύκη, βιοδραστικές ενώσεις, βιομηχανία τροφίμων, βιομηχανία καλλυντικών

Abstract

Microalgae are single-celled photosynthetic organisms that can survive in extreme environments and due to their enormous biodiversity are an almost untapped resource. They have aroused the interest of both the research community and the industry, mainly food industry and cosmetics industry, as they can produce a variety of bioactive compounds, such as proteins, carbohydrates, lipids, secondary metabolites, which have beneficial properties on human health. These are high-value compounds and some have already been incorporated into commercially available food and cosmetic products. Existing food and cosmetics products seem to be able to be replaced by products that have microalgae-derived ingredients, as they are more environmentally friendly and safe and in line with consumers' current desire for products of natural origin. Various strategies and techniques have been developed at each stage of industrial-scale microalgae production to isolate these valuable bioactive compounds. However, technical difficulties during microalgae large-scale production and safety issues remain a major challenge in commercializing microalgae products in a cost-effective manner. For this reason, researchers continue to study microalgae and their cultivation techniques, in order to discover and prove more of their properties, which are applied in various sectors of the industry, making them commercially viable and environmentally friendly. This work studies and analyzes the techniques of each stage of microalgae production on an industrial scale, the challenges faced at each stage, the categories of bioactive compounds isolated from microalgae and their beneficial properties on human health. The commercial utilization of these substances in the food and cosmetics industry is examined and reference is made to the regulatory issues concerning their commercialization and consumption.

Key words: microalgae, bioactive compounds, food industry, cosmetics industry

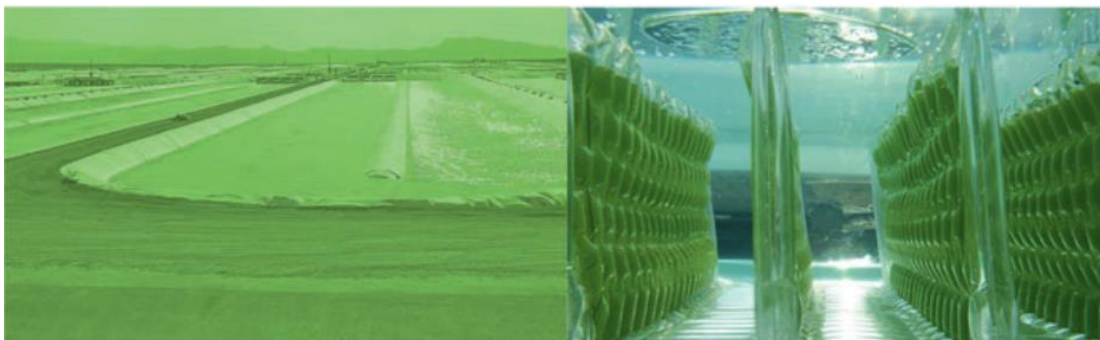
Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της χρήσης των μικροφυκών και ιδιαιτέρως των βιοδραστικών ουσιών, που απομονώνονται από αυτά. Στην παρούσα μελέτη (α) εξετάζονται οι κατηγορίες των βιοδραστικών ενώσεων, οι οποίες μπορούν να απομονωθούν από τα μικροφύκη και μπορούν να αξιοποιηθούν εμπορικά λόγω των ευεργετικών τους ιδιοτήτων, (β) μελετώνται οι διάφορες τεχνικές, που χρησιμοποιούνται σε κάθε στάδιο της παραγωγής και οι δυσκολίες που αντιμετωπίζονται, (γ) παρουσιάζεται η εφαρμογή των βιοδραστικών ενώσεων στη βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών και (δ) σχολιάζονται τα ρυθμιστικά θέματα για την εμπορευματοποίηση και την κατανάλωση των προϊόντων, που έχουν ενσωματωμένα συστατικά, προερχόμενα από μικροφύκη.

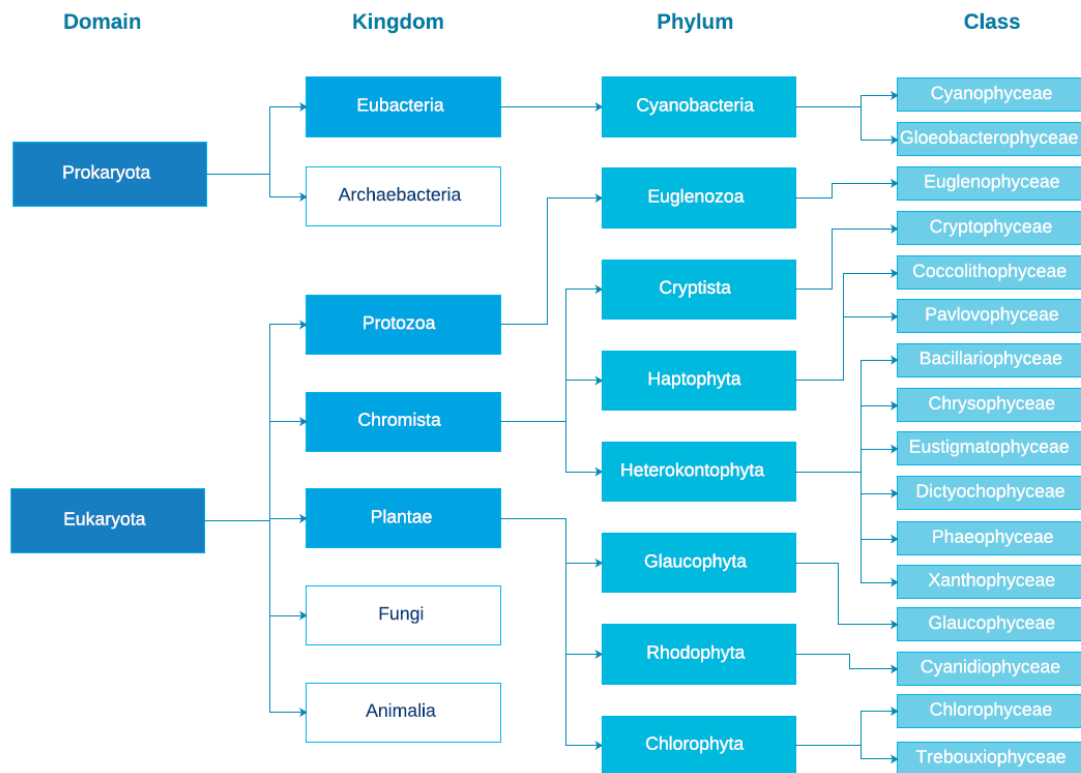
1. Εισαγωγή

Τα φύκη είναι μία ομάδα οργανισμών, που αποτελούν τους κύριους παραγωγούς οξυγόνου, συμβάλλοντας στην παγκόσμια φωτοσύνθεση σε ποσοστό περίπου 40%, καθώς και τα κύρια μέλη των τροφικών αλυσίδων στα οικοσυστήματα του πλανήτη (Levasseur et al., 2020). Αν και η πλειοψηφία αυτών απαντάται κυρίως σε υδάτινα οικοσυστήματα, μπορούν να επιβιώσουν σε κάθε είδους περιβάλλον, όπως ερήμους, ηφαιστειακά νερά, πολύ όξινα και παγωμένα εδάφη (Lim and Schenk, 2017). Τα φύκη χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τα μακροφύκη, που συνήθως αναφέρονται ως και φύκια, που είναι μακροσκοπικοί και πολυκύτταροι οργανισμοί, και τα μικροφύκη, οι οποίοι είναι μικροσκοπικοί οργανισμοί και συνήθως απαντώνται στο θαλάσσιο και στο γλυκό νερό (Milledge, 2011; Spolaore et al., 2006). Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία θα γίνει εστίαση στην κατηγορία των μικροφυκών.

Τα μικροφύκη αποτελούν μια ετερογενή ομάδα μονοκύτταρων φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών, μεγέθους από ένα έως και εκατοντάδες μικρά (microns), που επιβιώνουν τόσο σε θαλάσσια ύδατα και σε περιβάλλοντα γλυκού νερού, όσο και σε λύματα, εξαιτίας της υψηλής τους αντοχής σε περιβαλλοντικό στρες (Εικόνα 1) (Abu-Ghosh et al., 2021; Barros de Medeiros et al., 2021; Zhu et al., 2014). Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με το τελευταίο μοντέλο ταξινόμησης των οργανισμών, που περιλαμβάνει τους Προκαρυώτες, που διαχωρίζεται στο βασίλειο των Ευβακτηρίων και σε εκείνο των Αρχαιοβακτηρίων, καθώς και στους Ευκαρυώτες, που διαχωρίζονται στο βασίλειο των Πρωτόζωων, Χρωμιστών, Φυτών, Μυκήτων και Ζώων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2, τα μικροφύκη ανήκουν τόσο στους Προκαρυώτες, όσο και στους Ευκαρυώτες. Η πλειονότητα των μικροφυκών ανήκει στους Ευκαρυώτες και κατανέμεται σε επτά συνομοταξίες, ενώ στους Προκαρυώτες υπάρχει μόνο μία συνομοταξία, τα κυανοβακτήρια, το οποίο μαζί με τη συνομοταξία Ετεροκοντόφυτα είναι τα πιο άφθονα σε σχέση με τις υπόλοιπες συνομοταξίες (Levasseur et al., 2020). Οι επιστήμονες έχουν υπολογίσει ότι υπάρχουν περίπου 200.000-800.000 είδη σε πολλά διαφορετικά γένη, από τα οποία περιγράφονται περίπου 50.000 είδη. Αν και η βιοποικιλότητα των μικροφυκών είναι τεράστια, αυτά αντιπροσωπεύουν ένα σχεδόν αναξιοποίητο πόρο (Wu et al., 2021).



Εικόνα 1: Καλλιέργειες μικροφυκών (Alam et al., 2020a).



Εικόνα 2: Κατανομή των συνομοταξιών μικροφυκών σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης των επτά βασιλείων (Levasseur et al., 2020).

Επιπλέον, τα φωτοσυνθετικά μικροφύκη εμφανίζουν πλεονεκτήματα έναντι των υπολοίπων οργανισμών και γι' αυτό το λόγο η επιστημονική κοινότητα έχει εστιάσει περισσότερο στη μελέτη τους για τις βιοτεχνολογικές εφαρμογές τους σε διάφορους τομείς τις τελευταίες δεκαετίες. Αρχικά, τα μικροφύκη μπορούν να αντλούν την ενέργειά τους από το φως του ηλίου και άνθρακα από ανόργανες πηγές. Συγκρίνοντας τα με τα ανώτερα φυτά, έχει παρατηρηθεί πως τα μικροφύκη παρουσιάζουν υψηλότερη ετήσια απόδοση μετατροπής φωτονίου σε βιομάζα, και συγκεκριμένα περίπου 3% έναντι του <math><1\%</math> στα ανώτερα φυτά, καθώς και ότι δεν επηρεάζονται από την εποχικότητα (Blankenship et al., 2011; Perin et al., 2019). Αυτό το χαρακτηριστικό σε συνδυασμό με τη μεγάλη ποικιλία διαφόρων στελεχών επιτρέπουν την παραγωγή πολύτιμων πρωτεϊνών, λιπιδίων, υδατανθράκων και δευτερογενών μεταβολιτών (όπως χρωστικών ουσιών) σε υψηλές αποδόσεις, που είναι υψηλής αξίας και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πράσινη πρώτη ύλη για πολλά προϊόντα. Αυτοί οι μεταβολίτες βιοσυντίθενται από διαφορετικά περίπλοκα μονοπάτια και η παραγωγή και η συσσώρευσή τους μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες, όπως βιοτικές και αβιοτικές περιβαλλοντικές συνθήκες (Abu-Ghosh et al., 2021; Tang et al., 2020). Ένα δεύτερο πλεονέκτημα των μικροφυκών είναι ότι μπορούν να καλλιεργηθούν σε ποικίλα υποστρώματα, όπως θαλάσσιο ή γλυκό νερό, λύματα ή σε μη γεωργική γη χωρίς φυτοφάρμακα, επομένως δεν διακυβεύεται η παραγωγή τροφίμων ή άλλων προϊόντων από καλλιέργειες, κάτι που συμβαίνει με τα ανώ-

τερα φυτά. Ακόμη, είναι σε θέση να ανακυκλώνουν το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) της ατμόσφαιρας, οδηγώντας στην ελαχιστοποίηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Επί του παρόντος, η βιοτεχνολογία των μικροφυκών αυξάνεται σταθερά και ανοδικά και μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τέσσερις κύριους ερευνητικούς τομείς, συμπεριλαμβανομένης της επεξεργασίας λυμάτων, της δέσμευσης CO₂, της παραγωγής βιοκαυσίμων και της παραγωγής δραστικών ουσιών υψηλής προστιθέμενης αξίας (Levasseur et al., 2020). Οι τρεις πρώτοι τομείς έχουν διερευνηθεί και αναθεωρηθεί σε μεγάλο βαθμό τις τελευταίες δεκαετίες, και τώρα παρατηρείται μια στροφή στο επίκεντρο των εφαρμογών μικροφυκών, όπου επιστήμονες και παραγωγοί εστιάζουν κυρίως στην παραγωγή συστατικών υψηλής προστιθέμενης αξίας και όχι σε περιβαλλοντικές εφαρμογές (Wu et al., 2021).

Σήμερα, η πιο προηγμένη τεχνολογία για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών είναι η εφαρμογή φωτοβιοαντιδραστήρων (PBRs) (Kholssi et al., 2021a). Όμως, οι προηγμένες μεθοδολογίες στη γενετική μηχανική προσφέρουν πολλά υποσχόμενες δυνατότητες για την αύξηση της παραγωγικότητας των μικροφυκών. Κυρίως γίνονται προσπάθειες για την ανάπτυξη στοχευμένων εργαλείων γονιδιακής επεξεργασίας (π.χ. τεχνολογία CRISPR/Cas9) και στην επινόηση μεθόδων ελέγχου υψηλής απόδοσης για γρήγορες και ισχυρές προσεγγίσεις βελτίωσης του στελέχους. Μέχρι σήμερα υπάρχουν περισσότερα από 15.000 χαρακτηρισμένα και πλήρως αλληλουχημένα γονίδια ενζύμων φυκών, τα οποία είναι διαθέσιμα στην GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>). Κρίνεται αναγκαίο να γίνουν περισσότερες μελέτες γονιδιώματος φυκών στο άμεσο μέλλον, ώστε να διευκολυνθεί η πρόσβαση σε λειτουργικά και ζωτικά γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων, που θα χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικές βιοτεχνολογικές εφαρμογές στη βιομηχανία (Abu-Ghosh et al., 2021; Lin et al., 2019).

2. Κύριο μέρος

2.1 Μικροφύκη στη Βιομηχανία Τροφίμων και Καλλυντικών

Αξιοσημείωτο είναι πως η χρήση των φυκών στην παραγωγή τροφίμων δεν είναι πρόσφατη. Μια έρευνα βρήκε στοιχεία πως τα φύκια χρησιμοποιούνταν ως τρόφιμα και φάρμακα πριν από 14.000 χρόνια και συγκεκριμένα από τους Αζτέκους (1300-1521 μ.Χ.) και άλλους Μεσοαμερικάνους πριν από την Κατάκτηση, που κατανάλωναν *Spirulina* (*Arthrospira*) από τη λίμνη Texcoco με τη μορφή ξηρού κέικ, γνωστό ως *tecuitlatl* (Εικόνα 3) (Alam et al., 2020; Kholssi et al., 2021). Τα μικροφύκη καλλιεργούνται και καταναλώνονται για αρκετές δεκαετίες σε πολλές χώρες, με τις κυριότερες την Κίνα, την Ιαπωνία, Ταϊβάν και Αυστραλία (Gao, 1998; Kholssi et al., 2021). Τα τελευταία χρόνια, τα μικροφύκη έχουν εμπορευματοποιηθεί στην αγορά των τροφίμων, όπου περιλαμβάνονται και τα συστατικά των λειτουργικών τροφίμων και ποτών, αλλά δεν έχουν εγκριθεί σε ορισμένες χώρες (Bagchi, 2006; Wells et al.,

2017). Μεταξύ των διαφόρων ειδών μικροφυκών, ορισμένα παραδείγματα αυτών που χρησιμοποιούνται στην ανθρώπινη διατροφή, είτε υπό τη μορφή εκχυλισμάτων είτε βιοδραστικές ουσίες προερχόμενες από αυτά, είναι τα πράσινα φύκια (χλωρόφυτα), όπως τα *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana* και *Diacronema vlkianum*, καθώς και η *Spirulina (Arthrospira)* και το *Aphanizomenon flosaquae* από τα κυανοβακτήρια (Kholssi et al., 2021).



Εικόνα 3.: Συγκομιδή *Spirulina (Arthrospira)* Αζτέκων από τη λίμνη Texcoco (Alam et al., 2020)

Όσον αφορά τα καλλυντικά, πρόκειται για μία κατηγορία προϊόντων, που έχουν ως στόχο τη βελτίωση της δομής, της μορφολογίας και της εμφάνισης του δέρματος ή των εξωτερικών μερών του σώματος. Το δέρμα είναι το εξωτερικό όργανο του σώματος και ως εκ τούτου λειτουργεί ως πρωταρχικός φραγμός, ώστε να μη διαφεύγουν ενδογενείς ουσίες, καθώς και να μη διεισδύουν εξωτερικοί παράγοντες στο ανθρώπινο σώμα. Επιπρόσθετα, καθώς αυτό αποτελεί τη διεπαφή μεταξύ περιβάλλοντος και οργανισμού, θεωρείται στόχος πολλών και διάφορων εξωγενών παραγόντων, όπως η υπεριώδης ακτινοβολία, τα παθογόνα, η ρύπανση και άλλες τοξικές ενώσεις. Συνήθως, αυτοί οι παράγοντες είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου και άλλων ελευθέρων ριζών, που είναι προφλεγμονώδεις μεσολαβητές και είναι ικανοί να προκαλέσουν πολλές επιβλαβείς επιπτώσεις, όπως βλάβη στο DNA, οξειδωτικό στρες, φωτογήρανση και καρκινογένεση (Ariede et al., 2017; Vinardell and Mitjans, 2015).

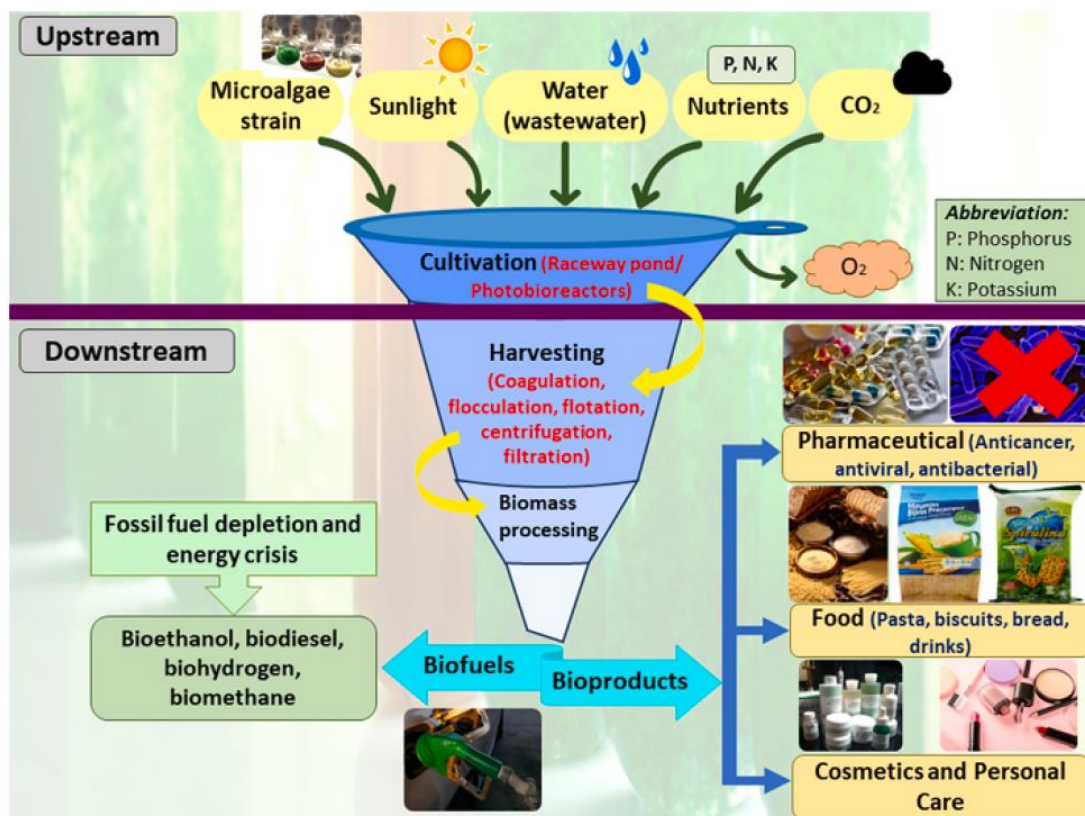
Επιπλέον, σήμερα στη βιομηχανία καλλυντικών έχουν αναδυθεί διάφορα προβλήματα υγείας, όπως η αλλεργική αντίδραση και η υπερδραστηριότητα του ανοσοποιητικού συστήματος, που είναι αποτελέσματα της χρήσης συνθετικών ενώσεων. Γι' αυτό το λόγο, η τρέχουσα παγκόσμια τάση των καταναλωτών, που παρατηρείται είναι η χρήση φυσικών προϊόντων, που παράγονται από φυσικούς πόρους, είναι μη τοξικά και μπορούν να λειτουργήσουν ως καλλυντικά. Επομένως, μία εναλλακτική είναι η ένταξη των μικροφυκών στη βιομηχανία καλλυντικών. Όπως προαναφέρθηκε, τα μικροφύκη παράγουν μεταβολίτες ως απόκριση στις αλλαγές του περιβάλλοντος, των οποίων η κύρια λειτουργία τους συνδέεται με την ικανότητα του κυττάρου να αναγεννάται και να αυτοπροστατεύεται υπό δυσμενείς συνθήκες. Σε αυτό το πλαίσιο, θεωρείται ότι αυτές οι χημικές ενώσεις των μικροφυκών θα μπορούσαν να προκαλέσουν αποτέλεσμα, όταν αυτές εφαρμόζονται στο δέρμα. Μεταξύ των βιοδραστικών ουσιών, που εξάγονται από μικροφύκη, μπορούν δυνητικά να χρησιμοποιηθούν στη σύνθεση καλλυντικών κυρίως ουσίες με έντονη αντιοξειδωτική δράση, όπως η ασταξανθίνη και η C-φυκοκυανίνη (Carorgno and Mathys, 2018a; Tang et al., 2020).

Λόγω της ραγδαίας αύξησης του παγκόσμιου πληθυσμού, παρατηρείται αύξηση της ζήτησης για ενέργεια, τρόφιμα, νερό, φάρμακα και άλλους πόρους. Τα μικροφύκη είναι ένας από τους πιο ανεκμετάλλετους υδρόβιους οργανισμούς και προσελκύουν ιδιαίτερα την προσοχή των ερευνητών παγκοσμίως για να αντιμετωπίσουν τις υψηλές απαιτήσεις από την παγκόσμια πληθυσμιακή αύξηση (Tang et al., 2020). Διάφορες επιστημονικές μελέτες έχουν δείξει την προοπτική της χρήσης των μικροφυκών ως μια αξιόπιστη και βιώσιμη πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων και ποικίλων βιοδραστικών συστατικών, όπως πολυσακχαρίτες, λιπίδια, πρωτεΐνες, ένζυμα, βιταμίνες και καρροτενοειδή, που μπορούν να εμπορευματοποιηθούν σε διάφορες βιομηχανίες (Barkia et al., 2019; Chew et al., 2018). Επίσης, υπάρχουν ορισμένα χαρακτηριστικά που διαθέτουν τα μικροφύκη, που επιτρέπουν την ευρεία εκμετάλλευσή τους, όπως γρήγορος ρυθμός ανάπτυξης, απλές απαιτήσεις καλλιέργειας (νερό, ηλιακό φως, CO₂) και η ικανότητα επιβίωσης σε ακραίες συνθήκες. Περίπου 7000 τόνοι ξηρής βιομάζας φυκών παράγονται παγκοσμίως ετησίως και η παγκόσμια αγορά βιομάζας φυκών αξίζει μεταξύ 3,8 και 5,4 δισεκατομμύριων δολαρίων, γεγονός που δείχνει ότι η βιομηχανία μικροφυκών κερδίζει δημοτικότητα παγκοσμίως και ότι τα μικροφύκη μπορούν να χρησιμοποιηθούν εκτενώς μέσω της ενσωμάτωσης σε βιομηχανικά προϊόντα για διαφορετικούς τομείς, όπως στη βιομηχανία φαρμάκων, τροφίμων και καλλυντικών (Tang et al., 2020).

2.2 Μέθοδοι καλλιέργειας μικροφυκών και εκχύλισης βιοδραστικών τους συστατικών

Η διαδικασία εξαγωγής βιομορίων από βιομάζα μικροφυκών ξεκινά με την επιλογή του κατάλληλου στελέχους μικροφυκών, καθώς και τις συνθήκες καλλιέργειας (ανοδική διαδικασία) και ακολουθείται από την προεπεξεργασία, τη συγκομιδή, την εκχύλιση και τον καθαρισμό

(καθοδική διαδικασία). Τα βιοκαύσιμα και τα βιοπροϊόντα είναι τα τελικά προϊόντα της διαδικασίας (Εικόνα 4). Μια επιτυχημένη μέθοδος καλλιέργειας αναφέρεται στη μέθοδο με την οποία τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε πιλοτική κλίμακα για να παραχθεί μεγάλη ποσότητα βιομάζας και στη συνέχεια να συντεθεί μεγάλη ποσότητα ενώσεων υψηλής αξίας. Τα μικροφύκη μπορούν να καλλιεργηθούν κατά παρτίδες, τροφοδοσίας-παρτίδας ή συνεχώς σε ανοιχτά ή κλειστά συστήματα με διαφορετικούς τρόπους καλλιέργειας. Μόλις τα μικροφύκη φτάσουν στο ώριμο στάδιο, η συγκομιδή, που περιλαμβάνει χημικές, βιολογικές, μηχανικές ή ηλεκτρικές μεθόδους, αποτελεί ένα σημαντικό βήμα για το διαχωρισμό της βιομάζας των μικροφυκών από το μέσο καλλιέργειας. Αυτή επιτρέπει την αποτελεσματική εξαγωγή και καθαρισμό ενώσεων υψηλής αξίας από τη βιομάζα των μικροφυκών για περαιτέρω επεξεργασία (Tang et al., 2020).



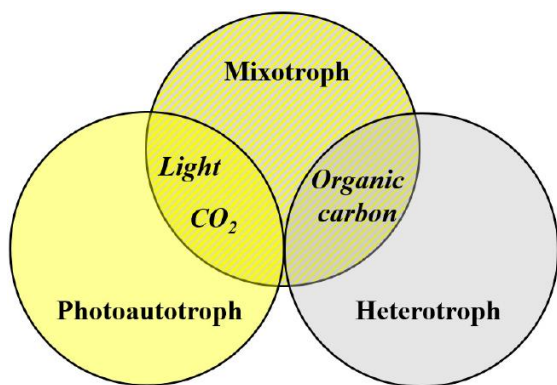
Εικόνα 4.: Η διαδικασία της παραγωγής βιοκαυσίμων και βιοδραστικών συστατικών από μικροφύκη σε βιομηχανική κλίμακα (Tang et al., 2020).

2.2.1 Μέθοδοι καλλιέργειας μικροφυκών

Η καλλιέργεια μικροφυκών είναι το προκαταρκτικό βήμα στην παραγωγή βιοδραστικών ενώσεων. Τρεις είναι οι τύποι τεχνικών καλλιέργειας: κατά παρτίδες, τροφοδοσία-παρτίδα (ημισυνεχής), και συνεχής καλλιέργεια. Όσον αφορά την καλλιέργεια κατά παρτίδες, πρόκειται για ένα σύστημα, στο οποίο τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε κλειστό δοχείο ή περιβάλλον με

σταθερές συνθήκες και χωρίς τη συνεχόμενη προσθήκη θρεπτικών ουσιών (Tang et al., 2020). Αν και αυτή η τεχνική καλλιέργειας είναι η ευκολότερη, σε αυτό το κλειστό σύστημα η κατανάλωση των θρεπτικών και η συσσώρευση τοξικών ουσιών, εκκρινόμενες από τα ίδια τα κύτταρα οδηγεί στο θάνατο μεγάλου αριθμού μικροφυκών (Zhu, 2015). Αντίθετα σε μία καλλιέργεια τροφοδοσίας-παρτίδας, τα μικροφύκη τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά και ταυτόχρονα πραγματοποιείται απόρριψη των εκκρινόμενων λυμάτων και αποβλήτων, προκειμένου να διατηρηθεί ίδια η συγκέντρωση του μέσου καλλιέργειας στο σύστημα. Τα προαναφερόμενα χαρακτηριστικά την καθιστούν περισσότερο αποτελεσματική και αξιόπιστη από την καλλιέργεια κατά παρτίδες. Όμως, τα μειονεκτήματά της είναι η δυσκολία στον έλεγχο και την παρακολούθηση της εμφάνισης μόλυνσης και αποκλίσεων στο πρότυπο ανάπτυξης μικροφυκών, εάν η τροφοδοσία εφαρμόζεται σε ένα σταθερό σύστημα χωρίς έλεγχο ανάδρασης (Tan et al., 2018). Η συνεχής καλλιέργεια είναι παρόμοια με την καλλιέργεια κατά παρτίδες με τη διαφορά ότι η εισαγωγή νέου μέσου ή θρεπτικών συστατικών προστίθεται μόνο όταν τα μικροφύκη φτάσουν στην εκθετική φάση ανάπτυξης, επιτρέποντας τα μικροφύκη να αναπτυχθούν, ακολουθώντας το φυσιολογικό κύκλο ανάπτυξης. Αυτή η τεχνική καλλιέργειας παρουσιάζει υψηλό ρυθμό παραγωγής και επιπλέον ο χειρισμός της συγκέντρωσης των θρεπτικών συστατικών και του pH είναι εύκολος (Tang et al., 2020). Αν και η συνεχής καλλιέργεια φαίνεται να είναι η πιο δημοφιλής τεχνική καλλιέργειας σε σύγκριση με τις άλλες δύο, ωστόσο δεν ευνοείται στη βιομηχανική κλίμακα λόγω του υψηλού κινδύνου μόλυνσης, καθώς και της δυσκολίας και της πολυπλοκότητας της διαδικασίας (Thomas, 2015).

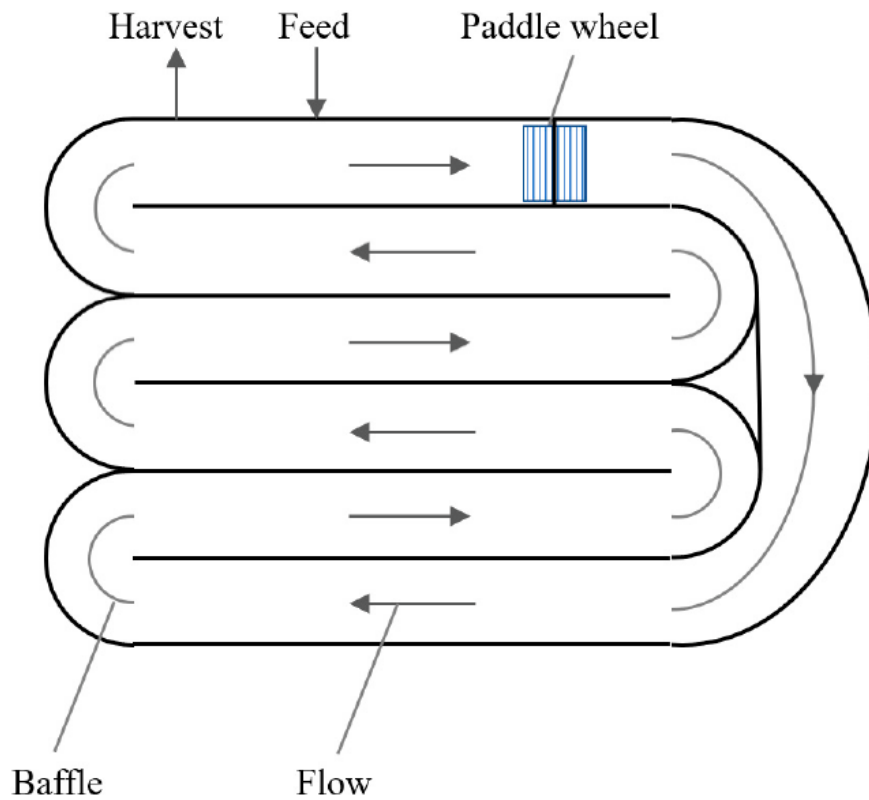
Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή, τα μικροφύκη αντλούν την ενέργειά τους από το φως και τη μετατρέπουν σε χημική ενέργεια μέσω της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης. Η χρήση της ενέργειας από τα φωτόνια για τη διεξαγωγή μεταβολικών διεργασιών είναι γνωστή ως φωτοαυτοτροφική ανάπτυξη, ενώ μερικά μικροφύκη μπορούν να αναπτυχθούν στο σκοτάδι, χρησιμοποιώντας οργανικές ενώσεις ως πηγές άνθρακα και ενέργειας και αυτή η ανάπτυξη είναι γνωστή ως ετερότροφη. Η μιξοτροφική ανάπτυξη συμβαίνει όταν τα μικροφύκη εκτελούν φωτοσύνθεση ως κύρια πηγή ενέργειας και χρησιμοποιούν τόσο ανόργανες, όσο και οργανικές ενώσεις ως πηγές άνθρακα για ανάπτυξη. Τα είδη μικροφυκών, που είναι κατάλληλα να αναπτυχθούν υπό μιξοτροφική καλλιέργεια, μπορούν να ζήσουν είτε σε φωτοαυτοτροφικές συνθήκες είτε σε ετερότροφες συνθήκες ή και στα δύο ανάλογα με τη συγκέντρωση των οργανικών ενώσεων και την ένταση του φωτός που είναι διαθέσιμη (Εικόνα 5) (Chew et al., 2018; Grossmann et al., 2020).



Εικόνα 5: Πηγές ενέργειας και άνθρακα στις διάφορες κατηγορίες ανάπτυξης μικροφυκών (Kratzer & Murkovic, 2021).

Υπάρχουν δύο τύποι συστημάτων που διατίθενται για τη φωτοαυτοτροφική καλλιέργεια μικροφυκών σε βιομηχανικό επίπεδο, οι οποίοι διακρίνονται σε ανοιχτό σύστημα και σε κλειστό σύστημα. Τα ανοιχτά συστήματα σχεδιάζονται γενικά ως λίμνες με τροχό κουπιών και βάθος 0,2 m–0,5 m για την επίτευξη της ροής των θρεπτικών ουσιών και του νερού μαζί με τα μικροφύκη για τη διασφάλιση της συνεχούς έκθεσής τους σε αυτά και να είναι εφικτή η διατήρηση της ακεραιότητας της λίμνης. Η λειτουργία αυτών των τεχνητών λιμνών είναι συνεχής με τη διαρκή προσθήκη CO₂ και θρεπτικών ουσιών για να διατηρείται ισορροπία στο σύστημα, ενώ ταυτόχρονα τα μικροφύκη εκδιώκονται από τη δεξαμενή στο αντίθετο άκρο. Για να επιτευχθεί η βέλτιστη απόδοση, ο όγκος νερού που συνιστάται να λάβει χώρα η καλλιέργεια των μικροφυκών σε μία τέτοια λίμνη είναι μέχρι 30 m³ (Εικόνα 6) (Grossmann et al., 2020; Santos-Sánchez et al., 2016). Αντίθετα, τα κλειστά συστήματα, τα οποία είναι επίσης γνωστά ως φωτοβιοαντιδραστήρες, είναι αντιδραστήρες που χρησιμοποιούν τη φωτεινή ενέργεια για τη διεξαγωγή μιας φωτοβιολογικής αντίδρασης και συνήθως χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων βιομάζας μικροφυκών υπό ελεγχόμενες συνθήκες (Tang et al., 2020). Ο φωτοβιοαντιδραστήρας αποτελείται από πλαστικό ή γυαλί, που έχει σχεδιαστεί σε τρεις διαμορφώσεις: σπειροειδείς σωλήνες, επίπεδα πάνελ και στήλη φυσαλίδων (Εικόνα 7) (Grossmann et al., 2020; Santos-Sánchez et al., 2016). Περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά τα πλεονεκτήματα και τις προκλήσεις του κάθε τύπου βιοαντιδραστήρα, που χρησιμοποιείται για την παραγωγή μικροφυκών, δίνονται στον Πίνακα 2 της ανασκόπησης των Siddiki et al., (2022). Όσον αφορά το κόστος αγοράς, σε σχέση με τα ανοιχτά συστήματα, ένας κλειστός φωτοβιοαντιδραστήρας είναι πολύ ακριβός λόγω του υψηλού κόστους κεφαλαίου (Fernandez, 2019). Λόγω του υψηλού κόστους παραγωγής βιομάζας, η Agnes Janoska και η ομάδα της είχαν δημιουργήσει ένα νέο κλειστό σύστημα καλλιέργειας μικροφυκών, που ήταν ένας φωτοβιοαντιδραστήρας υγρής μορφής για να μειώσει το κόστος συγκομιδής και τις ενεργειακές απαιτήσεις. Ήταν ένας εναλλακτικός φωτοβιοαντιδραστήρας σε σύγκριση με τους υπάρχοντες υγρής φάσης και λειτουργούσε με βάση την έκθεση μεγά-

λου όγκου αφρού στον φωτισμό και τη συνεχή παροχή αερίου στο ρηχό στρώμα καλλιέργειας στον πυθμένα του αντιδραστήρα (Janoska, Andriopoulos, et al., 2018; Janoska, Barten, et al., 2018; Janoska et al., 2017). Επομένως, το κλειστό σύστημα καλλιέργειας είναι το καταλληλότερο σύστημα για την καλλιέργεια μικροφυκών, καθώς οι συνθήκες καλλιέργειας μπορούν να ελεγχθούν, αλλά περιορίζεται από το υψηλό κόστος παραγωγής και την παραγωγή μικρότερης ποσότητας βιομάζας (Tang et al., 2020).



Εικόνα 6: Σχέδιο ανοιχτού συστήματος, που χρησιμοποιείται σε φωτοτροφική καλλιέργεια μικροφυκών (Kratzer & Murkovic, 2021).



Εικόνα 7: Καλλιέργεια *Arthrospira platensis* σε βιοαντιδραστήρα τύπου στήλης φουσαλίδων (Kratzer & Murkovic, 2021).

Είναι σημαντικό να ληφθούν υπόψη αρκετοί εξωτερικοί παράγοντες στην καλλιέργεια μικροφυκών στους φωτοβιοαντιδραστήρες και συγκεκριμένα η διαθεσιμότητα φωτός για να εξασφαλιστούν οι βέλτιστες συνθήκες μεταξύ φωτοπεριορισμού και φωτοαναστολής, η θερμοκρασία, η οποία συνήθως πρέπει να είναι $< 35^{\circ}\text{C}$, και η ποιότητα του νερού, συμπεριλαμβανομένης της περιεκτικότητας σε μεταλλικά στοιχεία ή ρύπους βαρέων μετάλλων. Επιπλέον, τα μικροφύκη μπορούν να συσσωρεύουν τοξικές ενώσεις στο εσωτερικό των κυττάρων τους, γεγονός που επηρεάζει το ρυθμό ανάπτυξής τους και ειδικά την ποιότητα της τελικής βιομάζας, κάτι που μπορεί να δημιουργήσει σημαντικά προβλήματα για μεταγενέστερες χρήσεις τους στα τρόφιμα και καλλυντικά (Grossmann et al., 2020). Ακόμη, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι εξής ρυθμιζόμενες παράμετροι, που είναι ικανές να επηρεάσουν την καλλιέργεια, όπως η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, π.χ. άζωτο, φώσφορο, άνθρακα, κάλιο και άλλα θρεπτικά συστατικά, το pH και οι ρυθμοί μεταφοράς αερίων, π.χ. μεταξύ CO_2 και O_2 . Μετά την καλλιέργεια, η βιομάζα συλλέγεται σε συμπυκνωμένη μορφή μέσω τεχνικών διήθησης ή φυγοκέντρησης και/ή να ξηραθεί ή να υποστεί περαιτέρω επεξεργασία (Grossmann et al., 2020; Markou et al., 2014).

Σε μια ετερότροφη καλλιέργεια, που πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια πηγή άνθρακα για την παροχή ενέργειας, συνήθως προστίθεται οξικό οξύ ή γλυκόζη, απουσία φωτός και χρησιμοποιούνται συμβατικοί βιοαντιδραστήρες, οι οποίοι είναι συχνά αναδεδυμένοι και από ανοξείδωτο χάλυβα, που απαρτίζονται από αναδευτήρα, αισθητήρες, διαφράγματα, αποστειρωμένες βαλβίδες για συγκομιδή, μέσο ανάπτυξης και παροχή αερίου (Grossmann et al., 2020; S. Kim et al., 2013; Lowrey et al., 2015). Οι καλλιέργειες πρέπει να διατηρούνται αξονικές και να καλλιεργείται ένα είδος κάθε φορά, ώστε να μην αναπτυχθούν ανταγωνιστικές σχέσεις μεταξύ των μικροφυκών σε περίπτωση, που καλλιεργηθούν μαζί παραπάνω από ένα είδος. Η καλλιέργεια αερίζεται συνεχώς με O₂ και το CO₂ εκρέει, που παράγεται από τα μικροφύκη κατά την αναπνοή. Τέλος, οι βιοαντιδραστήρες θα πρέπει να σχεδιάζονται έτσι ώστε να μπορούν εύκολα να καθαρίζονται και να αποστειρώνονται στη συγκεκριμένη θέση τους για να διατηρηθεί η αξονική κατάσταση της καλλιέργειας (Grossmann et al., 2020; Perez-Garcia et al., 2011).

Οι μέθοδοι συγκομιδής μικροφυκών περιλαμβάνουν τη διαδικασία απομόνωσης ή απομάκρυνσης της βιομάζας μικροφυκών από το μέσο ανάπτυξης και διακρίνονται σε χημικές, φυσικές, ηλεκτρικές ή βιολογικές μεθόδους. Οι συνήθεις μέθοδοι που εφαρμόζονται για τη συλλογή μικροφυκών περιλαμβάνουν την καθίζηση, επίπλευση, πήξη και κροκίδωση, φυγοκέντρηση, ηλεκτροφόρηση και διήθηση (Tang et al., 2020). Για να εξασφαλιστεί αποτελεσματική απόδοση συγκομιδής από μικροφύκη υπάρχουν ορισμένα κριτήρια για την επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου για την αφαίρεση του μέσου καλλιέργειας από τη βιομάζα μικροφυκών, όπως το χαμηλό κόστος παραγωγής, μεγάλη ποσότητα βιομάζας σε μαζική κλίμακα, καλή ποιότητα των βιοδραστικών ενώσεων που συλλέγονται και σύντομος χρόνος επεξεργασίας τους, εξαρτώμενος από τα είδη και χωρίς ρύπους. ατ (Singh & Patidar, 2018). Η μέθοδος συγκομιδής μπορεί να αυξήσει το συνολικό κόστος παραγωγής κατά 20-30%. Επομένως, για να επιτευχθεί ο επιθυμητός διαχωρισμός υγρού-στερεού ή ο ρυθμός ανάκτησης βιομάζας σε πιλοτική κλίμακα, χρειάζεται μια κατάλληλη μέθοδος συγκομιδής, που περιλαμβάνει έναν ή περισσότερους συνδυασμούς μεθόδων (Mata et al., 2010). Περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά τα πλεονεκτήματα και τις προκλήσεις κάθε τεχνικής συγκομιδής των μικροφυκών βρίσκονται στον Πίνακα 3 της ανασκόπησης των Siddiki et al. (2022)

2.2.2 Μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού βιοδραστικών ουσιών από μικροφύκη

Διάφορες μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού χρησιμοποιούνται για την ανάκτηση στοχευμένων βιοδραστικών ενώσεων από τη βιομάζα μικροφυκών. Οι βιοδραστικές ενώσεις, που μπορούν να απομονωθούν από μικροφύκη, ανήκουν στις εξής γενικές κατηγορίες βιομορίων: λιπίδια, πολυσακχαρίτες, πεπτιδία και άλλους μεταβολίτες, κατηγορίες που θα παρουσιαστούν αναλυτικά παρακάτω. Μετά την καλλιέργεια, τα κύτταρα συλλέγονται από το μέσο

καλλιέργειας είτε μέσω διήθησης είτε φυγοκέντρωσης και υποβάλλονται σε επεξεργασία, ώστε να εξαχθεί ένα συστατικό με δυνατότητα αξιοποίησης στα τρόφιμα ή τα καλλυντικά. Οι μορφές των μικροφυκών, που αξιοποιούνται, είναι είτε σε μορφή πλήρους βιομάζας, όπως στα συμπληρώματα διατροφής ή στα λειτουργικά τρόφιμα, π.χ. *Chlorella* και *Arthrospira*, είτε στη μορφή καθαρών εκχυλισμάτων βιοδραστικών συστατικών ή συνδυασμό αυτών, που παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιγηραντικές ιδιότητες και άλλες, και χρησιμοποιούνται τόσο στη βιομηχανία τροφίμων, όσο και στη βιομηχανία καλλυντικών (Barkia et al., 2019). Τα συστατικά είναι διαθέσιμα σε διάφορες μορφές, π.χ. ένα παστεριωμένο, αποστειρωμένο ή κατεψυγμένο συμπύκνωμα, που παράγεται με τεχνικές φυγοκέντρωσης, εξάτμισης ή διήθησης (~35–50% ξηρή ύλη), ή σκόνες, που παράγονται με ψεκασμό, κατάψυξη ή ξήρανση με τύμπανο (~95% ξηρή ύλη). Η μορφή συστατικών, που θα επιλεγεί, εξαρτάται από την προβλεπόμενη χρήση στο τελικό προϊόν και επίσης θα πρέπει να ληφθεί υπόψη η διάρκεια ζωής της επεξεργασμένης βιομάζας (Grossmann et al., 2020; Schuck et al., 2015).

Μεταξύ των βιοδραστικών συστατικών, τα λιπίδια έχουν λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή για εκχύλιση και εμπορευματοποίηση. Το λιπιδικό κλάσμα των μικροφυκών αποτελείται κυρίως από: α) ουδέτερα λιπίδια, που περιλαμβάνουν ακυλογλυκερόλες, ελεύθερα λιπαρά οξέα και καροτενοειδή, και β) πολικά λιπίδια, όπως διάφορα φωσφολιπίδια και γαλακτολιπίδια. Επιπλέον, το προφίλ λιπαρών οξέων των μικροφυκών χαρακτηρίζεται γενικά από ένα μείγμα κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων C16 και C18, καθώς και από μεγαλύτερα μήκη ανθρακικής αλυσίδας, συμπεριλαμβανομένων πολλών ωμέγα λιπαρών οξέων (Rodolfi et al., 2009; Williams & Laurens, 2010). Η εκχύλιση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) απαιτεί αρχικά την κυτταρική λύση έτσι, ώστε να μεγιστοποιηθεί η ανάκτηση ελαίου και πραγματοποιείται συνήθως, χρησιμοποιώντας μη πολικούς οργανικούς διαλύτες ή μείγματα διαλυτών, όπως χλωροφόρμιο-μεθανόλη και εξάνιο-ισοπροπανόλη (Barkia et al., 2019). Μετά την εκχύλιση, ακολουθούν πρόσθετα στάδια επεξεργασίας, συμπεριλαμβανομένης της κλασματικής απόσταξης ή της κλασματικής κρυστάλλωσης, για τον διαχωρισμό των PUFAs από τα υπόλοιπα λιπίδια. Ωστόσο, αυτό το κλάσμα εξακολουθεί να μην είναι κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση λόγω της παρουσίας υπολειμμάτων, οσμής, γεύσης και θολής εμφάνισης. Γι' αυτό το λόγο απαιτείται περαιτέρω καθαρισμός, όπως διήθηση, λεύκανση, απόσπηση, στίλβωση και προσθήκη αντιοξειδωτικών για τη βελτίωση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής των PUFAs (Ward & Singh, 2005). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η χρήση μεγάλων ποσοτήτων διαλυτών για τη διαδικασία εκχύλισης δημιουργεί σοβαρές ανησυχίες για την υγεία, την ασφάλεια και το περιβάλλον. Συνεπώς, χρειάζονται περισσότερες ενέργειες στους τομείς της ανακύκλωσης διαλυτών, της αντικατάστασης των παραδοσιακών ορ-

γανικών διαλυτών με πράσινους διαλύτες και της εφαρμογής πιο βιώσιμων διαδικασιών (Barkia et al., 2019).

Όσον αφορά την εκχύλιση καροτενοειδών, συμπεριλαμβανομένων των καροτενίων και των ξανθοφύλλων, συνήθως αυτή περιλαμβάνει στάδια προεπεξεργασίας βιομάζας μέσω μεθόδων, όπως επεξεργασία οξέος-βάσης, ενζυμική λύση, μηχανική διαταραχή, για τη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος και των κυτταρικών μεμβρανών (Günerken et al., 2015). Στη συνέχεια, τα καροτενοειδή διαχωρίζονται από τη στερεά βιομάζα, χρησιμοποιώντας παραδοσιακές τεχνικές εκχύλισης με τη χρήση βασικών διαλυτών ή πιο φιλικές προς το περιβάλλον εναλλακτικές τεχνικές, όπως η εξαγωγή υπερκρίσιμου υγρού, εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων ή υπερήχων ή ενζύμων (Amaro et al., 2015; Foo et al., 2015). Τέλος, μπορεί να χρειαστούν πρόσθετα στάδια καθαρισμού, όπως προπαρασκευαστική χρωματογραφία, για τη συμπύκνωση και τον καθαρισμό των στοχευόμενων κλασμάτων και την απομάκρυνση των μολυσματικών υπολειμμάτων (Barkia et al., 2019).

Περνώντας στην εκχύλιση πολυσακχαριτών, αυτή συνήθως πραγματοποιείται με ζεστό νερό. Αυτή η μέθοδος έχει το πλεονέκτημα της απλότητας και της ευκολίας επεκτασιμότητας, είναι όμως χρονοβόρα και έχει χαμηλή απόδοση εκχύλισης (Xu et al., 2017; Zhang et al., 2010). Ως εκ τούτου, έχουν αρχίσει να εφαρμόζονται αρκετές νέες τεχνικές εκχύλισης για την αύξηση της απόδοσης πολυσακχαριτών από κυτταρική καλλιέργεια, με τις πιο δημοφιλείς να είναι η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων, υπερήχων και ενζύμων. Έχει παρατηρηθεί ότι η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων έχει το μικρότερο χρόνο και την υψηλότερη απόδοση εκχύλισης σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο (Yuan & Macquarrie, 2015). Ωστόσο, αυτή η διαδικασία μπορεί να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στη χημική δομή των πολυσακχαριτών και έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το ιξώδες των διαλυμάτων αμύλου (Tsubaki et al., 2016). Ακόμη, η υποβοηθούμενη με υπερήχους εκχύλιση έχει επίσης υψηλή απόδοση εκχύλισης σε σχέση με τη συμβατική εκχύλιση ζεστού νερού και δεν αλλάζει σημαντικά τη χημική δομή των πολυσακχαριτών, όπως των αλγινικών και των καραγενανών σε σχέση με την υποβοηθούμενη από μικροκύματα εκχύλιση (Rahimi et al., 2016; W. Tang et al., 2016). Τέλος, όσον αφορά τον καθαρισμό, που απαιτείται συνήθως μετά την εκχύλιση πολυσακχαριτών για την απομάκρυνση των παρεμβαλλομένων ουσιών, όπως ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, λιπίδια και έγχρωμες ενώσεις φυκών πραγματοποιείται με διάφορες τεχνικές, όπως διαχωρισμό με μεμβράνη, χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων ή αποκλεισμού μεγέθους ή συγγένειας, καθώς και τη χρήση διαλυτών, π.χ. μείγμα μεθανόλης / χλωροφόρμιου / νερού (4:2:1, v/v/v) (Lim et al., 2014; Xu et al., 2017).

Για την παραγωγή βιοδραστικών πεπτιδίων έχουν χρησιμοποιηθεί πολυάριθμοι μέθοδοι, όπως η χημική υδρόλυση, η μικροβιακή ζύμωση, καθώς και η ενζυματική υδρόλυση. Ενώ η

μικροβιακή ζύμωση είναι σχετικά χαμηλού κόστους και εύκολα επεκτάσιμη, αυτή η μέθοδος έχει το μειονέκτημα των χαμηλών αποδόσεων στα προϊόντα, επειδή οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται για την υδρόλυση μπορούν επίσης να καταναλώσουν τα απελευθερωμένα πεπτιδία ή αμινοξέα ως υπόστρωμα για τη δική τους ανάπτυξη. Όσον αφορά τη χημική υδρόλυση, είναι δύσκολη στον έλεγχο της, καθώς χρησιμοποιούνται ισχυρά χημικά αντιδραστήρια χωρίς εξειδίκευση για πεπτιδικούς δεσμούς, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μη αναστρέψιμη βλάβη σε ορισμένα αμινοξέα (Barkia et al., 2019). Η καλύτερη επιλογή για την παραγωγή βιοδραστικών πεπτιδίων για την ανθρώπινη διατροφή και τα καλλυντικά έχει παρατηρηθεί πως είναι η ενζυματική υδρόλυση, καθώς είναι πολύ πιο εύκολο να ελεγχθεί, πραγματοποιείται σε ήπιες συνθήκες, που δεν προκαλούν αλλοίωση στη δομή των αμινοξέων και διατηρεί τη λειτουργικότητα και τη θρεπτική αξία των τελικών προϊόντων (Clemente, 2007; Gao et al., 2006). Επιπλέον, δεν απαιτεί τη χρήση μεγάλων ποσοτήτων οργανικών διαλυτών ή τοξικών χημικών ουσιών και βασίζεται σε διάφορες παραμέτρους, όπως την ειδικότητα του υποστρώματος, θερμοκρασία, pH, αναλογία ενζύμου/υποστρώματος, χρόνος αντίδρασης, και άλλες (S. K. Kim & Wijesekara, 2010; Xu et al., 2017). Ο καθαρισμός των βιοδραστικών πεπτιδίων είναι απαραίτητος για την ενίσχυση της συγκέντρωσης και της βιοδραστικότητας τους. Αυτά μπορούν να διαχωριστούν από τα υπόλοιπα βιομόρια με έναν αριθμό τεχνικών σύμφωνα με τις φυσικοχημικές τους παραμέτρους, όπως το μέγεθος, υδροφοβικότητα και φορτίο. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση πεπτιδίων περιλαμβάνουν χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους, υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντίστροφης φάσης (RP-HPLC) και χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων, με τη RP-HPLC να θεωρείται ως η πιο ισχυρή μέθοδος για τον καθαρισμό των πεπτιδίων (Ferreira et al., 2007).

2.3 Προκλήσεις στην παραγωγή μικροφυκών σε επίπεδο βιομηχανικής κλίμακας

Οι παρούσες τεχνολογίες όσον αφορά την καλλιέργεια και τη συγκομιδή μικροφυκών δεν είναι σε θέση να παράγουν τη μεγάλη ποσότητα βιομάζας μικροφυκών, η οποία ανέρχεται παραπάνω από 100 kt/έτος με κόστος παραγωγής κάτω από 1€/kg για βιομηχανικούς σκοπούς (Fernandez, 2019). Δηλαδή η εμπορική χρήση της βιομάζας μικροφυκών ως πηγή για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων εξακολουθεί να μην είναι οικονομική λόγω ορισμένων ζητημάτων και προκλήσεων παρά τις πολλές και εντατικές ερευνητικές προσπάθειες, που γίνονται για την αξιοποίηση των μικροφυκών (Caroigno & Mathys, 2018). Οι προκλήσεις αφορούν κυρίως την επεξεργασία των μικροφυκών, που καθορίζουν εάν η βιομάζα των μικροφυκών μπορεί να επιτύχει τη μέγιστη παραγωγή ενώσεων υψηλής αξίας για την παραγωγή ενός ολόκληρου έτους. Για παράδειγμα, οι αλλαγές σε ορισμένες παραμέτρους καλλιέργειας, όπως το pH, η ένταση φωτός, τα θρεπτικά συστατικά, η συγκέντρωση CO₂, η υ-

γρασία και η μόλυνση από άλλους μικροοργανισμούς, είναι ικανές να επηρεάσουν το τελικό προφίλ σύνθεσης βιομάζας. Εκτός από αυτές τις παραμέτρους, οι διάφοροι τύποι συστημάτων καλλιέργειας εξακολουθούν να αποτελούν μία πρόκληση για τη χρήση των μικροφυκών στην παραγωγή ενώσεων υψηλής αξίας. Το ανοιχτό σύστημα, το οποίο είναι χαμηλού κόστους, προτιμάται σε βιομηχανική κλίμακα σε σύγκριση με το κλειστό σύστημα, το οποίο έχει υψηλότερο κόστος και υψηλότερη παραγωγικότητα βιομάζας, αλλά είναι πιο επιρρεπές σε μολύνσεις. Επιπλέον, οι κλιματολογικές συνθήκες επηρεάζουν την απόδοση στην παραγωγή βιομάζας μικροφυκών, π.χ. σε περιοχές όπου ο ήλιος δεν ανατέλλει για πολλές συνεχόμενες ημέρες το χειμώνα, με αποτέλεσμα σε ανοιχτά συστήματα φωτοτροφικής καλλιέργειας να απαιτείται εξωτερική πηγή φωτός, αυξάνοντας το κόστος και επηρεάζοντας την ποσότητα της παραγόμενης βιομάζας (Manirafasha et al., 2016).

Επιπρόσθετα, τα στάδια εξαγωγής, απομόνωσης και καθαρισμού της βιομάζας μικροφυκών είναι πολύπλοκα και υψηλού κόστους. Η σύνθεση των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, των ενζύμων και άλλων ενώσεων, που παράγονται από τη βιομάζα των μικροφυκών είναι διαφορετική μεταξύ των ειδών. Ακόμη, οι βιοδραστικές ενώσεις, που παράγονται, μπορεί να είναι εύθραυστες, σε μικρή ποσότητα, να χαθούν ή να αλλοιωθούν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της εκχύλισης, καθιστώντας δύσκολη τη διαδικασία ανάλυσης και τη βιομηχανική κλιμάκωση. Συνεπώς, μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις είναι ο χαρακτηρισμός και η εξαγωγή μιας μόνο αποτελεσματικής ένωσης από τη βιομάζα μικροφυκών (Tang et al., 2020).

Τέλος, ακόμη ένα θέμα που πρέπει να αξιολογηθεί είναι η αποτελεσματικότητα των προϊόντων με βάση τα μικροφύκη. Η έρευνα σχετικά με την εφαρμογή των ιδιοτήτων των ενώσεων μικροφυκών, για παράδειγμα αντιοξειδωτικές, αντιυπερτασικές, αντικαρκινικές, νευροπροστατευτικές και αντιπηκτικές λειτουργίες, είναι περιορισμένη και τα πιθανά οφέλη για την υγεία δεν είναι εμφανή χωρίς τα δεδομένα από προκλινικές δοκιμές και κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους (Caroigno & Mathys, 2018). Με λίγα λόγια, το υψηλό κόστος των τεχνικών καλλιέργειας, εκχύλισης και συγκομιδής, καθώς και η χαμηλή απόδοση περιορίζουν τη χρήση μικροφυκών ως πηγή παραγωγής βιοδραστικών ενώσεων σε μαζική κλίμακα (Tang et al., 2020).

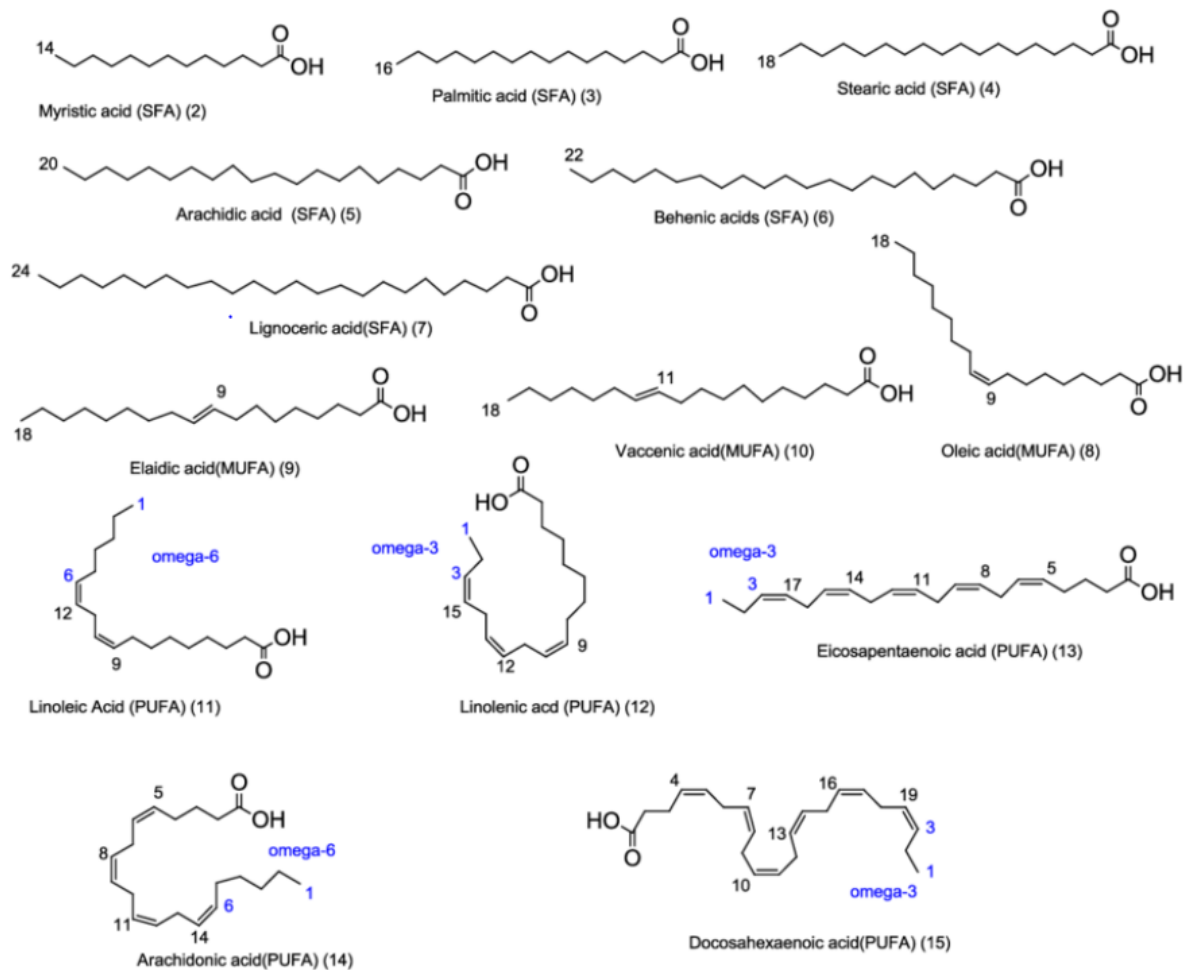
2.4 Κατηγορίες βιοδραστικών συστατικών

Έχει βρεθεί πως τα μικροφύκη παράγουν μια σειρά από βιοχημικά μόρια, συμπεριλαμβανομένων υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων, καθώς και απαραίτητων βιταμινών και μετάλλων. Η κυτταρική περιεκτικότητα κάθε κλάσματος ποικίλλει ανάλογα με το συγκεκριμένο στέλεχος των φυκών και τις φυσιολογικές τους αποκρίσεις σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες, όπως ένταση φωτός, φωτοπερίοδο, θερμοκρασία, θρεπτικά συ-

στατικά και φάση ανάπτυξης (Barkia et al., 2019). Στη συγκεκριμένη εργασία θα αναλυθούν οι εξής κατηγορίες βιοδραστικών ενώσεων από μικροφύκη, που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, χρωστικές ουσίες, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, πεπτίδια και νουκλεϊκά οξέα, και τέλος βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Περισσότερες πληροφορίες μπορεί κάποιος να λάβει από τον Πίνακα 3 της ανασκόπησης των Levasseur et al. (2020).

2.4.1 Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs)

Υπάρχουν δύο κύριες ομάδες λιπιδίων στα μικροφύκη: τα λιπίδια που παράγονται από τη φωτοσύνθεση και αποθηκεύονται στο κύτταρο γνωστά ως αποθηκευτικά λιπίδια, κυρίως τριγλυκερίδια, και τα λιπίδια, που αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της κυτταρικής δομής γνωστά ως δομικά λιπίδια, στα οποία ανήκουν τα φωσφολιπίδια και οι στερόλες (Hamed, 2016). Τα λιπαρά οξέα ανήκουν στα αποθηκευτικά λιπίδια, αποτελώντας δομικά συστατικά των φωσφολιπιδίων, γλυκολιπιδίων τριακυλογλυκερολών και ταξινομούνται ως κορεσμένα (SFAs), μονοακόρεστα (MUFAs) ή πολυακόρεστα (PUFAs) με βάση τον αριθμό των διπλών δεσμών με ελκυστικές ιδιότητες για τη βιομηχανία τροφίμων. Τα PUFAs ταξινομούνται ως ωμέγα 3 και 6 (ω3 και ω6), ανάλογα με τη θέση του πρώτου διπλού δεσμού σε σχέση με το τερματικό μεθυλικό άκρο της ανθρακικής αλυσίδας (Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Χημική δομή διαφόρων λιπαρών οξέων (Tesfamical F. & Ele E., 2016).

Είναι απαραίτητο όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί να έχουν μια μεγάλη δεξαμενή λιπαρών οξέων για την υγεία και την επιβίωση τους (Hamed, 2016; Wall et al., 2010). Οι άνθρωποι δεν μπορούν να συνθέσουν ενδογενώς τα PUFAs, που υπερβαίνουν τα 18 άτομα άνθρακα. Δεδομένου ότι είναι γνωστό ότι τα PUFAs παρέχουν οφέλη για την ανθρώπινη υγεία, η πρόσληψή τους απαιτεί εξωτερική χορήγηση μέσω της διατροφής (Wall et al., 2010). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα ψάρια και τα ανώτερα φυτά δεν συνθέτουν αυτά τα λιπαρά οξέα de novo, αλλά συσσωρεύουν εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, 20:5) και εικοσιδυαεξανοϊκό οξύ (DHA, 22:6), δύο PUFAs με ευεργετικές ιδιότητες για την ανθρώπινη υγεία (Εικόνα 8). Τα ψάρια συσσωρεύουν PUFAs, καθώς τρέφονται με μικροφύκη, που είναι πλούσια σε λιπίδια και λιπαρά οξέα, αν και ο τύπος και η ποσότητα ποικίλλουν σημαντικά ανάλογα με τη φυλογένεση και σε σχέση με τις εξωτερικές συνθήκες (περιβαλλοντικές ή καλλιέργειας), που επικρατούν (Handayania and Ariyantib, 2012; Pereira et al., 2019). Τα μικροφύκη είναι πηγή PUFAs μακράς αλυσίδας, και συγκεκριμένα της οικογένειας των ω6, όπως το γ-λινελαιϊκό οξύ (GLA, 18:3), το αραχιδονικό οξύ (AA, 20:4), και της οικογένειας ω3, όπως το EPA και το DHA (Εικόνα 8) (Handayania and Ariyantib, 2012; Wall et al., 2010). Επιπρόσθετα, αρκετές

μελέτες ανέδειξαν τη σημαντική φύση των PUFAs για την ανάπτυξη του ανθρώπινου νευρικού συστήματος και των οπτικών ικανοτήτων (Singh and Saxena, 2015), γεγονός που υποστηρίζεται και από την Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών και την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (<https://www.epa.gov/fish-tech/epa-fda-advice-about-eating-fish-and-shellfish>), καθώς και τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (<https://www.fao.org/3/i1953e/l1953E.pdf>). Τέλος, αυτά τα λιπαρά οξέα βοηθούν στη μείωση εμφάνισης διαφόρων χρόνιων ασθενειών, όπως διαβήτης, αρθρίτιδα, καρδιαγγειακές παθήσεις και παχυσαρκία (Hamed, 2016).

Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών σε δοκιμές σε ζώα και *in vitro* υποστηρίζουν τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες μαζί με τη βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας των ελαίων μικροφυκών, καθώς και των EPA και DHA (Wall et al., 2010). Όταν το συμπλήρωμα διατροφής EPA και DHA καταναλώνεται ημερησίως σε ποσότητα των 2gr, τότε αυτό καταστέλλει την ενεργοποίηση των TLR4, IL6 και IL8 σε κύτταρα λιπώδους ιστού και τροφοβλάστη, που απομονώνονται από τον λιπώδη ιστό και τον πλακούντα εγκύων γυναικών, που έλαβαν αυτή τη θεραπεία (Haghiac et al., 2015). Επιπλέον, οι Nauroth et al. (2010) ανέφεραν ότι η χρήση του εικοσιπενταενοϊκού οξέος (DPA), ενός άλλου ωμέγα-3 PUFA από το *Schizochytrium sp.*, ανέστειλε την διεγερμένη από το λιποπολυσακχαρίτη (LPS) έκκριση της ιντερλευκίνης (IL)-1-βήτα και του παράγοντα νέκρωσης όγκου-άλφα (TNF-α) σε ανθρώπινα μονοκύτταρα περιφερικού αίματος. Ακόμη, βρέθηκε πως κατόπιν διατροφής με έλαιο φυκών, το οποίο περιείχε DPA (16% των συνολικών λιπαρών οξέων) και DHA (40% των συνολικών λιπαρών οξέων), μειώθηκε σημαντικά η φλεγμονή οιδήματος ποδιού σε αρουραίους μοντέλα σε σύγκριση με τη συνθήκη ελέγχου (Nauroth et al., 2010).

Σήμερα, η κύρια πηγή των EPA και DHA στα τρόφιμα είναι τα λιπαρά ψάρια, όπως ο σολομός. Ωστόσο, τα PUFAs που προέρχονται από τη συγκεκριμένη πηγή έχουν χαμηλή οξειδωτική σταθερότητα, μπορούν να περιέχουν τοξίνες, καθώς και να απελευθερώνουν δυσάρεστη οσμή και γεύση, περιορίζοντας έτσι την εφαρμογή τους (Levasseur et al., 2020). Συνεπώς, αν και τα μικροφύκη φαίνεται να υπερτερούν ως εναλλακτική λύση στη χρήση του ιχθυελαίου, ωστόσο, αυτή η εναλλακτική περιορίζεται στην παραγωγή DHA (Ojdadjare et al., 2017; Ward and Singh, 2005). Πράγματι, μέχρι πρόσφατα, η παραγωγή ελαίου φυκών πλούσιου σε EPA περιοριζόταν σε εργαστηριακή κλίμακα, με αποτέλεσμα το DHA να είναι μέχρι στιγμής το μόνο προϊόν στην αγορά (Milledge, 2011; Yaakob et al., 2014). Τα πιο κοινά μικροφύκη που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του DHA είναι από τα γένη *Cryptocodinium*, *Schizochytrium* και *Ulkenia* που βρίσκονται στο βασίλειο των Χρωμιστών και είναι ικανά να συσσωρεύουν έως και περισσότερο από το 40% της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπαρά οξέα στο DHA (Levasseur et al., 2020). Γενικότερα, τα είδη μικροφυκών, που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των PUFAs, είναι τα *Phaeodactylum tricornutum*, *Monodus*

subterraneus, *Porphyridium cruentum*, *Chaetoceros calcitrans*, *Nannochloropsis sp.*, *Cryptothecodinium cohnii*, *Isochrysis galbana* και *Pavlova salina* (Levasseur et al., 2020; Mourelle et al., 2017a).

Ένα από τα παραδείγματα τροφίμων στα οποία αξιοποιούνται τα PUFAs των μικροφυκών είναι η προσθήκη *Diacronema vlk.* και *Isochrysis gal.* στα ζυμαρικά, ένα δημοφιλές φαγητό στη διατροφή των Ευρωπαίων και Ασιατών, που παρέχουν ω3 PUFAs και αντιοξειδωτικά με πιθανά οφέλη για την υγεία (Tang et al., 2020). Επιπλέον, το παραγόμενο έλαιο μικροφυκών έχει παρόμοια σύνθεση με τα φυτικά έλαια και είναι πλούσια σε PUFAs υψηλής αξίας, όπως κυρίως EPA και DHA. Τα παραγόμενα από μικροφύκη λιπαρά οξέα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συμπληρώματα διατροφής σε μορφή δισκίου, κάψουλας ή σκόνης ή για χρήση σε λειτουργικά τρόφιμα (García et al., 2017). Έλαια μικροφυκών, που είναι πλούσια σε DHA από το *Schizochytrium sp.*, έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης και σε βρεφικά προϊόντα, καθώς είναι συγκρίσιμο με άλλες παραδοσιακές πηγές DHA. Τέλος, ορισμένες εταιρείες μαγειρικών ελαίων χρησιμοποιούν τεχνολογία μικροφυκών για την παραγωγή υγιεινών μαγειρικών ελαίων, για παράδειγμα η εταιρεία Thrive®, που παράγει το Algal Oil από *Chlorella* και η Lam Soon Sdn.Bhd στη Μαλαισία, η οποία παράγει το μαγειρικό λάδι DHA, το Naturel Forte (Tang et al., 2020).

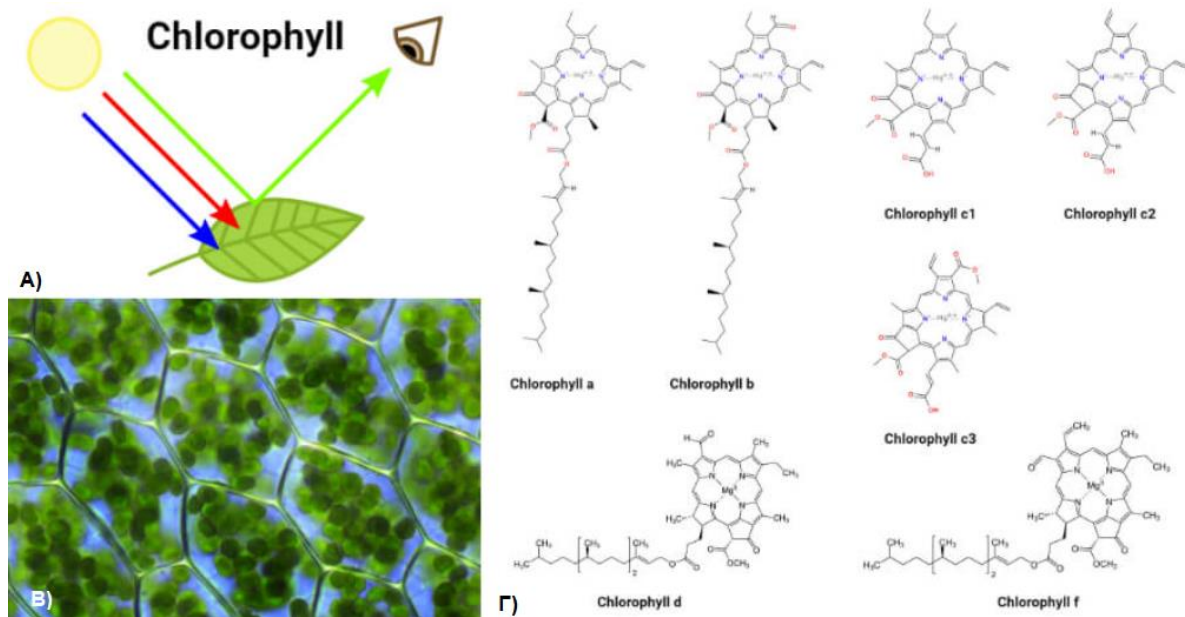
2.4.2 Χρωστικές ουσίες

Οι χρωστικές είναι μόρια, που απορροφούν το φως από το ορατό φάσμα. Το μήκος κύματος που δεν απορροφάται από αυτά τα μόρια, πιάνεται από το ανθρώπινο μάτι και επομένως εμφανίζεται το αντίστοιχο χρώμα (Εικόνα 9.A). Οι χρωστικές χρησιμοποιούνται σε μία ποικιλία προϊόντων, όπως ως πρόσθετα τροφίμων/χρωστικών, προϊόντα υδατοκαλλιεργειών, φαρμακευτικά προϊόντα, καλλυντικά και στα λειτουργικά τρόφιμα (Begum et al., 2016). Αυτές οι χρωστικές ουσίες παράγονται επί του παρόντος σε βιομηχανική κλίμακα μέσω μη ανανεώσιμων συνθετικών πηγών, όπως πετροχημικά, ανόργανα χημικά και οργανικά οξέα. Οι πρώτες ύλες και το κόστος παραγωγής τους είναι φθηνότερα από αυτές τις μη ανανεώσιμες συνθετικές πηγές. Ωστόσο, υπάρχει αυξανόμενη ζήτηση για φυσικά παραγόμενες χρωστικές ουσίες λόγω των ανησυχιών για την ασφάλεια των καταναλωτών και του περιβάλλοντος, που σχετίζονται με τις συνθετικά παραγόμενες χρωστικές (Begum et al., 2016; Parmar and Singh, 2018). Τα μικροφύκη είναι ικανά να παράγουν φωτοσυνθετικές χρωστικές, οι οποίες ταξινομούνται σε τρεις ομάδες: τις χλωροφύλλες, τα καροτενοειδή και τις φυκοχολοπρωτεΐνες, που είναι υπεύθυνες για τα πράσινα, κίτρινα/πορτοκαλί και κόκκινο/μπλε χρώματα αντίστοιχα (Hamed, 2016; Siqueira et al., 2018). Οι παραπάνω κατηγορίες ενώσεων πέρα από την ικανότητά χρώσης, έχει αποδειχθεί εδώ και χρόνια πως έχουν ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία, όπως αντιοξειδωτικές ιδιότητες, αποτελούν πρόδρομες ουσίες βιταμι-

νών, ανοσοενεργοποιητές και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες (Borowitzka, 1995; Hamed, 2016). Γι' αυτό το λόγο, χρησιμοποιούνται κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων ή καλλυντικών ως φυσικά χρώματα, ως συμπληρώματα διατροφής ή πηγή βιοδραστικών μορίων (García et al., 2017).

2.4.2.1 Χλωροφύλλες

Οι χλωροφύλλες είναι λιποδιαλυτές, πράσινες χρωστικές ουσίες, απαραίτητες για τη φωτοσύνθεση, που υπάρχουν σε όλους σχεδόν τους φωτοαυτοτροφικούς οργανισμούς, και συγκεκριμένα στα φωτοσυστήματα I και II των χλωροπλαστών (Εικόνα 9.Β) (Galasso et al., 2019; Levasseur et al., 2020). Υπάρχουν πέντε τύποι χλωροφύλλης στα μικροφύκη, συμπεριλαμβανομένης της χλωροφύλλης a, b, c, d και e (Εικόνα 9.Γ). Η χλωροφύλλη a είναι η κύρια φωτοσυνθετική χρωστική ουσία, που υπάρχει σε αφθονία στα Κυανοβακτήρια και τα Ροδόφυτα. Η χλωροφύλλη b υπάρχει στα Χλωρόφυτα και Ευγλενόφυτα, ενώ οι χλωροφύλλες c, d και e βρίσκονται στα Διάτομα του γλυκού νερού (Begum et al., 2016). Λόγω της υψηλής πράσινης χρώσης τους και της αυξανόμενης ζήτησης των καταναλωτών για περισσότερα φυσικά προϊόντα, οι χλωροφύλλες είναι υψίστης σημασίας ως παράγοντες βαφής στις βιομηχανίες τροφίμων, καθώς και στα φαρμακευτικά προϊόντα και στα καλλυντικά (Odjadjare et al., 2017; Yaakob et al., 2014). Επιπλέον, οι χλωροφύλλες a και b απαντώνται και έως παράγωγα νατρίου και χαλκού στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς, τα οποία χρησιμοποιούνται κυρίως ως πρόσθετα τροφίμων ή σε ποτά (Yaakob et al., 2014). Ακόμη, η χλωροφυλλίνη, ένα ημι-συνθετικό παράγωγο χλωροφύλλων, χρησιμοποιείται συνήθως ως πρόσθετο τροφίμων (αριθμός E141) για το πράσινο χρώμα του, αλλά η παρουσία χαλκού αντί μαγνησίου σε φυσικές χλωροφύλλες και παράγωγα μπορεί να αποτελέσει πρόβλημα για την υγεία των καταναλωτών (Galasso et al., 2019).



Εικόνα 9: Α) Τα φυτά και τα μικροφύκη θεωρούνται πράσινα, επειδή η χλωροφύλλη απορροφά κυρίως το μπλε και το κόκκινο μήκος κύματος. Β) Η χλωροφύλλη συγκεντρώνεται μέσα στους οργανισμούς σε δομές, που ονομάζονται χλωροπλάστες (εικόνα μικροσκοπίου), Γ) Χημική δομή των διαφόρων χλωροφυλλών (Virtanen et al., 2020).

Αν και οι χλωροφύλλες εξάγονται κυρίως από φθηνές πηγές, όπως το γρασίδι ή τη μηδική, τα μικροφύκη περιέχουν σημαντική ποσότητα χλωροφυλλών και επομένως μπορούν να θεωρηθούν ως εναλλακτική πηγή για την εκχύλιση χλωροφύλλης (Odjadjare et al., 2017; Yaakob et al., 2014). Πράγματι, η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη ενός κυττάρου ποικίλλει από περίπου 0,5 έως 4% του ξηρού βάρους ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες, καθώς και το στέλεχος (Harun et al., 2010; Spolaore et al., 2006). Επίσης, μια ανασκόπηση ανέδειξε τις συνθήκες που ευνοούν την παραγωγή χλωροφύλλης στα μικροφύκη, μεταξύ των οποίων είναι το χαμηλής έντασης φως, το φάσμα κόκκινου φωτός, αρκετά υψηλή θερμοκρασία και πλούσια περιεκτικότητα σε άζωτο και φώσφορο (da Silva Ferreira and Sant'Anna, 2017). Μόλις εκχυλιστούν οι χλωροφύλλες, τα υπόλοιπα κυτταρικά θραύσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για παράδειγμα στην παραγωγή βιοκαυσίμων. Μεταξύ των πιο εκμεταλλευόμενων στελεχών, τα πιο γνωστά μικροφύκη είναι από το γένος *Chlorella*, του οποίου η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη αντιπροσωπεύει περίπου το 7% της βιομάζας του, πέντε φορές περισσότερο από αυτό του *Arthrospira* (Khanra et al., 2018a).

Επιπλέον, το *Spirulina sp.* είναι η πιο σημαντική πηγή χλωροφύλλης, που παράγει 2-3 φορές περισσότερη χλωροφύλλη σε σχέση με άλλα μικροφύκη. Η χλωροφύλλη του συγκεκριμένου μικροοργανισμού περιέχει πορφυρίνη, η οποία είναι παρόμοια με την αίμη στον άνθρωπο και στα ζώα, αποτελώντας ένα άμεσο συμπλήρωμα και έτσι, η χλωροφύλλη α ονομάζεται «πράσινο αίμα». Δεδομένου ότι η σπιρουλίνα είναι πλούσια σε σίδηρο, ο τέλειος

συνδυασμός χλωροφύλλης *a* και σιδήρου είναι η καλύτερη θεραπεία της σιδηροπενικής αναιμίας (Wu et al., 2021). Πρόσφατα, η χλωροφύλλη έχει τραβήξει την προσοχή επειδή χρησιμοποιείται ως παράγοντας πρόληψης του καρκίνου. Οι Ferruzzi και Blakeslee, (2007) ανέφεραν ότι οι βιολογικές επιδράσεις των παραγώγων χλωροφύλλης συμβαδίζουν με την πρόληψη του καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων των αντιοξειδωτικών και αντιμεταλλαξιγόνων δράσεων, της παγίδευσης μεταλλαξιγόνων, της ξеноβιοτικής μεταβολικής ρύθμισης και της επαγωγής απόπτωσης.

2.4.2.2 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι μια άλλη κατηγορία χρωστικών, που βρίσκονται σε αφθονία στα μικροφύκη. Αυτά τα πλούσια χρωματισμένα μόρια, που κυμαίνονται από το κίτρινο έως το κόκκινο είναι κυρίως γνωστά για την αντιοξειδωτική τους ιδιότητα, καθώς και για τη χρήση τους ως βαφή (Levasseur et al., 2020). Χάρη στις ιδιότητές τους, τα καροτενοειδή συναντώνται συχνά στις βιομηχανίες τροφίμων και ζωοτροφών, καθώς και στον τομέα των καλλυντικών και των φαρμακευτικών προϊόντων (Siqueira et al., 2018). Με περισσότερους από 1.100 αντιπροσώπους στη φύση, τα καροτενοειδή αποτελούν την πιο ποικιλόμορφη και διαδεδομένη κατηγορία χρωστικών (Gong and Bassi, 2016; Odjadjare et al., 2017; Yabuzaki, 2017). Τα περισσότερα από αυτά έχουν μια κοινή χημική δομή, που αποτελείται από μια συζευγμένη αλυσίδα διπλού δεσμού 18 ατόμων άνθρακα με δύο εξανθρακικούς δακτυλίους σε κάθε άκρο (Odjadjare et al., 2017). Σε αυτή τη μεγάλη κατηγορία, τα καροτενοειδή χωρίζονται σε δύο ομάδες: τα καροτένια και τις ξανθοφύλλες. Οι πρώτοι είναι υδρογονάνθρακες χωρίς οξυγόνο στη δομή τους, όπως το α -καροτένιο και το β -καροτένιο, ενώ οι δεύτεροι είναι οξυγονωμένα παράγωγα καροτενίων, όπως λουτεΐνη, βιολαξανθίνη, ζεαξανθίνη, φουκοξανθίνη, ασταξανθίνη και άλλες (Levasseur et al., 2020). Περισσότερες πληροφορίες μπορεί κάποιος να λάβει για την ονομασία IUPAC, μοριακό τύπο και χημική δομή των καροτενοειδών, που κυκλοφορούν περισσότερο στο εμπόριο από τον Πίνακα 2 της ανασκόπησης των Torregrosa-Crespo et al. (2018). Οι κύριες πηγές καροτενοειδών είναι τα μικροφύκη, που ανήκουν στην κατηγορία των Χλωροφυκών. Αυτά τα μικροφύκη είναι ικανά να παράγουν ένα ευρύ φάσμα χρωστικών: καροτένια, όπως β -καροτένιο και λυκοπένιο, καθώς και ξανθοφύλλες, όπως ασταξανθίνη, βιολακανθίνη, αντραξανθίνη, ζεαξανθίνη, νεοξανθίνη και λουτεΐνη και άλλες. Άλλες χρωστικές, όπως η φουκοξανθίνη, η διατοξανθίνη και η διαδινοξανθίνη παράγονται από άλλα μικροφύκη (Berthon et al., 2017). Κατά μέσο όρο, τα καροτενοειδή αντιπροσωπεύουν το 0,1 έως 0,2% της ξηρής ύλης των μικροφυκών (Spolaore et al., 2006). Ωστόσο, κάτω από δυσμενείς συνθήκες, αυτές οι χρωστικές μπορούν να εκφραστούν έως και 12% στο γένος Χλωρόφυτα. Επί του παρόντος, οι δύο χρωστικές που έχουν τη μεγαλύτερη ζήτηση στην παγκόσμια αγορά καροτενοειδών είναι το β -καροτένιο και η ασταξανθίνη από

τα γένη *Dunaliella* και *Haematococcus*, αντίστοιχα (Levasseur et al., 2020). Επιπλέον, τα οφέλη των καροτενοειδών για την υγεία είναι κυρίως γνωστά τόσο στα χερσαία φυτά, όσο και στα μικροφύκη, αλλά απομένει να ανακαλυφθεί ο μηχανισμός δράσης των καροτενοειδών, που υπάρχουν αποκλειστικά στα μικροφύκη (Galasso et al., 2019).

Το β-καροτένιο είναι το πρώτο προϊόν υψηλής αξίας, το οποίο παράγεται εμπορικά από μικροφύκη (Rammuni et al., 2019). Παράγεται συνήθως από τα μικροφύκη *Scenedesmus almeriensis*, *Dunaliella bardawil* και *Dunaliella tertiolecta* (Levasseur et al., 2020). Ωστόσο, η πλουσιότερη πηγή για εμπορική παραγωγή φυσικού β-καροτενίου είναι τα μικροφύκη *Dunaliella salina*, τα οποία είναι ικανά να εκφράζουν έως και 98,5% β-καροτένιο σε σχέση με τα συνολικά του καροτενοειδή και περίπου το 13% της ξηρής βιομάζας του (Molino et al., 2018b; Rammuni et al., 2019). Το β-καροτένιο είναι γνωστό ότι μπορεί να αντιμετωπίζει τις επιβλαβείς ρίζες οξυγόνου και αζώτου και είναι η πρόδρομη μορφή της βιταμίνης A ή επίσης γνωστή ως ρετινόλη, που είναι απαραίτητη για τις γυναίκες, που κυοφορούν, και τα παιδιά. (Guedes et al., 2011). Όσον αφορά τις ιδιότητές του στην υγεία, το β-καροτένιο έχει πολλές εφαρμογές σε τρόφιμα, φαρμακευτικά προϊόντα και καλλυντικά. Πιο συγκεκριμένα, έχει προστατευτικές ιδιότητες έναντι της υπερϊώδους ακτινοβολίας και της οξειδωτικής βλάβης και έχει αποδειχθεί ότι η πρόσληψη του από το στόμα (από 30 έως 180 mg/d) μπορεί να αποτρέψει το ερύθημα, που προκαλείται από την υπερϊώδη ακτινοβολία στους ανθρώπους (Heinrich et al., 2003; Stahl and Sies, 2012). Επίσης, εμφανίζει προστατευτικές ιδιότητες κατά της αθηροσκλήρωσης και βελτιώνει τις δυσλειτουργίες του αμφιβληστροειδούς και της όρασης (Shaish et al., 1995; Sher et al., 2018). Ακόμη, έχει συζητηθεί ο ρόλος του β-καροτενίου στη μείωση του ποσοστού αρκετών τύπων καρκίνου και εκφυλιστικών ασθενειών στους ανθρώπους (20 mg/d) (Ranga Rao et al., 2013). Τέλος, το β-καροτένιο χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στις ζωοτροφές και χρωστική σε τρόφιμα και ποτά, που τους προσδίδει κίτρινο και πορτοκαλί χρώμα, με τον αριθμό E160 (Tang et al., 2020).

Η ασταξανθίνη, η οποία είναι μία κόκκινη χρωστική και ανήκει στην κατηγορία των ξανθοφυλλών, είναι το δεύτερο καροτενοειδές με τη μεγαλύτερη βιομηχανική εκμετάλλευση. Παράγεται φυσικά από τα μικροφύκη *Chlorella zofingiensis*, *Chlorococcum sp.* και *Scenedesmus sp.*, καθώς και τη ζύμη *Xanthophyllomyces dendrorhous* (Levasseur et al., 2020; Odjadjare et al., 2017; Yaakob et al., 2014). Ωστόσο, το μικροφύκος *Haematococcus pluvialis* είναι σε θέση να συσσωρεύσει ασταξανθίνη σε ποσοστό έως και 81% των συνολικών καροτενοειδών του και αποτελεί περίπου το 7% του ξηρού του βάρους (Hamed, 2016; Molino et al., 2018a; Siqueira et al., 2018). Επομένως, αυτός ο μικροοργανισμός θεωρείται ως το πιο κατάλληλο είδος για την παραγωγή φυσικής ασταξανθίνης σε βιομηχανική κλίμακα (Raposo et al., 2013; Rammuni et al., 2019). Λόγω της υψηλής κόκκινης χρωστικής της, η ασταξανθίνη χρησιμοποιείται κυρίως στις ζωοτροφές υδατοκαλλιεργειών ως χρωστική ουσία για τη σάρκα των

ψαριών και των οστρακοειδών (Hamed, 2016; Siqueira et al., 2018; Yaakob et al., 2014). Ωστόσο, η χρήση της δεν περιορίζεται στη βαφή. Είναι ιδιαίτερα γνωστό ότι έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες δέκα φορές μεγαλύτερες από άλλα καροτενοειδή, καθιστώντας την το πιο ισχυρό φυσικό αντιοξειδωτικό με θετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία (Berthon et al., 2017; Borowitzka, 1995; Hamed, 2016; Mourelle et al., 2017a). Ωστόσο, παρά τις ελκυστικές βιολογικές της ιδιότητες, το κόστος παραγωγής της φυσικής ασταξανθίνης είναι υψηλότερο από αυτό της συνθετικής ασταξανθίνης (2500 έως 7000\$/kg και 1000\$/kg, αντίστοιχα), το οποίο αποτελεί εμπόδιο στη βιομηχανική εκμετάλλευση αυτού του μικροφύκου (Levasseur et al., 2020; Molino et al., 2018b). Επιπρόσθετα, ο καταναλωτής μπορεί να βρει τα προϊόντα ασταξανθίνης στο εμπόριο στις εξής δοσολογικές μορφές, όπως δισκία, κάψουλες, σιρόπια, έλαια, μαλακά πηκτώματα, κρέμες, βιομάζα και κοκκοποιημένες σκόνες (Torregrosa-Crespo et al., 2018). Τέλος, οι κύριοι εμπορικοί παραγωγοί συμπληρωμάτων ασταξανθίνης από *Haematococcus pluvialis* είναι οι εταιρείες Algatechnologies Ltd., AstaReal Inc., Beijing Gingko Group (BGG), Cyanotech Corporation και Parry's Pharmaceuticals (Tang et al., 2020).

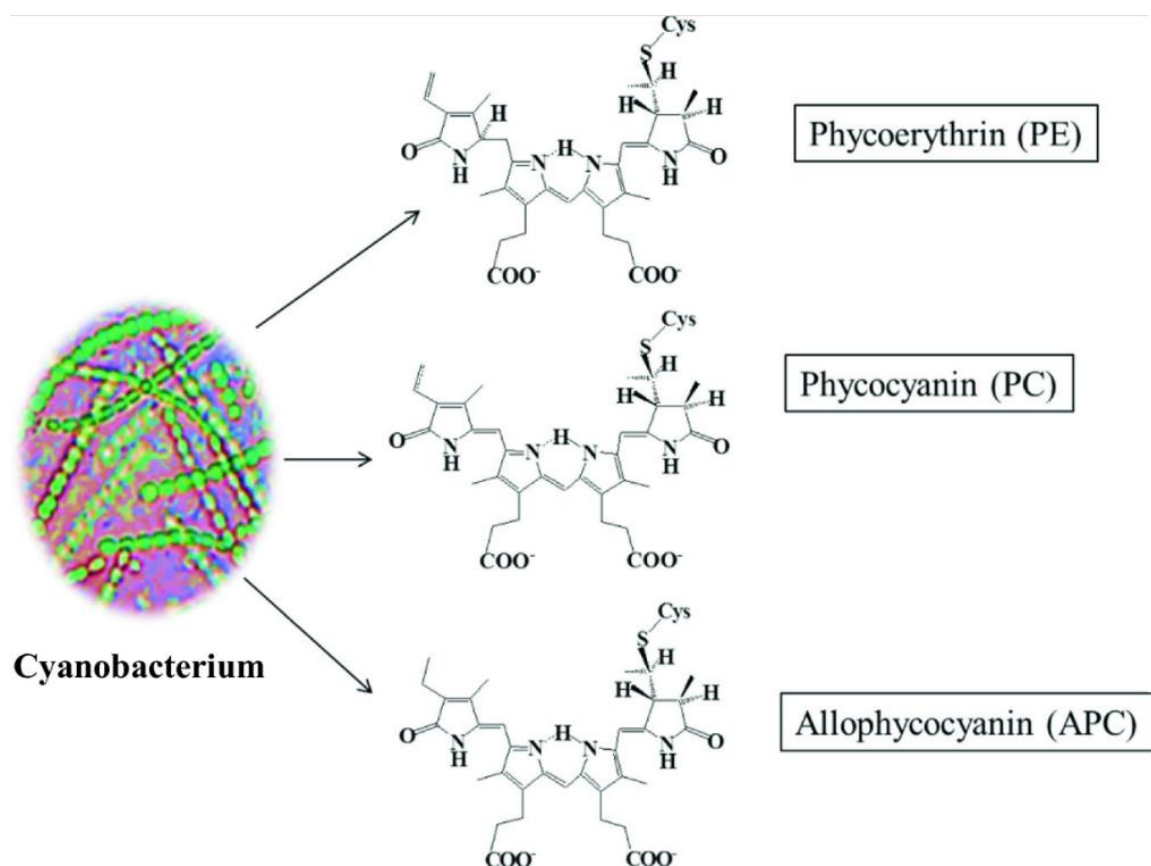
Η λουτεΐνη είναι ένα άλλο κίτρινο καροτενοειδές, που απαντάται επίσης στα μικροφύκη και χρησιμοποιείται κυρίως στη σύνθεση φαρμάκων και καλλυντικών. Πιο συγκεκριμένα, είναι κυρίως γνωστή για την προστατευτική της δράση έναντι της φωτοεπαγόμενης βλάβης στο φακό και στον αμφιβληστροειδή των ματιών, καθώς φιλτράρει το μπλε φως (Roberts and Dennison, 2015). Ακόμη, είναι ικανή να αντιμετωπίσει τις ελεύθερες ρίζες και ειδικά το μονοξειδίο του οξυγόνου (Galasso et al., 2019). Επιπλέον, η λουτεΐνη σε συνδυασμό με τη ζεαξανθίνη, η οποία θα αναλυθεί παρακάτω, λαμβάνοντας υπόψη την ημερήσια πρόσληψη 6 mg στον άνθρωπο, προστατεύουν τους ιστούς από τις ελεύθερες ρίζες και μπορούν να αποτρέψουν την αθηροσκλήρωση, τον καταρράκτη, τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και τον εκφυλισμό του αμφιβληστροειδούς, που σχετίζεται με την ηλικία (Rasmussen and Johnson, 2013; Seddon et al., 1992). Επίσης, η λουτεΐνη έχει αντικαρκινική δράση και είναι ικανή να προστατεύει τα ενδοθηλιακά κύτταρα *in vitro* (Galasso et al., 2019; Liu et al., 2017). Επί του παρόντος, αν και το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής λουτεΐνης προέρχεται από άνθη του φυτού κατιφέ (περιεκτικότητα σε λουτεΐνη σε κόκκους κατιφέ: 20 g/kg), η παραγωγή λουτεΐνης από μικροφύκη κερδίζει όλο και περισσότερο έδαφος λόγω της υψηλότερης παραγωγικότητας (Levasseur et al., 2020). Τα μικροφύκη, που παράγουν λουτεΐνη, είναι τα εξής: *Muriellopsis sp.*, *Chlorella protothecoides*, *Chlorella zofingiensis*, *Chlorococcum citrifforme*, *Neosporangiococcus gelatinosum* και *Scenedesmus almeriensis*, αποτελώντας τους μεγαλύτερους παραγωγούς με δυνατότητα παραγωγής έως και 0,5% λουτεΐνης σε ξηρό βάρος (Levasseur et al., 2020; Molino et al., 2018b; Yaakob et al., 2014).

Άλλες καροτενοειδείς χρωστικές με βιομηχανικές εφαρμογές είναι το λυκοπένιο, η βιολαξανθίνη, η ζεαξανθίνη και άλλες. Το λυκοπένιο είναι ένα φυσικό κόκκινο αντιοξειδωτικό, που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία καλλυντικών και συγκεκριμένα σε αντηλιακά και σε σκευάσματα φροντίδας κατά της γήρανσης (Borowitzka, 1995; Levasseur et al., 2020). Όσον αφορά τη βιολαξανθίνη, μια πορτοκαλί καροτενοειδής χρωστική ουσία, είναι ιδιαίτερα γνωστή για τις αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές της ιδιότητες, και παράγεται φυσικά από τα στελέχη *Chlorella ellipsoidea* και *Dunaliella tertiolecta* (Berthon et al., 2017; Mourelle et al., 2017a). Ακόμη, η ζεαξανθίνη είναι ένα κίτρινο καροτενοειδές, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως στη βιομηχανία φαρμάκων, καλλυντικών και τροφίμων και για την παραγωγή της χρησιμοποιούνται τα στελέχη *Scenedesmus almeriensis* και *Nannochloropsis oculata* (Hamed, 2016; Levasseur et al., 2020). Τέλος, άλλα καροτενοειδή, όπως η κανθαξανθίνη, η β-κρυπτοξανθίνη ή η φουκοξανθίνη χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία καλλυντικών και φαρμάκων λόγω των αντιφλεγμονωδών, αντικαρκινικών ιδιοτήτων τους και των ιδιοτήτων τους, που βοηθούν στο μαύρισμα (Levasseur et al., 2020).

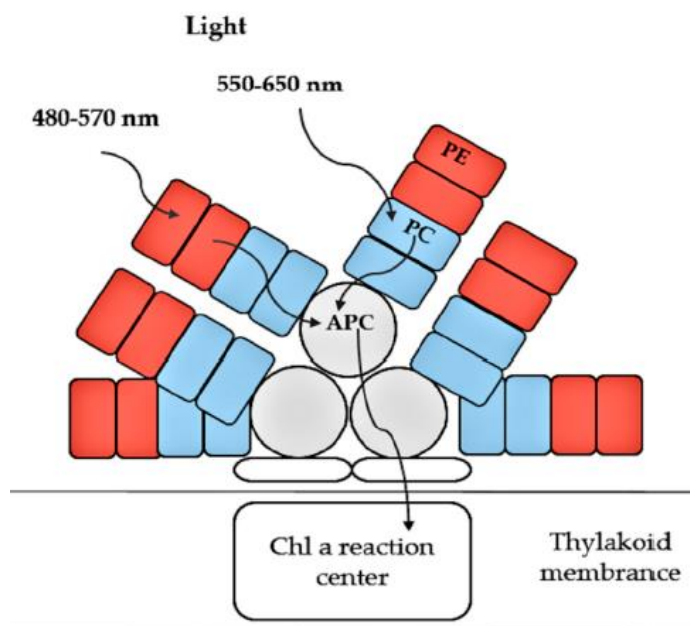
2.4.2.3 Φυκοχολοπρωτεΐνες

Οι φυκοχολοπρωτεΐνες είναι η τελευταία κατηγορία χρωστικών, που απαντώνται σε φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Είναι σύμπλοκα υδρόφιλων πρωτεϊνών και χρωστικών, τα οποία υπάρχουν μόνο στα κυανοβακτήρια και σε μικροφύκη της συνομοταξίας των Ροδόφυτων, καθώς και σε ορισμένα Κρυπτόφυτα και Γλαυκόφυτα (Arad S. and Yaron A., 1992; Gouveia et al., 2010; Levasseur et al., 2020). Όπως οι χλωροφύλλες b,c,d,f και τα καροτενοειδή, οι φυκοχολοπρωτεΐνες αποτελούν βοηθητικές φωτοσυνθετικές χρωστικές, που χρησιμοποιούνται για την επέκταση του εύρους απορρόφησης φωτός, που είναι σημαντικό για τη φωτοσύνθεση, δηλαδή από 450 nm σε 650nm (Levasseur et al., 2020; Manirafasha et al., 2016; Masojídek et al., n.d.). Αυτές ταξινομούνται σε τέσσερις μεγάλες υποομάδες, σύμφωνα με τα φάσματα απορρόφησης τους: η κόκκινη φυκοερυθρίνη (PE, $\lambda_{max}=540-570$ nm), η ματζέντα φυκοερυθροκυανίνη (PEC, $\lambda_{max}=560-600$ nm), η μπλε φυκοκυανίνη (PC, $\lambda_{max}=610-620$ nm) και η γαλάζια αλλοφυκοκυανίνη (APC, $\lambda_{max}=650-6500$ nm) (Εικόνα 10,11) (Levasseur et al., 2020; Odjadjare et al., 2017). Η σύνθεσή τους ποικίλλει ανάλογα με το είδος και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Υπό ορισμένες συνθήκες, μπορούν να αντιπροσωπεύουν έως και το 13% της ξηρής βιομάζας ορισμένων μικροφυκών (Arad S. and Yaron A., 1992). Σε βιομηχανική κλίμακα, οι φυκοχολοπρωτεΐνες παράγονται κυρίως από τα είδη *Porphyridium sp.*, *Arthrospira sp.* και *Aphanizomenon flosaquae* (Levasseur et al., 2020). Πρόσφατα, πολυάριθμες μελέτες ανέδειξαν τις διάφορες ιδιότητες των διαφορετικών φυκοχολοπρωτεϊνών, όπως αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές, αντιμικροβιακές, νευροπροστατευτικές, ηπατοπροστατευτικές και ιδιότητες αντιμετώπισης των ελευθέρων ρι-

ζών (Abidizadegan et al., 2021). Επιπλέον, διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στον εμπορικό τομέα, καθώς έχουν αρκετές εφαρμογές, όπως ότι χρησιμοποιούνται ευρέως ως φυσικές χρωστικές σε πολυάριθμα προϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων και καλλυντικών, και συγκεκριμένα σε ζελέ, γαλακτοκομικά προϊόντα, τσίχλες, κραγιόν, αντηλιακή κρέμα και παλέτες σκιών ματιών (Santiago-Santos et al., 2004; Sonani, 2016). Ακόμη, βρέθηκε πως η κατανάλωση βρώσιμων μικροφυκών, τα οποία περιέχουν φυκοκυανίνη, έχουν ιδιότητες που προάγουν την υγεία, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης της φλεγμονής, της μείωσης της συγκέντρωσης των λιπιδίων στο πλάσμα μέσω της μείωσης της απορρόφησης της χοληστερόλης, καθώς και της αναστολής του οξειδωτικού στρες μέσω μείωσης της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων (Ku et al., 2013).



Εικόνα 10: Χημική δομή των φυκοχολοπρωτεϊνών, της φυκοερυθρίνης, της φυκοκυανίνης και της αλλοφυκοκυανίνης (Kannaujya et al., 2020).



Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση δομής και λειτουργίας των φυκοχολοπρωτεϊνών κατά τη συλλογή φωτός, όπου: PE η φυκοερυθρίνη, PC η φυκοκυανίνη, και APC η αλλοφυκοκυανίνη (Abidizadegan et al., 2021).

Το θαλάσσιο κρυπτόφυτο *Rhodomonas* και το κρυπτόφυτο γλυκού νερού *Cryptomonas* είναι πολλά υποσχόμενα υποψήφιοι μικροοργανισμοί για την παραγωγή της φυκοερυθρίνης, η οποία χρησιμοποιείται ως φθορίζων ανιχνευτής σε ορισμένες ανοσολογικές μεθόδους, κυτταρομετρία ροής, μικροσκοπία και δοκιμές DNA, καθώς και ως φυσική βαφή σε τρόφιμα και προϊόντα ομορφιάς (Abidizadegan et al., 2021; Lévassieur et al., 2020). Επιπλέον, το γένος *Chroomonas* έχει αναφερθεί ως μια μεγάλη πηγή φυκοκυανίνης, η οποία συγκεντρώνει το μπλε φως, όπως προαναφέρθηκε, και χρησιμοποιείται ως χρωστική στα καλλυντικά και στα φαρμακευτικά προϊόντα λόγω των αντικαρκινικών, αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της (Cunningham et al., 2019; Liu et al., 2016). Το *Spirulina platensis* είναι επίσης μια εξαιρετική πηγή φυκοχολοπρωτεϊνών, ιδιαίτερα της c-φυκοκυανίνης, και αυτές έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία τροφίμων ως φυσικές χρωστικές κυρίως σε παγωτά και αναψυκτικά (Chew et al., 2019). Τέλος, οι εταιρείες Algapharma BiotechCorp, Columbia Bioscience και QuantaPhy. Inc αποτελούν τους κυριότερους προμηθευτές φυκοχολοπρωτεϊνών στην παγκόσμια αγορά (Tang et al., 2020).

2.4.3 Υδατάνθρακες

Τα μικροφύκη συνθέτουν πολλούς δομικά διαφορετικούς υδατάνθρακες με διαφορετικούς τύπους γλυκοζιτικών δεσμών. Μπορούν να ταξινομηθούν ως ομο- και ετεροπολυσακχαρίτες, θειικοί πολυσακχαρίτες (SPS), γλυκοπρωτεΐνες/πεπτιδία και πηκτίνες (Barkia et al., 2019). Αλλά η σχέση μεταξύ των δομών των πολυσακχαριτών και των βιολο-

γικών λειτουργιών τους δεν είναι καλά χαρακτηρισμένη λόγω της ποικιλομορφίας και της πολυπλοκότητας αυτών των πολυμερών (de Jesus Raposo et al., 2015a). Επίσης, οι πολυσακχαρίτες αποτελούν τα βασικά βιομόρια, που παράγονται από τα μικροφύκη, και η ποσότητά τους ποικίλλει μεταξύ των ειδών και των γενών (Barkia et al., 2019). Η περιεκτικότητά τους μπορεί να φτάσει έως και το 50% του ξηρού βάρους ορισμένων μικροφυκών (Yen et al., 2013). Ωστόσο, πολλές βιβλιογραφικές μελέτες έχουν δείξει ότι η χρήση των μικροφυκών ως παραγωγών πολυσακχαριτών είναι ακόμη υπό διερεύνηση και πως έχουν περιορισμένη συμμετοχή στην αγορά (Barkia et al., 2019). Οι πολυσακχαρίτες, που λαμβάνονται από τα μικροφύκη, είναι ικανοί να χρησιμοποιηθούν ως χηλικοί παράγοντες ιόντων μετάλλων και να προστατεύουν τα φυτά από διάφορα παθογόνα (Michalak and Chojnacka, 2015). Μεταξύ των ειδών, που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για την παραγωγή πολυσακχαριτών από μικροφύκη, είναι τα *Tetraselmis sp.*, *Isochrysis sp.*, *Porphyridium cruentum*, *Porphyridium purpureum*, *Chlorella sp.* και *Rhodella reticulata* (Mourelle et al., 2017a). Ακόμη, υπάρχουν πολυσακχαρίτες από μικροφύκη, οι οποίοι περιέχουν θειικούς εστέρες, οι θειικοί πολυσακχαρίτες, και παράγονται κυρίως από το *C. vulgaris* και το *S. quadricauda*. Οι πιο γνωστοί θειικοί πολυσακχαρίτες είναι το άγαρ, το ουλβάν, η καραγενάνη και η φουκοειδίνη. Όσον αφορά την καραγενάνη, εκτός από το ότι χρησιμοποιείται ευρέως ως πρόσθετο τροφίμων, βρέθηκε επίσης πως έχει αντιικές και αντιοξειδωτικές δράσεις (Vaz et al., 2016). Επιπρόσθετα, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το ουλβάν παρουσιάζει αντικαρκινικές, αντιμυκητιακές, ηπατοπροστατευτικές, αντιπρωτοζωικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντιπηκτικές, ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες και ιδιότητες αναγέννησης ιστού δέρματος (Lekshmi VS and Kurup MG, 2019).

2.4.4 Πρωτεΐνες, πεπτίδια και αμινοξέα

Οι πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή και το μεταβολισμό των κυττάρων των μικροφυκών. Αποτελούν αναπόσπαστο συστατικό της μεμβράνης και του συμπλέγματος συλλογής φωτός, συμπεριλαμβανομένων πολυάριθμων καταλυτικών ενζύμων, τα οποία εμπλέκονται στη φωτοσύνθεση (Williams and Laurens, 2010). Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη πολλών ειδών μικροφυκών μπορεί να ανταγωνιστεί τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά τις συμβατικές πηγές πρωτεΐνης (Batista et al., 2013; Graziani et al., 2013). Όσον αφορά την ποσότητα, αρκετά είδη μικροφυκών αναφέρεται ότι διαθέτουν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεΐνης σε ποσοστό που μπορεί να κυμαίνεται από 42% έως πάνω από 70% σε ορισμένα κυανοβακτήρια και έως 58% για το *Chlorella vulgaris* σε ξηρό βάρος (Becker, 2007; Galasso et al., 2019; Plaza et al., 2009). Όσον αφορά την ποιότητα, τα μικροφύκη περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα, που τα θηλαστικά δεν μπορούν να συνθέσουν. Επιπλέον, το προφίλ αμινοξέων είναι παρόμοιο με εκείνο πηγών, που διαθέτουν πρωτεΐνες υψηλής ποιότητας, όπως

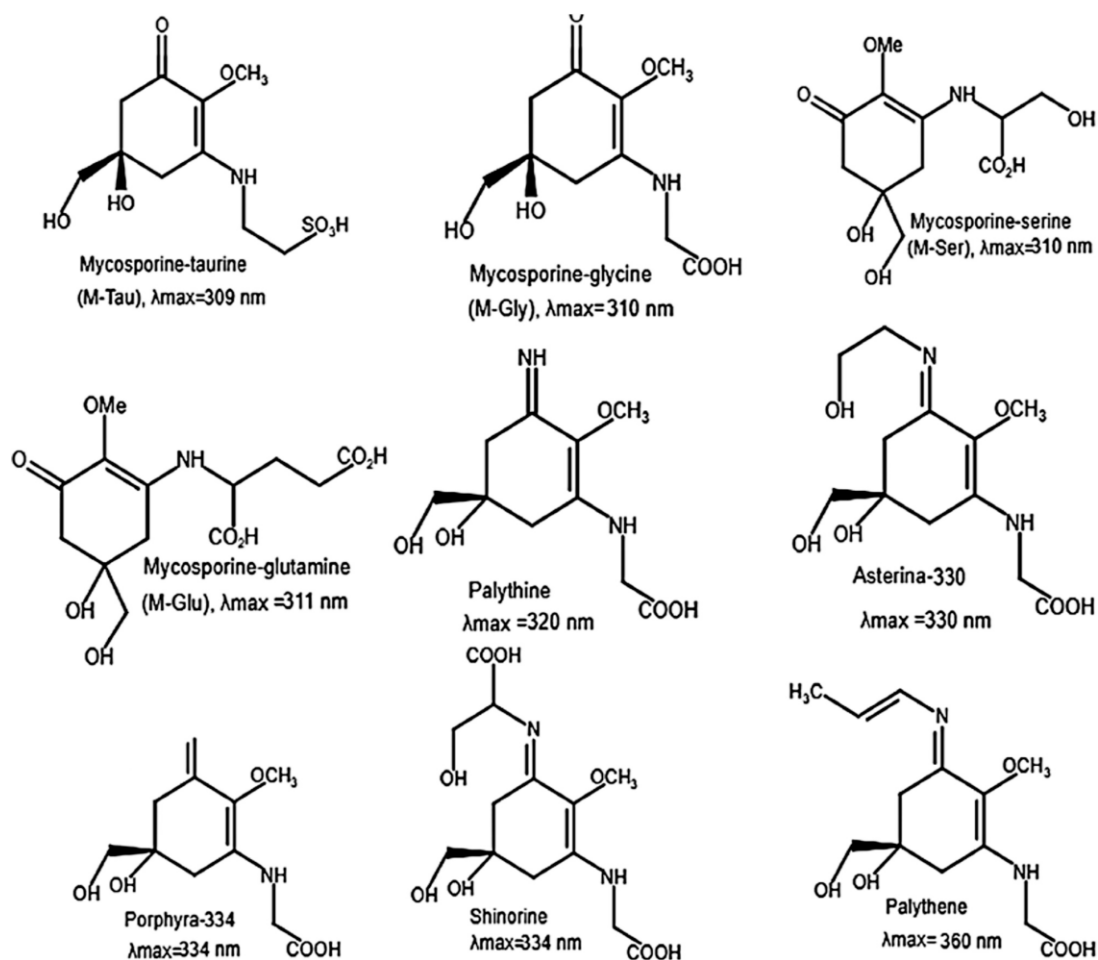
της β-λακτοσφαιρίνης του γάλακτος, της αλβουμίνης του αυγού και της σόγιας (Williams and Laurens, 2010). Επιπρόσθετα, τα είδη *Chlorella sp.* και *Spirulina sp.* έχει βρεθεί ότι αποτελούνται περίπου από πρωτεΐνη σε ποσοστό 70% σε σχέση με τη μάζα τους και σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας και της Διεθνούς Οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας αυτά τα δύο είδη μικροφυκών, καθώς και άλλα, περιέχουν μία καλά ισορροπημένη περιεκτικότητα απαραίτητων αμινοξέων, που είναι σημαντική για την ανθρώπινη κατανάλωση (Bleakley and Hayes, 2017; Chronakis and Madsen, 2011). Υπολογίζεται ότι έως το 2054, περίπου το 50% της αγοράς πρωτεϊνών θα καλύπτεται από πρωτεΐνες, οι οποίες θα προέρχονται από φύκια ή έντομα (Khanra et al., 2018a).

Οι πρωτεΐνες από τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται κυρίως ως θρεπτικά συστατικά ή περιλαμβάνονται στη σύνθεση λειτουργικών τροφίμων (Khanra et al., 2018a; Siqueira et al., 2018). Η κατανάλωση μικροφυκών ως συμπλήρωμα διατροφής γίνεται μέσω χαπιών, δισκίων, σκόνης ή πάστας (Pulz and Gross, 2004). Αν και τα τελευταία χρόνια, πρωτεΐνες, που προέρχονται από μικροφύκη, έχουν ενσωματωθεί σε μπισκότα, γλυκά, ψωμί, ζυμαρικά, ποτά και μπίρα (Liang et al., 2004). Ένα από τα πιο διαδεδομένα μικροφύκη λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνες και των πρόσθετων ευεργετικών ιδιοτήτων του είναι το *Spirulina spp.*, που καταναλώνεται ευρέως σε όλο τον κόσμο. Ακόμη, η περιεκτικότητα σε θειικά αμινοξέα, όπως ισολευκίνη, βαλίνη, λυσίνη, τρυπτοφάνη, μεθειονίνη, θρεονίνη και ιστιδίνη, σε ορισμένα μικροφύκη βρέθηκε ότι είναι συγκρίσιμη ή και μεγαλύτερη με αυτή των πηγών υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, όπως το αυγό και η σόγια (Christaki et al., 2011). Εκτός από τα θρεπτικά προϊόντα, οι πρωτεΐνες απομονωμένες από μικροφύκη παρουσιάζουν πολλά υποσχόμενες τεχνολογικές λειτουργίες για τη βιομηχανία αγροδιατροφής. Για παράδειγμα, τα *Chlorella vulgaris* και *Tetraselmis sp.* εμφανίζουν γαλακτωματοποιητικές και αφριστικές ιδιότητες. Ιδιότητες πηκτωματοποίησης έχουν επίσης αναφερθεί για τις πρωτεΐνες, που έχουν απομονωθεί από τα *Arthrospira platensis* και *Tetraselmis suecica* (Levasseur et al., 2020). Επιπρόσθετα, τα μικροφύκη έχουν την ικανότητα να συνθέτουν ένζυμα, που είναι χρήσιμα σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές, όπως φυτάσες, α-γαλακτοσιδάση, πρωτεάση, λακάσες, λιπάση, κυτταρινάσες, αμυλολυτικά ένζυμα, αντιοξειδωτικά ένζυμα και ανθρακική ανυδράση (Brasil et al., 2017).

Οι πρωτεΐνες μικροφυκών, κυρίως από τα γένη *Arthrospira* και *Chlorella*, έχουν επίσης διεισδύσει στον τομέα των καλλυντικών, και πιο συγκεκριμένα τα προϊόντα, που αφορούν το δέρμα. Γενικά, τα εκχυλίσματα πρωτεΐνης χρησιμοποιούνται στη σύνθεση προϊόντων ομορφιάς λόγω των ελκυστικών βιολογικών τους ιδιοτήτων ((Arone et al., 2019; Stolz P. and Obermayer B., 2005). Προς το παρόν, ορισμένα προϊόντα ομορφιάς, τα οποία περιέχουν πρωτεϊνικά εκχυλίσματα από μικροφύκη μπορούν να βρεθούν στην αγορά. Για παράδειγμα, το Dermochlorella DG ® είναι ένα προϊόν, το οποίο αναπτύχθηκε από εκχυλίσματα *Chlorella*

vulgaris, που περιέχουν ολιγοπεπτίδια, τα οποία είναι ικανά να διεγείρουν την παραγωγή κολλαγόνου και να δρουν ως παράγοντες αναδόμησης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να δίνει σφριγηλότητα στο δέρμα, να μειώνει τη μορφολογία των ραγάδων και τις αγγειακές ατέλειες (Martins et al., 2014a; Stolz P. and Obermayer B., 2005; Yaakob et al., 2014). Οι πρωτεΐνες, που απομονώνονται από το *Arthrospira*, χρησιμοποιούνται επίσης στα καλλυντικά και συγκεκριμένα για την αποκατάσταση των σημαδιών της πρόωρης γήρανσης του δέρματος (Stolz P. and Obermayer B., 2005).

Τα αμινοξέα τύπου μυκοσπορίνης (Mycosporine-like amino acids, MAAs) έχουν επίσης προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον στην ερευνητική κοινότητα, ώστε αυτά να χρησιμοποιηθούν πιθανώς ως παράγοντες στη βιομηχανία καλλυντικών (Berthon et al., 2017; Mourelle et al., 2017a). Τα MAAs είναι δευτερογενείς μεταβολίτες, που έχουν τη δυνατότητα να προστατεύουν τους υδρόβιους οργανισμούς από την ηλιακή ακτινοβολία. Αυτές οι ενώσεις, οι οποίες απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία, είναι υδατοδιαλυτές και χαμηλού μοριακού βάρους (<400 Da). Η χημική τους δομή βασίζεται είτε σε μια δομή δακτυλίου κυκλοξενόνης (λ_{max} : 310nm στο υπεριώδες-B) είτε σε κυκλοξενιμίνη (λ_{max} : 360nm στο υπεριώδες-A) με αμινοξέα ως υποκαταστάτες (Εικόνα 12) (Karentz et al., 1991). Η βιοσύνθεση των MAA λαμβάνει χώρα μέσω ενός κλάδου της οδού του σικιμικού οξέος. Μέχρι σήμερα, έχουν βρεθεί πάνω από 20 MAAs από διαφορετικούς οργανισμούς και εντοπίζονται ενδοκυτταρικά σε πολλούς θαλάσσιους και γλυκούς οργανισμούς (Carreto and Carignan, 2011; Řezanka et al., 2004). Αν και άλλοι θαλάσσιοι οργανισμοί λαμβάνουν τα MAAs μέσω της διατροφής και βακτηριακή σύνδεση, τα μικροφύκη είναι ικανά να βιοσυνθέτουν τα ίδια τα MAAs (Carroll and Shick, 1996). Η πιο ολοκληρωμένη μελέτη για τα MAAs, η οποία έγινε ανάμεσα σε 152 διαφορετικά είδη μικροφυκών, ανέδειξε ότι υψηλές ποσότητες αυτών των ενώσεων βρίσκονται στα Δινοφύκη, Κρυπτόφυτα, Πρυμνεσιοφύκη και Ραφιδοφύκη (Abidizadegan et al., 2021; Řezanka et al., 2004). Επιπλέον, παρουσιάζουν φωτοπροστατευτικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορα καλλυντικά προϊόντα, όπως αντηλιακά, μακιγιάζ προσώπου, ενυδατικές κρέμες, κραγιόν και κρέμες για την καταπολέμηση της γήρανσης του δέρματος, που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία (Mourelle et al., 2017a; Siqueira et al., 2018). Λαμβάνοντας υπόψη την πιθανή επίδραση των MAAs στο δέρμα, μια μελέτη που περιελάμβανε 20 γυναίκες μέσης ηλικίας αναφέρει ότι μια κρέμα, η οποία περιέχει 0,005% MAAs, προερχόμενα από κόκκινα φύκια, μπορεί να εξουδετερώσει τις επιδράσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας A και να οδηγήσει σε απαλότητα του δέρματος (Morone et al., 2019). Τέλος, βρέθηκε πως η μυκοσπορίνη-γλυκίνη έχει την κατάλληλη αντιοξειδωτική δράση, παρέχοντας προστασία έναντι του φωτοξειδωτικού στρες, το οποίο προκαλείται από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Cardozo et al., 2007).



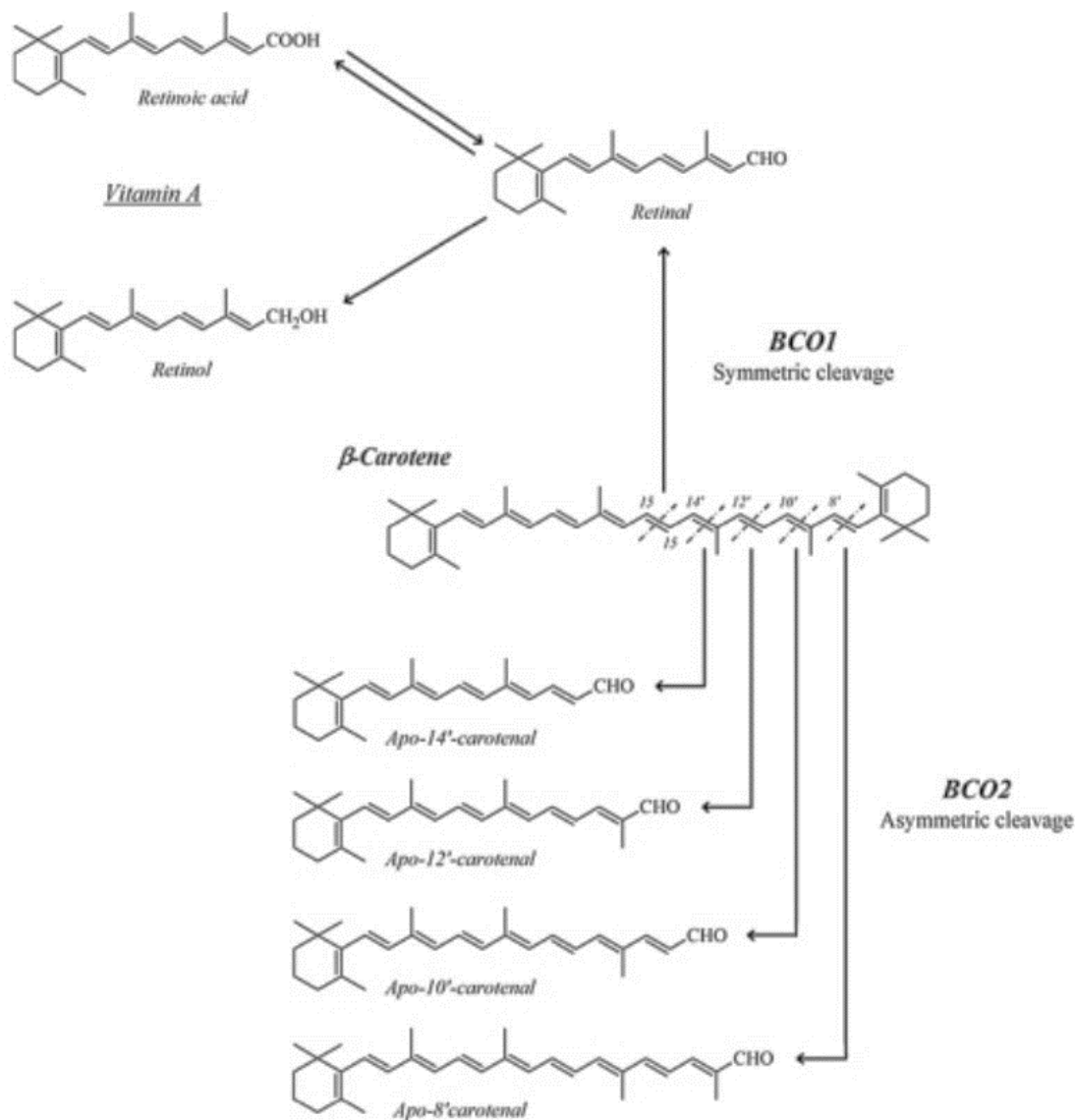
Εικόνα 12: Χημική δομή διαφόρων αμινοξέων τύπου μικοσπορίνης (Mycosporine-like amino acids, MAAs) και το μήκος κύματος απορρόφησης (λ_{\max}) του καθενός (Abidizadegan et al., 2021).

2.4.5 Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία

Οι βιταμίνες είναι απαραίτητες για την υγεία, καθώς αποτελούν πρόδρομοι σημαντικών συμπαραγόντων των ενζύμων, τα οποία είναι απαραίτητα για τις βασικές λειτουργίες του μεταβολισμού. Οι βιταμίνες εμφανίζουν επίσης ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Δεδομένου ότι οι περισσότερες βιταμίνες δεν μπορούν να συντεθούν ενδογενώς στον άνθρωπο, πρέπει να καταναλώνονται από το στόμα μέσω της διατροφής. Τα μικροφύκη αντιπροσωπεύουν μια ανεξερεύνητη πηγή σχεδόν όλων των γνωστών βιταμινών: προβιταμίνη A (α - και β -καροτένιο, αποκαροτενοειδή), βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), βιταμίνη E (τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες) και ορισμένες βιταμίνες της ομάδας B, όπως π.χ. B1 (θειαμίνη), B2 (ριβοφλαβίνη), B3 (νιασίνη) και B12 (κοβαλαμίνη) (Galasso et al., 2019). Η βιταμίνη D απαντάται επίσης στα μικροφύκη (Järpelt and Jakobsen, 2013). Είναι ενδιαφέρον ότι η συνολική περιεκτικότητα σε βιταμίνες στα μικροφύκη ποικίλλει ανάλογα με είδος, καθώς και τις συνθήκες ανάπτυξης, όπως το φως όσον αφορά την ένταση και το φάσμα, την κατάσταση των θρεπτικών

συστατικών στην καλλιέργεια, τη φάση ανάπτυξης και το γονότυπο του στελέχους (Brown et al., 1999; Brown and Miller, 1992; de Roeck-Holtzhauer et al., 1991; Smerilli et al., 2017).

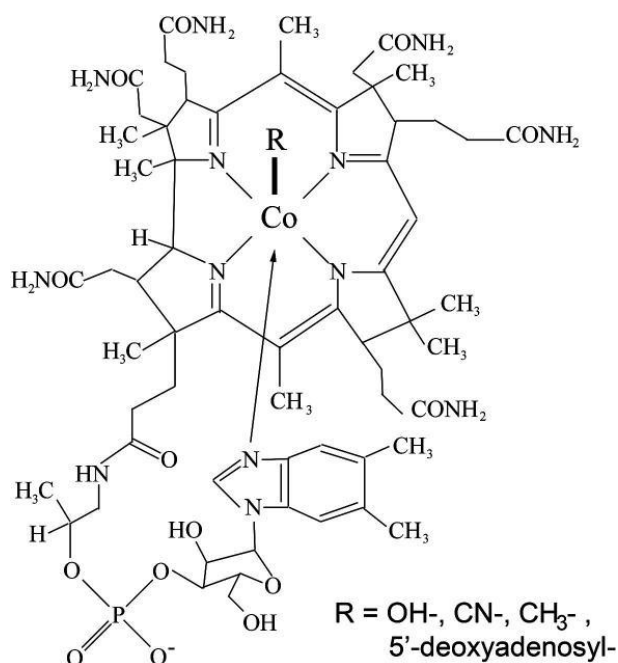
Ενώ τα μικροφύκη δεν μπορούν να παράγουν βιταμίνη Α, είναι σε θέση να παράγουν τις πρόδρομες ενώσεις της, το α- και β-καροτένιο (ή αλλιώς προβιταμίνη Α), που αποτελούν συστατικά της δεξαμενής καροτενοειδών όλων των φωτοσυνθετικών οργανισμών (Galasso et al., 2019). Παρόλο που υπάρχουν ήδη διαθέσιμα δεδομένα για τα καροτενοειδή στα μικροφύκη, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα για τα αποκαροτενοειδή. Η βιοσύνθεση των αποκαροτενοειδών ξεκινά με τη δράση των διοξυγενεσών διάσπασης καροτενοειδών και περιλαμβάνει βιοτεχνολογικά ενδιαφέρουσες ενώσεις, όπως τη ρετινόλη, μία άλλη μορφή της προβιταμίνης Α και αποτελεί το κύριο αποκαροτενοειδές, το οποίο παράγεται στα μικροφύκη, και δομικό συστατικό της φωτοευαίσθητης χρωστικής ροδοψίνης (Εικόνα 13) (Ahrazem et al., 2016). Τα φυσικά και συνθετικά ρετινοειδή έχει αποδειχθεί σε μεγάλο βαθμό ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη διαφορετικών τύπων όγκων, όπως του δέρματος, του μαστού, της στοματικής κοιλότητας, του πνεύμονα, του ήπατος, του γαστρεντερικού, του προστάτη και της ουροδόχου κύστης (Galasso et al., 2019).



Εικόνα 13: Αποκαροτενοειδή, που σχηματίζονται από ενζυματική διάσπαση του β -καροτενίου, όπου BCO1 είναι η β -καροτένιο 15,15'-διοξυγενάση, που διασπά συμμετρικά το β -καροτένιο σε ρετινόλη, και BCO2 είναι η β,β -καροτένιο 9',10'-οξυγενάση, που διασπά ασύμμετρα το β -καροτένιο σε διάφορα αποκαροτενοειδή (Šeregelj et al., 2021).

Η βιταμίνη B12 (κοβαλαμίνη) είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη (Εικόνα 14), που υπάρχει στα προϊόντα κρέατος, αλλά απουσιάζει από τα φυτά. Ορισμένα μακροφύκη και μικροφύκη μπορούν να συνθέσουν τη βιταμίνη B12 (Croft et al., 2005). Η ανεπάρκεια βιταμίνης B12 είναι κοινή μεταξύ των ανθρώπων, που ακολουθούν αυστηρές χορτοφαγικές ή vegan δίαιτες (Watanabe et al., 2014). Παρόλο που η κοβαλαμίνη από ορισμένα μικροφύκη, όπως από τη *Spirulina*, δεν είναι βιοδιαθέσιμη, η βιταμίνη B12 είναι βιοδιαθέσιμη και χρησιμοποιείται ως συμπληρώματα διατροφής από ορισμένα μικροφύκη, όπως το *Chlorella sp.* ή το *Pleurochrysis carterae* (Dagnelie et al., 1991; Kumudha et al., 2015; Watanabe1 et al., 2002). Το γεγονός αυτό δείχνει ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τη διερεύνηση της πα-

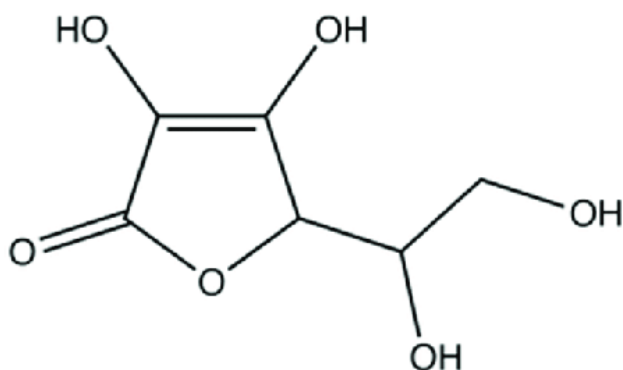
ρουσίας και της διαθεσιμότητας της βιταμίνης B12 στη βιοποικιλότητα των μικροφυκών, αλλά και όχι μόνο στα μικροφύκη, που χρησιμοποιούνται κυρίως ως συμπληρώματα διατροφής, ώστε να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν για να συμπληρώσουν χορτοφαγικές και vegan δίαιτες. Επιπλέον, η βιταμίνη B12 μπορεί να δράσει στην επιδιόρθωση του DNA και στη μεθυλίωση ιστόνης και μαζί με τα υψηλά επίπεδα φυλλικού οξέος σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Abidizadegan et al., 2021; Galasso et al., 2019). Τέλος, οι Edelman et al., (2019) μέτρησαν την περιεκτικότητα σε βιταμίνη B12 σε σκόνες μικροφυκών και βρήκαν πως σε σκόνες των *Chlorella sp.* και *N. gaditana* υπήρχε αποκλειστικά ενεργή βιταμίνη B12 έως και 2,1μg/g.



Εικόνα 14: Χημική δομή της βιταμίνης B12 ή αλλιώς κοβαλαμίνης (Froese et al., 2010).

Η βιταμίνη C ή αλλιώς ασκορβικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη με αντιοξειδωτικές ιδιότητες, απαραίτητη για τη βιοσύνθεση πολλών ενώσεων στον άνθρωπο (Εικόνα 15) (Padayatty et al., 2003). Η βιταμίνη C έχει αναφερθεί ως ρυθμιστής του επαγόμενου από την υποξία παράγοντα 1α (HIF1α), ενός κύριου παράγοντα της καρκινογένεσης και της αγγειογένεσης όγκων (Galasso et al., 2019). Η βιταμίνη C έχει επίσης επιδράσεις στην εξωκυτταρική μήτρα (ECM) και συμμετέχει στη βιοσύνθεση και εναπόθεση κολλαγόνου (Sharma S.R. et al., 1998). Επιπρόσθετα, το ασκορβικό οξύ χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων και έχει ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης του καρκίνου και της αθηροσκλήρωσης, και δρα ως ανοσοτροποποιητικός παράγοντας, για παράδειγμα, για την πρόληψη σοβαρών λοιμώξεων όπως η φυματίωση (Nunes-Alves et al., 2014; Sharma et al., 2008). Το ασκορβικό οξύ υπάρχει στα μικροφύκη, τα οποία μπορούν να συσσωρεύσουν

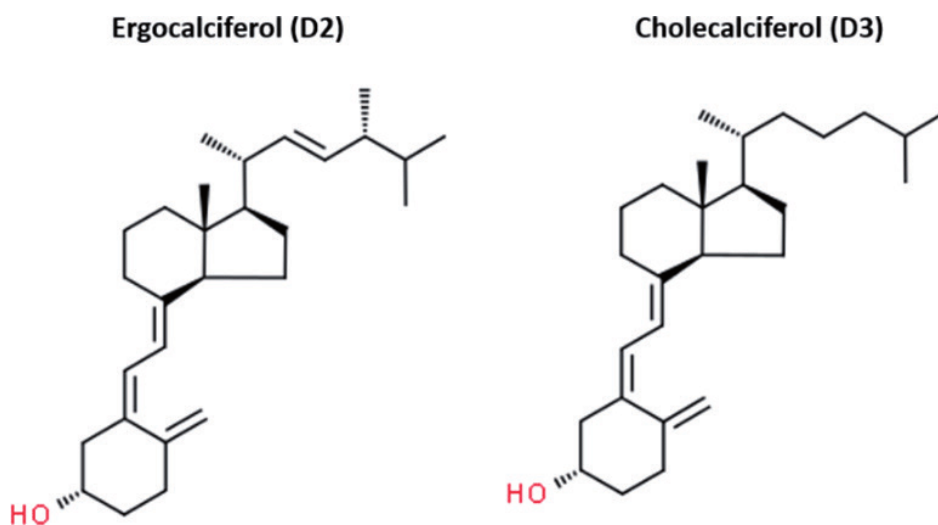
υψηλές συγκεντρώσεις του (Brown et al., 1999; Brown and Miller, 1992; de Roeck-Holtzhauer et al., 1991). Μια πρόσφατη μελέτη βρήκε μια αξιοσημείωτη ποσότητα ασκορβικού οξέος σε ένα παράκτιο διάτομο, το *Skeletonema marinoi* και ότι αυτή η ποσότητα μπορεί να τροποποιηθεί με διακυμάνσεις της έντασης του φωτός και του φάσματος (Smerilli et al., 2017). Τέλος, ένα είδος καφέ μικροφυκών, το *Eisenia arborea*, βρέθηκε από μελέτες, που διεξήχθησαν, ότι περιέχει 34,4mg Βιταμίνης C ανά 100g ξηρής ουσίας, μία τιμή που είναι πολύ κοντά με αυτή των μανταρινιών (Hernández-Carmona et al., 2009).



Εικόνα 15: Χημική δομή της Βιταμίνης C ή αλλιώς ασκορβικού οξέος (Jovic et al., 2020).

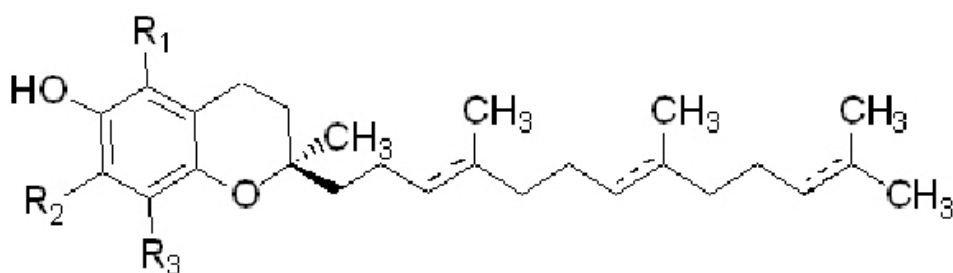
Η βιταμίνη D είναι μία λιποδιαλυτή ένωση και υπάρχει σε διάφορες μορφές, από D1 έως D5. Οι δύο κύριες μορφές βιταμίνης D στον άνθρωπο είναι η D2, η οποία προσλαμβάνεται από φυτά, και η D3, η οποία προσλαμβάνεται από το κρέας (Εικόνα 16). Η βιταμίνη D3 εμπλέκεται στην απορρόφηση και μεταβολισμό του ασβεστίου, που αφορά την υγεία των οστών, την ομοίωση, την πρόληψη του καρκίνου, της οστεομαλάκυνσης και της οστεοπόρωσης και έχει αντινευροεκφυλιστικά αποτελέσματα (Feldman et al., 2014). Αν και ελάχιστα τεκμηριωμένο, είναι γνωστό ότι ορισμένα μικροφύκη μπορούν να περιέχουν βιταμίνες D2 και/ή D3 (Rao and Raghuramulu, 1996; Takeuchi et al., 1991). Η ανεπάρκεια της βιταμίνης D αποτελεί ένα παγκόσμιο πρόβλημα, καθώς περισσότεροι από ένα δισεκατομμύριο άνθρωποι έχουν έλλειψη βιταμίνης D3 και περίπου το 13% του ευρωπαϊκού πληθυσμού σε ετήσια βάση (Ljubic et al., 2020). Πιθανόν τα μικροφύκη να είναι ικανά να συνθέσουν την 7-δεϋδροχοληστερόλη, ώστε στη συνέχεια να συνθέσουν τη βιταμίνη D3 με παράλληλη έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία B (UVB), εάν αυτά χρησιμοποιήσουν την ίδια μεταβολική οδό με τα σπονδυλωτά. Οι Ljubic et al., (2020) επέλεξαν τέσσερα είδη μικροφυκών για την παραγωγή βιταμίνης D3 με έκθεση σε τεχνητή UVB, συμπεριλαμβανομένων των *Chlorella minutissima*, *Nannochloropsis oceanica*, *Arthrospira maxima* και *Rhodomonas salina*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αποκλειστικά το *Nannochloropsis oceanica* μπορούσε να παράγει βιταμίνη D3 με απόδοση έως και $1 \pm 0,3$ g/g DM. Επιπλέον, η αύξηση της δόσης της UVB μπόρεσε να ενισχύσει σημαντικά την παραγωγή της βιταμίνης D3. Ως εκ τούτου, το *N. Oceanica*, που εκτί-

θεται σε τεχνητή UVB, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μια νέα φυσική πηγή βιταμίνης D3, ώστε να καταπολεμηθεί το παγκόσμιο πρόβλημα της ανεπάρκειας βιταμίνης D (Wu et al., 2021).



Εικόνα 16: Χημική δομή της Βιταμίνης D2 ή αλλιώς εργοκαλσιφερόλης και της D3 ή αλλιώς χοληκαλσιφερόλης (F. Bokhari and Albaik, 2020).

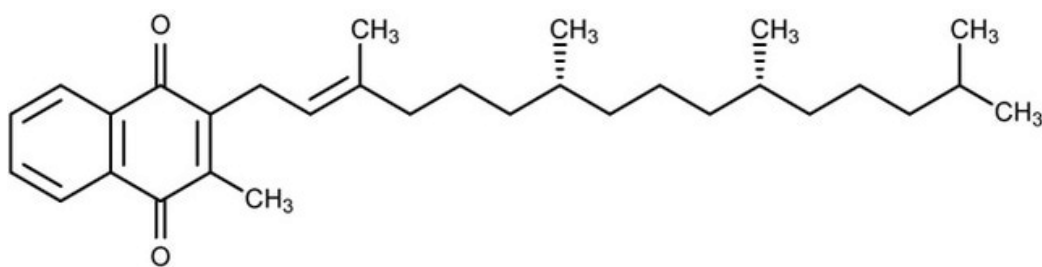
Η βιταμίνη E είναι μια ομάδα οχτώ λιποδιαλυτών ενώσεων, οι οποίες περιλαμβάνουν τέσσερις τοκοφερόλες και τέσσερις τοκοτριενόλες (Εικόνα 17). Πρόκειται για αντιοξειδωτικές ενώσεις, καθώς προστατεύουν τα λιπίδια της μεμβράνης από οξειδωτική βλάβη, εμποδίζοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Επίσης, εμποδίζουν την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, μια διαδικασία που είναι γνωστό ότι παίζει ρόλο στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης και βελτιώνει τη λειτουργία του ενδοθηλίου και την αγγειακή υγεία (Corina et al., 2018). Μελέτες έχουν δείξει πως η βιταμίνη E μπορεί να έχει χημειοπροστατευτικό ρόλο, μειώνοντας τον κίνδυνο καρκίνου του παγκρέατος σε ποντίκια (200 mg/kg) (Husain et al., 2017; Kline et al., 2007). Τέλος, η βιταμίνη E συντίθεται σε πολλά μικροφύκη, όπως *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros calcitrans* και *Porphyridium cruentum*, που μπορούν να είναι πολύτιμη πηγή αυτής της βιταμίνης ως συμπληρώματα διατροφής, καθώς έχει αναφερθεί ότι η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλη μπορεί να είναι υψηλότερη στα μικροφύκη από ότι στα χερσαία φυτά (Galasso et al., 2019; Mokrosnop, 2014).



Compound	R ₁	R ₂	R ₃	Phytyl Chain
alpha-tocopherol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Saturated
gamma-tocopherol	H	CH ₃	CH ₃	Saturated
beta-tocopherol	CH ₃	H	CH ₃	Saturated
delta-tocopherol	H	H	CH ₃	Saturated
alpha-tocotrienol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Unsaturated
gamma-tocotrienol	H	CH ₃	CH ₃	Unsaturated
beta-tocotrienol	CH ₃	H	CH ₃	Saturated
delta-tocotrienol	H	H	CH ₃	Unsaturated

Εικόνα 17: Η βασική χημική δομή των ενώσεων της βιταμίνης E. Η μόνη διαφορά μεταξύ των τοκοφερολών και των τοκοτριενολών, των δύο υποομάδων της οικογένειας των ενώσεων της βιταμίνης E, είναι ότι οι τοκοφερόλες έχουν κορεσμένη, ενώ οι τοκοτριενόλες έχουν μια ακόρεστη ουρά φυτυλίου συνδεδεμένη στη θέση 1 ενός δακτυλίου χρωμάνης. Οι διαφορετικές ισομορφές σε κάθε υποομάδα διαφέρουν μεταξύ τους με βάση τον βαθμό μεθυλίωσης του δακτυλίου χρωμάνης (Sylvester and Shah, 2005).

Επιπλέον, μια άλλη πρόσφατη μελέτη εντόπισε μικροφύκη, συγκεκριμένα το κυανοβακτήριο *Anabaena cylindrica*, ως μη τοξική πηγή βιταμίνης K1 (Tarento et al., 2018). Η συγκεκριμένη βιταμίνη, η οποία παίζει ρόλο στην πρόληψη χρόνιων παθήσεων, παράγεται κυρίως χημικά (Εικόνα 18) (Wu et al., 2021). Η κυανοβακτηριακή παραγωγή της βιταμίνης K1 προσφέρει μια ενδιαφέρουσα βιοτεχνολογική εναλλακτική, καθώς παράγει μόνο το ενεργό ισομερές του μορίου, σε αντίθεση με το 10 έως 20% του ανενεργού ισομερούς με χημικά μέσα. Επιπλέον, η πολύ υψηλή συγκέντρωσή του, περίπου 200 μg/g ξηρού βάρους, η οποία είναι έξι φορές υψηλότερη από τα 37 μg/g, που βρίσκονται στον μαϊντανό, ο οποίος αποτελεί μια πλούσια πηγή τροφής σε βιταμίνη K1, παρέχει τρεις φορές τις ημερήσιες ανάγκες ενός ενήλικα για πρόσληψη 1g σκόνη (Levasseur et al., 2020).



Εικόνα 18: Χημική δομή της Βιταμίνης Κ (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitamin-K>).

Τα μικροφύκη αποτελούν άφθονες πηγές, εκτός από σημαντικές βιταμίνες, αλλά και ιχνοστοιχείων, όπως Cu, I, Fe, K, Zn και άλλα (Christaki et al., 2011). Το σελήνιο (Se) είναι ένα απαραίτητο στοιχείο για το σχηματισμό της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης συμμετέχει στην προστασία του οργανισμού από το οξειδωτικό στρες, αποτρέπει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και απομακρύνει ορισμένους τοξικούς μεταβολίτες, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνων και διατηρώντας την ομοιόσταση στο ανθρώπινο σώμα. Επιπλέον, το Se συμμετέχει στην ανοσολογική απόκριση, βελτιώνοντας τον πολλαπλασιασμό και τη βιολογική δραστηριότητα των Β κυττάρων, βελτιώνοντας τη φυσιολογική λειτουργία των Τ κυττάρων (Wu et al., 2021).

2.5 Μικροφύκη και Βιομηχανία Τροφίμων

Γενικά, ως λειτουργικό τρόφιμο μπορεί να οριστεί ένα φυσικό ή επεξεργασμένο τρόφιμο, το οποίο περιέχει ένα προσδιορισμένο συστατικό σε ικανοποιητικές ποσότητες, με αποδεδειγμένο και τεκμηριωμένο όφελος για την υγεία (Kaur and Das, 2011; Vieira et al., 2020). Υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τη διερεύνηση των φυσικών πόρων και των βιολογικά ενεργών ενώσεων με υψηλή θρεπτική αξία και λειτουργικότητα, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικά τροφίμων με σκοπό την ανάπτυξη νέων λειτουργικών τροφίμων. Μεταξύ αυτών, τα μικροφύκη αναδεικνύονται ως μια πολύτιμη και οικονομικά βιώσιμη εναλλακτική λύση, καθώς αντιπροσωπεύουν μια πλούσια πηγή ενώσεων ποιότητας τροφίμων και σχεδόν ένα απεριόριστο πεδίο εξερεύνησης λόγω της άφθονης ταξινομικής τους ποικιλομορφίας (Plaza et al., 2008). Τα τελευταία χρόνια, η ερευνητική κοινότητα έχει περιγράψει μια ποικιλία καινοτόμων λειτουργικών τροφίμων, τα οποία παρασκευάζονται μέσω εμπλουτισμού τους με βιομάζα μικροφυκών ή βιοδραστικές ενώσεις τους, από διαφορετικά είδη, και πώς επηρεάζονται τα οργανοληπτικά, ποιοτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των τροφίμων (Barros de Medeiros et al., 2021). Περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά μελέτες, οι οποίες αξιολογούν την ενσωμάτωση της βιομάζας και των εκχυλισμάτων μικροφυκών σε νέα προϊόντα διατροφής, βρίσκονται στον Πίνακα 3 της ανασκόπησης των Barros de Medeiros et al., (2021).

Η προσθήκη βιομάζας μικροφυκών μπορεί να βελτιώσει τη θρεπτική αξία των προϊόντων και αυτό αποδεικνύεται από πολλές μελέτες, που έγιναν σε διάφορα είδη τροφίμων, καθώς παρατηρήθηκαν αυξήσεις στην περιεκτικότητα σε βιταμίνη B12 και φουκόζη σε smoothies (Castillejo et al., 2018), υψηλότερες συγκεντρώσεις πρωτεΐνης, μετάλλων και β-καροτενίου σε παγωτό και μαλακό τυρί και (Agustini et al., 2016; Joshi et al., 2014), υψηλότερη περιεκτικότητα σε αμινοξέα και η αναλογία απαραίτητων/μη απαραίτητων αμινοξέων σε φρέσκα χοιρινά λουκάνικα και μπιφτέκια γαλοπούλας (Marti-Quijal et al., 2019a, 2019b). Επιπλέον, βρέθηκε βελτιωμένη η περιεκτικότητα σε φαινολικά και η αντιοξειδωτική ικανότητα σε μπισκότα ((Batista et al., 2012; Marcinkowska-Lesiak et al., 2018; Niccolai et al., 2019), αυξημένα επίπεδα καροτενοειδών και χλωροφυλλών σε ελαιόλαδα (Alavi and Golmakani, 2017) και τέλος αυξημένες πρωτεΐνες, λίπη και μέταλλα σε φρέσκα σπαγγέτι και σνακς (Fradique et al., 2010; Lucas et al., 2018).

Η προσθήκη βιομάζας μικροφυκών μπορεί επίσης να βελτιώσει τις τεχνολογικές ιδιότητες των προϊόντων διατροφής, καθώς το αποτέλεσμα εξαρτάται από τη μήτρα των τροφίμων. Για τα γιαούρτια, οι Barkallah et al., (2017) παρατήρησε ότι η προσθήκη 0,25% βιομάζας *Spirulina* επιτάχυνε τη διαδικασία ζύμωσης και βελτίωσε τη συνέργεια και την αντιοξειδωτική δράση. Στα τυριά, η προσθήκη *Spirulina platensis* (0,3%, 0,5% και 0,8%) αύξησε τη σκληρότητα και τη βιωσιμότητα των προβιοτικών (*Lactobacillus acidophilus*) (Mazinani et al., 2016) και η προσθήκη *Chlorella vulgaris* (1%, 2% και 3%) αύξησαν τη σκληρότητα και μείωσαν το διαχωρισμό και το λιώσιμο του λαδιού. Στα φρέσκα μακαρόνια, η προσθήκη βιομάζας *Chlorella vulgaris* και *Spirulina maxima* (0,5%, 1,0% και 2,0%) οδήγησαν σε ελκυστικά χρώματα, πορτοκαλί και πράσινο, και μεγαλύτερη σταθερότητα, κάτι που είναι ενδιαφέρον για αυτόν τον τύπο προϊόντος (Fradique et al., 2010). Στα ζυμαρικά, υψηλότερος δείκτης διάγνωσης και σκληρότητας και μικρότερη απώλεια μαγειρέματος παρατηρήθηκαν μετά την προσθήκη *Arthrospira platensis* (1%, 2% ή 3%) (Zouari et al., 2011). Στα κρουασάν, η προσθήκη βιομάζας *Spirulina* (0,5–1,5%) είχε ως αποτέλεσμα να παρασκευαστούν κρουασάν με υψηλότερη ικανότητα συγκράτησης νερού και χαμηλότερη σκληρότητα στα ψίχουλα (Massoud et al., 2016). Στο παγωτό και το μαλακό τυρί, η προσθήκη βιομάζας *Spirulina platensis* (1,2% και 1%, αντίστοιχα) οδήγησε σε προϊόντα με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νερό, κάτι που σχετίζεται με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και βελτιωμένες ιδιότητες ποιότητας (υψηλές τιμές υπέρβασης και σημείο τήξης στα παγωτά) (Agustini et al., 2016). Τέλος, στα κρέατα και τα ανάλογα κρέατος παρατηρήθηκαν μαλακότερες υφές (χαμηλότερες τιμές σκληρότητας, συγκολλητικότητας ή/και ελαστικότητας) μετά την προσθήκη *Chlorella* ή *Spirulina* (3%) σε ζυμωμένο ισπανικό λουκάνικο chorizo, *S. platensis* και *Chlorella vulgaris* (1%) σε μπιφτέκια γαλοπούλας και *Chlorella* ή *Spirulina* (1%) σε λουκάνικα (Marti-Quijal et al., 2019b, 2019a; Thirumdas et al., 2018).

Η συγκέντρωση της βιομάζας των μικροφυκών έχει σημαντική επίδραση στις ποιοτικές παραμέτρους των τροφίμων. Η προσθήκη βιομάζας *Arthrospira platensis* άνω του 10% βρέθηκε πως αύξανε τη συγκολλητικότητα των ζυμαρικών χωρίς γλουτένη και παρείχε ακατάλληλες παραγωγικές ικανότητες, αποκλείοντας την πλαστικοποίηση του προϊόντος, ενώ η προσθήκη βιομάζας σε ποσοστό 4-5% δημιούργουσε ένα πολύ έντονο άρωμα ψαριού. Από την άλλη πλευρά, η προσθήκη 1-3% αύξησε το θρεπτικό προφίλ, όπως τις χλωροφύλλες, φαινολικές ενώσεις και καροτενοειδή, χωρίς καμία επίδραση στις ιδιότητες της υφής. Το προϊόν, στο οποίο προστέθηκε βιομάζα *Arthrospira platensis* σε ποσοστό 2%, προτιμήθηκε από τους καταναλωτές. Ακόμη, η προσθήκη βιομάζας *Chlorella vulgaris* έως και 3% σε μια ζύμη από αλεύρι σίτου είχε ως αποτέλεσμα βελτιωμένες ιξωδοελαστικές και ρεολογικές ιδιότητες και υψηλότερη αντοχή, όσον αφορά τη γλουτένη. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις αυτής της βιομάζας επηρέασαν αρνητικά τα χαρακτηριστικά των προϊόντων, με αποτέλεσμα να παρασκευαστούν ψωμιά με αλλοιωμένη υφή και γεύση και με επιταχυνόμενη διαδικασία παλαίωσης (Graça et al., 2018). Τέλος, η προσθήκη *Spirulina sp.*, *Tetraselmis sp.* ή *Chlorella sp.* 0,5–1% στη σούπα μπρόκολου είχε ως αποτέλεσμα αυξημένο θρεπτικό προφίλ, όπως πολυφαινόλες, αυξημένη αντιοξειδωτική δράση και κατάλληλη αισθητηριακή αποδοχή. Ωστόσο, όταν χρησιμοποιήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των βιομαζών, η γεύση και η συνολική αποδοχή μειώθηκαν, ειδικά στα προϊόντα που συμπληρώθηκαν με *Chlorella sp.* (Lafarga et al., 2019). Επομένως, τα αποτελέσματα αυτών των μελετών υποδεικνύουν ότι είναι υψίστης σημασίας να ερευνηθεί η συγκέντρωση της βιομάζας μικροφυκών, που πρέπει να προστεθεί στα τρόφιμα προκειμένου να μην διακυβεύονται οι τεχνολογικές και αισθητηριακές ιδιότητες τους (Barros de Medeiros et al., 2021).

Το στέλεχος των μικροφυκών μπορεί να επηρεάσει τις ποιοτικές παραμέτρους των τροφίμων. Οι Batista et al., (2013) αξιολόγησε την επίδραση της προσθήκης βιομάζας διαφόρων μικροφυκών σε ποσοστό 2% ή 5%, όπως των *Arthrospira platensis* F & M-C256, *Chlorella vulgaris* Allma, *Tetraselmis suecica* F & M-M33 και *Phaeodactylum tricornutum* F & M-M40, στις παραμέτρους ποιότητας των μπισκότων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μπισκότα με *Arthrospira platensis* ήταν τα πιο προτεινόμενα, καθώς είχαν αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών και φαινολικών ενώσεων, πιο δομημένη υφή και προτιμήθηκαν από τους καταναλωτές. Οι Durmaz et al., (2020) αξιολόγησε την επίδραση της προσθήκης βιομάζας μικροφυκών *Nannochloropsis oculata*, *Porphyridium cruentum* και *Diacronema vlkianum* σε ποσοστό 0,1%, 0,2% ή 0,3% στις τεχνολογικές παραμέτρους του παγωτού. Τα παγωτά με *Porphyridium cruentum* προτιμήθηκαν περισσότερο από τους καταναλωτές, καθώς είχαν υψηλότερο δείκτη συνοχής και πιο κατάλληλο χρώμα, συγκεκριμένα ροζ χρώμα. Οι Gheysen et al., (2019) αξιολόγησε την επίδραση της προσθήκης βιομάζας φωτοαυτοτροφικών *Nannochloropsis*, *Isochrysis*, και *Phaeodactylum* ή ετερότροφων μικροφυκών

Schizochytrium σε ποσοστό 0,24–6,60%, ανάλογα με το στέλεχος των μικροφυκών, στην οξειδωτική σταθερότητα των ωμέγα-3 PUFAs σε ντοματοπολλτό. Η χρήση βιομάζας φωτοαυτοτροφικών μικροφυκών προτιμήθηκε, καθώς είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή ντοματοπολλτού με υψηλή συγκέντρωση ωμέγα-3 PUFAs και χωρίς επιπτώσεις στην οξειδωτική τους σταθερότητα.

Η μορφή, με την οποία προστίθενται τα μικροφύκη, μπορεί να έχει αντίκτυπο στα χαρακτηριστικά των τροφίμων. Οι (Carissimi et al., 2018) αξιολόγησαν την εφαρμογή βιομάζας ή εκχυλίσματος από τα μικροφύκη *Heterochlorella luteoviridis* και *Dunaliella tertiolecta* σε βιοαποδομήσιμα φιλμ και την εφαρμογή αυτών σε σολομό. Η προσθήκη βιομάζας μικροφυκών είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μεμβρανών με υψηλή διαλυτότητα, αποκλείοντας την εφαρμογή του σε υγρά τρόφιμα, όπως ο σολομός. Συνεπώς, έγινε η χρήση εκχυλίσματος *Heterochlorella luteoviridis* σε ποσοστό 2%, καθώς προέκυψαν μεμβράνες με χαμηλή διαπερατότητα ατμών και κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες, οι οποίες μεμβράνες είχαν ως αποτέλεσμα να διατηρούν σε σολομούς την περιεκτικότητα σε υγρασία και την οξείδωση των λιπιδίων τους μειωμένη. Η προσθήκη νανοσωματιδίων *Spirulina* (0,5%) ως αντιοξειδωτικού στο ελαιόλαδο ήταν πιο αποτελεσματική από τη βιομάζα (0,25%, 0,5% ή 1%), καθώς παρήχθησαν λιγότερα προϊόντα πρωτογενούς και δευτερογενούς οξείδωσης (περιεκτικότητα σε θειοβαρβιτουρικό οξύ, υπεροξειδίο και άλλα), είχε βελτιωμένο πράσινο χρώμα και υψηλότερα αισθητήρια χαρακτηριστικά. Είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί πως η νανοτεχνολογία είναι μια αναδυόμενη τεχνική με μεγάλα οφέλη στον τομέα των τροφίμων για τη βελτίωση της ασφάλειας των τροφίμων και για την παράταση της διάρκειας ζωής (Morsy et al., 2019). Η προσθήκη κυτάρων *Chlorella vulgaris*, τα οποία είχαν υποστεί λύση μέσω ομογενοποιητή υψηλής πίεσης, οδήγησε στην παραγωγή ψωμιών με υψηλότερη σκληρότητα και αυξημένη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με ψωμιά, που τους είχε προστεθεί ακατέργαστη βιομάζα *C. vulgaris* (Nunes et al., 2020). Τέλος, η προσθήκη ενθυλακωμένης *Spirulina platensis*, αποξηραμένη με ψεκασμό σε μαλτοδεξτρίνη ή μαλτοδεξτρινοκιτρικό οξύ, σε γιαούρτια είχε ως αποτέλεσμα αυτά να έχουν μία πιο ομοιογενή εμφάνιση. Η χρήση του μαλτοδεξτρινοκιτρικού οξέος ως παράγοντα ενθυλάκωσης ήταν η καταλληλότερη, καθώς ελήφθησαν προϊόντα με υψηλότερη θρεπτική αξία, αντιοξειδωτική δράση και ελκυστικό χρώμα (da Silva et al., 2019). Συμπερασματικά, τα παραπάνω αποτελέσματα αυτών των ερευνών υποδηλώνουν ότι σε ορισμένες περιπτώσεις είναι σκόπιμο να χρησιμοποιηθούν τα μικροφύκη σε εναλλακτικές μορφές, όπως εκχυλίσματα, κύτταρα που έχουν υποστεί λύση, ενθυλακωμένα ή νανοσωματίδια (Barros de Medeiros et al., 2021).

Οι παράμετροι της διαδικασίας, η οποία χρησιμοποιείται για τη λήψη της βιομάζας των μικροφυκών, έχουν αντίκτυπο στις ποιοτικές ιδιότητες των τροφίμων, που προστίθεται. Οι Palabiyik et al., (2018) παρατήρησαν ότι η θερμοκρασία εισόδου της τεχνικής ξήρανσης με

ψεκασμό, που χρησιμοποιήθηκε για τη ξήρανση της βιομάζας των μικροφυκών *Isochrysis galbana* και *Nannochloropsis oculata* (0,5% και 1%), που προστέθηκαν σε τσίχλες, επηρέασε τη σταθερότητα του χρώματος και την αισθητηριακή αποδοχή από αυτές τις τσίχλες. Τα προϊόντα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στους 150°C ήταν τα λιγότερο αποδεκτά, ενώ οι θερμοκρασίες 170-180°C οδήγησαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις χρωστικής. Ως εκ τούτου, η βιομάζα μικροφυκών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως φυσική χρωστική στις τσίχλες, αλλά οι παράμετροι της διαδικασίας ξήρανσης με ψεκασμό θα πρέπει να βελτιστοποιηθούν (Barros de Medeiros et al., 2021).

Η βιομάζα μικροφυκών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει τα παραδοσιακά συστατικά σε τρόφιμα. Για παράδειγμα, το όξινο τυρόπηγμα καζεΐνης, που προέρχεται από βιομάζα του *Chlorella vulgaris* (10%, 15% και 20%) χρησιμοποιήθηκε για να αντικαταστήσει το 25% και το 50% του συνολικού αυγού, που χρησιμοποιείται στην παραγωγή της μαγιονέζας, με αποτέλεσμα να δημιουργηθούν προϊόντα με καλή συνοχή, χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης και υψηλή σταθερότητα (Abd El-Razik and Mohamed, 2013). Επιπρόσθετα, η βιομάζα από *Nannochloropsis sp.* θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την αντικατάσταση έως και 30% του αλεύρου σίτου σε ξηρά ζυμαρικά χωρίς να διακυβεύονται οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες και με το πλεονέκτημα της αύξησης της συγκέντρωσης EPA (Rodríguez De Marco et al., 2018).

Η βιομάζα ή το εκχύλισμα μικροφυκών μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιοξειδωτικό σε προϊόντα διατροφής και βρώσιμες συσκευασίες. Οι Alavi & Golmakani, (2017) αξιολόγησαν τη χρήση βιομάζας *Spirulina* (0,5%, 1% και 1,5%) και/ή κιτρικού οξέος για τη βελτίωση της οξειδωτικής σταθερότητας του ελαιόλαδου και βρήκαν πως ενισχύθηκε η οξειδωτική σταθερότητα του και βελτιώθηκε η διάρκεια ζωής του. Οι Balti et al., (2017) παρατήρησαν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος *Spirulina* (0%, 2,5%, 5%, 10%, 15% και 20%) σε फिल्म χιτοζάνης καβουριών βελτίωσε τις μηχανικές ιδιότητες και τις ιδιότητες φραγμού και αύξησε τις αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριδιακές δραστηριότητες. Τα προαναφερόμενα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με την παρουσία πολυφαινολών στα εκχυλίσματα.

Συστατικά, τα οποία εξάγονται από τη βιομάζα των μικροφυκών ή που παράγονται κατά την ανάπτυξή τους, μπορούν να βρίσκουν εφαρμογή στα τρόφιμα. Οι εξωπολυσακχαρίτες (EPS), που παράγονται από μικροφύκη και πρόκειται για εξωκυτταρικά πολυμερή υδατανθράκων, έχουν τεχνολογικές εφαρμογές ως παράγοντες πηκτωματοποίησης, σταθεροποίησης, γαλακτωματοποίησης ή πύκνωσης σε νέα προϊόντα διατροφής (Bernaeerts et al., 2019; de Jesus Raposo et al., 2015b; Paniagua-Michel et al., 2014). Επίσης, πρωτεΐνες απομονωμένες από μικροφύκη παρουσιάζουν ιδιότητες γαλακτωματοποίησης, αφρισμού και πη-

κτωματοποίησης και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικά για τη σύνθεση νέων προϊόντων διατροφής ή για βελτίωση των υφιστάμενων (Batista et al., 2013; Benelhadj et al., 2016; Gifuni et al., 2019; Ursu et al., 2014). Οι He et al., (2019) αξιολόγησαν τα τριγλυκερίδια μικροφυκών, που λαμβάνονται από δώδεκα είδη μικροφυκών, με στόχο την εφαρμογή τους σε βρεφικά παρασκευάσματα. Μεταξύ των ειδών που δοκιμάστηκαν, τα είδη *Isochrysis sp.* και *Isochrysis gal.* παρουσίασαν σύνθεση λιπαρών οξέων, κατανομή θέσης λιπαρών οξέων της τριακυλογλυκερόλης και ιδιότητες πήξης και κρυστάλλωσης κατάλληλες για εφαρμογή σε βρεφική σύνθεση ως υποκατάστατα λίπους ανθρώπινου γάλακτος. Ακόμη, η χρήση ολόκληρων μικροφυκών *Chlorella protothecoides* προώθησε τη βελτίωση της ποιότητας του γαλακτώματος (έλαιο/νερό) μέσω της παρουσίας λιπιδίων και καροτενοειδών (Caroorgno et al., 2019). Συνεπώς, παρά το μεγάλο αριθμό μελετών, που χρησιμοποιούν βιομάζα μικροφυκών ως πηγή βιοδραστικών ενώσεων, είναι επίσης απαραίτητο να αξιολογηθεί η επίδραση των τεχνικών επεξεργασίας τροφίμων στο βιοενεργό περιεχόμενο, τη σταθερότητα και την αποτελεσματικότητα των μικροφυκών, προκειμένου να αυξηθεί η ενσωμάτωση και ο τύπος των προϊόντων (Raja et al., 2018).

2.6 Μικροφύκη στη Βιομηχανία Καλλυντικών

Σήμερα, πολλοί άνθρωποι χρησιμοποιούν καλλυντικά προϊόντα και τα συστατικά τους, άλλα για θεραπευτικούς σκοπούς και άλλα για να βελτιώσουν την ομορφιά τους, επομένως αυτή η βιομηχανία αναζητά νέα και καινοτόμα ενεργά μόρια, που μπορούν να προσελκύσουν την προσοχή του κοινού (Guillerme et al., 2017; Nohynek et al., 2010; Wang et al., 2015a). Τα καλλυντικά είναι ένας συνδυασμός καλλυντικών και φαρμακευτικών προϊόντων, τα οποία έχουν οφέλη «όπως τα φάρμακα» (Rodrigues et al., 2018). Τα καλλυντικά προϊόντα πρέπει να παρέχουν προστασία των ιδιοτήτων του δέρματος και ενίσχυση της υγιούς εμφάνισής του. Το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό των καλλυντικών είναι ότι πρέπει να είναι ασφαλή (Wang et al., 2015a). Οι χημικές ενώσεις στα καλλυντικά μπορεί να εμφανίσουν παρενέργειες, όπως πρόκληση αντιδράσεων υπερευαισθησίας, αναφυλακτική αντίδραση ή θανατηφόρα δηλητηρίαση (Pereira, 2018).

Τις τελευταίες δεκαετίες, με την αύξηση του ενδιαφέροντος για τα καλλυντικά, έχει αυξηθεί και η ανάγκη για φυσικούς και βιώσιμους πόρους για την παραγωγή καλλυντικών (Wang et al., 2015a). Τα υπάρχοντα καλλυντικά προϊόντα μπορούν να αντικατασταθούν από καλλυντικά προϊόντα, τα οποία περιέχουν ενώσεις που προέρχονται από μικροφύκη, που είναι φιλικά προς το περιβάλλον και ασφαλή. Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι οι ενώσεις, που προέρχονται από μικροφύκη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κύριο δραστικό συστατικό στα καλλυντικά, αλλά επίσης ορισμένες έχουν τέτοιες ιδιότητες, που τις καθιστούν χρησιμοποιήσιμες και ως έκδοχα, όπως σταθεροποιητές, χρωστικές ή πηκτικές ουσίες (Levasseur et al.,

2020; Ryu et al., 2015; Wang et al., 2015b). Τα εκχυλίσματα ή τα βιοενεργά μόριά τους χρησιμοποιούνται συνήθως σε προϊόντα προσωπικής περιποίησης όπως λοσιόν προσώπου, κρέμα, σαμπουάν, σαπούνι σώματος και χρωστικές για καλλυντικά σκευάσματα, όπως σκιές ματιών, κραγιόν και μακιγιάζ προσώπου (Ariede et al., 2017b; Khanra et al., 2018b; Rizwan et al., 2018). Επιπλέον, οι χρωστικές τους, όπως η χλωροφύλλη, η κετο-καροτενοειδής ασταξανθίνη και το β-καροτένιο, χρησιμοποιούνται σε αντιγηραντικές κρέμες, αντιερεθιστικούς αποφλοιωτές και προϊόντα περιποίησης δέρματος. Επίσης, διάφορα βιοδραστικά τους μόρια, όπως πρωτεΐνες, καροτενοειδή, χρωστικές, λιπαρά οξέα και άλλα μπορούν να αποτρέψουν τις κηλίδες, να αποκαταστήσουν το κατεστραμμένο δέρμα και να διατηρήσουν την υγρασία του δέρματος (Ariede et al., 2017b). Συνοπτικά, τα πεδία χρήσης βιομάζας ή εκχυλισμάτων ή βιοδραστικών ενώσεων, που προέρχονται από μικροφύκια, στα καλλυντικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν κυρίως ως εξής: προϊόντα αντιγήρανσης, αντηλιακά, προϊόντα λεύκανσης δέρματος, προϊόντα περιποίησης μαλλιών (Balasubramaniam et al., 2021).

Η γήρανση είναι μια διαδικασία που περιλαμβάνει μείωση της σύνθεσης των δομικών πρωτεϊνών του δέρματος (ελαστίνη, κολλαγόνο), που οδηγεί σε απώλεια της ελαστικότητας, χαλαρότητας, ακεραιότητας του δέρματος και τελικά προκαλεί ορατά σημάδια γήρανσης. Εκτός από τη μειωμένη πρωτεϊνοσύνθεση, η εξαρτώμενη από την ηλικία μείωση της ελαστικότητας του δέρματος συμβάλλει επίσης στην ανοδική ρύθμιση των αντίστοιχων πρωτεϊνών. Ως εκ τούτου, η καταλληλότερη στρατηγική αντιγήρανσης για την επίτευξη λείας και υγιούς επιδερμίδας είναι ο έλεγχος της υποβάθμισης των δομικών συστατικών του δέρματος μέσω της ρύθμισης της δραστηριότητας της πρωτεϊνάσης. Επιπλέον, η συχνή και επαναλαμβανόμενη έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV) έχει ως αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), που επάγουν οξειδωτικό κυτταρικό στρες και προάγουν γενετικές αλλοιώσεις, επηρεάζοντας έτσι τη δομή της πρωτεϊνικής μήτρας, καθώς και τις λειτουργίες, που τελικά οδηγεί σε βλάβη του δέρματος. Προκειμένου να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, υπάρχει ανάγκη να αντιμετωπιστούν αυτές οι ελεύθερες ρίζες και συνήθως εφαρμόζονται διάφορα προϊόντα περιποίησης, τα οποία μπορεί να ποικίλλουν από αντηλιακά, αντηλιακές λοσιόν, αντιγηραντικές κρέμες ή ορό κατά της γήρανσης (Sawant and Mane, 2017). Τα καροτενοειδή αναστέλλουν το σχηματισμό ROS και ως εκ τούτου παίζουν σημαντικό ρόλο ως παράγοντες απόσβεσης και επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενεργά συστατικά σε αντιγηραντικά προϊόντα. Τα μικροφύκη είναι μια ισχυρή πηγή αντιοξειδωτικών συστατικών, όπως το β-καροτένιο, η ασταξανθίνη, η λουτεΐνη και άλλα. Η ασταξανθίνη είναι ένα αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό μόριο, με πολύ υψηλές αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε σύγκριση με άλλα αντιοξειδωτικά. Το *Haematococcus pluvialis*, που είναι η κυρίαρχη πηγή ασταξανθίνης από μικροφύκη, παράγει περίπου το 3% έως 5% αυτής υπό κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας (Nethravathy et al., 2019). Το ιαπωνικό καλλυντικό προϊόν "Astablank", το οποίο

έχει ασταξανθίνη στη σύνθεσή του, φαίνεται ότι καταπολεμά τις ρυτίδες και τις κηλίδες. Η ασταξανθίνη μπορεί και εμποδίζει την οξειδωση των βασικών λιπιδίων, η οποία με τη σειρά της αυξάνει τη δραστηριότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και της καταλάσης (Pan et al., 2012; Ví lchez et al., 2011). Η από του στόματος χορήγηση φουκοξανθίνης μειώνει τη μελανογένεση του δέρματος και γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιείται επί του παρόντος στα καλλυντικά (Thomas and Kim, 2013). Το β-καροτένιο προλαμβάνει επίσης τη δημιουργία ελεύθερων ριζών και βοηθά στην αποφυγή της πρόωρης γήρανσης. Η λουτεΐνη είναι ένα άλλο σημαντικό μόριο, που υπάρχει στην επιδερμική στιβάδα και δρα κατά της βλάβης του δέρματος, που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία. Τα είδη μικροφυκών *Scenedesmus* και *Chlorella* παράγουν σημαντική ποσότητα λουτεΐνης, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναζωογόνηση του δέρματος (Nethravathy et al., 2019). Ένας πολυσακχαρίτης, που εκχυλίζεται από το *Porphyridium sp.*, διεγείρει τη σύνθεση ελαστίνης και βοηθά στην ανανέωση των κυττάρων. Εμπειρέχεται σε ένα προϊόν, το οποίο κατασκευάζεται από την εταιρεία Frutarom και διατίθεται στην αγορά με την ονομασία προϊόντος Alguard (Martins et al., 2014b). Τα εκχυλίσματα από είδη *Chlorella* αποδεικνύονται επίσης πολλά υποσχόμενη πηγή αντιγηραντικών συστατικών στα καλλυντικά, καθώς ενισχύουν τη σύνθεση κολλαγόνου, προάγοντας την αναγέννηση των ιστών και τη μείωση των ρυτίδων (Wang et al., 2015b). Η Ocean Pharma στη Γερμανία και η Pentapharm στην Ελβετία παρήγαγαν καλλυντικά με βάση εκχυλίσματα φυκών *Arthrospira maxima* και *N. oculata* αντίστοιχα, τα οποία είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν αντιγηραντικές ιδιότητες μέσω της βελτίωσης της ικανότητας αναγέννησης του δέρματος (Ryu et al., 2015). Τέλος, τα αμινοξέα τύπου μυκοσπορίνης (Mycosporine-like amino acids, MAAs), τα οποία παράγονται από ορισμένα μικροφύκη που ευδοκιμούν σε περιοχές με υψηλή ακτινοβολία, έχουν φωτοπροστατευτική δράση. Απορροφούν ακτινοβολίες μήκους κύματος 310 έως 320nm και αποδεικνύονται πιθανοί φωτοπροστατευτικοί παράγοντες. Τα είδη μικροφυκών *Dunaliella* και *Chlorella* παράγουν σημαντικά επίπεδα MAAs και έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας καλλυντικών για χρήση τους σε αντηλιακά (Rui et al., 2019)

Σχεδόν όλα τα καλλυντικά προϊόντα ενσωματώνονται με συνθετικές χρωστικές ουσίες, κάτι που στρέφει την προσοχή της βιομηχανίας καλλυντικών προς την αναγνώριση χρωστικών από φυσικές πηγές για μακροπρόθεσμη βιωσιμότητα. Οι χρωστικές των μικροφυκών ταιριάζουν καλά σε αυτά τα κριτήρια, όπου ταξινομούνται ως μια φυσικά βιώσιμη πηγή με πρόσθετα οφέλη για την υγεία, που περιλαμβάνουν προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία, αντιγήρανση, αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριακές ιδιότητες. Τα καροτενοειδή, οι χλωροφύλλες και οι φυκοχολοπρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις κύριες κατηγορίες χρωστικών στα μικροφύκη, τα οποία προσδίδουν διάφορα χρώματα που κυμαίνονται από πράσινο, κίτρινο, καφέ και κόκκινο, καθιστώντας τα κατάλληλα ως εναλλακτική λύση έναντι των συνθετικών χρωστικών

(Begum et al., 2015). Οι χλωροφύλλες εφαρμόζονται εκτενώς ως καλλυντικές χρωστικές, μαζί με την άλλη χρήση τους σε αποσμητικά ως παράγοντας κάλυψης των οσμών. Η χλωροφύλλη a, που απαντάται κυρίως στα *Chlorella* και *Spirulina sp.*, είναι μια γαλαζοπράσινη ένωση και χρησιμοποιείται ευρέως για τη σταθερότητα της (Mourelle et al., 2017b)]. Σε αντίθεση με τις χλωροφύλλες, η ασταξανθίνη προκαλεί έντονη κόκκινη μελάγχρωση, η οποία είναι εξαιρετικά χρήσιμη στα περισσότερα καλλυντικά προϊόντα (Chakdar and Pabbi, 2017). Η φυκοερυθρίνη δίνει έντονο ροζ φθορισμό και έχει σχεδιαστεί για χρήση σε κραγιόν, σκιές ματιών και άλλα απαραίτητα προϊόντα μακιγιάζ. Η φυκοκυανίνη, αντίθετα, προσδίδει μπλε φθορισμό και προέρχεται από κυανοβακτήρια (*Spirulina sp.* ή *Arthrospira sp.*). Στην ιαπωνική αγορά καλλυντικών, η φυκοκυανίνη που απομονώθηκε από το *Arthrospira sp.* έχει διατεθεί στο εμπόριο ως καλλυντικές χρωστικές και προϊόντα για σκιές ματιών (Pangestuti et al., 2020). Εκτός από τη χρήση τους ως χρωστικές, αυτές οι ενώσεις χρησιμοποιούνται και σε χάπια μαυρίσματος. Το μαύρισμα είναι μια διαδικασία, που ορίζεται ως η προσαρμογή του δέρματος στην έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία κατά την οποία το αυξημένο επίπεδο μελανίνης παίζει ρόλο στην προστασία του δέρματος από τις ακτίνες του ηλιακού φωτός, που προκαλούν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών (Biba, 2014; Pangestuti et al., 2020). Η κανθαξανθίνη, μια χρωστική ουσία που βρίσκεται κυρίως στα πράσινα μικροφύκη (*Chlorella sp.*, *Haemotococcus sp.* *Nannochloropsis sp.*) είναι ένα από τα πιο κοινά συστατικά που χρησιμοποιούνται σε χάπια μαυρίσματος. Η κανθαξανθίνη προσδίδει το μαυριστικό της αποτέλεσμα σκουρύνοντας το δέρμα μέσω της εναπόθεσης του κόκκινου-πορτοκαλί χρώματός της στην επιδερμίδα και στο υποδόριο λίπος. Ωστόσο, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι τα χάπια μαυρίσματος κανθαξανθίνης δεν έχουν ακόμη εγκριθεί από τον FDA, όπου έχουν παρατηρηθεί ανεπιθύμητες ενέργειες κνίδωσης, ηπατίτιδας και θανατηφόρου απλαστικής αναιμίας με την καθημερινή κατανάλωση αυτών των χαπιών (Pangestuti et al., 2020). Τέλος, τα εκχυλίσματα μικροφυκών χρησιμοποιούνται επίσης σε θεραπείες περιποίησης μαλλιών. Αυτά βοηθούν στην ανάπτυξη των μαλλιών και στη βελτίωση της δομής τους, προάγοντας τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων. Τα είδη μικροφυκών, που παράγουν κυρίως EFA, έχουν την ικανότητα να μαλακώνουν τα μαλλιά και να τα κάνουν εύκαμπτα (Ariede et al., 2017).

2.7 Ρυθμιστικά θέματα για την εμπορευματοποίηση και κατανάλωση

Η χρήση βιομάζας ή βιοδραστικών συστατικών μικροφυκών μπορεί να εγείρει ορισμένες ανησυχίες σχετικά με την τοξικότητα, που σχετίζεται κυρίως με την παρουσία τοξινών, βαρέων μετάλλων ή παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι προκύπτουν στις συνθήκες καλλιέργειας και παραγωγής (Buono et al., 2014; Rzymiski et al., 2015). Όταν επιλέγετε ένα μικροφύκος για χρήση σε προϊόντα διατροφής και καλλυντικών, είναι σημαντικό να παρατηρη-

θεί η πιθανή παραγωγή αλλεργιογόνων, τοξινών ή οποιασδήποτε άλλης επιβλαβούς ένωσης (Vigani et al., 2014). Επομένως, πριν από την άδεια κυκλοφορίας, η βιομάζα των μικροφυκών ή τα προϊόντα με βάση τα μικροφύκη πρέπει να αξιολογηθούν σχετικά με πτυχές ασφάλειας για να διασφαλιστεί ότι τα προϊόντα, τα οποία διατίθενται στο εμπόριο συμμορφώνονται με νομικές και κανονιστικές απαιτήσεις (Rzymiski et al., 2015).

Όσον αφορά την ασφάλεια των τροφίμων, η χρήση και η ανάπτυξη προϊόντων, που ενσωματώνονται με μικροφύκη, έχουν ρυθμιστεί από διάφορους διεθνείς φορείς. Παρά τη μεγάλη ποικιλία μικροφυκών που υπάρχουν, μόνο τα είδη *Chlorella vulgaris* και *Spirulina/Arthrospira sp.*, *Euglena gracilis*, *Dunaliella bardawil*, *Dunaliella salina*, *Chlamydomonas reinhardtii* ταξινομούνται ως Γενικά Αναγνωρισμένα ως Ασφαλή (GRAS) σύμφωνα με την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (FDA) και την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA). Αυτά τα είδη έχουν καλλιεργηθεί ευρέως για παραγωγή μεγάλης κλίμακας και διατίθενται στον τομέα των υγιεινών τροφών με τη μορφή δισκίων, καψουλών, υγρών, θρεπτικών συμπληρωμάτων ή ως φυσική πηγή για πρόσθετα τροφίμων. Επιπλέον, εκχυλίσματα ασταξανθίνης από *Haematococcus pluvialis* και έλαια, που προέρχονται από *Chlorella protothecoides*, *Cryptocodium cohnii*, *Ulkenia sp.* και *Schizochytrium sp.* θεωρούνται επίσης ασφαλή (Batista et al., 2013; Vigani et al., 2014).

Το καθεστώς GRAS εφαρμόζεται επίσημα στη δικαιοδοσία των Ηνωμένων Πολιτειών και ενδέχεται να τηρούνται διαφορετικοί κανόνες σε άλλες χώρες (Torres-Tiji et al., 2020). Για παράδειγμα, τα μικροφύκη *Chlorophyta*, *Tetraselmis sp.*, *Dunaliella sp.*, *Chlorococcum sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Desmodesmus sp.*, *Chlorella sp.*, *Chlamydomonas reinhard*, *Synechococcus sp.*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Haematochluetcioloc* ταξινομούνται ως ασφαλής με βάση την ταξινόμηση «όχι τοξίνες, γνωστές», που καθιερώθηκε από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Vigani et al., 2014).

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, οι κύριοι κανονισμοί για την παραγωγή και εμπορία προϊόντων διατροφής μικροφυκών είναι ο κανονισμός για την ασφάλεια των τροφίμων (EC 178/2002) και ο κανονισμός για τα νέα τρόφιμα (EC 258/97), τα οποία επαναπροσδιορίστηκαν το 2015 με νέο κανονισμό (EC 2015/2283), που εφαρμόστηκε αποτελεσματικά το 2018. Αυτός ο νέος κανονισμός επιδιώκει να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα κατά τη διαδικασία έγκρισης νέων τροφίμων, καθώς και να προωθήσει μεγαλύτερη ευελιξία για την ανάδειξη ασφαλών τροφίμων κατάλληλων για εισαγωγή στην αγορά. Πιο συγκεκριμένα, η εμπορία ολόκληρων μικροφυκών (βιομάζα) ή τροφίμων που παρασκευάζονται με μικροφύκη (βιομάζα, εκχυλίσματα ή μεμονωμένες ενώσεις) υπόκειται στον Κανονισμό για την Ασφάλεια των Τροφίμων που καλύπτει όλα τα προϊόντα διατροφής (EK 178/2002). Με τη σειρά του, ο κανονισμός για τα νέα τρόφιμα εφαρμόζεται σε τρόφιμα και συστατικά που δεν υπήρχαν στην ευρωπαϊκή αγο-

ρά πριν από τις 15 Μαΐου 1997. Τα έλαια EPA και DHA, καθώς και οι χρωστικές, οι οποίες λαμβάνονται από μικροφύκη, υπόκεινται στον παρόντα κανονισμό. Συνολικά, οι κανονισμοί των Ηνωμένων Πολιτειών και της Ευρωπαϊκής Ένωσης προσεγγίζουν διαφορετικές απαιτήσεις για την έγκριση προϊόντων μικροφυκών. Στις Ηνωμένες Πολιτείες η κύρια εστίαση σχετίζεται με την αξιολόγηση της ασφάλειας των τελικών προϊόντων, ενώ ο ευρωπαϊκός κανονισμός δίνει προτεραιότητα στην τεχνολογία, η οποία χρησιμοποιείται για την απόκτηση του τελικού προϊόντος (Vigani et al., 2014).

Στην Ευρώπη, ο Κανονισμός για τα καλλυντικά 1223/2009 είναι το κύριο ρυθμιστικό πλαίσιο για τα τελικά καλλυντικά προϊόντα, όταν διατίθενται στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EC No 1223/2009 Cosmetic Regulation). Ενισχύει την ασφάλεια των καλλυντικών προϊόντων και βελτιστοποιεί το πλαίσιο για όλους τους φορείς του κλάδου. Ο παρών κανονισμός αντικαθιστά την οδηγία 76/768/ΕΚ. Ο κανονισμός για τα καλλυντικά της Ευρωπαϊκής Ένωσης ορίζει ένα καλλυντικό προϊόν ως «κάθε ουσία ή μείγμα, που προορίζεται να έλθει σε επαφή με τα εξωτερικά μέρη του ανθρώπινου σώματος (επιδερμίδα, μαλλιά, νύχια, χείλη και εξωτερικά γεννητικά όργανα) ή με τα δόντια και τους βλεννογόνους της στοματικής κοιλότητας με σκοπό αποκλειστικά ή κυρίως τον καθαρισμό τους, την αλλαγή της εμφάνισής τους, την προστασία τους, τη διατήρησή τους σε καλή κατάσταση ή τη διόρθωση σωματικών οσμών» (Cosmetic Regulation in the European Union). Η επιλογή των συστατικών, που περιέχονται στα καλλυντικά προϊόντα, πρέπει να συμμορφώνεται με το άρθρο 14 του κανονισμού για τα καλλυντικά, και συγκεκριμένα στα παραρτήματα II–VI, που απαριθμούν απαγορευμένες ουσίες, κατάλογο ουσιών που επιτρέπονται υπό ορισμένες προϋποθέσεις και κατάλογο των χρωστικών, των συντηρητικών και των αντηλιακών, που επιτρέπονται να χρησιμοποιηθούν. Επιπλέον, τα Αρχεία Πληροφοριών Προϊόντος (PIF) διατηρούνται σύμφωνα με τον κανονισμό για τα καλλυντικά της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Το PIF πρέπει να περιλαμβάνει την περιγραφή του προϊόντος, την Έκθεση Ασφάλειας Καλλυντικών Προϊόντων (CPSR), λεπτομέρειες μεθόδων παρασκευής σύμφωνα με την ορθή παρασκευαστική πρακτική καλλυντικών (cGMP) και όπου δικαιολογείται απόδειξη του αποτελέσματος, που ισχυρίζεται. Καταρχήν, η επιλογή του cGMP είναι εθελοντική, αλλά ο κανονισμός για τα καλλυντικά παρέχει ένα κίνητρο για την τήρηση του Ευρωπαϊκού Προτύπου ISO 22716:2007 (ISO 22716:2007). Εάν ένα προϊόν ακολουθεί αυτό το πρότυπο, το οποίο αναγνωρίζεται ως εναρμονισμένο πρότυπο από την Ευρωπαϊκή Ένωση, επωφελείται από το τεκμήριο συμμόρφωσης με την απαίτηση cGMP του κανονισμού για τα καλλυντικά. Τέλος, θα πρέπει να γίνεται ενημέρωση προς τις αρχές για τυχόν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες (SUE) και ότι οι χρωστικές, τα συντηρητικά και τα φίλτρα UV, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που είναι νανοϋλικά, πρέπει να εγκρίνονται ρητά. Οι κατασκευαστές πρέπει να κοινοποιούν τα προϊόντα τους μέσω της πύλης κοινοποίησης καλλυντικών προϊόντων της Ευρωπαϊκής Ένωσης (CNPN).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, οι δύο πιο σημαντικοί νόμοι, που σχετίζονται με την αγορά καλλυντικών είναι ο Ομοσπονδιακός Νόμος για τα Τρόφιμα, Φάρμακα και Καλλυντικά, ο οποίος επιβάλλεται από τον FDA και ο νόμος Fair Packaging and Labeling Act, ο οποίος διέπεται από την Επιτροπή Δίκαιου Εμπορίου (FD&C Act; Federal Trade Commission). Σκοπός αυτών των πράξεων είναι να διασφαλιστεί ότι τα τρόφιμα, τα φάρμακα, οι ιατροτεχνολογικές συσκευές και τα καλλυντικά είναι ασφαλή στη χρήση, με κατάλληλη επισήμανση και να αποτραπεί η αθέμιτη ή παραπλανητική συσκευασία και επισήμανση. Οι ακόλουθες πληροφορίες πρέπει να εμφανίζονται στο κύριο σημείο πληροφοριών του προϊόντος (Κώδικας Ομοσπονδιακών Κανονισμών FDA Τίτλος 21 Μέρος 701 Ετικέτα καλλυντικών): δήλωση ταυτότητας που υποδεικνύει τη φύση και τη χρήση του προϊόντος, μια ακριβή δήλωση της καθαρής ποσότητας περιεχομένου, όνομα και τόπος επιχείρησης ή διανομέα, σημαντικά γεγονότα, δηλώσεις προειδοποίησης και προσοχής, συστατικά που παρατίθενται κατά φθίνουσα σειρά κυριαρχίας.

2.8 Προκλήσεις και ευκαιρίες της αγοράς και μελλοντικές προοπτικές

Το 2017, η παγκόσμια αγορά για προϊόντα με βάση τα μικροφύκη υπολογίστηκε σε 32,60 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ και προβλέπεται να φτάσει περίπου τα 53,43 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ (USD) έως το 2026. Επί του παρόντος, περισσότερο από το 75% της παραγωγής προϊόντων που προέρχονται από μικροφύκη διατίθεται σε τρόφιμα, ζωοτροφές ή γενικά εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, επομένως τα προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας μπορούν να θεωρηθούν εξειδικευμένα. Μεταξύ αυτών, τα πρώτα που καθιερώθηκαν ήταν οι παράγοντες βαφής με 300 εκατομμύρια USD το 2009, και τα θρεπτικά προϊόντα με 30 εκατομμύρια USD το 2009 (Rahman, 2020). Έκτοτε, έχουν εμφανιστεί και άλλες αγορές. Ως εκ τούτου, εκτιμάται ότι οι χρωστικές ουσίες θα εξακολουθούν να είναι το κορυφαίο προϊόν μικροφυκών στην αγορά (800 εκατομμύρια USD), ακολουθούμενο από τα φαρμακευτικά/χημικά προϊόντα (500 εκατομμύρια USD), τα θρεπτικά προϊόντα (300 εκατομμύρια USD) και τέλος τα καλλυντικά (30 εκατομμύρια USD). Σήμερα, η αγορά προϊόντων με βάση τα μικροφύκη κυριαρχείται από τις Ηνωμένες Πολιτείες, την Ασία και την Ωκεανία. Ωστόσο, τα επόμενα χρόνια, η Ευρώπη είναι πιθανό να γίνει ένας από τους ηγέτες στον τομέα των προϊόντων, που βασίζονται σε μικροφύκη (Rahman, 2020).

Δύο είδη, το *Arthrospira* (εμπορική ονομασία *Spirulina*) και το *Chlorella*, βρίσκονται στην κορυφή της παγκόσμιας αγοράς με παραγωγή 12.000 τόνων ετησίως και 5.000 τόνων ετησίως, αντίστοιχα (Nethravathy et al., 2019; Wang et al., 2020). Αυτά τα στοιχεία παραγωγής αναμένεται να αυξηθούν περαιτέρω χάρη στην αυξανόμενη ζήτηση των καταναλωτών για μια πιο υγιεινή διατροφή. Για παράδειγμα, εκτιμάται ότι έως το 2050 περισσότερο από το 18% των πηγών πρωτεΐνης θα προέρχεται από μικροφύκη (Caroigno and Mathys, 2018b).

Ως αποτέλεσμα, η αύξηση του όγκου της αγοράς της σκόνης *Spirulina* εκτιμάται ότι θα φτάσει τα 380 εκατομμύρια USD έως το 2027, έναντι 220,5 εκατομμυρίων USD το 2017 (Nethravathy et al., 2019).

Παρά την επέκταση της αγοράς, που παρατηρήθηκε, το κόστος που συνεπάγεται από τα στάδια παραγωγής/επεξεργασίας μικροφυκών και παράγωγων προϊόντων έχει περιορίσει τη χρήση τους ως υποκατάστατα τροφίμων. Η ανάπτυξη προηγμένης τεχνολογίας, αυτοματισμού και τεχνητής νοημοσύνης μπορεί να ξεπεράσει αυτά τα εμπόδια. Γενικά, η εφαρμογή, η αξιολόγηση της ασφάλειας και το κόστος είναι οι κύριες ανησυχίες. Έχουν προταθεί βελτιώσεις για την παραγωγή μικροφυκών, όπως αυστηρός έλεγχος μόλυνσης με τη χρήση φωτοβιοαντιδραστήρων, χαμηλό λειτουργικό κόστος και ορθολογική χρήση της ενέργειας, βελτιστοποίηση της συλλογής και ξήρανσης μικροφυκών και ανάπτυξη βιώσιμων τεχνολογιών για την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων (Wang et al., 2020).

Αρκετές in vitro μελέτες πιστοποιούν το λειτουργικό δυναμικό της βιομάζας μικροφυκών και των παράγωγων βιοδραστικών ενώσεων, ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι οι κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους είναι απαραίτητες για να αξιολογηθούν η αποτελεσματικότητα, η βιοδιαθεσιμότητα, η ασφάλεια, οι παρενέργειες και τα ευεργετικά αποτελέσματα των προϊόντων με βάση τα μικροφύκη. Παρά την πρόοδο με τα χρόνια, ορισμένες προκλήσεις πρέπει να ξεπεραστούν προκειμένου να επιτευχθεί ευρεία παραγωγή και εμπορευματοποίηση βιομάζας μικροφυκών και παράγωγων βιοδραστικών ενώσεων. Τα κυριότερα ζητήματα προς λύση περιλαμβάνουν το υψηλό κόστος λειτουργίας, την υποδομή και τη συντήρηση των εγκαταστάσεων, που είναι απαραίτητες για την καλλιέργεια και την απόκτηση βιομάζας, την επιλογή των στελεχών πηγής πρωτεΐνης, καθώς και τα στάδια συγκομιδής και αφυδάτωσης σε εμπορική κλίμακα. Επιπλέον, η χρηματοπιστωτική αγορά και η αξιοπιστία των στατιστικών δεδομένων για τις ευκαιρίες της αγοράς μικροφυκών επισημαίνονται ως περιοριστικοί παράγοντες για την πραγματική αξιολόγηση των δυνατοτήτων αυτών των μικροοργανισμών (Barros de Medeiros et al., 2021).

Συνεπώς, θα πρέπει να διεξαχθούν μελλοντικές μελέτες για την αξιολόγηση της σταθερότητας του είδους, τον εντοπισμό νέων ειδών με στόχο υψηλότερη ανάπτυξη, τη βελτιστοποίηση των συνθηκών του μέσου για την αύξηση της παραγωγής βιομάζας και βιοδραστικών ενώσεων, την αντικατάσταση των συνθετικών μέσων για εναλλακτικά μέσα με χαμηλότερο κόστος και άλλα. Επιπλέον, πρέπει να ξεπεραστούν ορισμένα μειονεκτήματα, όπως η αύξηση του μεγέθους της αγοράς, η μείωση του κόστους παραγωγής και οι αυστηρότεροι περιορισμοί, που σχετίζονται με τους κανονισμούς, όπως οι προδιαγραφές που σχετίζονται με την ποιότητα, την ασφάλεια και τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων (Barros de Medeiros et al., 2021).

3. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Η ραγδαία αύξηση του πληθυσμού έχει οδηγήσει στην επιδείνωση του φαινομένου του θερμοκηπίου και στην αναζήτηση εναλλακτικών, ώστε να αντιμετωπιστεί η αύξηση στη ζήτηση για ενέργεια, τρόφιμα, φάρμακα και άλλους πόρους. Αυτό σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια οι καταναλωτές αναζητούν προϊόντα, τα οποία παράγονται με μεθόδους πιο φιλικές προς το περιβάλλον και αποτελούνται από φυσικά συστατικά, ώστε να αποφευχθούν οι επιπτώσεις των συνθετικών συστατικών, που απαντώνται σε μεγάλο ποσοστό σε διάφορα προϊόντα, ώθησε την έρευνα στην εύρεση εναλλακτικών επιλογών. Μία τέτοια εναλλακτική προσέγγιση αποτελεί και η αξιοποίηση μικροφυκών ή ουσιών προερχόμενων από τα μικροφύκη, τα οποία χαρακτηρίζονται και ως μικροσκοπικά «πράσινα εργοστάσια». Η ικανότητα φωτοσύνθεσης των μικροφυκών και επιβίωσής τους σε ακραία περιβάλλοντα μαζί με την τεράστια βιοποικιλότητά τους οδηγεί στην παραγωγή μίας ποικιλίας βιοδραστικών συστατικών υψηλής αξίας, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και δευτερογενείς μεταβολίτες. Αυτές τις ενώσεις εκμεταλλεύονται διάφοροι τομείς στη βιομηχανία, όπως αυτή των τροφίμων, των καλλυντικών και άλλων, ως πρώτη ύλη, βιομάζα ή εκχυλίσματα υψηλής ποιότητας. Υπάρχει ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων με περισσότερες από μία ιδιότητες η καθεμία, όπως αντιοξειδωτικές, αντιγηραντικές και άλλες, τις οποίες εκμεταλλεύονται ήδη κάποιες εταιρίες και κυκλοφορούν προϊόντα, στα οποία έχουν ενσωματωθεί συστατικά μικροφυκών. Παρόλο που τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται ήδη, στις μέρες μας συνεχίζουν να αποτελούν ένα σχεδόν αναξιοποίητο πόρο και η ερευνητική κοινότητα συνεχίζει να τα μελετά, ώστε να αποδειχθούν οι ιδιότητες τους και να εντοπιστούν παράγωγα τους, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικές βιοτεχνολογικές εφαρμογές στη βιομηχανία. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές και στρατηγικές σε κάθε βήμα παραγωγής μικροφυκών σε επίπεδο βιομηχανικής κλίμακας, αλλά αντιμετωπίζονται δυσκολίες όσον αφορά το κόστος παραγωγής, κίνδυνο μόλυνσης στις καλλιέργειες, ποια είναι η κατάλληλη επιλογή τεχνικών σε κάθε βήμα, ώστε να απομονωθεί η ένωση σε συγκεκριμένη μορφή και σε μεγάλη απόδοση και άλλα πολλά. Η αγορά των προϊόντων μικροφυκών επεκτείνεται όσο περνούν τα χρόνια, επομένως θα πρέπει να συνεχιστούν οι μελέτες, που εστιάζουν στη λύση των σημερινών περιορισμών, όπως το υψηλό κόστος παραγωγής, ενώ ταυτόχρονα να επανεξεταστούν οι αυστηροί περιορισμοί, που σχετίζονται με τους κανονισμούς, όπως οι προδιαγραφές που σχετίζονται με την ποιότητα και την ασφάλεια, ώστε να είναι εμπορικά βιώσιμα αυτά τα προϊόντα.

4. Βιβλιογραφία

- Abd El-Razik, M.M., Mohamed, A.G., 2013. *World Applied Sciences Journal* 26, 917–925.
- Abidizadegan, M., Peltomaa, E., Blomster, J., 2021. The Potential of Cryptophyte Algae in Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Frontiers in Pharmacology*.
- Abu-Ghosh, S., Dubinsky, Z., Verdelho, V., Iluz, D., 2021. Unconventional high-value products from microalgae: A review. *Bioresource Technology*.
- Agustini, T.W., Ma'ruf, W.F., Widayat, Suzery, M., Hadiyanto, Benjakul, S., 2016. *Jurnal Teknologi* 78, 245–251.
- Ahrazem, O., Gómez-Gómez, L., Rodrigo, M.J., Avalos, J., Limón, M.C., 2016. Carotenoid cleavage oxygenases from microbes and photosynthetic organisms: Features and functions. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Alam, M.A., Xu, J.L., Wang, Z., 2020. Microalgae biotechnology for food, health and high value products, *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. Springer Singapore.
- Alavi, N., Golmakani, M.T., 2017. *Grasas y Aceites* 68, e178–e178.
- Amaro, H.M., Fernandes, F., Valentão, P., Andrade, P.B., Sousa-Pinto, I., Malcata, F.X., Guedes, A.C., 2015. *Marine Drugs* 13, 6453–6471.
- Apone, F., Barbulova, A., Colucci, M.G., 2019. Plant and microalgae derived peptides are advantageously employed as bioactive compounds in cosmetics. *Frontiers in Plant Science*.
- Arad S., Yaron A., 1992. Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics.
- Ariede, M.B., Candido, T.M., Jacome, A.L.M., Velasco, M.V.R., de Carvalho, J.C.M., Baby, A.R., 2017a. Cosmetic attributes of algae - A review. *Algal Research*.
- Ariede, M.B., Candido, T.M., Jacome, A.L.M., Velasco, M.V.R., de Carvalho, J.C.M., Baby, A.R., 2017b. *Algal Research* 25, 483–487.
- Bagchi, D., 2006. Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. *Toxicology*.
- Balasubramaniam, V., Gunasegavan, R.D.N., Mustar, S., Lee, J.C., Noh, M.F.M., 2021. *Molecules* 26.

Balti, R., Mansour, M. ben, Sayari, N., Yacoubi, L., Rabaoui, L., Brodu, N., Massé, A., 2017. *International Journal of Biological Macromolecules* 105, 1464–1472.

Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., Ayadi, M.A., Fendri, I., Attia, H., Abdelkafi, S., 2017. *LWT* 84, 323–330.

Barkia, I., Saari, N., Manning, S.R., 2019. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*.

Barros de Medeiros, V.P., da Costa, W.K.A., da Silva, R.T., Pimentel, T.C., Magnani, M., 2021. Microalgae as source of functional ingredients in new-generation foods: challenges, technological effects, biological activity, and regulatory issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

Batista, A.P., Gouveia, L., Bandarra, N.M., Franco, J.M., Raymundo, A., 2013. *Algal Research* 2, 164–173.

Batista, A.P., Nunes, M.C., Fradinho, P., Gouveia, L., Sousa, I., Raymundo, A., Franco, J.M., 2012. *Journal of Food Engineering* 110, 182–189.

Becker, E.W., 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*.

Begum, H., Yusoff, F.M.D., Banerjee, S., Khatoon, H., Shariff, M., 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.764841> 56, 2209–2222.

Begum, H., Yusoff, F.M.D., Banerjee, S., Khatoon, H., Shariff, M., 2016. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56, 2209–2222.

Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., Ghorbel, D., 2016. *Food Chemistry* 194, 1056–1063.

Bernaerts, T.M.M., Gheysen, L., Foubert, I., Hendrickx, M.E., van Loey, A.M., 2019. *Biotechnology Advances* 37, 107419.

Berthon, J.Y., Nachat-Kappes, R., Bey, M., Cadoret, J.P., Renimel, I., Filaire, E., 2017. Marine algae as attractive source to skin care. *Free Radical Research*.

Biba, E., 2014. *Nature* 2014 515:7527 515, S124–S125.

Blankenship, R.E., Tiede, D.M., Barber, J., Brudvig, G.W., Fleming, G., Ghirardi, M., Gunner, M.R., Junge, W., Kramer, D.M., Melis, A., Moore, T.A., Moser, C.C., Nocera, D.G., Nozik, A.J., Ort, D.R., Parson, W.W., Prince, R.C., Sayre, R.T., 2011. Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement. *Science*.

Bleakley, S., Hayes, M., 2017. *Foods* 6, 1–34.

- Borowitzka, M.A., 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds, *Journal of Applied Phycology*. Kluwer Academic Publishers.
- Brasil, B. dos S.A.F., de Siqueira, F.G., Salum, T.F.C., Zanette, C.M., Spier, M.R., 2017. Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. *Algal Research*.
- Brown, M.R., Miller, K.A., 1992. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture, *Journal of Applied Phycology*.
- Brown, M.R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., Trenerry, & C., 1999. The vitamin content of microalgae used in aquaculture, *Journal of Applied Phycology*.
- Buono, S., Langellotti, A.L., Martello, A., Rinna, F., Fogliano, V., 2014. *Food & Function* 5, 1669–1685.
- Caporgno, M.P., Haberkorn, I., Böcker, L., Mathys, A., 2019. *Bioresource Technology* 288, 121476.
- Caporgno, M.P., Mathys, A., 2018a. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. *Frontiers in Nutrition*.
- Caporgno, M.P., Mathys, A., 2018b. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. *Frontiers in Nutrition*.
- Cardozo, K.H.M., Guaratini, T., Barros, M.P., Falcão, V.R., Tonon, A.P., Lopes, N.P., Campos, S., Torres, M.A., Souza, A.O., Colepicolo, P., Pinto, E., 2007. Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*.
- Carissimi, M., Flôres, S.H., Rech, R., 2018. *Algal Research* 32, 201–209.
- Carreto, J.I., Carignan, M.O., 2011. Mycosporine-like amino acids: Relevant secondary metabolites. chemical and ecological aspects. *Marine Drugs*.
- Carroll, A.K., Shick, J.M., 1996. Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*), *Marine Biology*. Springer-Verlag.
- Castillejo, N., Martínez-Hernández, G.B., Goffi, V., Gómez, P.A., Aguayo, E., Artés, F., Artés-Hernández, F., 2018. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98, 2411–2421.
- Chakdar, H., Pabbi, S., 2017. *Algal Green Chemistry: Recent Progress in Biotechnology* 171–188.

Chew, K.W., Chia, S.R., Krishnamoorthy, R., Tao, Y., Chu, D.T., Show, P.L., 2019. *Biore-source Technology* 288.

Chew, K.W., Chia, S.R., Show, P.L., Yap, Y.J., Ling, T.C., Chang, J.S., 2018. Effects of wa-ter culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A re-view. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*.

Christaki, E., Florou-Paneri, P., Bonos, E., 2011. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 62, 794–799.

Chronakis, I.S., Madsen, M., 2011. Algal proteins, in: *Handbook of Food Proteins*. Elsevier, pp. 353–394.

Clemente, A., n.d. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition.

CNPN [WWW Document], n.d. URL https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/cosmetic-product-notification-portal_en (accessed 2.6.22).

Corina, A., Oriol Alberto Rangel-Zúñiga, †., Rosa Jiménez-Lucena, †., Francisco Alcalá-Díaz, J., Quintana-Navarro, G., María Yubero-Serrano, E., López-Moreno, J., Delgado-Lista, J., Tinahones, F., María Ordovás, J., López-Miranda, J., Pablo Pérez-Martínez, †., Perez-Martinez, P., BIUS Jussieu user, by, 2018.

Cosmetic Regulation in the European Union [WWW Document], n.d. URL <https://www.cosmeticsinfo.org/Regulation-in-eu> (accessed 2.6.22).

Croft, M.T., Lawrence, A.D., Raux-Deery, E., Warren, M.J., Smith, A.G., 2005. *Nature* 438, 90–93.

Cunningham, B.R., Greenwold, M.J., Lachenmyer, E.M., Heidenreich, K.M., Davis, A.C., Dudycha, J.L., Richardson, T.L., 2019. *Journal of Phycology* 55, 552–564.

Dagnelie, P.C., van Staveren, W.A., van den Berg, H., 1991. Vitamin B-12 from algae ap-pears not to be bioavailable^{1,2}, *Am J Clin Nutr*.

Durmaz, Y., Kilicli, M., Toker, O.S., Konar, N., Palabiyik, I., Tamtürk, F., 2020. *Algal Re-search* 47, 101811.

EC No 1223/2009 Cosmetic Regulation [WWW Document], n.d. URL <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02009R1223-20180801> (accessed 2.6.22).

Edelmann, M., Aalto, S., Chamlagain, B., Kariluoto, S., Piironen, V., 2019. *Journal of Food Composition and Analysis* 82.

F. Bokhari, F., Albaik, M., 2020. Vitamin D Deficiency.

FD&C Act, n.d. Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FD&C Act) | FDA [WWW Document]. URL <https://www.fda.gov/regulatory-information/laws-enforced-fda/federal-food-drug-and-cosmetic-act-fdc-act> (accessed 2.6.22).

Federal Trade Commission, n.d. Fair Packaging and Labeling Act: Regulations Under Section 4 of the Fair Packaging and Labeling Act | Federal Trade Commission [WWW Document]. URL <https://www.ftc.gov/enforcement/rules/rulemaking-regulatory-reform-proceedings/fair-packaging-labeling-act-regulations-0> (accessed 2.6.22).

Feldman, D., Krishnan, A. v., Swami, S., Giovannucci, E., Feldman, B.J., 2014. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature Reviews Cancer*.

Fernandez, M.L., 2019a. Plant-based diet quality is associated with changes in plasma adiposity biomarker concentrations in women. *Journal of Nutrition*.

Fernandez, M.L., 2019b. Plant-based diet quality is associated with changes in plasma adiposity biomarker concentrations in women. *Journal of Nutrition*.

Ferreira, I.M.P.L.V.O., Eça, R., Pinho, O., Tavares, P., Pereira, A., Roque, A.C., 2007. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* 30, 2139–2147.

Ferruzzi, M.G., Blakeslee, J., 2007. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*.

Foo, S.C., Yusoff, F.M., Ismail, M., Basri, M., Chan, K.W., Khong, N.M.H., Yau, S.K., 2015. *Algal Research* 12, 26–32.

Fradique, Mónica, Batista, A.P., Nunes, M.C., Gouveia, L., Bandarra, N.M., Raymundo, A., 2010. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 1656–1664.

Froese, D.S., Healy, S., McDonald, M., Kochan, G., Oppermann, U., Niesen, F.H., Gravel, R.A., 2010. *Molecular Genetics and Metabolism* 100, 29–36.

Galasso, C., Gentile, A., Orefice, I., Ianora, A., Bruno, A., Noonan, D.M., Sansone, C., Albini, A., Brunet, C., 2019. Microalgal derivatives as potential nutraceutical and food supplements for human health: A focus on cancer prevention and interception. *Nutrients*.

Gao, K., 1998. Chinese studies on the edible blue-green alga, *Nostoc flagelliforme*: a review, *Journal of Applied Phycology*.

Gao, M.T., Hirata, M., Toorisaka, E., Hano, T., 2006. *Bioresource Technology* 97, 2414–2420.

- García, J.L., de Vicente, M., Galán, B., 2017. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microbial Biotechnology*.
- Gheysen, L., Demets, R., Devaere, J., Bernaerts, T., Goos, P., van Loey, A., de Cooman, L., Foubert, I., 2019. *Algal Research* 40, 101502.
- Gifuni, I., Pollio, A., Safi, C., Marzocchella, A., Olivieri, G., 2019. *Trends in Biotechnology* 37, 242–252.
- Gong, M., Bassi, A., 2016. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. *Biotechnology Advances*.
- Gouveia, L., Marques, A.E., Sousa, J.M., Moura, P., Bandarra, N.M., 2010. *Food Science & Technology Bulletin: Functional Foods* 7, 21–37.
- Graça, C., Fradinho, P., Sousa, I., Raymundo, A., 2018. *LWT* 89, 466–474.
- Graziani, G., Schiavo, S., Nicolai, M.A., Buono, S., Fogliano, V., Pinto, G., Pollio, A., 2013. *Food and Function* 4, 144–152.
- Grossmann, L., Hinrichs, J., Weiss, J., 2020. Cultivation and downstream processing of microalgae and cyanobacteria to generate protein-based technofunctional food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Guedes, A.C., Amaro, H.M., Malcata, F.X., 2011. Microalgae as sources of carotenoids. *Marine Drugs*.
- Guillerme, J.B., Couteau, C., Coiffard, L., 2017. *Cosmetics* 2017, Vol. 4, Page 35 4, 35.
- Günerken, E., D'Hondt, E., Eppink, M.H.M., Garcia-Gonzalez, L., Elst, K., Wijffels, R.H., 2015. Cell disruption for microalgae biorefineries. *Biotechnology Advances*.
- Haghiac, M., Yang, X.H., Presley, L., Smith, S., Dettelback, S., Minium, J., Belury, M.A., Catalano, P.M., Hauguel-De Mouzon, S., 2015. *PLoS ONE* 10.
- Hamed, I., 2016. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15, 1104–1123.
- Handayania, N.A., Ariyantib, D., 2012. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques* 01.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G.M., Danquah, M.K., 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- He, Y., Wu, T., Sun, H., Sun, P., Liu, B., Luo, M., Chen, F., 2019. *Algal Research* 37, 40–50.

Heinrich, U., Gä, C., Wiebusch, M., Eichler, O., Sies, H., Tronnier, H., Stahl, W., 2003. Human Nutrition and Metabolism Research Communication Supplementation with-Carotene or a Similar Amount of Mixed Carotenoids Protects Humans from UV-Induced Erythema.

Hernández-Carmona, G., Carrillo-Domínguez, S., Arvizu-Higuera, D.L., Rodríguez-Montesinos, Y.E., Murillo-Álvarez, J.I., Muñoz-Ochoa, M., Castillo-Domínguez, R.M., 2009. *Journal of Applied Phycology* 21, 607–616.

Husain, K., Centeno, B.A., Coppola, D., Trevino, J., Sebti, S.M., Malafa, M.P., Husain, K., Centeno, B.A., Coppola, D., Trevino, J., Sebti, S.M., Malafa, M.P., 2017. *Oncotarget* 8, 31554–31567.

ISO - ISO 22716:2007 - Cosmetics — Good Manufacturing Practices (GMP) — Guidelines on Good Manufacturing Practices [WWW Document], n.d. URL <https://www.iso.org/standard/36437.html> (accessed 2.6.22).

Janoska, A., Andriopoulos, V., Wijffels, R.H., Janssen, M., 2018a. *Algal Research* 36, 193–208.

Janoska, A., Barten, R., de Nooy, S., van Rijssel, P., Wijffels, R.H., Janssen, M., 2018b. *Algal Research* 33, 55–70.

Janoska, A., Lamers, P.P., Hamhuis, A., van Eimeren, Y., Wijffels, R.H., Janssen, M., 2017. *Chemical Engineering Journal* 313, 1206–1214.

Jäpelt, R.B., Jakobsen, J., 2013. Vitamin D in plants: A review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*.

de Jesus Raposo, M.F., de Morais, A.M.B., de Morais, R.M.S.C., 2015a. Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine Drugs*.

de Jesus Raposo, M.F., de Morais, A.M.M.B., de Morais, R.M.S.C., 2015b. *Marine Drugs* 2015, Vol. 13, Pages 5128-5155 13, 5128–5155.

de Jesus Raposo, M.F., de Morais, R.M.S.C., de Morais, A.M.M.B., 2013. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Marine Drugs*.

Joshi, S.M.R., Bera, M.B., Panesar, P.S., 2014. *Journal of Food Processing and Preservation* 38, 655–664.

Jovic, T.H., Ali, S.R., Ibrahim, N., Jessop, Z.M., Tarassoli, S.P., Dobbs, T.D., Holford, P., Thornton, C.A., Whitaker, I.S., 2020. *Nutrients* 12, 1–30.

K. Y. Lim, D., M. Schenk, P., 2017. *AIMS Bioengineering* 4, 151–161.

Kannaujiya, V.K., Singh, P.R., Kumar, D., Sinha, R.P., 2020. Pigments from Microalgae Handbook 43–68.

Karentz, D., Mceuen, E.S., Land, M.C., Dunlap, W.C., 1991. Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure *, *Marine Biology*.

Kaur, S., Das, M., 2011. Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*.

Khanra, S., Mondal, M., Halder, G., Tiwari, O.N., Gayen, K., Bhowmick, T.K., 2018a. Down-stream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review. *Food and Bioproducts Processing*.

Khanra, S., Mondal, M., Halder, G., Tiwari, O.N., Gayen, K., Bhowmick, T.K., 2018b. *Food and Bioproducts Processing* 110, 60–84.

Kholssi, R., Ramos, P.V., Marks, E.A.N., Montero, O., Rad, C., 2021a. 2Biotechnological uses of microalgae: A review on the state of the art and challenges for the circular economy. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.

Kholssi, R., Ramos, P.V., Marks, E.A.N., Montero, O., Rad, C., 2021b. 2Biotechnological uses of microalgae: A review on the state of the art and challenges for the circular economy. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.

Kim, S., Park, J. eun, Cho, Y.B., Hwang, S.J., 2013. *Bioresource Technology* 144, 8–13.

Kim, S.K., Wijesekara, I., 2010. Development and biological activities of marine-derived bio-active peptides: A review. *Journal of Functional Foods*.

Kline, K., Lawson, K.A., Yu, W., Sanders, B.G., 2007. Vitamin E and Cancer. *Vitamins and Hormones*.

Kratzer, R., Murkovic, M., 2021.

Ku, C.S., Yang, Y., Park, Y., Lee, J., 2013. Health benefits of blue-green algae: Prevention of cardiovascular disease and nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Medicinal Food*.

Kumudha, A., Selvakumar, S., Dilshad, P., Vaidyanathan, G., Thakur, M.S., Sarada, R., 2015. *Food Chemistry* 170, 316–320.

Lafarga, T., Ación-Fernández, F.G., Castellari, M., Villaró, S., Bobo, G., Aguiló-Aguayo, I., 2019. *LWT* 111, 167–174.

Lekshmi VS, Kurup MG, 2019. ~ 693 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8.

- Levasseur, W., Perré, P., Pozzobon, V., 2020. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology Advances*.
- Liang, S., Liu, X., Chen, F., Chen, Z., 2004. Current microalgal health food R&D activities in China, *Hydrobiologia*.
- Lim, S.J., Wan Aida, W.M., Maskat, M.Y., Mamot, S., Ropien, J., Mazita Mohd, D., 2014. *Food Hydrocolloids* 42, 280–288.
- Lin, W.R., Tan, S.I., Hsiang, C.C., Sung, P.K., Ng, I.S., 2019. Challenges and opportunity of recent genome editing and multi-omics in cyanobacteria and microalgae for biorefinery. *Bioresource Technology*.
- Liu, T., Liu, W. hong, Zhao, J. sheng, Meng, F. zheng, Wang, H., 2017. *Cell Biology and Toxicology* 33, 57–67.
- Liu, X., Yu, W., Wang, G., Cao, F., Cai, J., Wang, H., 2016. *International Journal of Molecular Sciences* 17.
- Ljubic, A., Jacobsen, C., Holdt, S.L., Jakobsen, J., 2020. *Food Chemistry* 320.
- Lowrey, J., Brooks, M.S., McGinn, P.J., 2015. Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges—a critical review. *Journal of Applied Phycology*.
- Lucas, B.F., Morais, M.G. de, Santos, T.D., Costa, J.A.V., 2018. *LWT* 90, 270–276.
- Manirafasha, E., Ndikubwimana, T., Zeng, X., Lu, Y., Jing, K., 2016. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. *Biochemical Engineering Journal*.
- Marcinkowska-Lesiak, M., Onopiuk, A., Zalewska, M., Ciepłoch, A., Barotti, L., 2018. *Journal of Food Processing and Preservation* 42, e13561.
- Markou, G., Vandamme, D., Muylaert, K., 2014. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Research*.
- Martins, A., Vieira, H., Gaspar, H., Santos, S., 2014a. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: Tips for success. *Marine Drugs*.
- Martins, A., Vieira, H., Gaspar, H., Santos, S., 2014b. *Marine drugs* 12, 1066–1101.
- Marti-Quijal, F.J., Zamuz, S., Tomašević, I., Gómez, B., Rocchetti, G., Lucini, L., Remize, F., Barba, F.J., Lorenzo, J.M., 2019a. *LWT* 110, 316–323.

- Marti-Quijal, F.J., Zamuz, S., Tomašević, I., Rocchetti, G., Lucini, L., Marszałek, K., Barba, F.J., Lorenzo, J.M., 2019b. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99, 3672–3680.
- Masojídek, J., Torzillo, G., Koblížek, M., n.d. 2 *Photosynthesis in Microalgae* 1.
- Massoud, R., Khosravi-Darani, K., Nakhsaz, F., Varga, L., 2016. *Czech Journal of Food Sciences* 34, 350–355.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. *Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews.*
- Mazinani, S., Fadaei, V., Khosravi-Darani, K., 2016. *Journal of Food Processing and Preservation* 40, 1318–1324.
- Michalak, I., Chojnacka, K., 2015. *Algae as production systems of bioactive compounds. Engineering in Life Sciences.*
- Milledge, J.J., 2011. *Commercial application of microalgae other than as biofuels: A brief review. Reviews in Environmental Science and Biotechnology.*
- Mokrosnop, V.M., 2014. *Biotechnologia Acta* 7, 26–33.
- Molino, A., Iovine, A., Casella, P., Mehariya, S., Chianese, S., Cerbone, A., Rimauro, J., Musmarra, D., 2018a. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15.
- Molino, A., Rimauro, J., Casella, P., Cerbone, A., Larocca, V., Chianese, S., Karatza, D., Mehariya, S., Ferraro, A., Hristoforou, E., Musmarra, D., 2018b. *Journal of Biotechnology* 283, 51–61.
- Morone, J., Alfeus, A., Vasconcelos, V., Martins, R., 2019. *Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals — A new bioactive approach. Algal Research.*
- Morsy, M.K., Morsy, O.M., Elbarbary, H.A., Saad, M.A., 2019. *LWT* 101, 444–455.
- Mourelle, M.L., Gómez, C.P., Legido, J.L., 2017a. *The potential use of marine microalgae and cyanobacteria in cosmetics and thalassotherapy. Cosmetics.*
- Mourelle, M.L., Gómez, C.P., Legido, J.L., 2017b. *Cosmetics* 2017, Vol. 4, Page 46 4, 46.
- Nauroth, J.M., Liu, Y.C., van Elswyk, M., Bell, R., Hall, E.B., Chung, G., Arterburn, L.M., 2010. *Lipids* 45, 375–384.
- Nethravathy, M.U., Mehar, J.G., Mudliar, S.N., Shekh, A.Y., 2019. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18, 1882–1897.

Niccolai, A., Venturi, M., Galli, V., Pini, N., Rodolfi, L., Biondi, N., D'Ottavio, M., Batista, A.P., Raymundo, A., Granchi, L., Tredici, M.R., 2019. *Scientific Reports* 2019 9:1 9, 1–12.

Nohynek, G.J., Antignac, E., Re, T., Toutain, H., 2010. *Toxicology and Applied Pharmacology* 243, 239–259.

Nunes, M.C., Graça, C., Vlasisavljević, S., Tenreiro, A., Sousa, I., Raymundo, A., 2020. *Algal Research* 45, 101749.

Nunes-Alves, C., Booty, M.G., Carpenter, S.M., Jayaraman, P., Rothchild, A.C., Behar, S.M., 2014. In search of a new paradigm for protective immunity to TB. *Nature Reviews Microbiology*.

Odjadjare, E.C., Mutanda, T., Olaniran, A.O., 2017. Potential biotechnological application of microalgae: a critical review. *Critical Reviews in Biotechnology*.

Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S., Corpe, C., Levine, M., Dutta, A., Dutta, S.K., 2003. *Journal of the American College of Nutrition* 22, 18–35.

Palabiyik, I., Durmaz, Y., Öner, B., Toker, O.S., Coksari, G., Konar, N., Tamtürk, F., 2018. *Journal of Applied Phycology* 30, 1031–1039.

Pan, J.L., Wang, H.M., Chen, C.Y., Chang, J.S., 2012. *Engineering in Life Sciences* 12, 638–647.

Pangestuti, R., Suryaningtyas, I.T., Siahaan, E.A., Kim, S.-K., 2020. *Pigments from Microalgae Handbook* 611–633.

Paniagua-Michel, J. de J., Olmos-Soto, J., Morales-Guerrero, E.R., 2014. *Advances in Food and Nutrition Research* 73, 221–257.

Parmar, R.S., Singh, C., 2018. *Biochemistry and Biophysics Reports* 13, 22–26.

(PDF) ASSESSMENT OF FATTY ACIDS COMPOSITION IN COMMERCIALY AVAILABLE AND WIDELY CONSUMED EDIBLE OILS IN ETHIOPIA: THEIR RELEVANCE AND HEALTH IMPLICATIONS [WWW Document], n.d. URL https://www.researchgate.net/publication/341344281_ASSESSMENT_OF_FATTY_ACIDS_COMPOSITION_IN_COMMERCIALY_AVAILABLE_AND_WIDELY_CONSUMED_EDIBLE_OILS_IN_ETHIOPIA_THEIR_RELEVANCE_AND_HEALTH_IMPLICATIONS (accessed 1.25.22).

Pereira, H., Silva, J., Santos, T., Gangadhar, K.N., Raposo, A., Nunes, C., Coimbra, M.A., Gouveia, L., Barreira, L., Varela, J., 2019. *Molecules* 24.

- Pereira, L., 2018. *Cosmetics* 2018, Vol. 5, Page 68 5, 68.
- Perez-Garcia, O., Escalante, F.M.E., de-Bashan, L.E., Bashan, Y., 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research*.
- Perin, G., Bellan, A., Bernardi, A., Bezzo, F., Morosinotto, T., 2019. *Physiologia Plantarum* 166, 380–391.
- Plaza, M., Cifuentes, A., Ibáñez, E., 2008. *Trends in Food Science and Technology* 19, 31–39.
- Plaza, M., Herrero, M., Alejandro Cifuentes, A., Ibáñez, E., 2009. Innovative natural functional ingredients from microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Pulz, O., Gross, W., 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Rahimi, F., Tabarsa, M., Rezaei, M., 2016. *Journal of Applied Phycology* 28, 2979–2990.
- Rahman, Khondokar M, Rahman, K M, 2020. *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products* 3–27.
- Raja, R., Coelho, A., Hemaiswarya, S., Kumar, P., Carvalho, I.S., Alagarsamy, A., 2018. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 7, 740–747.
- Rammuni, M.N., Ariyadasa, T.U., Nimarshana, P.H.V., Attalage, R.A., 2019. Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*. *Food Chemistry*.
- Ranga Rao, A., Baskaran, V., Sarada, R., Ravishankar, G.A., 2013. *Food Research International* 54, 711–717.
- Rao, D.S., Raghuramulu, N., 1996. Food Chain as Origin of Vitamin D in Fish, *Camp. B&hem. Physiol.*
- Rasmussen, H.M., Johnson, E.J., 2013. *Clinical Interventions in Aging* 8, 741–748.
- Řezanka, T., Temina, M., Tolstikov, A.G., Dembitsky, V.M., 2004. Natural Microbial UV Radiation Filters-Mycosporine-like Amino Acids, *REVIEW Folia Microbiol.*
- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S.A., Lee, K., Rashid, N., 2018. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 92, 394–404.
- Roberts, J.E., Dennison, J., 2015. *Journal of Ophthalmology* 2015.

Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., Tredici, M.R., 2009. *Biotechnology and Bioengineering* 102, 100–112.

Rodrigues, F., Cádiz-Gurrea, M.D.L.L., Nunes, M.A., Pinto, D., Vinha, A.F., Linares, I.B., Oliveira, M.B.P.P., Carretero, A.S., 2018. Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications 393–427.

Rodríguez De Marco, E., Steffolani, M.E., Martínez, M., León, A.E., 2018. *International Journal of Food Science & Technology* 53, 499–507.

de Roeck-Holtzhauer, Y., Quere, I., Claire, C., 1991. Vitamin analysis of five planktonic microalgae and one macroalga, *Journal of Applied Phycology*. Kluwer Academic Publishers.

Rui, Y., Zhaohui, Z., Wenshan, S., Bafang, L., Hu, H., 2019. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 192, 26–33.

Ryu, B.M., Himaya, S.W.A., Kim, S.K., 2015. *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances* 309–316.

Rzymiski, P., Niedzielski, P., Kaczmarek, N., Jurczak, T., Klimaszuk, P., 2015. *Harmful Algae* 46, 34–42.

Santiago-Santos, M.C., Ponce-Noyola, T., Olvera-Ramírez, R., Ortega-López, J., Cañizares-Villanueva, R.O., 2004. *Process Biochemistry* 39, 2047–2052.

Santos-Sánchez, N.F., Valadez-Blanco, R., Hernández-Carlos, B., Torres-Ariño, A., Guadarrama-Mendoza, P.C., Salas-Coronado, R., 2016. Lipids rich in ω -3 polyunsaturated fatty acids from microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*.

Sawant, S.S., Mane, V.K., 2017. *Pharmacognosy Communications* 7, 152–157.

Schuck, P., Jeantet, R., Tanguy, G., Méjean, S., Gac, A., Lefebvre, T., Labussière, E., Martineau, C., 2015. *Drying Technology* 33, 176–184.

Seddon, J.M., Ajani, U.A., Sperduto, R.D., Hiller, R., Blair, N., Burton, T.C., Farber, M.D., Gragoudas, E.S., Haller, J., Miller, D.T., Yannuzzi, L.A., Willett, W., Sperduto, M., Blair, C., 1992. Dietary Carotenoids, Vitamins A, C, and E, and Advanced Age-Related Macular Degeneration From the Epidemiology Unit (Drs Seddon and Ajani) and the Retina Service (Drs Seddon and Gragoudas), the Department of Ophthalmology, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, and the Channing Laboratory (Dr; the National Eye Institute, *Arch Ophthalmol*.

Šeregelj, V., Vulić, J., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Tumbas Šaponjac, V., Stajčić, S., 2021. *Studies in Natural Products Chemistry* 67, 307–344.

Shaish, A., Daugherty, A., O'Sullivan, F., Schonfeld, G., Heinecke, J.W., 1995. *Journal of Clinical Investigation* 96, 2075–2082.

Sharma S.R., Poddar P., sen P., Andrews J.T., 1998. Effect of vitamin C and its derivatives on collagen synthesis and cross-linking by normal human fibroblasts.

Sharma, S.R., Poddar, R., Sen, P., Andrews, J.T., 2008. *African Journal of Biotechnology* 7, 2049–2054.

Sher, I., Tzameret, A., Peri-Chen, S., Edelshtain, V., Ioffe, M., Sayer, A., Buzhansky, L., Gazit, E., Rotenstreich, Y., 2018. *Scientific Reports* 8.

Siddiki, S.Y.A., Mofijur, M., Kumar, P.S., Ahmed, S.F., Inayat, A., Kusumo, F., Badruddin, I.A., Khan, T.M.Y., Nghiem, L.D., Ong, H.C., Mahlia, T.M.I., 2022. *Fuel* 307.

da Silva Ferreira, V., Sant'Anna, C., 2017. Impact of culture conditions on the chlorophyll content of microalgae for biotechnological applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.

da Silva, S.C., Fernandes, I.P., Barros, L., Fernandes, Â., José Alves, M., Calhelha, R.C., Pereira, C., Barreira, J.C.M., Manrique, Y., Colla, E., Ferreira, I.C.F.R., Filomena Barreiro, M., 2019. *Journal of Functional Foods* 60, 103427.

Singh, G., Patidar, S.K., 2018. Microalgae harvesting techniques: A review. *Journal of Environmental Management*.

Singh, J., Saxena, R.C., 2015. An Introduction to Microalgae: Diversity and Significance. Diversity and Significance, in: *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. Elsevier Inc., pp. 11–24.

Siqueira, S.F., Queiroz, M.I., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., 2018. Introductory Chapter: Microalgae Biotechnology - A Brief Introduction, in: *Microalgal Biotechnology*. InTech.

Smerilli, A., Orefice, I., Corato, F., Gavalás Olea, A., Ruban, A. v., Brunet, C., 2017. *Environmental Microbiology* 19, 611–627.

Sonani, R.R., 2016. *World Journal of Biological Chemistry* 7, 100.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101, 87–96.

Stahl, W., Sies, H., 2012. β -Carotene and other carotenoids in protection from sunlight. *American Journal of Clinical Nutrition*.

Stolz P., Obermayer B., 2005. *Cosmetics & Toiletries* 120, 99–106.

Sylvester, P.W., Shah, S.J., 2005. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 10, 699–709.

Takeuchi, A., Okano, T., Tanda, M., Kobayashi, T., 1991. POSSIBLE ORIGIN OF EXTREMELY HIGH CONTENTS VITAMIN D, IN SOME KINDS OF FISH LIVER, *Biochem. Physiol.*

Tan, X.B., Lam, M.K., Uemura, Y., Lim, J.W., Wong, C.Y., Lee, K.T., 2018. Cultivation of microalgae for biodiesel production: A review on upstream and downstream processing. *Chinese Journal of Chemical Engineering.*

Tang, D.Y.Y., Khoo, K.S., Chew, K.W., Tao, Y., Ho, S.H., Show, P.L., 2020. Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products. *Biore-source Technology.*

Tang, W., Lin, L., Xie, J., Wang, Z., Wang, H., Dong, Y., Shen, M., Xie, M., 2016. *Carbohydrate Polymers* 151, 305–312.

Tarento, T.D.C., McClure, D.D., Vasiljevski, E., Schindeler, A., Dehghani, F., Kavanagh, J.M., 2018. *Algal Research* 36, 77–87.

Thirumdas, R., Brnčić, M., Brnčić, S.R., Barba, F.J., Gálvez, F., Zamuz, S., Lacomba, R., Lorenzo, J.M., 2018. *Journal of Food Processing and Preservation* 42, e13817.

Thomas, E., 2015. *Frontiers in Microbiology* 6.

Thomas, N.V., Kim, S.K., 2013. *Marine Drugs* 2013, Vol. 11, Pages 146-164 11, 146–164.

Torregrosa-Crespo, J., Montero, Z., Fuentes, J.L., García-Galbís, M.R., Garbayo, I., Vilchez, C., Martínez-Espinosa, R.M., 2018. Exploring the valuable carotenoids for the large-scale production by marine microorganisms. *Marine Drugs.*

Torres-Tijj, Y., Fields, F.J., Mayfield, S.P., 2020. *Biotechnology Advances* 41, 107536.

Tsubaki, S., Oono, K., Hiraoka, M., Onda, A., Mitani, T., 2016. *Food Chemistry* 210, 311–316.

Ursu, A.V., Marcati, A., Sayd, T., Sante-Lhoutellier, V., Djelveh, G., Michaud, P., 2014. *Biore-source Technology* 157, 134–139.

Vaz, B. da S., Moreira, J.B., Morais, M.G. de, Costa, J.A.V., 2016. Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. *Current Opinion in Food Science.*

Ví lchez, C., Forján, E., Cuaresma, M., Bé dmar, F., Garbayo, I., Vega, J.M., 2011. *Mar. Drugs* 9, 319–333.

Vieira, M. v., Oliveira, S.M., Amado, I.R., Fasolin, L.H., Vicente, A.A., Pastrana, L.M., Fuciños, P., 2020. *Food Hydrocolloids* 107.

Vigani, M., Barbosa, M., Enzing, C., Prisi, C., Ploeg, M., Sijtsma, L., 2014. *Microalgae-based products for the food and feed sector - Publications Office of the EU.*

Vinardell, M.P., Mitjans, M., 2015. *Nanocarriers for delivery of antioxidants on the skin. Cosmetics.*

Virtanen, O., Constantinidou, E., Tyystjärvi, E., 2020. *Journal of Biological Education.*

Vitamin K | C31H46O2 - PubChem [WWW Document], n.d. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitamin-K> (accessed 2.2.22).

Wall, R., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Stanton, C., 2010. Fatty acids from fish: The anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Reviews.*

Wang, Alex, Yan, K., Chu, D., Nazer, M., Lin, N.T., Samaranayake, E., Chang, J., Wang, A, Yan, · K, Chu, · D, Nazer, · M, Lin, · N T, Samaranayake, · E, Geb, · J Chang, 2020. *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products* 29–79.

Wang, H.M.D., Chen, C.C., Huynh, P., Chang, J.S., 2015a. *Bioresource Technology* 184, 355–362.

Wang, H.M.D., Chen, C.C., Huynh, P., Chang, J.S., 2015b. *Bioresource Technology* 184, 355–362.

Ward, O.P., Singh, A., 2005. *Process Biochemistry* 40, 3627–3652.

Watanabe, F., Yabuta, Y., Bito, T., Teng, F., 2014. Vitamin B12-containing plant food sources for vegetarians. *Nutrients.*

Watanabe¹, F., Takenaka², S., Kittaka-Katsura³, H., Ebara⁴, S., Miyamoto¹, E., 2002. Characterization and Bioavailability of Vitamin B12-Compounds from Edible Algae, *J Nutr Sci Vitaminol.*

Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E., Brawley, S.H., 2017. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *Journal of Applied Phycology.*

Williams, P.J.L.B., Laurens, L.M.L., 2010. *Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. Energy and Environmental Science.*

- Wu, J., Gu, X., Yang, D., Xu, S., Wang, S., Chen, X., Wang, Z., 2021. Bioactive substances and potentiality of marine microalgae. *Food Science and Nutrition*.
- Xu, S.Y., Huang, X., Cheong, K.L., 2017. Recent advances in marine algae polysaccharides: Isolation, structure, and activities. *Marine Drugs*.
- Yaakob, Z., Ali, E., Zainal, A., Mohamad, M., Takriff, M.S., 2014. An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture.
- Yabuzaki, J., 2017. *Database 2017*.
- Yen, H.W., Hu, I.C., Chen, C.Y., Ho, S.H., Lee, D.J., Chang, J.S., 2013. *Bioresource Technology* 135, 166–174.
- Yuan, Y., Macquarrie, D., 2015. *Carbohydrate Polymers* 129, 101–107.
- Zhang, Z., Wang, F., Wang, X., Liu, X., Hou, Y., Zhang, Q., 2010. *Carbohydrate Polymers* 82, 118–121.
- Zhu, L., 2015. Microalgal culture strategies for biofuel production: A review. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*.
- Zhu, S., Huang, W., Xu, Jin, Wang, Z., Xu, Jingliang, Yuan, Z., 2014. *Bioresource Technology* 152, 292–298.
- Zouari, N., Abid, M., Fakhfakh, N., Ayadi, M.A., Zorgui, L., Ayadi, M., Attia, H., 2011. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2011.582461> 62, 811–813.