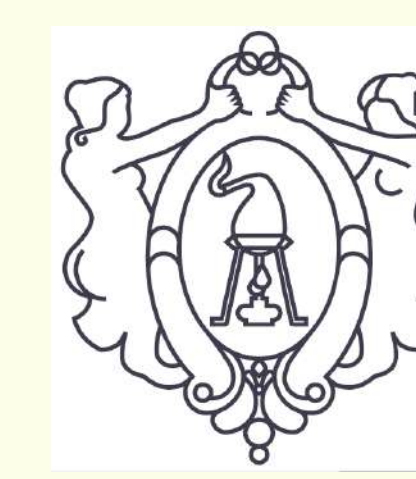


Ekstrakty z mikroalg jako surowce w przemyśle kosmetycznym.



Wydział
Chemiczny

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

Adrianna Maria Zalewska^{1,2}, Dominika Woźniak^{1,2}, Jacek Szymański^{1,2}, Kamil Trzebuniak³,
Tomasz Kobiela¹, Małgorzata Milner-Krawczyk¹, Anna Sobiepanek¹

1. Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków

2. Politechnika Warszawska, Koło Naukowe Biotechnologów „Herbion”

3. Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin

Mikroalgi ze względu na ciekawy skład chemiczny swoich metabolitów znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, szczególnie gatunek *Dunaliella salina* słynie z produkcji β -karotenu posiadającego silne właściwości antyoksydacyjne. Przemysł kosmetyczny coraz częściej sięga do surowców naturalnych, którymi są też ekstrakty z mikroalg. W ramach projektu skupiono się na optymalizacji ekstrakcji barwników naturalnych. Do wyboru najbardziej wydajnej metody ekstrakcji wykorzystano widma UV-VIS. W trakcie badań porównano skład ekstraktów uzyskanych po 15 dniu hodowli (faza wzrostu logarytmicznego) i 30 dniu hodowli (faza stacjonarna). Uzyskane ekstrakty przebadano pod względem składu barwników za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Następnie zbadano wpływ ekstraktów na ludzkie keratynocyty, gdzie stężenia ekstraktów wybrano na podstawie testów cytotoksyczności. Ponadto, określono wpływ ekstraktów na żywotność komórek pod wpływem promieniowania UV (ochronny oraz naprawczy). Uzyskane wyniki sugerują, że ekstrakty mikroalg są bogatym źródłem barwników naturalnych oraz wysoce obiecującymi surowcami kosmetycznymi.

Mikroalgi to jednokomórkowe organizmy fotoautotroficzne, które są pierwotnymi producentami materii organicznej w środowisku wodnym lub wilgotnym. Za sprawą swych oryginalnych właściwości stanowią obecnie popularny obiekt badawczy dla naukowców z całego świata. Unikatowy skład chemiczny metabolitów zapewnia im szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, chemicznym, farmaceutycznym, medycznym oraz kosmetycznym. Mikroalgi stanowią cenne źródło prawie wszystkich ważnych witamin, takich jak A, B1, B2, B6, B12, C, E, K, biotyna czy kwas foliowy (1). Część z tych związków jest wysoko cenionymi i szeroko wykorzystywanymi przeciwutleniaczami chroniącymi przed wolnymi rodnikami i szkodliwym promieniowaniem ultrafioletowym. Ponadto, mikroalgi są ważnymi producentami karotenoidów, które w komórkach pełnią głównie funkcje ochronną w stosunku do chlorofili (ochrona przed nadmiernym natężeniem światła) oraz przed wolnymi rodnikami tlenowymi (2). Jako obiekty badawcze w projekcie wybrano mikroalgi *Dunaliella tertiolecta*, *Cylindrotheca closterium* oraz *Rhodomonas maculata*. Obecnie ekstrakty z mikroalg występują najczęściej w kosmetykach nawilżających i regenerujących do skóry twarzy i ciała, ale także w kremach chroniących skórę i włosy przed promieniowaniem UV. **Celem prowadzonych badań** była analiza ekstraktów z mikroalg do celów kosmetycznych.

Komórki *Dunaliella tertiolecta* przyjmują barwę zieloną, mają kształt sferyczny i około 10 μm długości. Nazywane są „nagimi” ze względu na brak ściany komórkowej.

Komórki *Cylindrotheca closterium* mają wrzecionowaty kształt, długość od 30 do 50 μm i barwę pomarańczową. Posiadają krzemionkową ścianę komórkową.

Rhodomonas maculata ma owalny kształt, długość 10-20 μm i przyjmuje różne zabarwienie w zależności od dostępności składników odżywczych (od brązowo/czerwonego poprzez żółty do zielonego).

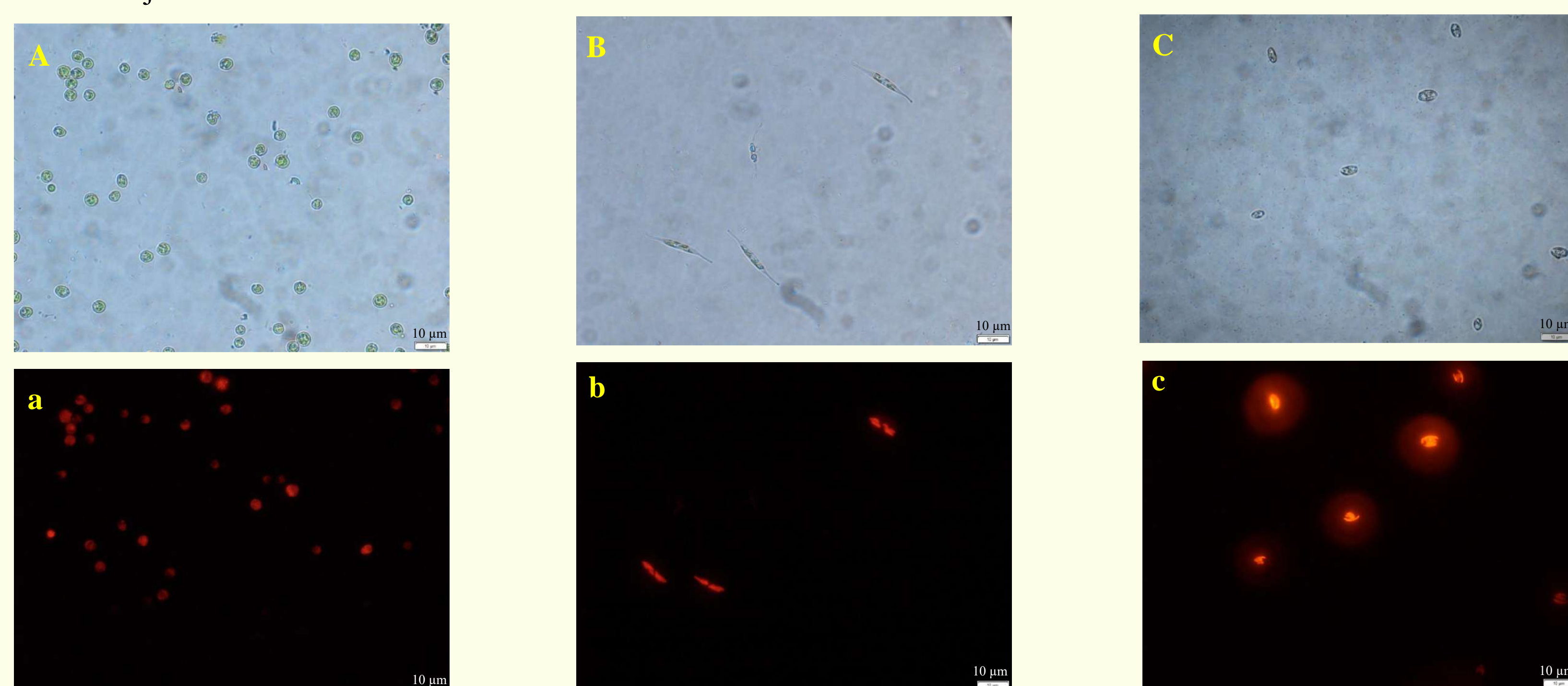


Figura 1. Zdjęcia uzyskane z mikroskopu optycznego przy powiększeniu 60-krotnym obiektu: A- *Dunaliella tertiolecta*, B- *Cylindrotheca closterium*, C- *Rhodomonas maculata*. Zdjęcia uzyskane z mikroskopu fluorescencyjnego przy ekstynkcji 555 nm i emisji 565 nm przy powiększeniu 60-krotnym: a- *Dunaliella tertiolecta*, b- *Cylindrotheca closterium*, c- *Rhodomonas maculata*.

Komórki mikroalg wykazują fluorescencję w zakresie 555-565 nm co wskazuje na występowanie w nich barwników naturalnych z grupy ksantofili (Fig. 4), a otrzymane ekstrakty z mikroalg prezentowały widma UV-VIS charakterystyczne dla mieszanin bogatych zarówno w ksantofile (350-550 nm) oraz porfiryny (600-700 nm) (Fig. 5).

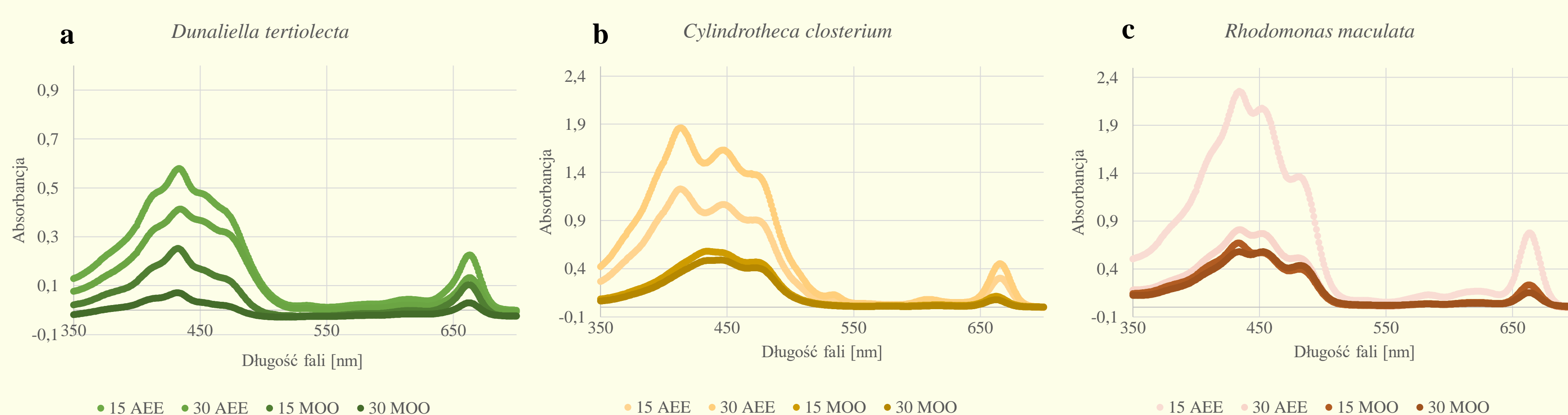


Figura 4. Widma spektrofotometryczne w zakresie 350 nm - 700 nm dla uzyskanych ekstraktów z poszczególnych gatunków mikroalg (a- *Dunaliella tertiolecta*, b- *Cylindrotheca closterium*, c- *Rhodomonas maculata*) po 15 i 30 dniu hodowli ekstrahowanych w układach rozpuszczalników AEE i MOO.

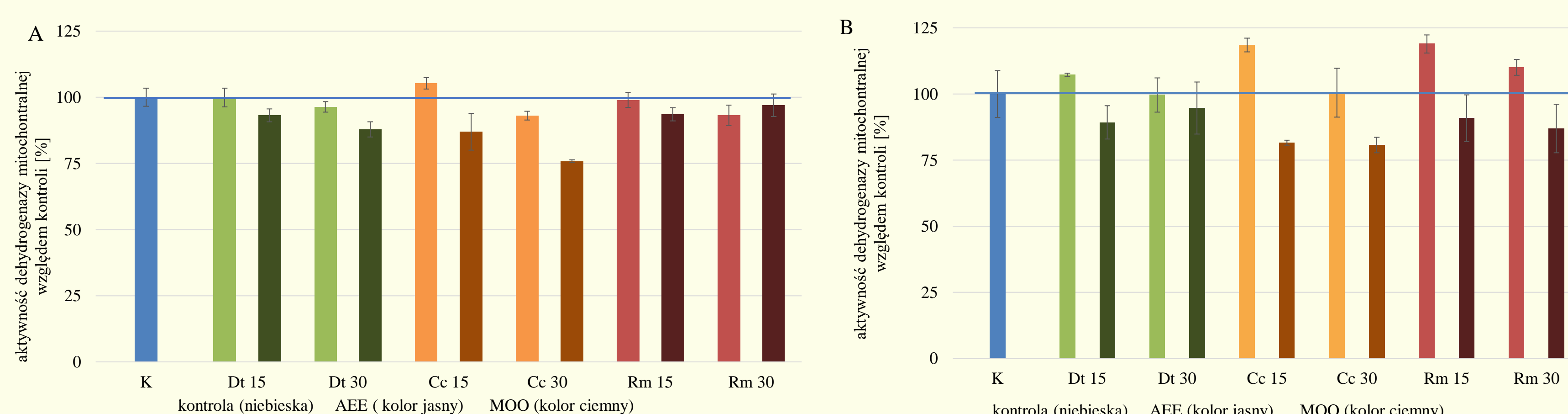


Figura 5. Wyniki testu MTT wykonanego na komórkach (A - keratynocytów HaCaT, B - fibroblastów pierwotnych) porównanie działania ekstraktów uzyskanych dla 15 i 30 dnia hodowli mikroalg oraz różnych układach rozpuszczalników (AEE i MOO).

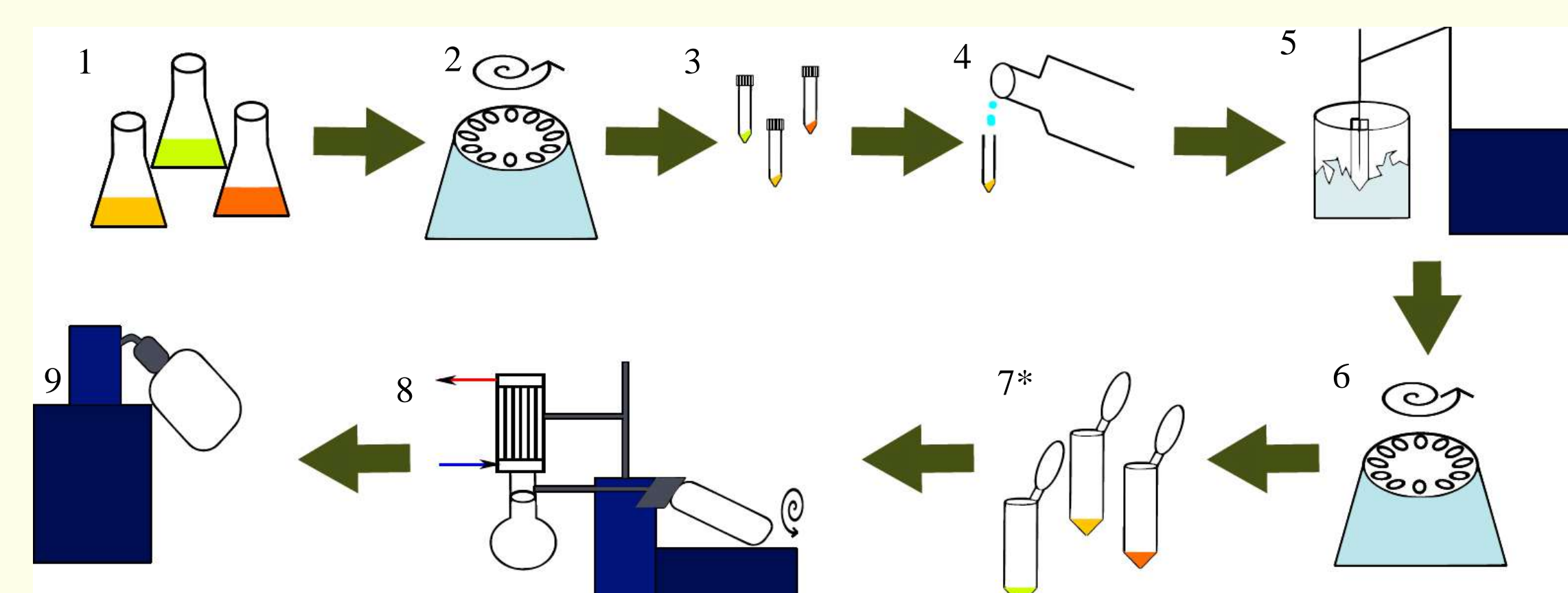


Figura 2. Schemat postępowania w trakcie ekstrakcji: 1 hodowla mikroalg, 2 wirowanie hodowli, usunięcie supernatantu, 3 zamrożenie biomasy, 4 dodanie mieszaniny rozpuszczalników, 5 sonikacja, 6 wirowanie, 7 pobranie górnej fazy, 8 odparowanie rozpuszczalników, 9 liofilizacja.



Figura 3. Zdjęcia prezentujące etap 7* ze Schematu (Fig. 2)(ekstrakcja prowadzona z wykorzystaniem układu rozpuszczalników I- aceton: eter dietylowy: eter naftowy (AEE), II- metanol: octan etylu: octan amonu (MOO)).

Analiza ekstraktów za pomocą metody HPLC pokazała bogaty skład uzyskanych próbek oraz następujące zależności:

- próbki ekstrahowane układem MOO – większa zawartość polarnych barwników (tj. Chl c), mniejsza zawartość niepolarnych barwników (tj. β -karoten praktycznie nieobecny)
- próbki ekstrahowane układem AEE – mniejsza zawartość polarnych barwników (tj. Chl c praktycznie nieobecny), większa zawartość niepolarnych barwników (tj. β -karoten)

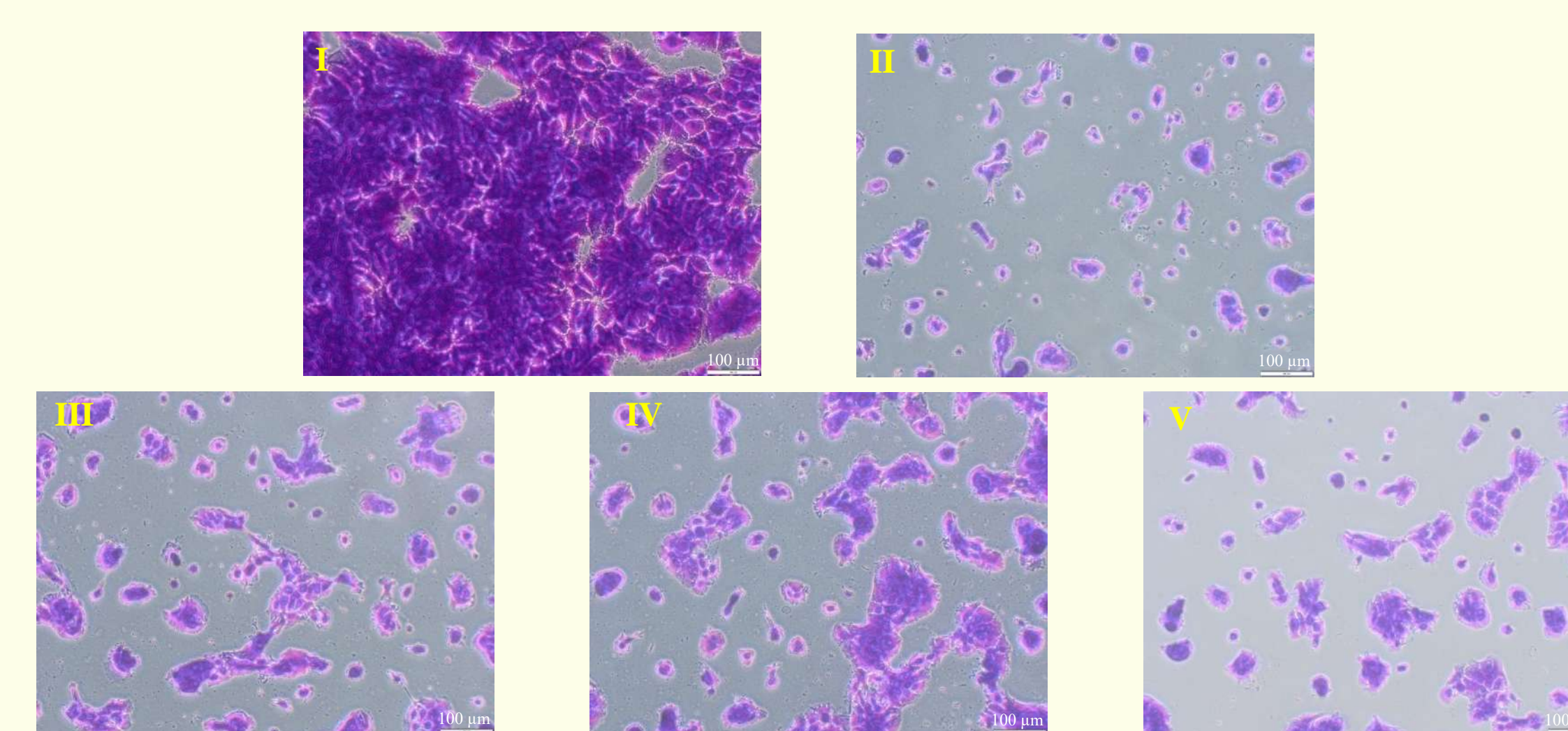


Figura 6. Obrazy mikroskopowe keratynocytów HaCaT barwionych fioletem krystalicznym: I- komórki nieświetlone UVB (kontrola), II- komórki naświetlone UVB, III- komórki naświetlone UVB i traktowane ekstraktem z *Dunaliella tertiolecta*, IV- komórki naświetlone UVB i traktowane ekstraktem z *Cylindrotheca closterium*, V- komórki naświetlone UVB i traktowane ekstraktem z *Rhodomonas maculata* (powiększenie obiektu 10-krotne).

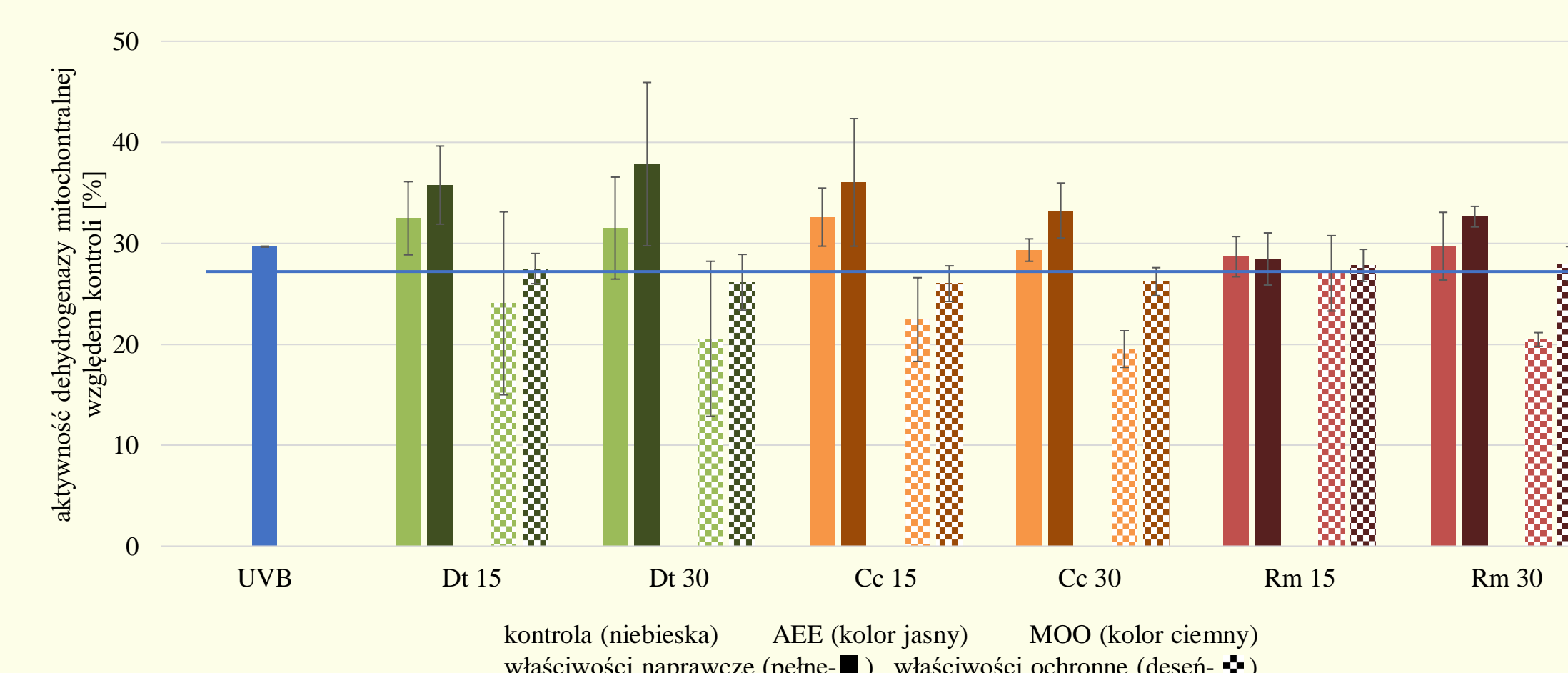


Figura 7. Wyniki testu MTT wykonanego na naświetlonych promieniowaniem UVB keratynocytach HaCaT. Porównanie działania ekstraktów uzyskanych dla 15 i 30 dnia hodowli mikroalg, w różnych układach rozpuszczalników (AEE, MOO). Analiza wpływu ekstraktów na właściwości naprawcze i ochronne przeciw promieniowaniu UVB (pre- i post-treatment).

Uzyskane wyniki sugerują, że ekstrakty karotenoidowe są obiecującym surowcem kosmetycznym o bogatym składzie barwników naturalnych.

Extracts from microalgae as ingredients for the cosmetic industry

Due to the interesting chemical composition of microalgae metabolites, they are used in many industries, especially the *Dunaliella salina* species is known for the production of β -carotene with strong antioxidant properties. The cosmetics industry increasingly uses natural resources, which are also extracts from microalgae. The optimization of the natural colorants extraction was carried out within the project. The extracts obtained were examined in terms of dye composition by high-performance liquid chromatography. Then the influence of the extracts on human keratinocytes was examined, where the extract concentrations were selected on the basis of the cytotoxicity tests. The effect of the extracts against the UV radiation was determined. The obtained results suggest that extracts with natural colorant from microalgae are very promising cosmetic ingredients.

Keywords: microalgae, extracts, carotenoids, cosmetics

Badania są finansowane w ramach projektu studenckiego nr 0170/2020 finansowanego przez Politechnikę Warszawską z Dużej Pulii Rady Kół Naukowych.

Piśmiennictwo:

1. Becker W. Ltd; 2007.s. 312–51.
2. Esteban R, Martínez B, Fernández-Marín B, Becerril JM, García-Plazaola JI. Eur J Phycol. maj 2009;44(2):221–30.