

# Mikroalge kao izvor visokovrijednih bioaktivnih supstancija

---

**Borić, Anamarija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:339262>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-04-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

**Anamarija Borić  
0058222325**

**Mikroalge kao izvor visokovrijednih bioaktivnih  
supstancija**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet: Biotehnologija 2**

**Mentor: prof. dr. sc. Sunčica Beluhan**

**Zagreb, 2024.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo  
Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Biotehnologija

Mikroalge kao izvor visokovrijednih bioaktivnih supstancija  
Anamarija Borić, 0058222325

### Sažetak:

Mikroalge pripadaju autotrofnim mikroorganizmima koji žive u morskim, slatkim vodama i ekosustavu tla te proizvode organske tvari putem fotosinteze. Zbog visoke metaboličke fleksibilnosti, prilagodbi različitim uvjetima uzgoja, kao i sposobnosti brzog rasta, broj istraživanja o njihovoj uporabi kao izvora biološki vrijednih proizvoda ubrzano se povećava. Trenutno su najinteresantnija proučavanja integriranih tehnologija za uzgoj mikroalgi s ciljem izolacije raznih biološki aktivnih tvari iz biomase, čime se povećava isplativost proizvodnje mikroalgi. Posebice su zanimljivi industrijski sustavi uzgoja s visokom produktivnosti koji moraju biti popraćeni sposobnošću biološke kontrole biosinteze visokovrijednih spojeva u uvjetima intenzivnog rasta kulture. U ovom radu su prikazani glavni čimbenici (temperatura, pH, sastav medija) koji utječu na proces rasta biomase i sintezu biološki aktivnih tvari u mikroalgama. Opisane su metode uzgoja, te prednosti i nedostaci postojećih, kao i različite metode za izolaciju glavnih biološki aktivnih tvari mikroalgi (proteini, lipidi, polisaharidi, pigmenti) i vitamini). Predstavljene su nove tehnologije i pristupi u svrhu uporabe mikroalgi kao sastojaka u proizvodima s dodanom vrijednošću.

Ključne riječi: mikroalge, uzgoj, biološki aktivni spojevi, pigmenti, visokovrijedni proizvodi

Rad sadrži: 27 stranica, 3 slike, 3 tablica, 50 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Sunčica Beluhan

Datum obrane: 10. srpnja 2024.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Biotechnology Nutrition

Department of Biochemical Engineering

Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Malting and Brewing Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Biotechnology

Microalgae as a source of highly valuable bioactive substances

Anamarija Borić, 0058222325

### Abstract:

Microalgae belong to autotrophic microorganisms that live in marine, freshwater, and soil ecosystems and produce organic substances through photosynthesis. Due to their high metabolic flexibility, adaptation to different growing conditions, and ability to grow quickly, the number of research studies on their use as a source of biologically valuable products is rapidly increasing. Currently, the most interesting studies are integrated technologies for microalgae cultivation to isolate various biologically active substances from biomass, thereby increasing microalgae production's profitability. Particularly interesting are industrial cultivation systems with high productivity, which must be accompanied by the ability to biologically control the biosynthesis of high-value compounds under conditions of intensive culture growth. This paper presents the main factors (temperature, pH, medium composition) that affect the biomass growth process and the synthesis of biologically active substances in microalgae. Cultivation methods describe the advantages and disadvantages of existing ones and different methods for isolating the main biologically active substances of microalgae (proteins, lipids, polysaccharides, pigments) and vitamins). New technologies and approaches for using microalgae as ingredients in value-added products are presented.

Keywords: Microalgae, Cultivation, Biologically active compounds, Value-added products

Thesis contains: 27 pages, 3 figures, 3 tables, 50 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Sunčica Beluhan, PhD, Full Professor

Thesis defended: July 10<sup>th</sup>, 2024

## Sadržaj

1.UVOD.....	1
2.TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. UZGOJ MIKROALGI.....	2
2.1.1. NAČINI UZGOJA	2
2.1.2. SUSTAVI ZA UZGOJ	4
2.1.3. UVJETI UZGOJA	5
2.2. VISOKO VRIJEDNE SUPSTANCE .....	8
2.2.1. LIPIDI	8
2.2.2. POLISAHARIDI	9
2.2.3. PROTEINI	11
2.2.4. VITAMINI	12
2.2.4. PIGMENTI	13
2.2.4.1 Karotenoidi .....	13
2.2.4.2. Klorofili .....	16
2.2.4.3. Fikobiliproteini .....	17
2.3.. BIOLOŠKA AKTIVNOST RAZLIČITIH SUPSTANCIJA IZ MIKROALGI .....	18
2.3.1. ANTITUMORSKA AKTIVNOST	18
2.3.2. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST	19
2.3.3. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST	20
2.3.4. IMUNOMODULACIJSKA AKTIVNOST	21
3.ZAKLJUČCI .....	23
4.POPIS LITERATURE.....	24

## 1. UVOD

Ljudi koriste mikroalge već više od 2000 godina, pri čemu su drevne kineske civilizacije konzumirale cijanobakterijske sojeve poput *Nostoca*, *Arthrospira (Spirulina)* i *Aphanizomenon*. Azteci su također skupljali biomasu mikroalgi iz jezera u Meksiku radi konzumacije. Međutim, veliki uzgoj mikroalgi počeo se istraživati tek nakon Drugog svjetskog rata, uglavnom u Sjedinjenim Američkim Državama, Japanu i Njemačkoj. Od sredine 1960-ih godina uzgoj mikroalgi proširio se izvan prehrane u proizvodnju visokovrijednih spojeva poput  $\beta$ -karotena, astaksantina i polinezasićenih masnih kiselina (Pedruzi i sur., 2020). Mikroalge predstavljaju jedinstvenu skupinu mikroorganizama koji nastanjuju slatkovodna i morska staništa. Dijele se u dvije velike skupine: eukariotske i prokariotske (cijanobakterije) mikroalge (Bouyahya i sur., 2024). Mikroalge su nastale prije otprilike 3,5 milijardi godina te predstavljaju jednu od najranijih vegetacija. Izuzetno su raznolike, s procijenjenih 200 000 do 800 000 vrsta. Neke vrste se industrijski uzgajaju kako bi se izdvojile bioaktivni sastojci za uporabu u hrani, kozmetici i proizvodnji biogoriva (Koyande i sur., 2019). Unatoč nedostatku tkiva i organa u usporedbi s kopnenim biljkama, mikroalge su sposobne provoditi fotosintezu zahvaljujući fotosintetskim pigmentima koji se nalaze u njihovim stanicama (Tan i sur., 2020). Zbog svojih fotosintetskih sposobnosti osnova su prehranbenog lanca u vodenim ekosustavima. Uz pomoć sunčeve energije mogu sintetizirati kompleksne organske spojeve te naknadno akumulirati primarne i sekundarne metabolite od interesa (Guedes i sur., 2013). Metaboliti mikroalgi su vrlo raznovrsni te uključuju proteine, polisaharide, lipide, vitamine, pigmente. Nadalje, mogu pokazivati antioksidativna, antibakterijska, antivirusna, antikancerogena, antihipertenzivna, neuroprotektivna i imunostimulirajuća svojstva (Dolganyuk i sur., 2020). Mikroalge mogu uspješno rasti u različitim uvjetima, uključujući ekstremne temperature, intenzitet svjetla, pH vrijednosti i salinitet. Lako se uzgajaju, brzo rastu i mogu biti ekološki prihvatljivi organizmi za otkrivanje novih lijekova. Ovi organizmi mogu stvarati različite metabolite, čineći ih potencijalnim terapijskim sredstvima za različite zdravstvene probleme (Tabarзад i sur., 2020).

Cilj ovog završnog rada bio je proučiti mikroalge kao izuzetno vrijedne izvore raznovrsnih biološki aktivnih spojeva sa širokim spektrom primjena u različitim industrijama.

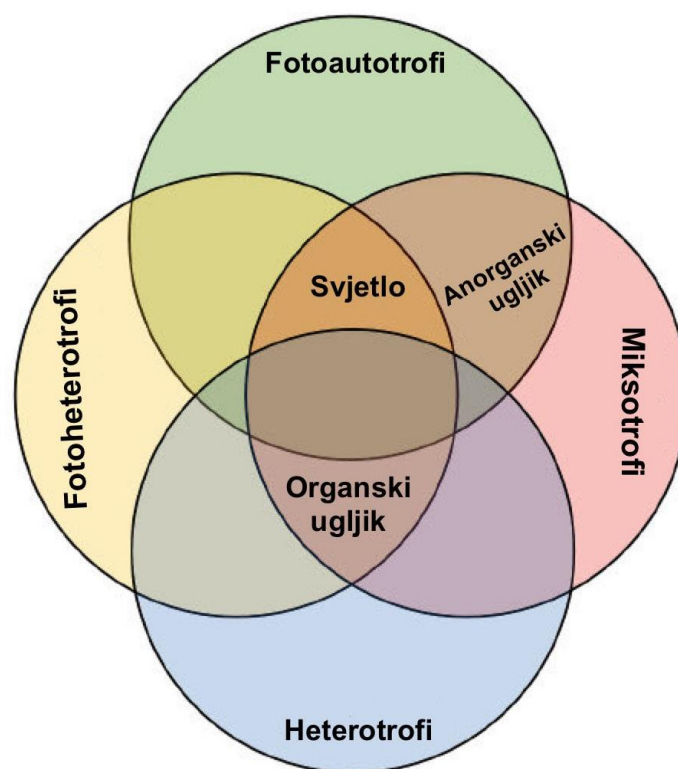
## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Uzgoj mikroalgi

Mikroalge rastu brzo i nakupljaju znatne količine bioproizvoda, što ih čini savršenima za industrijsku upotrebu. Za razliku od tradicionalnih usjeva, uzgoj mikroalgi ne zahtijeva plodno tlo, velike količine pitke vode ili upotrebu pesticida i herbicida. Također, mogu se uzgajati na otpadnim vodama čime doprinose bioremedijaciji. Putem fotosinteze smanjuju atmosferski CO<sub>2</sub>, pomažući u borbi protiv efekta staklenika i globalnog zagrijavanja. Unatoč prednostima, uzgoj mikroalgi suočava se s izazovima poput niske proizvodnje biomase i visokih troškova izdvajanja (Tan i sur., 2020).

#### 2.1.1. Načini uzgoja

Postoje četiri načina uzgoja: heterotrofni, fotoautotrofni, miksotrofni i fotoheterotrofni (slika 1)



**Slika 1.** Svjetlost, anorganski i organski izvori ugljika potrebni za fotoautotrofni, heterotrofni, miksotrofni i fotoheterotrofni uzgoj mikroalgi (*prema* Daneshvar i sur., 2021)

Heterotrofni uzgoj se provodi bez prisustva svjetlosti jer mikroalge koriste organski ugljik za

energiju i metaboličke funkcije. Ova neovisnost o svjetlosti pojednostavljuje dizajn bioreaktora i smanjuje troškove proizvodnje (Daneshvar i sur., 2021). Takav pristup omogućuje bolju regulaciju rasta, povećanu gustoću kulture stanica i smanjene troškove izdvajanja. Ipak, heterotrofni uzgoj ima svoje nedostatke. Samo je nekoliko vrsta mikroalgi sposobno rasti heterotrofno. Također, uzgoj u mraku onemogućava sintezu pigmenata i određenih sekundarnih metabolita (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Nadalje, postoji povećani rizik od biološke kontaminacije jer se bakterije, kvasci i plijesni natječu s mikroalgama za supstrate. To može utjecati na prinos biomase i kakvoću proizvoda (Daneshvar i sur., 2021). Unatoč povećanoj osjetljivosti na kontaminaciju, upotreba organskih izvora ugljika može značajno smanjiti troškove uzgoja iskorištavanjem viška hranjivih tvari prisutnih u industrijskim otpadnim vodama. Ova mogućnost potaknula je znanstvenike da integriraju uzgoj mikroalgi s pročišćavanjem otpadnih voda, čime se postižu izvanredni rezultati u proizvodnji lipida i biomase te asimilaciji dušika i fosfora u heterotrofnim uvjetima (Coêlho i sur., 2019).

Fotoautotrofni uzgoj najstarija je metoda uzgoja u kojem mikroalge za rast koriste anorganske izvore ugljika i svjetlost za biosintezu organske tvari putem fotosinteze, pretvarajući CO<sub>2</sub> i vodu u glukozu i kisik. Ova metoda uzgoja ima manji rizik od biološke kontaminacije zbog odsutnosti organskog ugljika, što je čini pogodnom za uzgoj na otvorenom. Međutim, ograničena je svojom nužnošću o svjetlosti što je čini ovisnom o lokaciji, godišnjem dobu i klimi. Fotoautotrofni uzgoj obično daje nižu produktivnost biomase u usporedbi s heterotrofnim i mikstrotnim uzgojem, zbog slabog miješanja i postojanja područja sa slabom izloženosti svjetlosnoj energiji (Daneshvar i sur., 2021).

Miksotrofni uzgoj kombinira autotrofne i heterotrofne metode, omogućavajući mikroalgama korištenje i organskih spojeva i CO<sub>2</sub> za rast (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Od sve tri navedene metode, miksotrofni način uzgoja daje najveći prinos biomase. Pa tako, *Chlorella sorokiniana* proizvodi značajno više biomase kada se uzgaja miksotrofno u usporedbi s drugim metodama. Za miksotrofni uzgoj koristi se dvofazni sustav. U prvoj fazi mikroalge se snabdijevaju značajnom količinom ugljika dok se u drugoj fazi potiče asimilacija CO<sub>2</sub> kako se organske tvari iscrpljuju (Dolganyuk i sur., 2020).

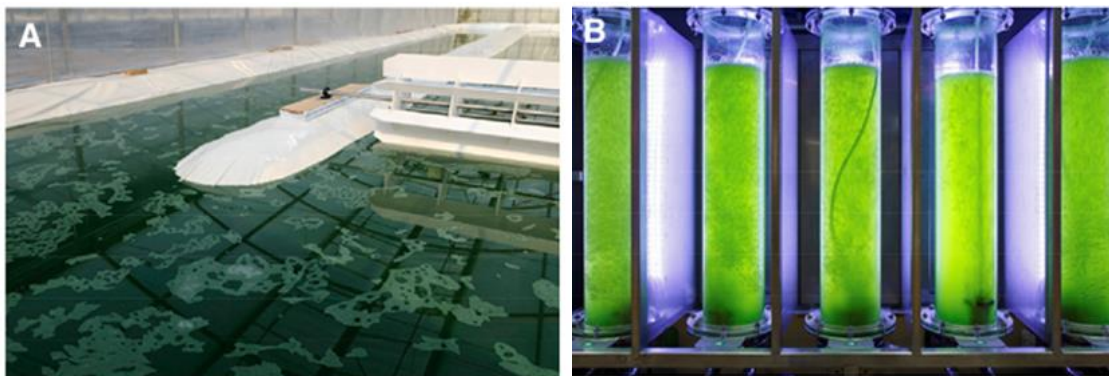
Fotoheterotrofija je također poznata kao fotoorganotrofija, fotometabolizam, ili fotoasimilacija (Chew i sur., 2018). Fotoheterotrofne mikroalge poput *Chlorella vulgaris* su skupina mikroalgi koje upotrebljavaju svjetlost kao izvor energije te organski ugljik kao izvor ugljika. Za razliku od fotoautotrofa i miksotrofa, fotoheterotrofi ne mogu metabolizirati CO<sub>2</sub>. Za razliku od heterotrofa, fotoheterotrofi ne mogu rasti na glukozu bez svjetla. Fotoheterotrofi koriste glukozu kao građevni materijal, ali ne kao izvor energije. U svjetlosnoj fazi fotosinteze, energija svjetlosti pretvara se u kemijsku energiju nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) i adenzin trifosfat (ATP). Sintetizirani ATP i NADPH se koriste u tamnoj fazi za asimilaciju



glukoze u biomasu. Za razliku od miksotrofa i heterotrofa, stvaranje CO<sub>2</sub> je zanemarivo u fotoheterotrofima jer Calvinov ciklus nije aktivan. Fotoheterotrofilni način uzgoja je skup jer mikroalge trebaju i organski ugljik i osvjetljenje za rast i nužan je poseban dizajn fotobioreaktora za uzgoj mikroalgi na ovaj način (Chew i sur., 2018; Ananthi i sur., 2021).

### 2.1.2. Sustavi za uzgoj

Odabir odgovarajućeg načina uzgoja predstavlja jedan od važnijih koraka u uzgoju mikroalgi (Daneshvar i sur., 2021). Postoje različiti otvoreni i zatvoreni sustavi. Otvoreni bazeni (slika 2a), predstavljaju jeftini sustav za uzgoj. Međutim, sustav ima mnoga ograničenja poput visoke mogućnosti kontaminacije te nemogućnosti kontrole temperature i intenziteta svjetlosti (Coêlho i sur., 2019). Otvoreni bazeni zahtijevaju razinu vode iznad 15 cm i mogu se pokriti kako bi se smanjila kontaminacija i isparavanje. (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Zatvoreni sustavi uključuju fotobioreaktore (Slika 2b) koji su razvijeni kako bi se prevladali navedeni nedostaci otvorenih sustava. Fotobioreaktori omogućuju kontrolu temperature i intenziteta svjetlosti i smanjuju mogućnost kontaminacije. Glavni nedostatak im je visoka cijena (Coêlho i sur., 2019). Fotobioreaktori se mogu podijeliti na pločaste, cijevne i barbotirajuće kolone (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Horizontalni cijevni fotobioreaktori izrađeni su od prozirnih materijala i postavljeni na otvorenom kako bi se maksimizirala izloženost sunčevom svjetlu. Mehanička ili zračna pumpa održava turbulentan protok kako bi se spriječilo taloženje algi. Barbotirajuće kolone su dizajnirane s velikim omjerom površine i volumena što poboljšava prijenos topline i mase. Unutarnje osvjetljenje pomaže učinkovitosti fotosinteze. Airlift fotobioreaktori koriste pregradu ili usisnu cijev kako bi podijelili volumen tekućine u spremniku na dva međusobno povezana područja što omogućuje bolje miješanje. Karakterizirani su dobrim prijenosom mase i niskom potrošnjom energije. Unatoč tome, prijenos u industrijsko mjerilo je vrlo kompleksno. Ravni pločasti fotobioreaktori su jednostavniji i imaju veću produktivnost u usporedbi s reaktorima miješanim zrakom. Nude veliku površinu izloženu svjetlosti, prikladni su za uzgoj na otvorenom, podržavaju imobilizaciju algi i pokazuju visoku učinkovitost fotosinteze uz minimalni rizik od nakupljanja kisika. Ipak, suočavaju se s izazovima kao što su kontrola temperature i hidrodinamički stres. Svaka vrsta fotobioreaktora ima svoje jedinstvene prednosti i ograničenja, što ih čini prikladnima za različite primjene u proizvodnji mikroalgi (Abdur Razzak i sur., 2023).



**Slika 2.** Prikaz različitih sustava za uzgoj mikroalgi. (a) otvoreni bazeni; (b) fotobioreaktori  
(prema Thoré i sur., 2023)

### 2.1.3 Uvjeti uzgoja

Budući da je svjetlost glavni izvor energije za fotosintetske mikroorganizme, treba je maksimizirati za što bolji prinos biomase (Chowdury i sur., 2020). Fotosinteza je ovisna o intenzitetu svjetlosti. Dok se fotosintetski aparat ne zasiti svjetlošću, brzina fotosinteze raste kako se povećava intenzitet. Kada dođe do određene vrijednosti brzina se ustali na stalnoj vrijednosti. Daljnje povećanje intenziteta svjetlosti oštećuje fotosustav II i značajno smanjuje rast mikroalgi. Ograničenje svjetlosti i fotoinhibicija su dvije faze koje mogu smanjiti ili prekinuti rast mikroalgi. Ograničenje svjetlosti se događa u kulturama s nedovoljnim intenzitetom svjetlosti ili visokom gustoćom stanica (Daneshvar i sur., 2021). Visoka gustoća stanica sprječava prodiranje svjetlosti, što dovodi do smanjenja intenziteta fotosinteze. Za poboljšanje uvjeta osvjetljenja preporučuje se regulacija gustoće stanica i miješanje kultura (Maltsev i sur., 2021).

Temperatura je jedan od čimbenika koji utječe na stopu rasta algi, veličinu stanica, biokemijski sastav i potrebu za hranjivim tvarima (Chowdury i sur. 2020). Održavanje optimalne temperature je od velike važnosti za rast mikroalgi. Unutar raspona od 18–30 °C, mikroalge obično pokazuju optimalnu fiziološku i metaboličku aktivnost. Više temperature mogu poboljšati apsorpciju i fiksaciju ugljičnog dioksida (CO<sub>2</sub>), što je ključno za fotosintezu i proizvodnju biomase. S druge strane, temperature iznad 30 °C mogu izazvati stres kod mikroalgi, inhibirati njihov rast i uzrokovati oštećenje stanica (Vuppaladadiyam i sur., 2018) . Otkriveni su i sojevi koji pokazuju otpornost prema visokim temperaturama. Pa tako, sojevi *Asterarcys quadricellulare* i *Chlorella sorokiniana* ne samo da rastu pri 43°C, već su i otporni na visoke koncentracije CO<sub>2</sub> i NO. Uzgoj mikroalgi stabilnim na povišenim temperaturama smanjuje rizik od kontaminacije (Dolganyuk i sur., 2020).

pH izravno utječe na različite fiziološke i biokemijske procese u stanicama. Održavanje optimalnog raspona pH ključno je za rast stanica, aktivnost enzima i unos hranjivih tvari (Abdur Razzak i sur., 2023). Budući da mikroalge apsorbiraju anorganski ugljik, pH kulture neprestano raste tijekom dana. Povišena razina pH ograničava apsorpciju CO<sub>2</sub>, što usporava razvoj stanica, ali može suzbiti neželjene biološke tvari. pH osim što utječe na same mikroalge, određuje i topljivost minerala i CO<sub>2</sub> u mediju. Većina vrsta mikroalgi umire kada je izložena izrazito niskim (kiselim) ili visokim (lužnatim) vrijednostima pH. Na primjer, nakon 2 dana uzgoja *C. vulgaris* pri izrazito kiselim (pH 3-4) ili lužnatim (pH 11) uvjetima dolazi do lize stanice (Daneshvar i sur., 2021). Razina tolerancije na pH varira od vrste do vrste, što može utjecati na stopu rasta, ali najčešće pH vrijednosti pH kulture mikroalgi variraju od 6 do 8 (Chowdury i sur., 2020). Naravno, postoje i iznimke poput *C. protothecoides* var. *acidicola* koja raste pri pH 2.5. Kontrola pH je ključna kako bi se osigurao maksimalni prinos biomase. Pufferi mogu stabilizirati pH, ali njihova upotreba u industrijskom mjerilu je financijski neisplativa. Alternativa je aeracija kultura s atmosferskim ili CO<sub>2</sub>-obogaćenim zrakom kako bi se smanjila pH vrijednost medija. Idealni medij za uzgoj mikroalgi trebao bi sadržavati anorganske elemente poput dušika (N) i fosfora (P), pri čemu se njihove koncentracije razlikuju ovisno o vrsti koja se uzgaja. Nakon ugljika, koji čini otprilike 50% elementalnog udjela u biomasi mikroalgi, dušik je drugi najobilniji element. On čini od 1% do 14% suhe mase. Koncentracija fosfora u suhoj biomasi mikroalgi može varirati od 0,05% do 3,3% suhe mase (Dolganyuk i sur., 2020). Dušik je ključan za formiranje proteina, nukleinskih kiselina, vitamina i fotosintetskih pigmenta, te je vitalni element za različite fiziološke procese u mikroalgama. Fosfor je ključan za mnoge metaboličke aktivnosti, uključujući prijenos energije, sintezu nukleinskih kiselina poput DNA te za druge vitalne stanične procese (Chowdury i sur., 2020). Za adekvatan rast mikroalgi, medij treba sadržavati i druge hranjive tvari (mikronutrijente), osim već spomenutih makronutrijenata. Bitni mikronutrijenti su Mg, S, Ca, Na, Cl, Fe, Zn, Cu, Mn i Co (Pedruzi i sur., 2020). Ograničenje hranjivih tvari može značajno utjecati na metabolizam mikroalgi rezultirajući promjenama u sintezi lipida i karotenoida te smanjenju rasta stanica. Visoko osvjetljenje i ograničenje hranjivih tvari (dušika ili fosfora) dovode do povećanja udjela lipidne frakcije i nakupljanja triacilglicerola. Stres uzrokovan nedostatkom hranjivih tvari može potaknuti proizvodnju slobodnih radikala i promjene u antioksidativnim mehanizmima stanica. Sintaza primarnih i sekundarnih karotenoida može varirati ovisno o uvjetima stresa, što dodatno pokazuje prilagodljivost mikroalgi na promjenjive uvjete okoliša. Primarni karotenoidi sintetiziraju se u povoljnim uvjetima rasta dok se sekundarni karotenoidi proizvode pod stresom uzrokovanim nedostatkom dušika (Dolganyuk i sur., 2020).

Još jedan od čimbenika koji utječe na rast algi je salinitet medija. Previsoka koncentracija soli uzrokuje osmotski stres, koji izaziva lučenje osmoprotektora na račun skladištenja lipida.

Dodatno, dolazi do povećanja nezasićenih masnih kiselina (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Uloga saliniteta u industrijskoj proizvodnji pigmenata, kako morskih tako i slatkovodnih mikroalgi ključna je, budući da i osmoza igra značajnu ulogu u akumulaciji pigmenata. Osmotski stres može umanjiti rast stanica, smanjiti sadržaj klorofila, inhibirati fotosintezu i uzrokovati morfološke promjene, kao što su zadebljanje stanične stijenke i povećanje volumena stanica (Ren i sur., 2021). Općenito, mikroalge se mogu podijeliti prema toleranciji na salinitet u tri kategorije: oligogalinske, koje mogu rasti samo u vodi s niskim salinitetom (maksimalni salinitet 0,5–5,0 g/L); mezogalinske, koje rastu u medijima s umjereno slanom vodom s salinitetom od 5–18 g/L; i poligalinske, koje rastu u slanoj vodi s visokim salinitetom od 18–30 g/L (Dolganyuk i sur., 2020).

Aeracija je nužna za uzgoj mikroalgi i ima značajan utjecaj na prinos biomase. Obično se postiže pomoću kompresora zraka, zračnih pumpi ili agitacijom. Izražava se u brzinama mjerenim u L/min ili v/v min (volumen zraka po volumenu medija po minuti). Optimalne stope variraju od 0,1 do 10 L/min, ovisno o vrsti mikroalge i karakteristikama bioreaktora. Prekomjerna aeracija može oštetiti stanice. Aeracija osigurava CO<sub>2</sub> za fotosintezu i poboljšava prijenos mase plin-tekućina putem turbulencije, povećavajući difuziju CO<sub>2</sub> i učinkovitost rasta. Pravilno miješanje osigurava ravnomjernu distribuciju stanica i optimalne uvjete za rast (Daneshvar i sur., 2021). Glavni čimbenici nužni za uzgoj određenih vrsta mikroalgi prikazani su u tablici 1.

**Tablica 1.** Optimalni uvjeti uzgoja za određene vrste mikroalgi (prema Dolganyuk i sur., 2020).

Vrsta mikroalge	Temperatura (°C)	Trajanje kultivacije (dani)	pH kulture	Miješanje kulture [o/min]
<i>Chlorella vulgaris</i>	29	13	4.1	60
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	30	13	6.3	75
<i>Botryococcus braunii</i>	27	11	6.8	70
<i>Scenedesmus obliquus</i>	29	12	7.1	90
<i>Neochloris cohaerens</i>	27	12	6.9	85
<i>Haematococcus pluvialis</i>	28	14	7.3	90
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	30	11	7.6	70

## 2.2. Visoko vrijedne supstance

### 2.2.1. Lipidi

Mikroalge posjeduju sposobnost sinteze različitih vrsta polarnih i nepolarnih lipida (tablica 2). Nepolarni lipidi su karakterizirani svojom hidrofobnom prirodom te obuhvaćaju spojeve poput voskova, terpenoida, glicerolipida, masnih kiselina i njihovih derivata. Ovi spojevi imaju ključnu ulogu u izgradnji staničnih struktura, pohrani energije i signalnim procesima. S druge strane, polarni lipidi sadrže više nabijenih skupina što im omogućuje umjerene interakcije s vodom. Primjeri polarnih lipida uključuju fosfolipide i glikolipide, koji su bitne sastavnice staničnih membrana i igraju ključnu ulogu u staničnom signaliziranju, transportu i stabilnosti (Manning, 2022). Glikolipidi se uglavnom nalaze unutar membrane kloroplasta dok se fosfolipidi i drugi lipidi nalaze izvan kloroplasta (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Lipidi mogu sačinjavati 20 % - 50 % suhe biomase mikroalgi. Udio lipida varira ovisno o tipu mikroalgi i uvjetima uzgoja, pri čemu optimalni uvjeti pogoduju proizvodnji lipida na bazi glicerola u membranama. (Dolganyuk i sur., 2020). S druge strane, različite vrste abiotičkog stresa tijekom uzgoja povećavaju sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (PUFA). Iscrpljivanje hranjivih tvari te promjena uvjeta saliniteta, pH vrijednosti i temperature neke su od metoda za povećanje razine PUFA u mikroalgama (Lucakova i sur., 2022). Masne kiseline se kategoriziraju kao zasićene (SFA), mononezasićene (MUFA) ili polinezasićene (PUFA) na temelju broja dvostrukih veza. PUFA se dalje dijele na omega-3 i omega-6 vrste, ovisno o položaju prve dvostruke veze od terminalnog metilnog kraja. Masne kiseline su esencijalne komponente fosfolipida, glikolipida i triacilglicerola. Vitalne su za zdravlje i opstanak svih živih organizama. Ljudi ne mogu sintetizirati PUFA duže od 18 ugljikovih atoma te se stoga takve masne kiseline nazivaju esencijalne (Galasso i sur., 2019). Esencijalne masne kiseline se moraju unositi putem hrane ili korištenjem različitih prehrambenih dodataka, često dobivenih iz ribe ili ribljeg ulja. Međutim, zbog povećanog interesa za vegetarijansku i vegansku prehranu, mikroalge mogu postati alternativni izvor ovih prehrambenih dodataka. Osim toga, mnoge vrste masnih riba sadrže tragove teških metala koji mogu štetiti zdravlju i izazvati neurotoksične učinke (Dolganyuk i sur., 2020). Već dugo postoji interes za mikroalge kao izvore masnih kiselina, posebno dugolančanih polinezasićenih (PMK) poput  $\gamma$ -linolenske kiseline, arahidonske kiseline, eikozapentaenske kiseline (EPA) i dokozaheksaenske kiseline (DHA). Alge kremenjašice glavni su proizvođači eikozapentaenske (EPA) i dokozaheksaenske kiseline (DHA). Različite biološke funkcije povezane su s DHA i EPA (Riccio i Lauritano, 2019). Eikozapentaenska kiselina (EPA) regulira krvni tlak, štiti od raka i ateroskleroze te može pomoći kod anksioznosti i depresije. Dokozaheksanoenska kiselina (DHA) također pruža značajne zdravstvene prednosti. Ima snažna svojstva protiv raka i pomaže u normalnom funkcioniranju neurološkog

sustava. DHA je posebno važna tijekom embrionalnog razvoja jer potiče razvoj mozga i oka (Lucakova i sur., 2022).

Steroli su još jedna važna skupina bioaktivnih spojeva u algama. Steroli u algama uključuju fitosterole, fukosterole i stenole. Fitosteroli mogu značajno smanjiti razinu kolesterola u krvi, pri čemu istraživanja pokazuju smanjenje do 10% ukupnog kolesterola i 15% LDL kolesterola. *Isochrysis galbana* i *Pavlova lutheri* primjeri su vrsta bogatih fitosterolima. Osim toga, steroli mikroalgi povezani su s značajnim anti-kancerogenim i protuupalnim učincima te služe kao prekursori drugih bioaktivnih molekula. (Vuppaladadiyam i sur., 2018; Lucakova i sur., 2022). Mikroalge su obećavajući izvor lipida za zamjenu palminog ulja u mliječnoj formuli. Istraživanja su pokazala da mikroalge ne samo da proizvode sličan profil masnih kiselina već i sličan uzorak esterifikacije kao što se nalazi u ljudskom mlijeku (De Bhowmick i sur., 2023). Osim u prehrambenoj industriji, lipidi izolirani iz mikroalga također imaju široku primjenu u kozmetičkoj industriji. Smanjuju površinsku napetost, olakšavajući miješanje vode i ulja u proizvodima. Iako su tradicionalne površinski aktivne tvari poput polietilenglikol etera još uvijek u širokoj upotrebi, biosurfaktanti poput glikolipida postaju popularni zbog svoje biokompatibilnosti i biorazgradivosti. Nadalje, daju konzistenciju proizvodima, poboljšavaju razmazivost i nositelji su boje i mirisa (De Luca i sur., 2021).

**Tablica 2.** Vrste mikroalgi i pripadajuće kategorije ekstrahiranih lipida (De Luca i sur., 2021).

Vrsta lipida	Vrsta mikroalge
Triacilgliceroli	<i>Chlorella</i> sp., <i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Dunaliella</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp.
Polinezasićene masne kiseline	<i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Dunaliella</i> sp., <i>Schizochytrium</i> sp., <i>Isochrysis</i> sp., <i>Tetraselmis</i> sp.
Steroli	<i>Diacronema lutheri</i> , <i>Tetraselmis</i> sp., <i>Nannochloropsis</i> sp.
Voskovi	<i>Euglena gracilis</i> , <i>Isochrysis</i> sp

### 2.2.2. Polisaharidi

Polisaharidi imaju ključne uloge u živim organizmima, poput pohrane energije, zaštite i strukturnih funkcija. Prisutni su u visokim koncentracijama i raznovrsnim oblicima u mikroalgama (tablica 3).

**Tablica 3.** Primjena polisaharida i ugljikohidrata dobivenih iz mikroalgi (Lucakova i sur., 2022).

Vrsta mikroalge	Polisaharid/ugljikohidrat	Primjena
<i>Arthrospira platensis</i>	Sulfatirani polisaharidi — egzopolisaharidi/glikogen	Antibakterijska i antioksidacijska aktivnost
<i>Arthrospira platensis</i> <i>Dunaliella salina</i> <i>Porphyridium sp.</i>	Polisaharidi	Biostimulatori biljaka
<i>Arthrospira platensis</i>	Egzocelularni polisaharid I	Prebiotik/ stimulator rasta <i>Lactobacilla</i>
<i>Chlorella sp.</i>	$\beta$ -1,3-glukan	Imunostimulator, antioksidans, smanjuje razinu lipida u krvi, zgušnjivač u prehrambenoj industriji
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	Manoza	Alternativa antibioticima, prebiotički učinak
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	Sulfatirani polisaharidi	Sredstvo za zgušnjavanje

Mikroalge mogu akumulirati ugljikohidrate do više od 50% svoje suhe mase. Ugljikohidrati mikroalgi mogu biti u obliku škroba, glukoze, šećera ili drugih polisaharida. Poznato je da polisaharidi imaju pozitivne zdravstvene učinke, uključujući jačanje imunološkog sustava, antivirusna svojstva i sposobnost blokiranja razvoja tumora (Galasso i sur., 2019). Mnoge zelene alge imaju čvrste stanične stijenke slične onima kod biljaka, koje se sastoje od celuloze i/ili drugih biopolimera. Pored strukturnih ugljikohidrata, mnoge mikroalge akumuliraju značajne količine ugljikohidrata za pohranu energije, kao što su škrob u crvenim algama i dinoflagelatima. Neke vrste smeđih algi i dijatomeja sintetiziraju alginat, laminarin, manitol ili fukoidin kao rezerve hrane, dok većina cijanobakterija pohranjuje energiju u obliku glikogena. Većina cijanobakterija ima sloj peptidoglikana i staničnu ovojnici sličnu onoj kod gram-negativnih bakterija, te su obložene polisaharidnom ovojnicom (Vuppaladadiyam i sur., 2018). Među mnogim različitim algalnim polisaharidima, najvažniji su galaktan, fukoidan, laminarin i alginat (Jyotirmayee i sur., 2014). Fukoidan je sulfatni polisaharid koji posjeduje nekoliko bioloških svojstava kao što su protuupalna, antivirusna, antiangiogena, imunomodulatorna, antikoagulantna i antiadhezivna svojstva (Abd El-Hack i sur., 2019). Fermentabilni polisaharidi, poput škroba (glavnog skladišnog ugljikohidrata u mikroalgama) i celuloze (glavnog polimera u staničnim stijenama mikroalgi) trenutno se istražuju za proizvodnju bioetanola i biogoriva. *Porphyridium cruentum* (udio ugljikohidrata od 40-57%) i *Spirogyra sp.* (udio ugljikohidrata od 33-64%) su dvije vrste mikroalgi koje se smatraju pogodnima za

proizvodnju biogoriva (Lucakova i sur., 2022). Bioetanol proizveden od ugljikohidrata mikroalgi može se izravno koristiti u postojećim motorima s unutarnjim izgaranjem bez značajnih modifikacija. Osim toga, visoki oktanski broj i sadržaj kisika u bioetanolnom gorivu rezultiraju boljim performansama motora i smanjenom emisijom plinova (Tan i sur., 2020). Polisaharidi iz mikroalgi pokazuju obećavajuće karakteristike u primjeni za ambalažu hrane. Njihova biorazgradivost i održivost dobro se uklapaju s rastućom potražnjom za ekološki prihvatljivijim rješenjima ambalaže. Morales-Jiménez i sur. (2020) istraživali su potencijal polisaharida izoliranih iz tri soja mikroalgi (*Nostoc* sp., *Synechocystis* sp., i *Porphyridium purpureum*) za formiranje biofilma. Rezultati dobiveni u njihovom istraživanju pokazuju da bi mikroalgalni biopolimeri mogli biti potencijalno korisni u područjima poput ambalaže za hranu, hranu za životinje, kozmetičku ambalažu te kao dodatak u prerađenoj hrani.

Odabir odgovarajućih tehnologija za ekstrakciju i pročišćavanje ključan je za učinkovitu, isplativu i ekološki prihvatljivu ekstrakciju polisaharida iz mikroalgi. Metode variraju ovisno o soju mikroalgi i primjeni polisaharida. Prije samog pročišćavanja potrebno je ekstrahirati polisaharide. Centrifugiranje ili mikrofiltracija često se koriste za odvajanje stanica od polisaharida, koji se zatim talože pomoću metanola, etanola, izopropanola ili acetona. Egzopolisaharidi često ostaju vezani za stanice te se koriste metode poput ekstrakcije uz pomoć ultrazvuka ili mikrovalova. Kemijske tehnike uključuju primjenu formaldehida, glutaraldehida, EDTA i natrijeva hidroksida. Postupci pročišćavanja uključuju ionsku, gel i afinitetnu kromatografiju. Sve popularniji postaju i alternativni pristupi koji uključuju mikrofiltraciju, ultrafiltraciju i dijalizu. Nakon ekstrakcije i pročišćavanja polisaharidi se obično liofiliziraju ili suše pod vakuumom (Costa i sur., 2021).

### 2.2.3. Proteini

Mikroalge su dobar izvor proteina. U nekim vrstama proteini čine čak do 70% suhe tvari. *Arthrospira*, *Chlorella*, *Aphanizomenon* i *Nostoc* primjeri su rodova bogatih proteinima. Proteini mikroalgi obično imaju dobro uravnotežen ukupni profil aminokiselina (TAA) koji uključuje sve potrebne aminokiseline. Kako bi se utvrdilo jesu li proteini mikroalgi prikladni za ljudsku potrošnju potrebno je procijeniti njihove razine ukupnih i esencijalnih aminokiselina, probavljivost, bioraspoloživost i biodostupnost (Lucakova i sur., 2022). Koncentracija proteina u mikroalgama se može usporediti s onima u soji, mlijeku i životinjskom mesu. *Spirulina* sp. je naročito bogata proteinima te se komercijalno uzgaja i prodaje u obliku tableta i kapsula kao prehrambeni dodatak. Sirovi ekstrakt vrste *Tetraselmis suecica* sadrži proteine s emulzifikacijskim, pjenastim i želirajućim sposobnostima koje imaju široku primjenu u prehrambenoj industriji (Tan i sur., 2020). Sastav stanične stijenke mikroalgi razlikuje se od



vrste to vrste, stoga je ključno odabrati odgovarajuću strategiju za ekstrakciju spojeva. Klasične metode ekstrakcije često daju loše rezultate zbog degradacije proteina ekstremnim temperaturama i pH uvjetima tijekom procesiranja. Kao rezultat toga, trenutna istraživanja usmjerena su na razvoj novih metoda ekstrakcije koje koriste enzime i "zelene tehnologije" kako bi se povećala učinkovitost uz minimalnu štetu za okoliš (Lucakova i sur., 2022). Razvijene su učinkovitije metode ekstrakcije kako bi se povećali prinosi. Inovacije uključuju kombinaciju pritiska, temperature i ultrazvuka za ekstrakciju proteina iz *Arthrospira platensis*, te optimizaciju uvjeta rasta radi povećanja udjela proteina u *C. vulgaris*. Metoda trofazne separacije pojednostavila je izolaciju proteina iz mikroalgi, poboljšavajući učinkovitost kroz tehnike poput ultrazvučnog tretmana. Znanstvenici su također istraživali vodene ekstrakcijske postupke. Inovativan pristup uključuje ultrazvučni tretman i mehaničko miješanje za ekstrakciju proteina i polisaharida iz *S. platensis*, te blage bioprocenke metode za dobivanje frakcija proteina bez klorofila iz *Nannochloropsis gaditana*. Sveukupno, napredak u tehnikama ekstrakcije ističe nastojanja u optimizaciji prinosa i kvalitete proteina iz ovih vrijednih organizama (Dolganyuk i sur., 2020).

#### 2.2.4. Vitamini

Glavna podjela vitamina je na vitamine topljive u vodi i vitamine topljive u mastima. Postoji devet vitamina topljivih u vodi, uključujući B vitamine kao što su vitamin B<sub>12</sub> (kobalamin), folna kiselina (B<sub>9</sub>), biotin (B<sub>7</sub>), piridoksin (B<sub>6</sub>), pantotenska kiselina (B<sub>5</sub>), riboflavin (B<sub>2</sub>), niacin (B<sub>3</sub>), tiamin (B<sub>1</sub>) i vitamin C. Vitamini topljivi u mastima su A, D, E i K (Bouyahya i sur., 2024). Mikroalge su izvrstan izvor vitamina A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, E, biotina, folne i pantotenske kiseline. Na primjer, *Isochrysis galbana* je važan izvor vitamina A i E, folne kiseline, nikotinske kiseline, pantotenske kiseline, biotina, tiamina, riboflavina, piridoksina i kobalamina, dok *E. gracilis* može proizvoditi vitamine poput β-karotena i vitamina C i E (Dolganyuk i sur., 2020). Vitamin B<sub>12</sub> (kobalamin) je vitamin topljiv u vodi koji se nalazi u proizvodima životinjskog podrijetla, ali ne i u povrću. Nedostatak ovog vitamina čest je među osobama koje se pridržavaju veganske i vegetarijanske prehrane. Vitamin B<sub>12</sub> može se dobiti iz određenih mikroalgi, kao što su *Chlorella* sp. ili *Pleurochrysis carterae* (kokolitoforid), koje se koriste kao dodaci prehrani. Ove mikroalge mogu biti korisne za nadopunu vegetarijanske i veganske prehrane (Galasso i sur., 2019).

Vitamin K<sub>1</sub> je nedavno identificiran kao vitalan nutrijent za sprječavanje kroničnih bolesti, posebno onih povezanih sa starenjem poput osteoporoze i kardiovaskularnih bolesti. Trenutno se većina vitamina K<sub>1</sub> proizvodi kemijskom sintezom. Međutim, nedavna istraživanja su

identificirala cijanobakteriju *Anabaena cylindrica* kao iznimno bogat izvor vitamina K<sub>1</sub>. Koncentracije pronađene u ovoj cijanobakteriji su otprilike šest puta veće od koncentracija u vitamin K bogatim izvorima hrane poput špinata i peršina. Nadalje, provedeno je istraživanje na životinjama kako bi se procijenila potencijalna toksičnost biomase. Istraživanje nije pokazalo dokaze o akutnoj toksičnosti, čak ni pri relativno visokim koncentracijama (15% w/w). Ovi rezultati ističu potencijal mikroalgi, posebno *A. cylindrica*, kao vrijednog izvora filokinona (Tarento i sur., 2018). Proizvodnja vitamina D, K i B<sub>12</sub> uglavnom je ograničena na cijanobakterije. Najznačajnije vrste su *Synechococcus* sp., *Anabaena cylindrica* i *Arthrospira maxima* (Bouyahya i sur., 2024).

Vitamin E blokira proizvodnju reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) i lipidnu peroksidaciju te je uključen u inhibiciju oksidacije lipoproteina niske gustoće, što je važan proces u razvoju ateroskleroze. Vitamin E poboljšava funkciju endotela i vaskularno zdravlje te smanjuje vaskularno oštećenje. Vitamin E sintetiziraju mnoge mikroalge, poput *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros calcitrans* i *Porphyridium cruentum*, što ih čini vrijednim prehrambenim dodatcima. Dokazano je da sadržaj tokoferola može biti veći u mikroalgama nego u kopnenim biljkama (Galasso i sur., 2019).

Askorbinska kiselina (vitamin C) je snažan antioksidans koji je primarno aktivan u neutralizaciji toksičnih, reaktivnih kisikovih čestica. Njena antioksidativna svojstva i sposobnost neutralizacije slobodnih radikala čine je ključnom u zaštiti stanica. Askorbinska kiselina štiti fotosintetski aparat regeneracijom karotenoida i održavanjem membranski vezanog  $\alpha$ -tokoferola (Coulombier i sur., 2021). Hernández-Carmona i sur. (2009) proveli su istraživanje u kojem su htjeli ustanoviti kemijski sastav smeđe mikroalge *Eisenia arborea*. Ustanovljeno je da prosječna koncentracija vitamina C iznosi 34,4 mg po 100 g suhe biomase mikroalge. Ova vrijednost je bliska vrijednosti opisanoj za mandarine.

## 2.2.4. Pigmenti

### 2.2.4.1 Karotenoidi

Karotenoidi predstavljaju veliku skupinu pomoćnih pigmenata s preko 1100 poznatih vrsta. Aporpcijski spektri nalaze se u rasponu od 400 do 500 nm (Maltsev i sur., 2021). Karotenoidi su žuti, narančasti ili crveni pigmenti. Sastoje se od osam izoprenskih jedinica koje tvore skelet od 40 ugljikovih atoma i polienskog lanca s višestruko konjugiranim dvostrukim vezama, koji je odgovoran za pigmentaciju i fotosintetska svojstva. Karotenoidi se dijele na dvije glavne skupine: karotene i ksantofile. Karoteni, poput  $\alpha$ -karotena,  $\beta$ -karotena,  $\gamma$ -karotena i likopena su ugljikovodici bez atoma kisika. S druge strane, ksantofili poput  $\beta$ -kriptoksantina, luteina,

astaksantina i peridinina imaju funkcionalne skupine koje sadrže kisik i stoga su polarniji (Maoka, 2019). Karotenoidi imaju raznoliku ulogu u prirodi, koriste se za apsorpciju svjetlosti, fotosintezu i fotoprotekciju. Unosom u ljudski organizam služe kao prekursori vitamina A te mogu smanjiti slobodne radikale i umanjiti rizike od pojave nekih bolesti (Ren i sur., 2021). Sposobnost mikroalgi da nakupljaju karotenoide u značajnim količinama čini ih izvrsnim izvorom prirodnih karotenoida. Na svjetskom tržištu, postoji povećani interes za karotenoide iz prirodnih izvora, uključujući mikroalge poput *D. salina*, *Haematococcus lacustris* te neke vrste *Chlorella* (Maltsev i sur., 2021).

$\beta$ -karoten je najrasprostranjeniji karotenoid u mikroalgama. Primarni je karotenoid i sudjeluje u fotosintezi i fotoprotekciji. Nadalje, biosintetski je preteča ksantofila poput zeaksantina, anteraksantina, violaksantina i neoksantina (Maltsev i sur., 2021). Zahvaljujući svojim antioksidativnim, anti-kardiovaskularnim i imunološkim svojstvima, široko se primjenjuje u prehrambenoj industriji i medicini. Osim što služi kao prekursor vitamina A, ima zaštitne učinke protiv UV i oksidativnog oštećenja, a dokazano je da oralni unos  $\beta$ -karotena (od 30 do 180 mg dnevno) može spriječiti UV-induciranu eritemu kod ljudi. Također pokazuje zaštitne učinke protiv ateroskleroze i poboljšava retinalne i vizualne disfunkcije (Ren i sur., 2021; Galasso i sur., 2019). Najčešće korištena mikroalga za proizvodnju  $\beta$ -karotena je *D. salina*, koja može akumulirati do 10%  $\beta$ -karotena po gramu suhe tvari ovisno o izloženim uvjetima kultivacije (García-Vaquero i sur., 2021). Nekoliko čimbenika doprinijelo je komercijalizaciji *D. salinae* kao izvora  $\beta$ -karotena. Njena sposobnost da uspijeva u jako slanim vodama značajno smanjuje rizik od kontaminacije i potrebu za skupim postupcima sterilizacije. Nadalje, *D. salina* ima najviši udjel  $\beta$ -karotena od svih poznatih organizama (Borowitzka, 2013). Dugo vremena najčešći način uzgoja *D. salinae* je bila kultivacija u otvorenim bazenima. Takvi bazeni građeni su u vrućim i suhim regijama koje su imale pristup prikladnim izvorima slane vode, što je ključno za rast *D. salinae* (Pourkarimi i sur., 2020). U današnje vrijeme sve više se koristi dvofazni sustav. U prvom stupnju vladaju optimalni uvjeti za rast biomase, dok se u drugom nastala biomasa izlaže stresnim uvjetima kako bi se potaknula proizvodnja  $\beta$ -karotena (Borovkov i sur., 2020).

Astaksantin se sastoji od trinaest konjugiranih dvostrukih veza. Zbog svoje strukture pokazuje značajna antioksidativna svojstva koja pomažu neutralizirati slobodne radikale i uklanjati reaktivne kisikove vrste (ROS). Pokazalo se da pod stresnim uvjetima određene mikroalge proizvode i skupljaju značajnu količinu astaksantina (Maltsev i sur., 2021). *Haematococcus pluvialis* je najbogatiji izvor astaksantina. U njegovom životnom ciklusu razlikujemo dvije različite faze: zelenu vegetativnu i crvenu fazu, a svaka faza je karakterizirana jedinstvenim morfološkim i biokemijskim karakteristikama (García-Vaquero i sur., 2021). Tijekom zelene vegetativne faze, stanice *H. pluvialis* su pokretne i obično zelene zbog klorofila. Glavni



Zeaksantin, poput luteina, ima preventivnu ulogu u očuvanju zdravlja očiju i poboljšanju vida (Galasso i sur., 2019). Prirodno je prisutan u središnjoj makuli oka. Smanjuje rizik od makularne degeneracije povezane s dobi. Također zeaksantin može pomoći u ublažavanju kardiovaskularnih problema i može zaštititi dijabetičare od razvoja raka pluća i gušterače. Koristi se za prehrambenoj i kozmetičkoj industriji zbog svoj potencijala kao prirodne boje (Chini Zittelli i sur., 2023). Usprkos sličnim ulogama, jačina učinka se razlikuje između zeaksantina i luteina. Zeaksantin je jači antioksidans i ima veći utjecaj na integritet membrane. Pretpostavlja se da je razlog tome veći broj konjugiranih dvostrukih veza (Demmig-Adams i sur., 2020). Obećavajući izvor prirodnog zeaksantina je mikroalga *C. ellipsoidea*. Ustanovljeno je da ukupna razina zeaksantina u *C. ellipsoidea* bila više od devet puta veća nego u crvenoj paprici koja predstavlja biljni izvor zeaksantina. Dodatno, zeaksantin u *C. ellipsoidea* nalazi se u slobodnom obliku, što olakšava izolaciju i pročišćavanje (Cezare-Gomes i sur., 2019). Glavni izvor fukoksantina, narančastog pigmenta, su morski organizmi poput mikroalgi i algi. Alge kremenjašice i smeđe mikroalge glavni su izvori ovog prirodnog pigmenta (Cezare-Gomes i sur., 2019). Fukoksantin je široko proučavan zbog svojeg potencijala u borbi protiv raka, a razna istraživanja su otkrila da inhibira proliferaciju tumorskih stanica putem apoptoze i blokiranja staničnog ciklusa putem različitih molekularnih puteva (Bouyahya i sur., 2024).

#### 2.2.4.2. Klorofili

Svake godine fotosintetski organizmi na kopnu i u oceanima stvore oko 1,2 milijarde tona klorofila. Unatoč tome, klorofili su jedan od najmanje istraživanih prirodnih pigmenata za hranu. Klorofili su ključni za fotosintezu jer apsorbiraju svjetlost uglavnom u plavim i crvenim dijelovima spektra i reflektiraju zelenu dajući tkivima koja sadrže klorofil njihovu zelenu boju (García-Vaquero i sur., 2021). Osim klorofila *a*, u mikroalgama se nalaze i nekoliko drugih oblika klorofila: *b*, *c*, *d* i *f*. Svi klorofili su kompleksi magnezija koji sadrže različite tetrapirole (Maltsev i sur., 2021). Klorofili se koriste u prehrambenoj industriji ponajviše kao bojila. Klorofili se često koriste u hrani, stočnoj hrani, kozmetici i lijekovima, te pružaju dodatne koristi poput antiseptičkog djelovanja i dezodoracije. Također se koriste u nutraceuticima i prehrambenim dodacima zbog svojih bioaktivnih svojstava, koja mogu pomoći u ravnoteži crijevne flore i smanjenju rizika od kolorektalnog raka. Klorofili su korisni u liječenju talasemije i hemolitičke anemije. Klorofilin, derivat klorofila, koristi se kao prehrambeni dodatak s antimutagenim i antikancerogenim svojstvima (Sun i sur., 2023). Prirodna bojila poput klorofila su manje stabilna od sintetičkih bojila, što ih čini osjetljivima na okolišne stresove poput kisika, svjetla, promjena temperature i pH vrijednosti. To ograničava njihovu komercijalnu primjenu kao bojila u hrani. Klorofil *a* obično je otporniji od klorofila *b*. Stabilnost se može povećati primjenom tehnika poput mikroinkapsulacije, što je pokazalo značajno poboljšanje stabilnosti tijekom

skladištenja. Unatoč novim razvojem upotreba klorofila je još uvijek ograničena. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se povećala stabilnost klorofila za široku komercijalnu primjenu (García-Vaquero i sur., 2021).

#### 2.2.4.3. Fikobiliproteini

Fikobiliproteini (PBP) su skupina proteina koji se ističu svojim distinktivnim i fluorescentnim bojama (Dagnino-Leone i sur., 2022). To su polarni, u vodi topljivi proteini koji su kovalentno vezani na fikobiline preko cisteinskog aminokiselinskog ostatka. Organizirani su u strukture, odnosno fikobilisome koji su smješteni u stromi stanice (Kovaleski i sur., 2022). Fikobilisomi su proteinski kompleksi koji prikupljaju svjetlost. Ovi fikobiliprotein formirani kompleksi apsorbiraju zračenje u područjima vidljivog spektra gdje klorofil *a* ima nisku apsorpciju, što je uglavnom u zelenim i žutim područjima vidljivog djela spektra te prenose energiju u fotosustave (Pagels i sur., 2019). Fikobiliproteini se dijele na fikoeritrin, fikocijan i alofikocijan (Stadnichuk i Tropin, 2017). Maksimalna apsorpcija za fikoeritrin procjenjuje se između 540 i 570 nm, za fikocijanin između 610 i 620 nm, a za alofikocijanin između 650 i 655 nm (Carabantes i Dufossé, 2023).

Zbog svojih upečatljivih svojstava, fikobiliproteini se primjenjuju u prehrambenoj, kozmetičkoj, farmaceutskoj industriji i u medicini. Među njima, fikocijanin je komercijalno najuspješniji. Mnogi znanstveni radovi objavljeni u posljednjih par godina ukazuju na njihovu sigurnost i zdravstvenu prednost, što potiče upotrebu ovih vodotopljivih pigmenata (Chini Zittelli i sur., 2023). Fikobiliproteini sve više zamjenjuju sintetičke boje u hrani, koje su potencijalno kancerogene. Ekstrakti fikoeritrina iz mikroalgi *Spirulina platensis* i *Phorphyridium aeruginosum* koriste se kao boje u slatkišima, želeima i kozmetičkim proizvodima (Dagnino-Leone i sur., 2022). U proteklih nekoliko godina, fikobiliproteini su postali važan predmet farmaceutskih istraživanja zbog svoje upotrebe kao aditivi, fluorescentne sonde i prirodne boje. Razna istraživanja su istaknula biološke aktivnosti fikobiliproteina, što uključuje njihovu sposobnost da djeluju kao antitumorski agensi, antioksidansi te da štite jetru (hepatoprotektivna svojstva) (Tounsi i sur., 2023). Fikocijanin (PC) se ističe kao snažan antioksidans zbog svoje sposobnosti hvatanja slobodnih radikala u tijelu. Alofikocijanin (APC) ima potencijal za suzbijanje štetnih učinaka virusa na crijevne stanice, formiranja virusnih plakova te virusom potaknutu apoptozu. Nadalje, c-fikocijanin (C-PC) pokazuje snažnu sposobnost snižavanja kolesterola u serumu. Određena istraživanja su pokazala da je fikoeritrin (PE) učinkovit fotosenzitivni lijek bez nuspojava, koji se može koristiti za uništavanje tumorskih stanica (Sun i sur., 2023). Važno je napomenuti da se fikobiliproteini ne koriste samo u ljudskoj medicini,

već da su postali važni i u dijagnostici bolesti kod životinja. Zapravo, fikobiliproteini se široko primjenjuju za otkrivanje virusnih i bakterijskih patogena kod svinja, peradi, kao i drugih životinja poput majmuna, miševa, konja i zečeva (Tounsi i sur., 2023). Fizikalne metode ekstrakcije fikobiliproteina uključuju mehaničko razbijanje. Metode koje se koriste su: mljevenje u kugličnim mlinovima, višestruko zamrzavanje, razbijanje ultrazvukom (sonikacija) te visokotlačna homogenizacija. Mana ovih metoda je da se troši puno energije i vremena. Od svih fizikalnih metoda višestruko zamrzavanje daje najbolje rezultate što se tiče čistoće ekstrakta, ali je vremenski vrlo zahtjevno te se iz tog razloga ne primjenjuje u industrijskom mjerilu. Kombinacijom fizikalnih i kemijskih metoda se može poboljšati stopa ekstrakcije fikobiliproteina, ali je skuplja u usporedbi s pojedinačnim kemijskim ili fizikalnim metodama (Wang i sur., 2023).

## **2.3.. Biološka aktivnost različitih supstancija iz mikroalgi**

### **2.3.1. Antitumorska aktivnost**

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), rak je drugi najčešći uzrok smrti, a bio je odgovoran za oko 9,6 milijuna smrtnih slučajeva u 2018. godini. To znači da je otprilike jedna od šest smrti povezana s rakom (Galasso i sur., 2019). Iako nova antikancerogena sredstva mogu produljiti život, često značajno smanjuju kvalitetu života. Kemoterapija kao glavni tretman može uništiti ili inhibirati stanice raka, ali je povezana s teškim nuspojavama. Mnogi naporu se ulažu kako bi se otkrila nova antikancerogena sredstva. Mikroalge nude obećavajuće antikancerogene spojeve s manje nuspojava. One sadrže raznovrsne fenolne spojeve, visoke razine klorofila i karotenoida te korisne nusproizvode poput lipida, proteina i antioksidansa. Ti spojevi poboljšavaju obrambene sposobnosti tijela, potiču imunološki sustav i inhibiraju rast stanica raka (Abd El-Hack i sur., 2019). Mikroalge poput *Chaetoceros calcitrans*, *Skeletonema marinoi*, *Phaeodactylum tricorutum*, kao i dinoflagelati *Amphidinium operculatum* i *Ostreopsis ovata*, pokazali su snažan učinak protiv stanica raka. Fukoksantin pokazao je obećavajući antikancerogeni učinak induciranjem zadržavanja staničnog ciklusa i gena za suzbijanje raka. Dodatno, etanolni ekstrakti *Micractinium* sp. i *Chloromonas reticulata* pokazali su učinke na stanice raka debelog crijeva te smanjenje izražaja proupalnih posrednika u makrofagima. *S. marinoi* se pokazala učinkovita protiv melanomskih stanica (Bouyahya i sur., 2024). Astaksantin može spriječiti proliferaciju stanica raka želuca zaustavljanjem staničnog ciklusa u fazi G0/G1. Također djeluje kao učinkovit antioksidans, sprječava genotoksičnost i citotoksičnost, stimulira jetrene enzime i poboljšava imunitet protiv tumora. Klinička ispitivanja pokazala su njegovu učinkovitost u regeneraciji patoloških lezija

kod benigne hiperplazije prostate. Zbog visoke cijene sintetskog astaksantina, često se ekstrahira iz prirodnih izvora poput *Haematococcus pluvialis*, *H. lacustris*, *Chlorococcum* sp. i *C. vulgaris* (Abd El-Hack i sur., 2019). Polisaharid laminarin je pokazao antitumorsku snagu inhibicijom rasta tumora i poticanjem apoptoze. Laminarin je također inducirao zaustavljanje staničnog ciklusa u karcinomu jajnih stanica, kao i u papilarnom adenokarcinomu seroznih staničnih linija. U *in vitro* eksperimentu, laminarin kao i njegov sulfatirani analog pokazali su potencijalno značajna antikancerogena svojstva protiv malignog melanoma (Bouyahya i sur., 2024).

### 2.3.2. Antimikrobna aktivnost

U posljednjih je nekoliko godina antibiotska rezistencija sve više prisutna zbog široke upotrebe antibiotika. Iz tog razloga raste potreba za pronalaženjem alternativnih antimikrobnih lijekova. Potencijalno rješenje nude prirodni spojevi. Mikroalge imaju sposobnost proizvodnje raznolikih bioaktivnih spojeva, koji se mogu razlikovati ovisno o okruženju u kojem rastu. Nekoliko vrsta mikroalgi uspijeva u teškim uvjetima, što ih potiče na proizvodnju specifičnih kemikalija koje pomažu u njihovoj prilagodbi teškim uvjetima. Prirodna sposobnost mikroalgi da proizvode obrambene mehanizme naglašava njihovu vrijednost kao izvora za razvoj novih antimikrobnih tretmana i rješavanje problema antimikrobne rezistencije (Dolganyuk i sur., 2020). Neki od antimikrobnih spojeva mikroalgi uključuju masne kiseline, lipide, pigmente, polifenole, ugljikohidrate, jednostavne ugljikovodike i njihove derivate. Ti spojevi imaju potencijalne primjene u farmaceutici, nutraceuticima i različitim industrijskim sektorima zbog njihovog prirodnog podrijetla i korisnih bioloških aktivnosti. Daljnja istraživanja su u tijeku kako bi se istražio i iskoristio njihov puni terapijski potencijal. Masne kiseline poput linolenske, linolne, oleinske, palmitoleinske, palmitinske, stearinske i miristinske kiseline pokazuju antibakterijsku aktivnost te pokazuju potencijalnu terapijsku primjenu protiv mikrobnih infekcija. Polisaharidi poput galaktana, fukoidana, laminarina i alginata pokazuju antibakterijsku aktivnost protiv patogenih bakterija poput *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* i *Streptococcus faecalis*. Derivati klorofila pokazuju bakteriostatske i baktericidne učinke. Oni inhibiraju rast različitih bakterija, uključujući oralne patogene poput *Porphyromonas gingivalis* i *Fusobacterium nucleatum*. Karotenoidi poput  $\beta$ -karotena i astaksantina posjeduju antibakterijska svojstva te su korisni zbog svojih antioksidativnih i zaštitnih učinaka. Fikobiliproteini poput fikocijanina iz *Spiruline* i fikoeritrina iz *Porphyridium* su vodotopljivi pigmenti s antimikrobnim, protuupalnim, antioksidativnim i antivirusnim svojstvima. Učinkoviti su protiv ljudskih patogena uključujući *Streptococcus* sp.,



*Staphylococcus* sp., *E. coli*, *Bacillus* sp. i *Pseudomonas* sp. (Jyotirmayee i sur., 2014). Kokou i sur. (2011) istraživali su antimikrobnu aktivnost određenih sojeva mikroalgi. Otkriveno je da *C. minutissima*, *T. chuii*, *A. platensis*, *Nannochloropsis* sp. i *Isochrysis* sp. pokazuju antibakterijsku aktivnost protiv bakterijskih sojeva *V. alginolyticus*, *V. lentus*, *V. splendidus*, *V. scopthalmi*, *V. parahaemolyticus* i *V. anguillarum*. Nadalje, antibakterijska aktivnost bila je prisutna bez obzira na prisutnost ili odsutnost svjetlosti, ukazujući da nije uzrokovana kisikovim radikalima proizvedenima tijekom fotosinteze. Svi sojevi mikroalgi pokazali su značajnu antibakterijsku aktivnost, pri čemu su brojevi bakterija na kraju eksperimentalnog razdoblja (96–120 sati nakon inokulacije) bili barem 1000 puta manji od kontrolne skupine. Mikroalge su istražene zbog sposobnosti inhibicije rasta algi, što ih čini prirodnim algicidima za kontrolu štetnog cvjetanja mora. Spojevi poput klorelina pokazali su učinkovitost u suzbijanju rasta algi. Također su pokazale obećavajuće rezultate u borbi protiv protozoalnih bolesti. Pokazuju antiprotozoalnu aktivnost protiv patogena poput *Trypanosoma* i *Leishmania*. U antimalarijskim istraživanjima ekstrakti algi pokazali su inhibicijske učinke protiv uzročnika malarije *Plasmodium falciparum*. Spojevi poput fukoksantina ističu se svojim potencijalom za razvoj novih antimalarijskih lijekova (Sanmukh, 2014).

### 2.3.3. Antioksidacijska aktivnost

Antioksidansi imaju ključnu ulogu u zaštiti bioloških sustava i važnih spojeva od oksidativnih oštećenja koja uzrokuju slobodni radikali. Mnogi prirodni antioksidansi koriste se u kozmetici kako bi se zaštitili sastojci od oksidacije. Mikroalge su redovito izložene reaktivnim kisikovim vrstama (ROS) što ih potiče da razvijaju razne antioksidativne komplekse i mehanizme obrane (Dolganyuk i sur., 2020). Iz tog razloga su temeljito proučavane te su pronađene korelacije između antioksidativnih sposobnosti i spojeva izoliranih iz mikroalgi poput karotenoida, fenolnih spojeva, galne kiseline i vitamina E. *Chloromonas* sp. i *Botrydiopsisidaceae* sp. pokazuju snažne antioksidativne sposobnosti slične vitaminu C. Različite vrste, uključujući *Chlorellu* i *Tetraselmis*, pokazuju snažnu inhibiciju peroksidacije lipida i superoksidnih radikala (Coulombier i sur., 2021). Karotenoidi i peptidi dobiveni iz mikroalgi dobro su poznati antioksidansi koji pomažu u sprečavanju oštećenja stanica neutralizirajući reaktivne kisikove vrste (ROS) poput superoksidnog aniona, vodikovog peroksida i hidroksilnih radikala. Karotenoidi neutraliziranjem ROS i slobodnih radikala štite ljudske stanice od upalnih i metaboličkih problema, preranog starenja, kardiovaskularnih bolesti, artritisa i raka. Prema istraživanjima, povećanje unosa specifičnih antioksidansa poput astaksantina može pomoći u prevenciji dijabetesa tipa 2, smanjenju sistoličkog tlaka te zaštiti od bolesti povezanih s

metaboličkim sindromima, aterosklerozom, neurodegenerativnim poremećajima i kardiovaskularnim bolestima. Adekvatan unos  $\beta$ -karotena može smanjiti slobodne radikale povezane s rakom te obnoviti funkciju antioksidativnih enzima u jetri. To pomaže u zaštiti jetrenih stanica od toksičnih spojeva (ksenobiotika), čime se poboljšava opće zdravlje jetre (Lucakova i sur., 2022). Guedes i sur. (2013) su u svom istraživanju ustanovili da *S. obliquus* pokazuje posebno visoku antioksidativnu aktivnost. Ta antioksidativna aktivnost procijenjena alternativnim metodama poput čišćenja slobodnih radikala, kemijske zaštite deoksiriboze i DNA te biološke zaštite bakteriofaga tijekom infekcije *Salmonelom* povezuje se s luteinom. Osim toga, ekstrakt bogat antioksidansima iz soja *S. obliquus* ne pokazuje nikakav mutageni učinak.

#### 2.3.4. Imunomodulacijska aktivnost

Imunomodulacija obuhvaća sve postupke koji mijenjaju ili moduliraju imunološki odgovor u terapeutske svrhe. Tako, imunomodulacija uključuje aktivaciju imunološkog sustava kako bi se smanjili upalni procesi (npr. imunološki odgovor na ozljede i infekcije) i borilo protiv bolesti poput mikrobnih infekcija (npr. cijepljenje protiv patogenih agenasa) (Riccio i Lauritano, 2019). Mikroalge i cijanobakterije izvor su raznovrsnih metabolita s protuupalnim svojstvima koji ciljaju različite mehanizme uključene u razvoj upale. Ovi bioaktivni spojevi utječu na proupalne citokine, modulatore interakcije stanica, enzime koji proizvode kemokine te enzime uključene u proizvodnju i čišćenje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS). Kemijska raznolikost protuupalnih sredstava ekstrahiranih iz ovih izvora ističe njihov potencijal za otkrivanje lijekova. Iako studije o mehanizmima izoliranih spojeva pokazuju obećavajuće rezultate, daljnja istraživanja posebno u predkliničkom razvoju lijekova nužna su za buduće primjene (Tabarзад i sur., 2020). *Spirulina* sp. poznata je po bogatom nutritivnom profilu i terapijskim učincima te pokazuje protuupalna svojstva. Jedan od njenih karakterističnih spojeva je fikocijanin koji djeluje inhibirajući na formiranje proupalnih citokina poput TNF- $\alpha$ , smanjujući proizvodnju prostaglandina E(2) te inhibirajući izražaj ciklooksigenaze-2. Osim toga, *Spirulina* sadrži  $\beta$ -karoten, koji ometa transkripciju upalnih citokina poput IL-1 $\beta$ , IL-6 i IL-12 u stimuliranim staničnim linijama makrofaga. Štoviše, biomasa *Spirulina* potiče rast probiotičkih bakterija poput *Lactobacillus casei*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacteria* i *Lactobacillus acidophilus*. Ova prebiotička svojstva pripisuju se ne samo polisaharidima, već i monosaharidima, enzimima, polinezasićenim masnim kiselinama (PUFA), peptidima i polifenolima prisutnim u *Spirulini* (Dolganyuk i sur., 2020). Morske dijatomeje poput *Porosira glacialis*, *Cylindrotheca closterium* i *Phaeodactylum tricornutum*, kao i dinoflagelat

*Amphidinium carterae*, te zelene mikroalge *D. bardawil* i *D. tertiolecta* pokazuju protuupalne učinke. Ove vrste dokazano su smanjile razine tumorskog faktora nekroze (TNF- $\alpha$ ) i ograničile sintezu dušikovog oksida u makrofagima, što ukazuje na protuupalno djelovanje. Lutein, astaksantin, EPA, DHA i sulfatirani polisaharidi su pokazali protuupalno djelovanje. Nekoliko mikroalgi pokazalo je sposobnost moduliranja imunološkog sustava kod ljudi i životinja, iako često nisu poznati točni aktivni kemijski spojevi koji sudjeluju u modulaciji. Polisaharidni ekstrakti iz *C. stigmatophora* potaknuli su makrofage *in vitro* i *in vivo* u modelima miševa. Sulfatirani egzopolisaharidi iz *Gyrodinium impudicum* su aktivirali makrofage, dok su sulfatirani polisaharidi iz *Tribonema* sp. povećali preživljavanje makrofaga i ekspresiju citokina. Prehrambeni dodaci koji sadrže mikroalge poput *D. salina* i *Tetraselmis chuii* također su pokazali poboljšanje imunološkog odgovora povećanjem aktivnosti stanica ubojica i makrofaga te poboljšanjem ekspresije gena povezanih s imunitetom (Riccio i Lauritano, 2019).

### 3. ZAKLJUČCI

1. Uzgoj mikroalgi predstavlja područje s velikim potencijalom za industrijsku primjenu zahvaljujući brzom rastu i minimalnim zahtjevima za uzgoj.
2. Različiti načini uzgoja: heterotrofni, fotoautotrofni, miksotrofni i fotoheterotrofni, pružaju fleksibilnost u optimizaciji proizvodnje, dok moderni sustavi kao što su fotobioreaktori omogućuju preciznu kontrolu uvjeta uzgoja. Prilagodba uvjeta kao što su svjetlost, temperatura, pH i salinitet dodatno poboljšava učinkovitost proizvodnje.
3. Mikroalge predstavljaju izuzetno bogat izvor raznovrsnih biokemijskih spojeva kao što su lipidi, polisaharidi, proteini, vitamini i pigmenti.
4. Mnogi spojevi poput fukoksantina, astaksantina, laminarina, karotenoida i polisaharida, pokazuju obećavajuće učinke u borbi protiv stanica raka, patogenih mikroorganizama, oksidativnog stresa te u modulaciji imunološkog odgovora.
5. Daljnja istraživanja su nužna kako bi se bolje razumjeli mehanizmi djelovanja ovih spojeva, optimizirala njihova proizvodnja te testirali njihovi terapijski učinci na ljudsko zdravlje. S obzirom na rastući globalni problem otpornosti na lijekove i potrebu za novim terapijskim opcijama, mikroalge predstavljaju obećavajuće područje za buduća istraživanja i razvoj novih terapija.

#### 4. POPIS LITERATURE

- Abd El-Hack ME, Abdelnour S, Alagawany M, Abdo M, Sakr MA, Khafaga AF i sur. (2019) Microalgae in modern cancer therapy: Current knowledge. *Biomed Pharmacother* **111**, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.069>
- Abdur Razzak S, Bahar K, Islam KMO, Haniffa AK, Faruque MO, Hossain SMZ i sur. (2023) Microalgae cultivation in photobioreactors: Sustainable solutions for a greener future. *Green Chem. Eng.* <https://doi.org/10.1016/j.gce.2023.10.004>
- Ananthi V, Raja R, Carvalho IS, Brindhadevi K, Pugazhendhi A, Arun A (2021). A realistic scenario on microalgae based biodiesel production: Third generation biofuel. *Fuel*. **284**, 118965. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118965>
- Borovkov AB, Gudvilovich IN, Avsiyan AL, Memetshaeva NOA, Lelekov AS, Novikova TM (2020) Production Characteristics of *Dunaliella salina* at Two-phase Pilot Cultivation (Crimea). *Turk J Fish Aquat Sc* **20**(5), 401-408. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20\\_5\\_08](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_5_08)
- Borowitzka, M.A. (2013). High-value products from microalgae—their development and commercialisation. *J Appl Phycol*, **25**(3), 743–756. doi:<https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
- Bouyahya A, Bakrim S, Chamkhi I, Taha D, El Omari N, El Mneyiy N i sur. (2024) Bioactive substances of cyanobacteria and microalgae: Sources, metabolism, and anticancer mechanism insights. *Biomed Pharmacother* **170**, 115989. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115989>
- Carabantes Galetović A, Dufossé L (2023) Chapter 14 - Microalgal phycobiliproteins for food/feed applications. U: Jacob-Lopes E, Queiroz MI, Manzoni Maroneze M, Queiroz Zepka L (ured.) *Handbook of Food and Feed from Microalgae*, Academic Press, str. 161-169.
- Cezare-Gomes EA, Mejia-da-Silva L del C, Pérez-Mora LS, Matsudo MC, Ferreira-Camargo LS, Singh i sur. (2019) Potential of Microalgae Carotenoids for Industrial Application. *Appl Biochem Biotech* **188**(3), 602–634. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-02945-4>
- Chew KW, Chia SR, Sho, PL, Yap YJ, Ling TC, Chang J (2018) Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: a review. *J Taiwan Inst Chem Eng* **91**, 332–344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>
- Chini Zittelli G, Lauceri R, Faraloni C, Silva Benavides AM, Torzillo G (2023) Valuable pigments from microalgae: phycobiliproteins, primary carotenoids, and fucoxanthin. *Photoch Photobio Sci* **22**(8), 1733–1789. <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00407-3>
- Chowdury KH, Nahar N i Deb UK (2020) The Growth Factors Involved in Microalgae Cultivation for Biofuel Production: A Review. *CWEEE* **9**(4), 185–215. <https://doi.org/10.4236/cweee.2020.94012>

- Coêlho D, Tundisi LL, Cerqueira KS, Rodrigues JR da S, Mazzola PG i sur. (2019) Microalgae: Cultivation Aspects and Bioactive Compounds. *Braz Arch Biol Techn* **62**, e19180343. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180343>
- Costa JAV, Lucas BF, Alvarenga AGP, Moreira JB, de Morais MG (2021) Microalgae Polysaccharides: An Overview of Production, Characterization, and Potential Applications. *Polysaccharides* **2**(4), 759–772. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040046>
- Coulombier N, Jauffrais T, Lebouvier N (2021). Antioxidant Compounds from Microalgae: A Review. *Mar Drugs* **19**(10), 549. <https://doi.org/10.3390/md19100549>
- Dagnino-Leone J, Pinto Figueroa C, Latorre Castañeda M, Donoso Youlton A, Vallejos-Almirall A, Agurto-Muñoz A i sur. (2022). Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. *CSBJ* **20**, 1506-1527. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.016>
- Daneshvar E, Sik OkY, Tavakoli S, Sarkar B, Shaheen SM, Hong H i sur. (2021) Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresource Technol* **329**, 124870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124870>
- De Bhowmick G, Guieysse B, Everett D, Reis M, Thum C (2023) Novel source of microalgal lipids for infant formula. *Trends Food Sci Tech* **135**, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.012>
- De Luca M, Pappalardo I, Limongi AR, Viviano E, Radice RP, Todisco S i sur. (2021) Lipids from Microalgae for Cosmetic Applications. *Cosmetics*, **8**(2), 52. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020052>
- Demmig-Adams B, López-Pozo M, Stewart JJ, Adams WW (2020) Zeaxanthin and Lutein: Photoprotectors, Anti-Inflammatories, and Brain Food. *Molecules* **25**(16), 3607. <https://doi.org/10.3390/molecules25163607>
- Dolganyuk V, Belova D, Babich O, Prosekov A, Ivanova S, Katserov D i sur. (2020) Microalgae: A Promising Source of Valuable Bioproducts. *Biomolecules* **10**(8), 1153. <https://doi.org/10.3390/biom10081153>
- Galasso C, Gentile A, Orefice I, Ianora A, Bruno A, Noonan DM i sur. (2019) Microalgal Derivatives as Potential Nutraceutical and Food Supplements for Human Health: A Focus on Cancer Prevention and Interception. *Nutrients* **11**(6), 1226. <https://doi.org/10.3390/nu11061226>
- García-Vaquero M, Brunton N, Lafarga T (2021) Microalgae as a source of pigments for food applications. U: Lafarga T, Acien G (ured.) *Cultured Microalgae for the Food Industry*, Academic Press, str. 177-198
- Guedes A, Gião M, Seabra R, Ferreira A, Tamagnini P, Moradas-Ferreira Pi sur (2013). Evaluation of the Antioxidant Activity of Cell Extracts from Microalgae. *Mar Drugs*, **11**(4), 1256–1270. doi:<https://doi.org/10.3390/md11041256>
- Hernández-Carmona G, Carrillo-Domínguez S, Arvizu-Higuera DL, Rodríguez-Montesinos YE, Murillo-Álvarez JI, Muñoz-Ochoa M i sur. (2009) Monthly variation in the chemical

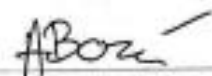
- composition of *Eisenia arborea* J.E. Areschoug. *J Appl Phycol* **21**(5), 607–616. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9454-5>
- Jyotirmayee P, Sachidananda D, Basanta KD (2014) Antibacterial activity of freshwater microalgae: A review. *Afr J Pharm Pharmaco* **8**(32), 809–818. <https://doi.org/10.5897/ajpp2013.0002>
  - Kokou F, Makridis P, Kentouri M, Divanach P (2011) Antibacterial activity in microalgae cultures. *Aquac Res* **43**(10), 1520–1527. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02955.x>
  - Kovaleski G, Kholany M, Dias LMS, Correia SFH, Ferreira RAS, Coutinho JAP i sur. (2022) Extraction and purification of phycobiliproteins from algae and their applications. *Front Chem* **10**, 1065355. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1065355>
  - Koyande AK, Chew KW, Rambabu K, Tao Y, Chu DT, Show PL (2019) Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science And Human Wellness*, **8**(1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.001>
  - Lucakova S, Branyikova I, Hayes M (2022) Microalgal Proteins and Bioactives for Food, Feed, and Other Applications. *Appl. Sci.***12**(9), 4402. <https://doi.org/10.3390/app12094402>
  - Maltsev Y, Maltseva K, Kulikovskiy M, Maltseva S (2021) Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition. *Biology* **10**(10), 1060. <https://doi.org/10.3390/biology10101060>
  - Manning SR (2022) Microalgal lipids: biochemistry and biotechnology. *Curr Opin Biotech*, **74**, 1–7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.018>
  - Maoka T (2019). Carotenoids as natural functional pigments. *J Nat Med*, **74**(1), 1–16. doi:<https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>.
  - Morales-Jiménez M, Gouveia L, Yáñez-Fernández J, Castro-Muñoz R, Barragán-Huerta BE (2020) Production, Preparation and Characterization of Microalgae-Based Biopolymer as a Potential Bioactive Film. *Coatings* **10**(2), 120. <https://doi.org/10.3390/coatings10020120>
  - Oslan SNH, Tan JS, Oslan SN, Matanjun P, Mokhtar RAM, Shapawi R i sur. (2021) Haematococcus pluvialis as a Potential Source of Astaxanthin with Diverse Applications in Industrial Sectors: Current Research and Future Directions. *Molecules* **26**(21), 6470. <https://doi.org/10.3390/molecules26216470>
  - Pagels F, Guedes AC, Amaro HM, Kijjoa A, Vasconcelos V (2019) Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. *Biotechnol Adv* **37**(3), 422–443. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.010>
  - Pedruzi GOL, Amorim ML, Santos RR, Martins MA, Vaz MGMV (2020) Biomass accumulation-influencing factors in microalgae farms. *Rev Bras Eng Agr Amb* **24**(2), 134–139. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n2p134-139>
  - Pourkarimi S, Hallajisani A, Alizadehdakheh A, Nouralishahi A, Golzary A (2020) Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **29**, 101771. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101771>

- Ren Y, Sun H, Deng J, Huang J, Chen F (2021) Carotenoid Production from Microalgae: Biosynthesis, Salinity Responses and Novel Biotechnologies. *Mar Drugs* **19**(12), 713. <https://doi.org/10.3390/md19120713>
- Riccio G, Lauritano C (2019) Microalgae with Immunomodulatory Activities. *Mar Drugs* **18**(1), 2. <https://doi.org/10.3390/md18010002>
- Sanmukh S (2014) Bioactive Compounds Derived from Microalgae Showing Antimicrobial Activities. *J Aquac Res Development* **5**(3), 1000224. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000224>
- Stadnichuk IN i Tropin IV (2017) Phycobiliproteins: Structure, functions and biotechnological applications. *Appl Biochem Micro+* **53**(1), 1–10. <https://doi.org/10.1134/s0003683817010185>
- Sun H, Wang Y, He Y, Liu B, Mou H, Chen F i Yang S (2023) Microalgae-Derived Pigments for the Food Industry. *Mar Drugs* **21**(2), 82. <https://doi.org/10.3390/md21020082>
- Tabarzad M, Atabaki V i Hosseinabadi T (2020) Anti-inflammatory Activity of Bioactive Compounds from Microalgae and Cyanobacteria by Focusing on the Mechanisms of Action. *Mol Biol Rep* **47**(8), 6193–6205. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05562-9>
- Tan JS, Lee SY, Chew KW, Lam MK, Lim JW, Ho SH i sur. (2020) A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered* **11**(1), 116–129. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1711626>
- Tarento TDC, McClure DD, Vasiljevski E, Schindeler A, Dehghani F, Kavanagh JM (2018) Microalgae as a source of vitamin K1. *Algal Res* **36**, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.10.008>
- Thoré ESJ, Muylaert K, Bertram MG, Brodin T (2023). Microalgae. *Curr Biol* **33**(3), R91–R95. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.12.032>.
- Tounsi L, Ben Hlima H, Hentati F, Hentati O, Derbel H, Michaud P i sur. (2023) Microalgae: A Promising Source of Bioactive Phycobiliproteins. *Mar Drugs* **21**(8), 440. <https://doi.org/10.3390/md21080440>
- Vuppaladadiyam AK, Prinsen P, Raheem A, Luque R, Zhao M (2018) Microalgae cultivation and metabolites production: a comprehensive review. *Biofuel Bioprod BioR* **12**(2), 304–324. <https://doi.org/10.1002/bbb.1864>
- Wang F, Yu X, Cui Y, Xu L, Huo S, Ding Z i sur. (2023) Efficient extraction of phycobiliproteins from dry biomass of *Spirulina platensis* using sodium chloride as extraction enhancer. *Food Chem* **406**, 135005 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135005>
- Zheng H, Wang Y, Li S, Nagarajan D, Varjani S, Lee D (2022) Recent advances in lutein production from microalgae. *Renew Sust Energ Rev* **153**, 111795. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111795>



### Izjava o izvornosti

Ja Anamarija Borić izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mogeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



Vlastoručni potpis