

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA - ICET
CURSO DE FARMÁCIA

AQUILA DE SOUZA NEVES

ESQUALENO:
EXPLORANDO FONTES ALTERNATIVAS PARA SEU EMPREGO NAS
INDÚSTRIAS FARMACÊUTICA E COSMÉTICA

ITACOATIARA - AM

2023

AQUILA DE SOUZA NEVES

ESQUALENO:

**EXPLORANDO FONTES ALTERNATIVAS PARA SEU EMPREGO NAS
INDÚSTRIAS FARMACÊUTICA E COSMÉTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Amazonas (UFAM),
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Aluízio Gonçalves Brasil Júnior

ITACOATIARA - AM

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

N518e Neves, Aquila de Souza
Esqualeno : explorando fontes alternativas para seu emprego nas indústrias farmacêutica e cosmética / Aquila de Souza Neves . 2023
35 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Aluizio Gonçalves Brasil Júnior
TCC de Graduação (Farmácia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Esqualeno. 2. Fontes alternativas. 3. Biotecnologia. 4. Indústria. I. Brasil Júnior, Aluizio Gonçalves. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AQUILA DE SOUZA NEVES

ESQUALENO:

**EXPLORANDO FONTES ALTERNATIVAS PARA SEU EMPREGO NAS
INDÚSTRIAS FARMACÊUTICA E COSMÉTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
como requisito parcial para obtenção do grau
de Bacharel em Farmácia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 03/11/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aluizio Gonçalves Brasil Júnior – (ICET/UFAM)
Orientador

Prof. Dr. Daniel Tarciso Martins Pereira – (CAV/UFPE)
Avaliador

Profa. Dra. Stéfani Ferreira de Oliveira – (ICET/UFAM)
Avaliador

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero expressar minha gratidão a Deus, por tornar este dia uma grande realidade. Dedico estes agradecimento a todos aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais Afonso e Maria, que sempre reforçaram que a educação é o caminho mais sólido para atingir meus objetivos na vida, quero agradecer por todo apoio incondicional. Suas palavras de encorajamento, paciência e amor foram fundamentais para que eu conseguisse chegar até aqui.

Ao meu namorado, Felipe, que merece um agradecimento especial, seu apoio foi essencial para mim, pois estar longe de casa durante esse período não foi uma tarefa fácil, mas a sua dedicação e cuidado comigo tornaram tudo mais suportável, obrigada por não soltar minha mão nos momentos mais difíceis.

As amigas que fiz ao longo desta caminhada, quero expressar minha profunda gratidão, em especial a Gabriela, Naíssa, Giovanna, Elisandra, Juliane, Karina, Geovana e Rafael, pois enfrentar as dificuldades encontradas no decorrer da faculdade sem o apoio de vocês seria bem mais difícil, cada um contribuiu de maneira única para minha jornada, até quem esteve comigo desde o início da faculdade fez grande diferença na minha vida acadêmica, sou grata a todos.

Às colegas de estágio, Kézia e Maylane, e em especial à minha parceira de dupla, Macielle, quero agradecer por toda a paciência e colaboração durante estes longos meses. Trabalhar juntas foi uma experiência enriquecedora, e sem nosso esforço conjunto, não teríamos alcançado nossos objetivos.

Por fim, quero agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Aluizio Brasil, por aceitar me auxiliar no desenvolvimento do meu trabalho de conclusão de curso, suas valiosas orientações foram fundamentais.

RESUMO

O esqualeno, um composto natural com papéis essenciais na biossíntese do colesterol e aplicações na indústria cosmética e farmacêutica, enfrenta desafios de obtenção sustentável, principalmente quando extraído de fontes animais, como tubarões de águas profundas. Esta pesquisa se concentra na busca por alternativas sustentáveis, com ênfase na produção de esqualeno por microrganismos. A metodologia empregada envolveu uma revisão bibliográfica exploratória, consultando bases de dados indexada, com critérios de inclusão e exclusão. A crescente demanda da indústria por esqualeno, seja para cosméticos ou adjuvantes de vacinas, impulsiona a exploração de fontes sustentáveis. A biotecnologia desempenha um papel fundamental, oferecendo métodos promissores de produção. A pesquisa explorou várias estratégias, incluindo o uso microrganismos, principalmente leveduras, alguns fungos e microalgas para produção de esqualeno. Embora essas abordagens mostrem potencial, existem desafios em relação aos custos, otimização e complexidade. A utilização de cana-de-açúcar brasileira pela Amyris destaca-se como uma solução sustentável. Por fim, é muito necessário o estudo voltado para a busca por fontes alternativas de esqualeno para suprir a crescente demanda da indústria, considerando o impacto ambiental provocado pela caça predatória de tubarões.

Palavras-chave: Esqualeno; Fontes alternativas; Biotecnologia; Indústria.

ABSTRACT

Squalene, a natural compound with essential roles in the biosynthesis of cholesterol and applications in the cosmetics and pharmaceutical industries, faces challenges in sustainable production, especially when extracted from animal sources such as deep-sea sharks. This research focuses on the search for sustainable alternatives, with an emphasis on the production of squalene by microorganisms. The methodology employed involved an exploratory literature review, consulting indexed databases, with inclusion and exclusion criteria. The industry's growing demand for squalene, whether for cosmetics or vaccine adjuvants, is driving the exploration of sustainable sources. Biotechnology plays a key role, offering promising production methods. Research has explored various strategies, including the use of microorganisms, mainly yeasts, some fungi and microalgae for squalene production. Although these approaches show potential, there are challenges regarding costs, optimization and complexity. The use of Brazilian sugar cane by Amyris stands out as a sustainable solution. Finally, there is a great need for research into alternative sources of squalene to meet the growing demand from industry, considering the environmental impact caused by predatory shark hunting.

Keywords: Squalene; Alternatives sources; Biotechnology; Industry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Resumo do mercado de esqualeno	12
Figura 2: Estrutura química trigonal plana do esqualeno	13
Figura 3: Estruturas do a) esqualano e b) esqualeno	15
Figura 4: Mecanismo de resposta imune no corpo humano da vacina de esqualeno	17
Figura 5: Fluxograma	23
Figura 6: Biotecnologia utilizada para produção de esqualano a partir da cana de açúcar	27
Quadro 1: Empresas que incluem esqualeno/esqualano em seus produtos cosméticos e seus produtos	16
Quadro 2: Composição de adjuvantes à base de esqualeno e possíveis mecanismos de ação.	18
Quadro 3: Empresas que utilizam esqualeno/esqualano como ingrediente ativo em seus produtos	19
Quadro 4: Resumo contendo informações de cada estudo usado	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAGR	Compound Annual Growth Rate (Taxa de crescimento anual composta)
CD4+	Grupamento de Diferenciação 4
DGA1	Genes que codificam as enzimas diacilglicerol Aciltransferases
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
GSK	GlaxoSmithKline
HMG1	Genes que codificam a enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
IFN- γ	Interferon – gamma(γ)
IL-5	Interleucina 5
MVA	Mevalonato
PBDE	Polybrominated diphenyl ethers (Éteres difenílicos polibromados)
PCB	Polychlorinated biphenyl (Bifenil policlorado)
POPs	Poluentes Orgânicos Persistentes
SPAN 85	Trioleato de Sorbitano
TLC	Thin layer chromatography (Cromatografia de camada fina)
TLRs	Testes Laboratoriais Remotos
TWEEN 80	Polissorbato 80
USDA	United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)
YEPD	Yeast Extract Peptone Dextrose (Extrato de levedura Peptona Dextrose)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 ESTRUTURA E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO ESQUALENO	13
2.2 APLICAÇÕES DO ESQUALENO NA INDÚSTRIA	14
2.2.1 Uso em formulações cosméticas	14
2.2.2 Uso como adjuvantes de vacinas	16
2.3 FONTES DE OBTENÇÃO DE ESQUALENO	19
2.4 IMPACTO AMBIENTAL NO USO DE ESQUALENO	20
3. OBJETIVO	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4. METODOLOGIA	21
4.1 TIPO DE ESTUDO	21
4.1.1 Etapa I: Consulta das fontes nas bases de dados	21
4.1.2 Etapa II: Critérios de inclusão e exclusão	22
4.1.3 Etapa III: Coleta de dados e análise das fontes	22
4.1.4 Etapa IV: Organização e síntese	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

O esqualeno é composto de hidrocarboneto triterpênico, linear, altamente insaturado de ocorrência natural, que desempenha um papel fundamental como intermediário na biossíntese do colesterol. Foi descrito e identificado pela primeira vez em 1916 pelo químico japonês Mitsumaru Tsujimoto (Gohil *et al.*, 2019). A principal fonte natural conhecida de esqualeno é oriunda do óleo encontrado no fígado de tubarões de águas profundas, do gênero *Esqualus spp.*, o que justifica sua denominação (Mendes, Azevedo-Silva, Fernandes, 2022).

O esqualeno compõe cerca de 12% de esqualeno de todos os lipídeos presentes na superfície da pele. A incorporação de substâncias como esqualeno em produtos cosméticos minimiza o risco de reações alérgicas, sendo altamente valorizada na indústria cosmética devido às suas propriedades emolientes e antioxidantes. Além disso, auxilia na prevenção da lesão oxidativa provocada pelo H_2O_2 , oferecendo proteção contra danos oxidativos no DNA (Rosales-García, Jimenez-Martinez, Dávila-Ortiz, 2017).

O esqualeno tem diversas aplicações voltadas para os setores alimentício, químico e de saúde. Ele desempenha um papel importante como suplemento dietético (Naziri *et al.* 2011), agente hidratante e cardioprotetor, demonstra ainda propriedades antitumorais, antioxidantes, antifúngicas (Smith, 2000), além de atividades antibacterianas e antivirulentas (Bindu, Mishra, Narayan, 2015). O esqualeno exerce ainda, um papel fundamental como adjuvante em vacinas contra a influenza sazonal, e mais recentemente, em vacinas contra a COVID-19 (Tateno *et al.* 2020).

Atualmente, na indústria cosmética, o esqualeno é amplamente utilizado em várias formulações, tais como hidratantes, cremes faciais e cremes anti-envelhecimento. A sua inclusão em uma variedade tão extensa de produtos se justifica pelas suas propriedades benéficas, tais como anti-inflamatórias, desintoxicantes, hidratantes e antioxidantes (Yarkent, Oncel, 2022).

A extração de esqualeno a partir de fontes animais ou vegetais apresenta certas limitações, visto que, de acordo com Patel e colaboradores (2022), “as fontes vegetais e animais requerem um longo ciclo de vida antes da colheita, podendo variar entre 6 meses a 1 ano, resultando em uma produtividade muito

baixa de esqualeno, além de desvantagens relacionadas à custos elevados e problemas ambientais, como a sobrepesca”.

O esqualeno derivado de tubarão tem atendido à demanda global por muitos anos, desde que foi inicialmente identificado. No entanto, a pesca intensiva teve um impacto devastador nos ecossistemas marinhos e ameaçou seriamente as populações de tubarões, os quais são a fonte primária de esqualeno (Mendes, Azevedo-Silva, Fernandes, 2022).

Estima-se que o mercado de Esqualeno cresça de 152.29 milhões de dólares em 2022 para 210.72 milhões de dólares em 2028, com uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 5.96% durante o período de previsão (Mordor Intelligence, 2023). A figura 1 ilustra melhor este mercado de esqualeno.

Figura 1: Resumo do mercado de esqualeno



Fonte: Adaptado de Mordor Intelligence (2023).

O mercado global de esqualeno é consolidado na natureza, com os principais participantes detendo uma participação de mercado substancial. Algumas das principais empresas do mercado incluem Amyris, Inc., Kishimoto Special Liver Oil Co., Ltd., Sophim, Nucelis, e Oleicfat S.L., entre outras (Mordor Intelligence, 2023).

Devido à crescente demanda por esqualeno e ao aumento de seus custos devido à escassez e preocupações ambientais, é imprescindível explorar alternativas para esse composto. Nesse contexto, a produção de esqualeno por meio de microrganismos tem se destacado como uma alternativa extremamente

atrativa, substituindo o método tradicional de obtenção do esqualeno a partir de fontes naturais (Wei *et al*, 2018).

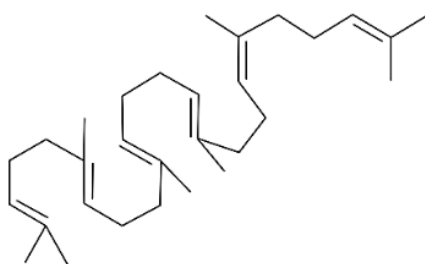
Levando em consideração as preocupações ambientais decorrentes da pesca inadequada e a demanda por esqualeno, o propósito deste trabalho é investigar estudos voltados a produção de esqualeno por outras fontes alternativas, levando em consideração o impacto ambiental, além de mostrar suas aplicações na indústria.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ESTRUTURA E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO ESQUALENO

O esqualeno, conhecido como 2,6,10,15,19,23-hexametil-6,6,10,14,18,20-tetracosano, é um hidrocarboneto formado por seis unidades de isopreno, conforme mostrado na Figura 2. Quando as unidades são montadas, elas formam um triterpeno que confere o caráter lipídico, e as seis ligações duplas de carbono (CC) permitem que a molécula seja um dos lipídios mais insaturados e sensível à oxidação (Lozano-Grande *et al*, 2018).

Figura 2: Estrutura química trigonal plana do esqualeno



Fonte: Lozano-Grande *et al* (2018)

O esqualeno é um composto branco vítreo, praticamente insolúvel em água, levemente solúvel em álcool e ácido acético glacial, mas facilmente solúvel em solventes apolares. Possui baixa viscosidade, sabor suave e agradável, além de quase nenhum odor perceptível (Sumi *et al*, 2018). O esqualeno é fisicamente um óleo transparente, com peso molecular de 410,7 g/mol e densidade de 0,858 g/ml e apresenta uma temperatura de fusão de -20°C (Popa *et al*. 2015).

O esqualeno possui baixa estabilidade devido à sua estrutura insaturada, é sensível a oxidação, uma vez que é exposto ao oxigênio do ar, resultando na redução de suas propriedades biológicas. As ligações duplas passam para a forma oxidada por reações em cadeia, onde os carbonos insaturados se unem aos íons produzindo formas saturadas da molécula (Lozano-Grande *et al*, 2018).

A atividade antioxidante do esqualeno está relacionada à sua capacidade de absorver oxigênio singlete durante reações de auto-hidrólise, onde ocorre a quebra de moléculas de água, e na formação de produtos oxidados. Quando aplicado na pele, o esqualeno absorve uma quantidade significativa de oxigênio, auxiliando na prevenção de microorganismos e inibindo a ação de enzimas que levam a problemas cutâneos, como acne e rugas (Lozano-Grande *et al*, 2018).

Os principais fatores que desencadeiam o processo de oxidação incluem temperatura, presença de metais, exposição à água, contato com oxigênio e exposição à luz. (Sumi *et al*, 2018). Esses aspectos são relevantes para compreender a limitação da aplicação do esqualeno, em especial nas formulações dermocosméticas, uma vez que a pele mantém contato direto com o ar, o que propicia a peroxidação da molécula.

Foi cientificamente demonstrado que o esqualeno possui propriedades de radioproteção e cardioproteção. Adicionalmente, o esqualeno contribui para a redução dos níveis de colesterol no sangue e aprimora tanto as funções imunológicas celulares quanto as não específicas (Rosales-García, Jimenez-Martinez, Dávila-Ortiz, 2017).

2.2 APLICAÇÕES DO ESQUALENO NA INDÚSTRIA

2.2.1 Uso em formulações cosméticas

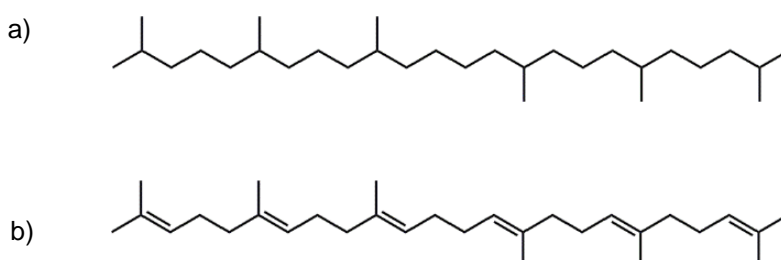
O esqualeno, devido à sua compatibilidade com a pele, é um componente-chave em formulações de produtos cosméticos, oferecendo benefícios como hidratação, reparação de danos e revitalização da pele envelhecida. Suas propriedades, como inodora, cor clara e textura leve, juntamente com suas propriedades antibacterianas, o tornam um excelente protetor da pele usado no tratamento de eczemas, cabelos danificados e no combate ao envelhecimento e rugas (Popa *et al.*, 2014).

O esqualeno é facilmente absorvido pela pele e atua como regulador da flexibilidade e elasticidade cutânea, sem deixar resíduos oleosos. Devido às suas propriedades emolientes, melhora a hidratação da pele por meio de oclusões na sua superfície, conservando a umidade no estrato córneo (Kim, Karadeniz, 2012). Entretanto, é importante destacar que o esqualeno possui uma estrutura insaturada que o torna propenso à instabilidade, o que pode resultar na sua peroxidação quando exposto ao oxigênio do ar, limitando sua aplicação em dermocosméticos (Sumi *et al.* 2018).

Em particular na indústria cosmética, o esqualano, que é um derivado saturado do esqualeno, tem se destacado como uma excelente escolha para formulações dermocosméticas, pois, diferentemente do esqualeno, o esqualano demonstra resistência à peroxidação, mantendo sua estabilidade quando exposto a radicais peróxidos, proporcionando um efeito protetor à pele (Popa *et al.*, 2015).

Quimicamente, o esqualano é obtido a partir dos carbonos insaturados do esqualeno, em que quimicamente, os carbonos se unem aos íons de hidrogênio da molécula de água, liberando 3 moléculas de oxigênio não ligadas ($C_{30}H_{50} + 6 H_2O \rightarrow C_{30}H_{62} + 3 O_2$), processo conhecido como hidrogenação catalítica, dando origem ao esqualano (Popa *et al.*, 2014). Esta reação química resulta em uma molécula mais estável e versátil (Ciriminna *et al.*, 2014). A Figura 3 ilustra a estrutura do esqualano ($C_{30}H_{62}$), em comparação com o esqualeno.

Figura 3: Estruturas do a) Esqualano e b) Esqualeno



Fonte: (Ciriminna *et al.*, 2014).

É importante ressaltar que a pele naturalmente produz o esqualeno, de forma endógena, especificamente nas glândulas sebáceas, e são excretados pelo folículo sebáceo. Contudo, essa produção diminui drasticamente com o

avanço da idade. As células sofrem estresse oxidativo em decorrência da presença de radicais livres nos tecidos. No caso de agentes redutores (antioxidantes) como o esqualeno auxiliam na redução do estresse oxidativo nos tecidos (Yarkent, Oncel, 2022).

Grandes marcas de cosméticos o incorporam tanto o esqualano como o esqualeno em produtos de cuidados diários, como soros, óleos hidratantes e condicionadores de cabelo (Mendes, Azevedo-Silva, Fernandes, 2022). O Quadro 1 mostra as empresas que atualmente utilizam esqualeno/esqualano em seus produtos de cuidados com a pele (Yarkent, Oncel, 2022).

Quadro 1: Empresas que incluem esqualeno/esqualano em seus produtos cosméticos e seus produtos

Empresa	Produto
Biossance (Amyris Inc.)	Esqualano + Sérum Noite Anti-manchas com Ácido Láctico (30 ml) Esqualano + Sérum Vitamina C para Manchas (30 ml) Esqualano + Óleo de Rosa com Vitamina C (30 ml) Esqualano + Creme de Olhos Algas Marinhas (15 ml) Esqualano + Creme Reparador Ômega (50 ml) Esqualano + Gel Hidratante Probiótico (50 ml) Esqualano + Sérum Fito-Reacional (30 ml) Esqualano + Gel de Olhos com Péptidos (15 ml) Esqualano + Zinc Sheer Mineral Sunscreen (100 ml) Esqualano + Lip Balm vegano rosa (15 g)
Omega Skin Lab	Retinoide granulado 1,5 em Sérum de Esqualeno (30 mL) Sérum Retinol 0,2 em Esqualeno (30 mL) Sérum Retinol 0,5 em Esqualeno (30 mL) Sérum Retinol 0,2 em Esqualeno (30 mL) Gel de Limpeza Esqualeno (200 ml)
The Ordinary (Deciem Beaty Group Inc.)	Retinol 0,5% em Esqualano (30 ml) %100 de esqualano derivado de plantas (30 ml)
Jevenile Cosmetic	Retinol em Esqualeno %1 + Ácido Hialurônico %1.5 + Pantenol %3 Cilt Sérum (30 mL)

Fonte: Yarkent, Oncel (2022).

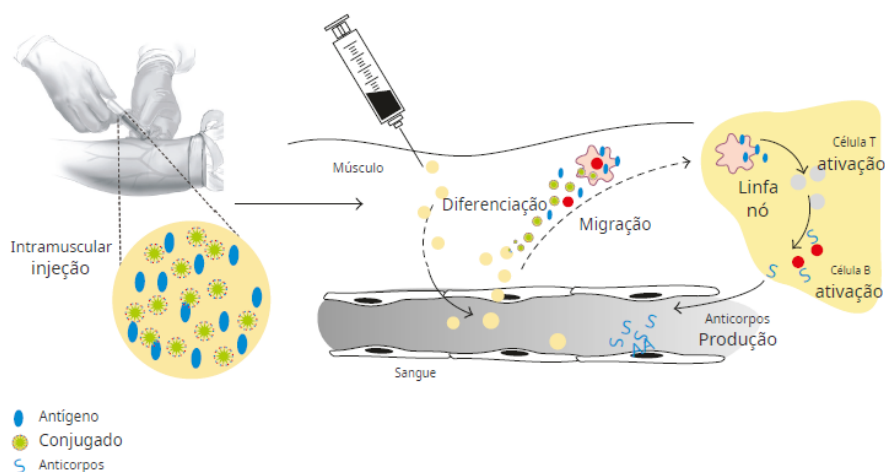
2.2.2 Uso como adjuvantes de vacinas

O esqualeno, devido à sua natureza lipídica, é frequentemente empregado na indústria farmacêutica como uma escolha segura para sua

inclusão em preparação de emulsões estáveis como adjuvante na administração de vacinas, onde atua estimulando a resposta imunológica e aumentando a resposta do paciente à vacina (Popa *et al*, 2014).

Ainda não se compreende completamente o mecanismo exato de sua resposta imune, porém, os estudos recentes indicam que, após administração muscular, conforme mostra a figura 4, o esqualeno, age sobre as células fagocíticas intensificando a resposta imunológica, ao recrutá-las para o local de aplicação do imunizante, facilitando o transporte eficaz do antígeno para os gânglios linfáticos (Lozano-Grande *et al*, 2018).

Figura 4: Mecanismo de resposta imune no corpo humano da vacina de esqualeno.



Fonte: Lozano-Grande *et al*. (2018).

Várias patentes revelaram que ao adicionar diferentes adjuvantes às formulações de vacinas, elas tornam-se mais eficazes na indução de títulos elevados de anticorpos (Popa *et al*, 2014). O adjuvante mais utilizado atualmente, composto por esqualeno é o MF59, uma emulsão do tipo óleo em água (o/a), pertencente à Novartis, é amplamente utilizado como adjuvante em vacinas contra a influenza, além de atuar na resposta imunológica contra diferentes cepas do vírus e de outras vacinas (Lozano-Grande *et al*, 2018).

Os adjuvantes AS03 e AF03, contém gotículas de esqualeno, estabilizadas por surfactantes não iônicos, e também são utilizados em vacinas contra a influenza pandêmica A (H1N1). O adjuvante AS03, pertencente a GSK (Glaxo Smith Kline), é similar ao MF59, e além do esqualeno e do Tween 80 na

sua composição, contém o α -tocoferol (Vitamina E) como potenciador da resposta imunológica. Atualmente é usado para várias vacinas de proteína recombinante contra a COVID-19 (Mendes, Azevedo-Silva, Fernandes, 2022).

O adjuvante AF03, desenvolvido pela Sanofi Pasteur, é uma emulsão que inclui esqualeno, éter cetosteárico de polioxietileno, manitol e oleato de sorbitano. Até então, evidências sugerem que o AF03 aumenta a resposta imune de IL-5 e IFN- γ em camundongos, bem como a produção de anticorpos neutralizantes do vírus influenza em animais vacinados com AF03 (Klucker *et al*, 2012).

Todos os três são aprovados para uso em vacinas contra influenza sazonal e pandêmica, conforme mostra no Quadro 2, que reúne informações como composição e possíveis mecanismos de ação para os três adjuvantes.

Quadro 2: Composição de adjuvantes à base de esqualeno e possíveis mecanismos de ação.

Adjuvante	Composição	Empresa	Vacinas	Mecanismo de ação
MF59	Esqualeno Tween 80 Span85	Novartis	Gripe H1N1 Gripe sazonal	Aumento transitório de citocinas locais quimiocinas Ativação da imunidade inata Ativação de células T CD4+ Recrutamento celular (neutrófilos, eosinófilos e monócitos) Aumentar os títulos de anticorpos em neutrófilos
AS03	Esqualeno Tween 80 α -tocoferol	GSK	Gripe H1N1	Ativação direta de TLRs Aumento transitório nas citocinas locais quimiocinas Aumentar títulos de anticorpos em monócitos em dLNs
AF03	Esqualeno Polioxietileno Éter cetosteárico Manitol Oleato de sorbitano	Sanofi Pasteur	Gripe H1N1	Recrutamento celular para o local da injeção Resposta imune mediada por IFN- γ e IL-5

Fonte: Adaptação de Mendes, Azevedo-Silva, Fernandes (2022)

Dado que os adjuvantes à base de esqualeno possuem composições semelhantes, é amplamente aceito que tanto o AS03 quanto o AF03 seguem um mecanismo de ação semelhante ao do MF59 (Mendes, Azevedo-Silva, Fernandes, 2022).

Por fim, o quadro 3 lista as empresas que utilizam esqualeno/esqualano como ingrediente ativo em seus produtos, bem como sua fonte de obtenção. Este quadro deixa claro que a procura por esqualano se concentra mais para o setor dermocosméticos, enquanto que esqualeno é uma excelente escolha como adjuvante em vacinas.

Quadro 3: Principais empresas que utilizam esqualeno/esqualano como ingrediente ativo em seus produtos

Empresa	Ingrediente ativo	Fonte	Produtos
Amyris Inc., EUA	Esqualano Esqualeno	Cana-de-açúcar	Produto para cuidados com a pele “Biossance” Adjuvante para vacinas contra a COVID
Sophim, França	Esqualeno Esqualano	Óleo de fígado de tubarão Azeite de oliva	Produto para cuidados com a pele: “Phytosqualane” Sulfactante de vacinas “Squapure”
Kishimoto Special Liver Oil Co. Ltda., Japão	Esqualeno Esqualano	Óleo de fígado de tubarão	Óleo de abacate Esqualano vegetal
Nucelis LLC, EUA	Esqualano	Levedura mutante	Óleo de Yarrowia Farinha de Yarrowia

Fonte: Adaptação de Yarkent, Oncel, 2022.

2.3 FONTES DE OBTENÇÃO DE ESQUALENO

O esqualeno é um componente encontrado em todos os óleos vegetais, porém, em pequenas quantidades. Entre essas fontes, as azeitonas são amplamente reconhecidas como uma rica fonte de esqualeno. A concentração de esqualeno nas azeitonas varia com a maturação da fruta, atingindo o pico no outono. Particularmente, o azeite de oliva desodorizado contém aproximadamente 28% de esqualeno (Rosales-García, Jimenez-Martinez, Dávila-Ortiz, 2017).

Além do azeite de oliva, outras fontes vegetais como óleo de amaranto, óleo de soja, semente de uva, palma, gérmen de trigo, amendoim e farelo de arroz, bem como sementes como girassol, gergelim, abóbora e linhaça, também mostraram ser promissoras fontes de esqualeno (Patel *et al.* 2022).

Uma outra alternativa para substituir o esqualeno obtido de tubarões é proposta pela empresa americana de biotecnologia Amyris, que sugere sua produção a partir da cana-de-açúcar. Na região sudeste do Brasil, a empresa

cultiva extensas áreas de cana-de-açúcar, com características semelhantes ao bambu, visando o processamento para obtenção de esqualeno. Apenas 24 hectares de cana-de-açúcar poderiam, em princípio, gerar a quantidade necessária de esqualeno para sustentar um bilhão de vacinas contra a COVID-19.

2.4 IMPACTO AMBIENTAL NO USO DE ESQUALENO

A extração de esqualeno dos fígados de tubarão é uma prática cruel, comparável ao descarte de barbatanas, e coloca em risco a população de tubarões devido à sua vulnerabilidade à superexploração. Os tubarões, como predadores de topo, desempenham um papel vital nos ecossistemas marinhos, sendo agora classificados como espécies vulneráveis à extinção (Macdonald, Soll, 2020). E de acordo com a Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO), mais de 25% das espécies de tubarões estão sendo exploradas excessivamente devido a motivos econômicos (QUEIROZ *et al.* 2019).

O fígado dos tubarões é rico em óleos que o tornam menos denso que a água, permitindo-lhes manter uma flutuabilidade neutra sem gastar uma grande quantidade de energia. Dependendo da espécie, o fígado de um tubarão pode representar até 20% do seu peso corporal total. Os tubarões enfrentam o risco de extinção devido à necessidade de retirar anualmente 2,7 milhões de fígados para satisfazer a demanda da indústria cosmética por esqualeno (Patel *et al.*, 2022).

Apesar do óleo de fígado de tubarão ser a fonte natural mais comum de esqualeno, seu uso pode ser prejudicado devido à provável contaminação por poluentes orgânicos persistentes (POPs) no mar, como PCB, PBDE, pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, dioxinas e metais pesados (Popa *et al.*, 2015).

As mudanças nas condições ambientais, como temperatura da água e disponibilidade de presas, podem influenciar a dieta dos tubarões e, por conseguinte, a composição de seus fígados. Variações sazonais nessas condições podem afetar a quantidade e o tipo de gordura armazenada no fígado (Yarkent, Oncel, 2022).

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar e identificar estudos voltados a pesquisa por fontes alternativas de esqualeno atualmente disponíveis, com ênfase no seu emprego nas indústrias farmacêutica e cosmética.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar estratégias biotecnológicas utilizadas para a produção de esqualeno e os desafios associados;
- Analisar as vantagens da escolha de processos biotecnológicos;
- Resumir o estado atual da pesquisa sobre fontes sustentáveis de esqualeno e identificar tendências e desenvolvimentos recentes nesse campo.

4. METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

Para a elaboração deste trabalho, optou-se por uma abordagem exploratória, realizando uma revisão bibliográfica, que conforme descrito por Gil (2008, p.50), trata-se de uma análise de um material previamente elaborado, composto por obras literárias e artigos científicos. De acordo com essa abordagem e seguindo as orientações delineadas, foram implementadas as seguintes etapas, visando aprimorar a estruturação da pesquisa.

4.1.1 Etapa I: Consulta das fontes nas bases de dados

Para realizar esta revisão bibliográfica, foram consultadas bases de dados científicas como PubMed, ScienceDirect e Scielo, além de ferramentas de busca online como o Google Acadêmico, com o intuito de identificar artigos científicos relacionados ao tema abordado.

A pesquisa teve como base, artigos apenas em língua inglesa, visto que não foram encontrados artigos na língua portuguesa, e selecionadas as seguintes palavras-chave: " Squalene"; "Alternative sources"; "Biotechnology"; "Industry".

4.1.2 Etapa II: Critérios de inclusão e exclusão

Para a seleção dos artigos, foram considerados aqueles trabalhos que abordaram o tema do esqualeno sob perspectivas químicas, biológicas, farmacêuticas, cosméticas, questões ambientais, fontes alternativas e possíveis estudos voltados à biotecnologia. A análise englobou publicações dos últimos 10 anos, de 2013 a 2023. E como critérios de exclusão, foram excluídos artigos fora da faixa de estudo, ou seja, aqueles com mais de 10 anos de publicação, além de artigos repetidos no mesmo ano de publicação e fora da temática estabelecida.

4.1.3 Etapa III: Coleta de dados e análise das fontes

A coleta de dados foi conduzida primeiramente por uma leitura exploratória de todo o material selecionado, a considerar os seguintes parâmetros:

- Se o tema abordado no estudo está relacionado ao tema da pesquisa em questão;
- Se os objetivos do estudo são compatíveis com os objetivos da pesquisa em andamento;
- Se a metodologia empregada no estudo é adequada para responder às perguntas de pesquisa ou alcançar os objetivos estabelecidos;
- Se os resultados e conclusões do estudo são pertinentes e podem contribuir para a pesquisa em andamento;
- Se o estudo é recente e reflete as informações mais atualizadas disponíveis sobre o tema;
- Verificar a credibilidade da fonte do estudo e avaliar se é de uma fonte confiável e respeitável na área de estudo;
- Verificar se o estudo fornece informações que podem ajudar a responder diretamente às perguntas de pesquisa.

4.1.4 Etapa IV: Organização e síntese

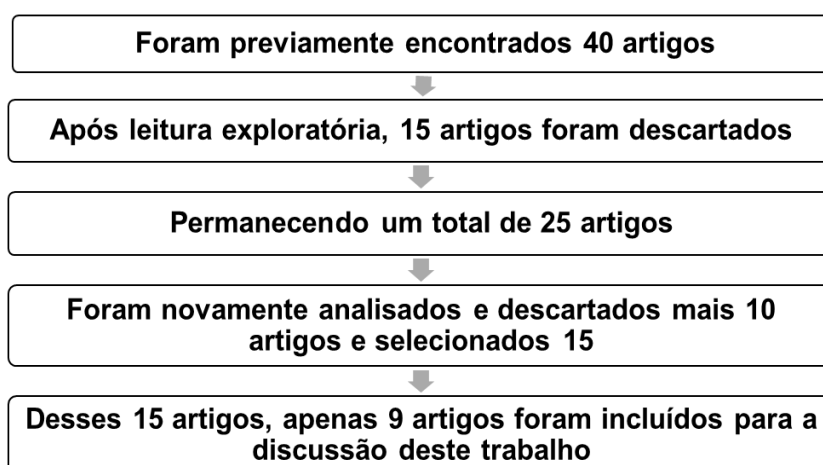
Nesta fase, conduziu-se uma análise cuidadosa com o intuito de organizar e resumir as informações presentes nos materiais encontrados, de modo a

permitir a obtenção de respostas para a questão de pesquisa. As informações obtidas foram organizadas em seguintes categorias:

- Propriedades do esqualeno: composição físico-química e vantagens para a saúde;
- Aplicações em indústrias: cosmética e farmacêutica;
- Fontes de obtenção de esqualeno: naturais e por processos biotecnológicos;
- Impacto ambiental e sustentabilidade.

Por fim, a síntese de cada categoria citada acima, foram examinadas, resultando na construção do embasamento teórico da revisão relacionado à temática abordada na pesquisa. A figura 5 apresenta um fluxograma ilustrando como foi realizada a metodologia adotada na condução da pesquisa.

Figura 5. Fluxograma



Fonte: O próprio autor (2023).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos após seleção dos artigos podem ser analisados de acordo com o quadro 4, o qual contém informações como título do artigo, autores, ano de publicação, metodologia e os resultados e conclusões alcançadas em cada estudo. Para a elaboração dos resultados, foram selecionados apenas 9 artigos, sendo 5 encontrados no Pubmed, 1 no Sciencedirect e 3 nas bases de pesquisa Google acadêmico. É importante destacar que não foram encontrados artigos encontrados na base de dados Scielo especificamente para esta discussão, no entanto, foram encontrados artigos que foram úteis para complementar o referencial teórico.

Quadro 4: Resumo contendo informações de cada estudo usado

	Base de dados	Título	Autor e ano	Metodologia	Resultados e conclusões
1	GOOGLE ACADÊMICO	Squalane from sugarcane T: Esqualano da cana-de-açúcar	Mcphee, D. <i>et al.</i> 2014	O β -farneseno, precursor biossintético, é produzido industrialmente por fermentação com a levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . A levedura é removida e ocorre um acoplamento químico que imita processos naturais, evitando a necessidade de isolar o esqualeno da biomassa.	O processo de fabricação de esqualano é renovável e certificado como 100% de base biológica pelo USDA e Ecocert. É robusto, assegurando produção consistente e sustentável, eliminando a necessidade de isolar o esqualano da biomassa. Essa abordagem eficaz e eficiente atende às demandas comerciais de esqualano de alta qualidade de forma sustentável.
2	GOOGLE ACADÊMICO	TLC screening of thraustochytrid strains for squalene production. T: Triagem CCD de cepas de traustochitrídeos para produção de esqualeno.	Nakazawa, A. <i>et al.</i> 2014	Foram triadas 176 cepas de traustochitrídeos asiáticos para identificar cepas com alta produção de esqualeno. A triagem inicial foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), classificando as cepas como "alta", "média" ou "baixa".	Os traustochitrídeos mostraram uma clara tendência de produção de esqualeno associada à localidade; Observou-se uma relação entre a síntese metabólica de pigmentos carotenoides e a produção de esqualeno; Sugere-se que o clado <i>Aurantiochytrium</i> pode ter evoluído para acumular esqualeno. Esses resultados destacam a influência da localidade, pigmentação e evolução nos níveis de produção de esqualeno em traustochitrídeos.

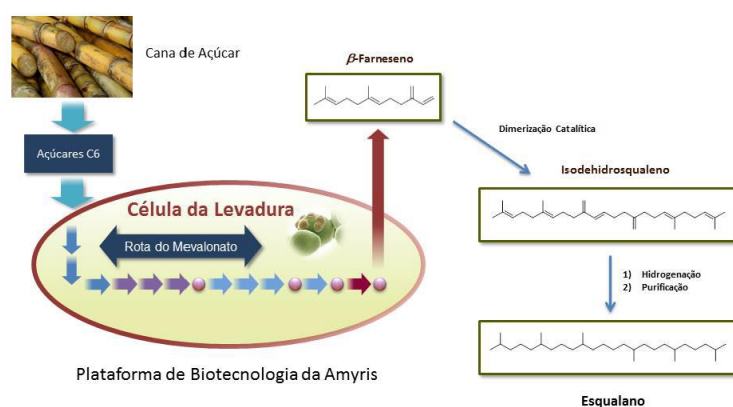
3	PUBMED	Production of squalene by lactose-fermenting yeast <i>Kluyveromyces lactis</i> with reduced squalene epoxidase activity. T: Produção de esqualeno por uma levedura fermentadora de lactose <i>Kluyveromyces lactis</i> com atividade reduzida da esqualeno epoxidase	Drozdikova, E. <i>et al.</i> 2015	Realizou-se uma inibição parcial da atividade da esqualeno epoxidase por meio da aplicação do antimicótico terbinafina. Este estudo concentrou-se na análise dos efeitos das concentrações subinibitórias de terbinafina no padrão lipídico neutro, nos níveis de lipídios não saponificáveis (esteróis e esqualeno) e no desenvolvimento de LDs (gotículas lipídicas) como organelas de armazenamento de esqualeno.	Os resultados demonstram que é possível induzir altos níveis de esqualeno em <i>Kluyveromyces lactis</i> ao modificar a atividade da esqualeno epoxidase, tanto em meio de glicose quanto de lactose. Destaca-se especialmente o acúmulo de esqualeno em meio de lactose, indicando que <i>Kluyveromyces lactis</i> apresenta-se como um organismo altamente promissor para a redução dos custos de produção fermentativa de esqualeno.
4	PUBMED	High-level recombinant production of squalene using selected <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains. T: Produção recombinante de esqualeno de alto nível utilizando cepas selecionadas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Han, JY. <i>et al.</i> 2018	Investigação de cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> consideradas seguras para a produção recombinante de esqualeno, um composto triterpenoide com crescentes aplicações industriais; Superexpressão de genes relevantes para a biossíntese de isoprenoides nas cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para avaliar sua influência na produtividade de esqualeno.	A produção de esqualeno variou entre cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> após a superexpressão de genes de biossíntese de isoprenoides. A cepa Y2805, superexpressando genes específicos, atingiu alta produção de esqualeno (400 ± 45 mg/L). A inibição parcial da esqualeno epoxidase pela terbinafina aumentou ainda mais a produção (1,9 vezes, 756 ± 36 mg/L). Em fermentações de lote de 5 litros, a cepa Y2805 mostrou potencial como fonte alternativa de esqualeno.
5	PUBMED	Improved squalene production through increasing lipid contents in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . T: Produção aprimorada de esqualeno por meio do aumento do conteúdo de lipídios em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Wei, LJ. <i>et al.</i> 2018	Foram introduzidas perturbações genéticas conhecidas por aumentar o conteúdo lipídico na levedura. A superexpressão da diacilglicerol aciltransferase (DGA1) foi realizada para aprimorar a biossíntese lipídica; Para evitar a degradação do esqualeno, foram realizadas modificações na via de β-oxidação lipídica, deletando as codificações da acetil-CoA oxidase (POX1 e PXA2) e uma subunidade do transportador ABC peroxissomal.	A superexpressão simultânea de tHMG1 e DGA1 resultou em um aumento de 250 vezes na produção de esqualeno em comparação com a cepa de controle. A exclusão de POX1 e PXA2 não contribuiu para um acúmulo adicional de esqualeno. Em fermentação em lote alimentado, a cepa co-superexpressa atingiu um título de 445,6 mg/L de esqualeno em meio limitado de nitrogênio. O estudo destaca a eficácia de aumentar o conteúdo lipídico para produção excessiva de esqualeno na levedura.
6	PUBMED	<i>Rhodospiridium sp.</i> DR37: a novel strain for production of squalene in optimized cultivation conditions. T: <i>Rhodospiridium sp.</i> DR37: uma nova cepa para a produção de	Shakerl, S.; Khoshbasirat, F.; Maleki, M. 2021	O microorganismo <i>Rhodospiridium sp.</i> DR37 foi isolado do mangue e avaliado quanto ao potencial de produção de esqualeno em diferentes condições de cultivo. Inicialmente, foi cultivado em meio YEPD modificado, resultando em 64 mg/L de esqualeno (13,9% do lipídio total). Posteriormente, o cultivo em meio otimizado levou	A otimização do meio de cultivo teve um impacto significativo no acúmulo de esqualeno pelo <i>Rhodospiridium sp.</i> DR37. O uso do meio otimizado resultou em produção e conteúdo de esqualeno consideravelmente mais altos do que no meio YEPD modificado. <i>Rhodospiridium sp.</i> DR37 demonstrou potencial promissor para a produção de esqualeno em condições ideais de cultivo, indicando implicações importantes para aplicações industriais. Este é o

		esqualeno em condições de cultivo otimizadas.		ao maior acúmulo de esqualeno, alcançando 619 mg/L (21,6% do lipídio total).	primeiro estudo a utilizar <i>Rhodospiridium sp.</i> DR37, um oleaginoso marinho, para acumular esqualeno em meio otimizado.
7	SCIENCEDIRECT	Metabolic engineering of <i>Yarrowia lipolytica</i> for improving squalene production T: Engenharia metabólica da <i>Yarrowia lipolytica</i> para melhorar a produção de esqualeno	Tang, WY. <i>et al.</i> 2021	Este estudo apresentou quatro etapas na produção de esqualeno em <i>Yarrowia lipolytica</i> : Superexpressão de HMG1: 208,88 mg/L de esqualeno; Co-superexpressão de HMG1 e DGA1: 439,14 mg/L de esqualeno; Otimização do meio de fermentação: 514,34 mg/L de esqualeno, e por fim; Otimização das adições de acetato, citrato e terbinafina: 731,18 mg/L de esqualeno.	A superexpressão de HMG1 mostrou eficácia na melhoria da produção de esqualeno. A co-superexpressão de DGA1 ampliou ainda mais a produção. A otimização do meio de fermentação, resultou em significativo aumento da produção. A otimização das concentrações de acetato, citrato e terbinafina levou ao mais alto título de esqualeno já alcançado em <i>Y. lipolytica</i> . Esses progressos estabelecem uma base sólida para futuras pesquisas visando a produção econômica de esqualeno por meio de engenharia genética nessa espécie.
8	PUBMED	Recent progress in microalgal squalene production and its cosmetic application. T: Progressos recentes na produção de esqualeno de microalgas e sua aplicação cosmética	Yarkent, Ç.; Oncel, S. S. 2022	Revisão	Este estudo mostrou que o uso de microalgas são boas candidatas como produtoras de esqualeno, com fácil potencial de cultivo. Onde a biomassa das microalgas, após a extração do esqualeno, pode ser usada como matéria-prima em abordagens de biorrefinaria, promovendo o uso sustentável dos recursos.
9	GOOGLE ACADEÊMICO	Enhancing Squalene Production in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by Metabolic Engineering and Random Mutagenesis T: Aumentando a produção de esqualeno em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> por engenharia metabólica e mutagênese aleatória.	Xia, L. <i>et al.</i> 2022	Integração de tHMG1 e IDI1 no sítio de múltiplas cópias para aprimorar a via do mevalonato (MVA); Introdução de genes da <i>Yarrowia lipolytica</i> , responsável pela citrato liase, para otimização da via de β -oxidação, com múltiplas cópias dos principais genes; Estabelecimento de uma estratégia de triagem baseada na coloração com vermelho nilo para identificar altos produtores de esqualeno.	Após aplicação de mutagênese, obteve-se um mutante com aumento de 18,4% na produção de esqualeno; Uma fermentação em dois estágios desse mutante em um biorreator de 5 L resultou na produção de 8,2 g/L de esqualeno. As descobertas apresentam potencial para facilitar o desenvolvimento da produção industrial de esqualeno por fermentação e, possivelmente, de outros terpenoides.

A demanda crescente por esqualeno na indústria, seja para aplicação em cosméticos ou como adjuvante em vacinas, tem impulsionado a busca por fontes sustentáveis e eficientes de produção. Neste contexto, os avanços da biotecnologia têm se destacado, proporcionando uma abordagem promissora para a produção de esqualeno. Este estudo apresenta uma análise dos resultados obtidos através de processos biotecnológicos, explorando as fontes encontradas e os benefícios que essa abordagem oferece em termos de sustentabilidade e eficácia na produção de esqualeno.

Conforme descrito por Mcphee *et al.* (2014), A Amyris desenvolveu uma maneira inovadora de produzir esqualano em grande escala a partir da fermentação de açúcares presentes na cana de açúcar. A empresa supracitada emprega no processo fermentativo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada, visando obter β -farneseno. A levedura é então completamente removida, seguido por um processo químico simples que imita a forma natural de como é feito de esqualeno na natureza. Dessa forma, associando esse processo inovador a tecnologias existentes de hidrogenação e de purificação, é possível então obter-se o esqualano de alta pureza, conforme demonstrado na Figura 6. O estudo destaca portanto, que a metodologia desenvolvida pela empresa Amyris, apresenta vantagens significativas. E a eliminação da etapa de purificação, por meio de um acoplamento químico que imita processos naturais, simplifica a fabricação do esqualano, tornando o processo renovável, 100% de base biológica e aprovado por órgãos reguladores.

Figura 6: Biotecnologia utilizada para produção de esqualano a partir da cana de açúcar.



Fonte: Mcphee *et al.* (2018).

Essa abordagem aborda e supera desafios associados à purificação, garantindo reprodutibilidade e uma produção sustentável e consistente. Portanto, conclui-se que essa técnica não apenas atende às demandas comerciais por esqualano de alta qualidade, mas também destaca-se como uma solução sustentável e eficaz para a produção desse componente essencial nas indústrias farmacêutica e cosmética.

Em sua busca por condições ideais, Nakazawa *et al.* (2014), conduziram um estudo abrangente que incluiu o isolamento de cepas de traustocitrídeos. Esses microorganismos, que são protistas ou microalgas heterotróficas, são habitantes do ecossistema de mangues e águas costeiras oceânicas. O estudo teve como objetivo realizar uma triagem em busca de cepas que apresentassem uma alta capacidade de produção de esqualeno. No total, 176 cepas foram isoladas e submetidas a análises para avaliar sua aptidão para a produção de esqualeno. O presente artigo teve como propósito destacar quais espécies e cepas de traustocitrídeos têm a capacidade de acumular níveis significativamente elevados de esqualeno. Embora fontes vegetais e microbianas de esqualeno tenham sido exploradas extensivamente, o baixo teor de esqualeno nesses organismos tem limitado seu uso como fonte viável para produção em larga escala.

Drozdiková *et al.* (2015) optaram por usar a levedura *Kluyveromyces lactis*, devido aos custos significativos do processo de fermentação. Esta levedura pode fermentar lactose do soro de leite, um subproduto da indústria de laticínios. O estudo visava avaliar o potencial de *K. lactis* na produção biotecnológica de esqualeno. Os resultados revelaram que níveis substanciais de esqualeno puderam ser induzidos em *K. lactis* através da modificação da atividade da enzima esqualeno epoxidase, tanto em meios contendo glicose quanto lactose. Os resultados indicam que esta levedura é capaz de acumular esqualeno em *K. lactis*, porém, não em grande quantidade, sendo necessário neste caso a manipulação de uma via metabólica específica para transformar esta levedura biotecnologicamente relevante em uma produtora de lipídios de alto valor, incluindo o esqualeno.

Uma pesquisa desenvolvida por Han *et al.* (2018), revelou que a produtividade de esqualeno em *Saccharomyces cerevisiae* é fortemente

influenciada pela superexpressão de genes relacionados à biossíntese de isoprenóides. A cepa Y2805 se destacou, alcançando altos níveis de produção de esqualeno. A inibição parcial da esqualeno epoxidase com o antifúngico terbinafina, resultou em um aumento adicional na produção de esqualeno. É importante destacar que o esqualeno é um composto precursor na síntese de lipídios da pele, incluindo os lipídios que compõem o sebo, portanto, quando a esqualeno epoxidase é inibida, a conversão do esqualeno em esqualeno epóxido é interrompida, e como resultado, o esqualeno se acumula nos tecidos. Em escala maior, fermentações descontínuas de 5 L também apresentaram resultados promissores. Esses achados indicam que a cepa Y2805 tem potencial como uma fonte alternativa de produção de esqualeno.

Com o objetivo de aumentar ainda mais a produção de esqualeno na levedura *Saccharomyces cerevisiae*, Wei *et al.* (2018), introduziram perturbações genéticas que melhoram sinergicamente a produção de esqualeno em *S. cerevisiae*, através da superexpressão do gene HMG1. Essas modificações são conhecidas por aumentar a quantidade de lipídios na levedura, o que, por sua vez, pode contribuir para um maior acúmulo de esqualeno, uma vez que o lipídio é um potencial reservatório desse composto. Especificamente, houve uma superexpressão de DGA1, que codifica a diacilglicerol aciltransferase, com o intuito de aprimorar a produção de esqualeno. O estudo demonstrou que aumentar a capacidade de armazenamento de compostos hidrofóbicos, por meio do aumento do conteúdo lipídico, pode ser uma estratégia eficaz para produzir em excesso uma molécula hidrofóbica, como o esqualeno, na levedura.

Em busca por estudos mais atuais, Shakerl, Khoshbasirat e Maleki (2021), identificaram uma cepa de levedura chamada de *Rhodospiridium sp.* Durante o estudo, essa cepa foi isolada e seu potencial para a produção de esqualeno foi investigado em diversas condições de cultivo. Os resultados obtidos apontaram que a otimização do meio de cultivo teve um impacto significativo no acúmulo de esqualeno pelo *Rhodospiridium sp.* DR37. Esses resultados têm implicações promissoras para aplicações industriais, pois sugerem que o *Rhodospiridium sp.* DR37 pode ser uma fonte viável para a produção de esqualeno. Portanto, a otimização das condições de cultivo representa uma estratégia valiosa para maximizar o rendimento de esqualeno, o que pode ser de grande relevância para a indústria.

Uma pesquisa realizada por Tang *et al.* (2021), visou aumentar a produção de esqualeno utilizando a levedura *Yarrowia lipolytica*, aplicando engenharia de vias e de bioprocessos. Eles começaram superexpressando HMG1, atingindo 208,88 mg/L de esqualeno. Posteriormente, a co-superexpressão DGA1 na cepa modificada aumentou a produção para 439,14 mg/L. O aprimoramento do meio de fermentação resultou em um rendimento de 514,34 mg/L, e a otimização do bioprocessamento de fermentação, incluindo meio de cultura, suplementação de acetato, citrato e terbinafina elevaram a produção para um notável 731,18 mg/L na cepa modificada. Esse estudo representa um avanço significativo na produção de esqualeno, estabelecendo uma base sólida para pesquisas futuras na engenharia de *Y. lipolytica*, visando à produção econômica de esqualeno.

De acordo com Yarkent e Oncel (2022), recentemente, as microalgas surgem como candidatas promissoras para a produção de esqualeno, oferecendo a vantagem de um cultivo relativamente simples. Além disso, o aproveitamento da biomassa de microalgas após a extração do esqualeno pode ser incorporado em estratégias de biorrefinaria. Ao optar por microalgas como fonte de esqualeno, é possível evitar a necessidade de caçar animais marinhos e, ao mesmo tempo, proteger a integridade da cadeia alimentar marinha. Isso contribui para a promoção de uma produção sustentável de esqualeno, com benefícios ambientais e econômicos significativos.

Pesquisas recentes realizadas por Xia *et al.* (2022), identificaram cepas seguras de *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de esqualeno. Ao superexpressar genes tHMG1, eles alcançaram uma produção de esqualeno de 400 ± 45 mg/L em frascos agitados. A inibição parcial da esqualeno epoxidase com terbinafina resultou em um aumento adicional, chegando a 756 ± 36 mg/L. Em fermentações de 5 litros, obtiveram 2011 ± 75 mg/L na presença de terbinafina e 1026 ± 37 mg/L na sua ausência, destacando o potencial da cepa Y2805 como fonte alternativa para a produção de esqualeno.

Na pesquisa envolvendo microrganismos geneticamente modificados para a produção de esqualeno, as leveduras destacam-se notavelmente em escala laboratorial. Isso ocorre devido à sua facilidade de manipulação genética, rápido crescimento e eficiência na produção de esqualeno. Ao considerar as estratégias biotecnológicas até aqui discutidas, é importante reconhecer que a

engenharia metabólica em leveduras oferece a capacidade de produzir esqualeno de forma mais eficiente. Levar em consideração questões econômicas também é um ponto importante, uma vez que o custo de produção de esqualeno por meio da engenharia metabólica é elevado, devido à pesquisa, desenvolvimento e otimização do processo. Além de ser um processo complexo e demorado, pois envolve a manipulação de múltiplos genes e vias metabólicas. E embora as leveduras se sobressaiam na produção de esqualeno em laboratório, a viabilidade econômica de expandir esse processo para uma escala industrial parece não apresentar vantagens evidentes.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após analisar e identificar estudos sobre fontes alternativas de esqualeno, com foco nas indústrias farmacêutica e cosmética, e investigar as estratégias biotecnológicas associadas à sua produção, juntamente com os desafios enfrentados, conclui-se que os processos biotecnológicos oferecem vantagens significativas. A escolha desses métodos não apenas responde aos desafios ambientais, mas também destaca-se por sua eficiência. Portanto, o panorama atual da pesquisa sobre fontes sustentáveis de esqualeno revela tendências promissoras e desenvolvimentos recentes, apontando para um futuro inovador e ecologicamente consciente neste campo.

REFERÊNCIAS

BINDU, B. S. C.; MISHRA, D. P.; NARAYAN, B. Inhibition of virulence of *Staphylococcus aureus*—a food borne pathogen—by squalene, a functional lipid. **Journal of functional foods**, v. 18, p. 224-234, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464615003667>. Acesso em: 23 de outubro de 2023.

CIRIMINNA, R. *et al.* Catalytic hydrogenation of squalene to squalane. **Organic Process Research & Development**, v. 18, n. 9, p. 1110-1115, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/op5002337>. Acesso em: 02 de outubro de 2023.

DROZDÍKOVÁ, E. *et al.* Production of squalene by lactose-fermenting yeast *Kluyveromyces lactis* with reduced squalene epoxidase activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 77-84, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/lambio/article-abstract/61/1/77/6699728?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.

GHIMIRE, G. P. *et al.* Advances in biochemistry and microbial production of squalene and its derivatives. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 441-451, 2016. Disponível em: <https://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1510.10039>. Acesso em: 05 de outubro de 2023.

GOHIL, N. *et al.* Engineering strategies in microorganisms for the enhanced production of squalene: advances, challenges and opportunities. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 7, p. 50, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00050/full>. Acesso em 10 de setembro de 2023.

GUNES, F. E. Medical Use of Squalene as a Natural Antioxidant. **Journal of Marmara University Institute of Health Sciences**, v. 3, n. 4, 2013. Disponível em: Visto em: 16 de setembro de 2023.

HAN, J. Y. *et al.* High-level recombinant production of squalene using selected *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 45, n. 4, p. 239-251, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/jimb/article/45/4/239/5996658>. Acesso em 09 de setembro de 2023.

HUANG, Z. R.; LIN, Y. K.; FANG, J. Y. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 540-554, 2009. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/14/1/540>. Acesso em: 15 de setembro de 2023.

KIM, S. K.; KARADENIZ, F. Biological importance and applications of squalene and squalane. **Advances in food and nutrition research**, v. 65, p. 223-233,

2012. Disponível em:
[https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124160033000147?](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124160033000147?via%3Dihub)
via%3Dihub. Acesso em: 20 de setembro de 2023.

KLUCKER, M. F. *et al.* AF03, an alternative squalene emulsion-based vaccine adjuvant prepared by a phase inversion temperature method. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 12, p. 4490-4500, 2012. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022354915312983>.
Visto em: 26 de setembro de 2023.

LOZANO-GRANDE, M. A. *et al.* Plant sources, extraction methods, and uses of squalene. **International journal of agronomy**, 2018. Disponível em:
<https://www.hindawi.com/journals/ija/2018/1829160/>. Acesso em 09 de setembro de 2023.

MACDONALD, C.; SOLL, J. Shark conservation risks associated with the use of shark liver oil in SARS-CoV-2 vaccine development. **BioRxiv**, 2020. Disponível em:
<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.10.14.338053v1.abstract>.
Acesso em: 17 de setembro de 2023.

MCPHEE, D. *et al.* Squalane from sugarcane. **Cosmetics & Toiletries magazine**, v. 129, n. 6, p. 1-6, 2014. Disponível em:
<https://cosmetotheque.com/wp-content/uploads/2020/07/Sugarcane-Squalane-Amyris.pdf>. Acesso em: 02 de outubro de 2023.

MCPHEE, D. *et al.* Ingrediente revigorado: Esqualano de alta qualidade, renovável, proveniente de cana de açúcar sustentável. **Cosmetic Innovation**. 2018. Disponível em: <https://cosmeticinnovation.com.br/ingrediente-revigorado-esqualano-de-alta-qualidade-renovavel-proveniente-de-cana-de-acucar-sustentavel/>. Acesso em: 26 de outubro de 2023.

MENDES, A.; AZEVEDO-SILVA, J.; FERNANDES, J. C. From sharks to yeasts: Squalene in the development of vaccine adjuvants. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 3, p. 265, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/3/265>. Acesso em: 15 de setembro de 2023.

MORDOR INTELLIGENCE RESEARCH & ADVISORY. Tamanho do mercado Esqualeno e Análise de participação - Tendências de crescimento e previsões (2023 - 2028). Mordor Intelligence. Retrieved November 8, 2023. Disponível em:
<https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/squalene-market>.
Acesso em: 21 de outubro de 2023.

NAKAZAWA, A. *et al.* TLC screening of thraustochytrid strains for squalene production. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 29-41, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-013-0080-x>. Acesso em: 05 de outubro de 2023.

NAZIRI, E.; MANTZOURIDOU, F.; TSIMIDOU, M. Z. Squalene resources and uses point to the potential of biotechnology. **Lipid Technology**, v. 23, n. 12, p. 270-273, 2011. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lite.201100157>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.

PARAMASIVAN, K.; MUTTURI, S. Recent advances in the microbial production of squalene. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 91, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-022-03273-w>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.

PATTANAIK, B. *et al.* Introduction of a green algal squalene synthase enhances squalene accumulation in a strain of *Synechocystis* sp. PCC 6803. **Metabolic engineering communications**, v. 10, p. e00125, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214030119300306>. Acesso em: 20 de setembro de 2023.

PATEL, A. *et al.* Microbial genetic engineering approach to replace shark livering for squalene. **Trends in Biotechnology**, 2022. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/biotechnology/fulltext/S0167-7799\(22\)00076-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0167779922000762%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/biotechnology/fulltext/S0167-7799(22)00076-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0167779922000762%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em 09 de setembro de 2023.

POPA, I. *et al.* Squalene – natural resources and applications. *Farmacia*, 2014, Vol. 62, 5. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Ovidiu-Popa-3/publication/285929410_Squalene-Natural_resources_and_applications/links/5737163d08aea45ee83daad8/Squalene-Natural-resources-and-applications.pdf. Acesso em: 15 de setembro de 2023.

POPA, O. *et al.* Methods for obtaining and determination of squalene from natural sources. **BioMed research international**, v. 2015, 2015. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/367202/>. Acesso em: 12 de setembro de 2023.

QUEIROZ, N. *et al.* Global spatial risk assessment of sharks under the footprint of fisheries. **Nature**, v. 572, n. 7770, p. 461-466, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-019-1444-4>. Acesso em: 23 de outubro de 2023.

REDDY, L. H.; COUVREUR, P. Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy. **Advanced drug delivery reviews**, v. 61, n. 15, p. 1412-1426, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X09002841>. Acesso em 09 de setembro de 2023.

ROSALES-GARCÍA, T.; JIMENEZ-MARTINEZ, C.; DÁVILA-ORTIZ, G. Squalene Extraction: Biological Sources and Extraction Methods. **Cancer cells**, v. 17, p. 18, 2017. Disponível em: <https://ijeab.com/detail/squalene-extraction-biological-sources-and-extraction-methods/>. Acesso em 09 de setembro de 2023.

SARKAR, I. *et al.* Selection of adjuvants for vaccines targeting specific pathogens. **Expert Review of Vaccines**, v. 18, n. 5, p. 505-521, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14760584.2019.1604231>. Visto em: 26 de setembro de 2023.

SHAKERI, S.; KHOSHBASIRAT, F.; MALEKI, M. Rhodosporidium sp. DR37: a novel strain for production of squalene in optimized cultivation conditions. **Biotechnology for Biofuels**, v. 14, p. 1-14, 2021. Disponível em: <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-021-01947-5>. Acesso em: 05 de outubro de 2023.

SMITH, T. J. Squalene: potential chemopreventive agent. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 9, n. 8, p. 1841-1848, 2000. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/13543784.9.8.1841>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.

SUMI, E. R. *et al.* Nutraceutical and therapeutic applications of squalene. 2018. Disponível em: <https://krishi.icar.gov.in/jspui/handle/123456789/20607>. Acesso em: 16 de setembro de 2023.

TANG, W. Y. *et al.* Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for improving squalene production. **Bioresource Technology**, v. 323, p. 124652, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085242031926X>. Acesso em: 05 de outubro de 2023.

TATENO, M. *et al.* Synthetic biology-derived triterpenes as efficacious immunomodulating adjuvants. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 17090, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-73868-6>. Acesso em 26 de setembro de 2023.

WEI, L. J. *et al.* Improved squalene production through increasing lipid contents in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and bioengineering**, v. 115, n. 7, p. 1793-1800, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bit.26595>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.

XIA, L. *et al.* Enhancing Squalene Production in *Saccharomyces cerevisiae* by Metabolic Engineering and Random Mutagenesis. **Frontiers in Chemical**, v. 3, p. 790261, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fceng.2021.790261/full>. Acesso em: 10 de outubro de 2023.

YARKENT, Ç.; ONCEL, S. S. Recent progress in microalgal squalene production and its cosmetic application. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 27, n. 3, p. 295-305, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12257-021-0355-z>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.