

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE *ARTHROSPIRA (SPIRULINA) PLATENSIS* PARA APLICAÇÃO COMO ATIVO EM COSMÉTICO ANTIACNE

Clarissa R. de Souza<sup>1,2</sup>; Marcos P. A. Campos<sup>1</sup>; Cláudia M. L. L. Teixeira<sup>2</sup>

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro – Campus Nilópolis, R. Lúcio Tavares, 1045 - Centro, Nilópolis - RJ.

2 Instituto Nacional de Tecnologia, Laboratório de Biotecnologia de Microalgas (LABIM), Av. Venezuela, 82 - Saúde, Rio de Janeiro - RJ.

**Palavras-Chave:** Cosmético antiacne, extrato antioxidante, microalga.

### Introdução

A cianobactéria *Arthrospira (Spirulina) platensis* destaca-se por possuir uma ampla variedade de compostos, oferecendo propriedades nutricionais, farmacológicas, entre outras (de Almeida *et al.*, 2023). Podem acumular cerca de 70% de proteínas em sua biomassa, sendo fonte de diversos aminoácidos, além de ácidos graxos essenciais e outros lipídeos, minerais, vitaminas e pigmentos como  $\beta$ -caroteno e ficobiliproteínas, despertando, assim, interesse para diversas aplicações em biorrefinaria (Araújo *et al.*, 2021; Barros, 2010).

A ficocianina, acessório fotossintético da cianobactéria, é o mais relevante para uso comercial. Na indústria, pode ser utilizada como corante natural em cosméticos, alimentos e tecidos. Além disso, pelo fato de possuir função terapêutica devido sua ação antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antitumoral, antidiabética, hepatoprotetora e neuroprotetora, é visada pela indústria farmacêutica (Athiyappan *et al.*, 2024; Capelli, Cysewski, 2010).

Substâncias extraídas de produtos naturais têm sido utilizadas na composição de cosmecêuticos. Setyaningsih *et al.* (2020) produziram máscaras faciais com ação antimicrobiana a partir do extrato etanólico da *Spirulina*, que apresentou flavonoides, saponinas, esteroides, compostos fenólicos e alcaloides. Além disso, extrato da cianobactéria mostrou ação com potencial para retardar o aspecto de envelhecimento, com poder hidratante e antioxidante; cicatrizante e antiacne (Ragusa *et al.*, 2021).

A acne inflamatória é uma doença que afeta a pele, principalmente, em adolescentes e adultos. É caracterizada pela presença das bactérias *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, juntamente com a alta produção de sebo nas glândulas pilosebáceas, devido ao estímulo hormonal andrógeno (Brenner *et al.*, 2006; Maluki, 2010; Stamu-O'Brien *et al.*, 2021). Essa condição causa lesões epiteliais, podendo gerar cicatrizes que afetam a autoestima de diversos pacientes. Para seu tratamento, são utilizados compostos sintéticos de uso tópico, sistêmico ou cirúrgico. De uso tópico, os mais comuns são isotretinoína e peróxido de benzoíla; para o sistêmico, encontram-se antibióticos como tetraciclina e eritromicina e contraceptivos, no caso de mulheres; por fim, como uso cirúrgico são realizados os *peelings* químicos (Baldassin *et al.*, 2017; Brenner *et al.*, 2006). Contudo, tais métodos possuem diferentes efeitos colaterais, como trombose, queilite, possível resistência à antibióticos e possível intoxicação por produtos químicos, como o formol (Baldassin *et al.*, 2017; Camargo *et al.*, 2023). Por isso, é pertinente a avaliação do uso de extratos de *A. platensis* contra a acne; além disto, é importante determinar a toxicidade destes extratos.

O estudo realizado por Józsa e colaboradores (2020) atestou a eficácia de cosméticos à base de extrato de *Spirulina* contra *C. acnes* e *S. aureus*, além da baixa citotoxicidade em células humanas. Além disso, o uso da *Spirulina* como ativo em dermocosmético também se mostrou bastante promissor, pois o extrato purificado da ficocianina demonstrou 100% de ação antioxidante e alta atividade antimicrobiana contra *P. acnes* e *S. epidermidis* (Nihal *et al.*, 2018).

O processo de extração da ficocianina é realizado por meio da ruptura celular da *Spirulina* e a utilização de um solvente adequado. Para o rompimento celular, foi demonstrado que o congelamento-descongelamento (C/D) da biomassa é um procedimento simples e eficaz, entretanto, métodos como o uso de ultrassom também tem se mostrado uma boa alternativa (Athiyappan *et al.*, 2024; Pispas *et al.*, 2024). Esse processamento também extrai outros compostos que possuem ação farmacológica presentes na biomassa, juntamente com a ficocianina.

Sendo assim, este estudo tem dois objetivos: 1) avaliar a ação antioxidante do extrato bruto de *Arthrospira platensis*, rico em ficocianina, obtido via aplicação de ultrassom e de ciclos de congelamento-descongelamento de suspensão da biomassa em meio aquoso; 2) determinar a composição do extrato, em termos de ficobiliproteínas e fenólicos totais, visando aplicação futura como ativo dermocosmético.

## Material e Métodos

### Cultivo

Foi utilizada *Arthrospira platensis* (coleção Elizabeth Aidar, UFF) que vem sendo mantida no Laboratório de Biotecnologia de Microalgas, do INT. O cultivo foi realizado em meio de cultivo Zarrouk modificado, sob luz LED branca em fotobiorreator de 240 L, em sala a 25°C, durante 10 d. Ao final do cultivo, a biomassa foi recuperada por filtração e posteriormente liofilizada.

### Obtenção do extrato

A extração da ficocianina foi realizada na concentração de 25 g.L<sup>-1</sup> de suspensão da biomassa em água. As amostras foram submetidas a 120 minutos em banho ultrassônico (USC-1800, Unique, Brasil) com sistema projetado para manutenção da temperatura em 28°C. Após este tempo, foram realizados 3 ciclos de congelamento-descongelamento da suspensão.

Depois da aplicação do método extrativo, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos, a 10°C; a partir do sobrenadante recolhido, foram realizados os testes fitoquímicos.

### Teor de Ficobiliproteínas

O extrato foi analisado via espectrofotômetro (G10S UV-Vis, Thermo Scientific). Para quantificar a ficocianina (FC), aloficocianina (AFC) e ficoeritrina (FE), foram utilizadas as equações 1, 2 e 3 estabelecidas por Bennett & Bogorad (1973), respectivamente.

$$[\text{Ficocianina}] = \left( \frac{(A_{615} - 0,474) \times A_{652}}{5,34} \right) \times \frac{V}{m} \quad \text{Equação 1}$$

$$[\text{Aloficocianina}] = \left( \frac{A_{652} - (0,208 \times A_{615})}{5,09} \right) \times \frac{V}{m} \quad \text{Equação 2}$$

$$[Ficoeritrina] = \left( \frac{A_{562} - (2,41 \times [FC]) - (0,849 \times [AFC])}{9,62} \right) \times \frac{V}{m} \quad \text{Equação 3}$$

Onde  $A_{562}$ ,  $A_{615}$  e  $A_{652}$  são as absorvâncias nos comprimentos de onda de 562, 615 e 652 nm, respectivamente,  $V$  é o volume de extração e  $m$  é a massa de biomassa.

### Compostos Fenólicos Totais (CFT)

Foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu modificado por Gomes e Torres (2016), onde o extrato foi analisado no comprimento de onda de 765 nm no espectrofotômetro (SP1105, Spectrum). Para quantificar o teor de compostos fenólicos foi utilizada correlação entre os valores de absorvância e concentração em  $\text{mg.L}^{-1}$  de padrão de ácido gálico,  $R^2 = 0,9994$ . Os resultados da análise dos extratos foram expressos em mg de CFT equivalente ácido gálico (EAG) por mL de extrato.

### Capacidade antioxidante

Foi realizada a metodologia descrita por Melo e colaboradores (2006) com modificações, onde alíquotas de 0,1 mL do extrato reagiram com 3,9 mL da solução de DPPH  $0,024 \text{ g.L}^{-1}$  por 60 minutos, ao abrigo da luz. Após o tempo de incubação, as amostras foram analisadas via espectrofotômetro, e os resultados expressos como potencial de inibição do radical livre (I%), calculados por meio da equação 4.

$$I\% = \left( \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde,  $A_{\text{controle}}$  e  $A_{\text{amostra}}$  são a absorvância da solução de DPPH e da amostra no comprimento de onda 515 nm, respectivamente.

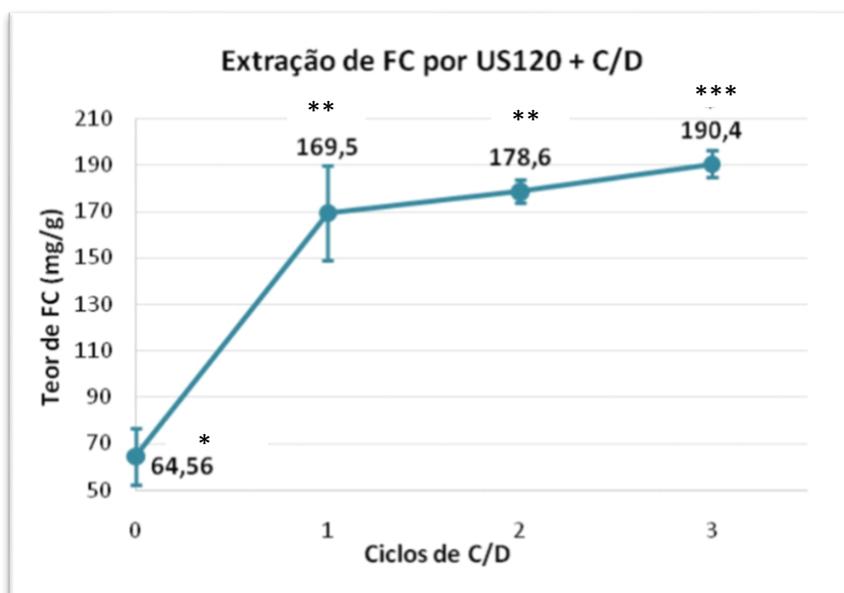
### Estatística

Foram realizadas análises por ANOVA e Tukey utilizando o software Statistica, versão 7.0 (Statsoft., 2004) para 95% de nível de confiança.

## Resultados e Discussão

### Teor de Ficobiliproteínas

A fim de obter extratos ricos em ficocianina, primeiramente, 6 replicatas de suspensão de biomassa em água, a  $25 \text{ g.L}^{-1}$ , foram levadas ao banho ultrassônico, durante 120 minutos, com temperatura controlada a  $28^\circ\text{C}$ . O Gráfico 1 mostra que este processo promoveu uma recuperação de  $64,6 \text{ mg.g}^{-1}$  de FC na biomassa de *Spirulina*. Para maximizar a extração da ficobiliproteína, foram aplicados ciclos de congelamento-descongelamento (C/D) posteriormente ao ultrassom (US120). Ao todo, foram realizados 3 ciclos, onde observou-se um aumento significativo na recuperação da ficocianina já no 1º ( $169,5 \text{ mg.g}^{-1}$ ), e um máximo de extração no 3º ciclo ( $190,3 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Portanto, atestou-se que o percentual de ficocianina presente na biomassa foi de 19,0% (tabela 1). Esse resultado apresentou concentrações promissoras de ficocianina em relação às alcançadas por Tavanandi *et al.* (2018), que extraiu o bioativo utilizando 6 ciclos de C/D e alcançou um rendimento de  $73,7 \text{ mg.g}^{-1}$  de FC na biomassa.



**Gráfico 1:** Rendimento em ficocianina alcançado por tratamento em banho ultrassônico por 120 minutos e após cada ciclo de congelamento-descongelamento.

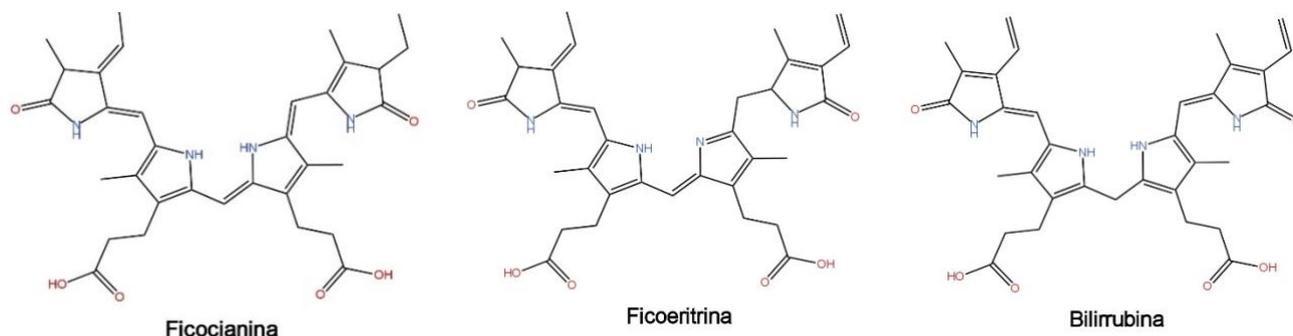
\*Resultados não apresentam diferenças significativas.

Em relação às ficobiliproteínas presentes no extrato bruto, foi observado que a ficocianina é a que está presente em maior quantidade na *Spirulina*, alcançando um teor de 4,76 mg.mL<sup>-1</sup> comparado a 1,67 mg.mL<sup>-1</sup> de aloficocianina e 0,21 mg.mL<sup>-1</sup> de ficoeritrina (tabela 1). Esse resultado revelou-se concordante com os dados descritos por Amarante *et al.* (2013), visto que em seu trabalho foi realizado um acompanhamento das concentrações das ficobilinas a cada dia de cultivo e foi alcançado maior teor de FC (90,2 mg.g<sup>-1</sup>) em comparação com às demais (AFC- 47 mg.g<sup>-1</sup>; FE- 11,7 mg.g<sup>-1</sup>).

**Tabela 1:** Resultados dos teores de ficocianina, aloficocianina e ficoeritrina presentes no extrato bruto.

Ficobiliproteína	Concentração *[ ]* de ficobiliproteínas		
	[ ] no extrato (mg.mL <sup>-1</sup> )	[ ] na biomassa (mg.g <sup>-1</sup> )	Percentual na biomassa (%)
Ficocianina	4,76	190,4	19,0%
Aloficocianina	1,67	66,6	6,66%
Ficoeritrina	0,21	8,35	0,84%

Na pele, a exposição a agentes químicos, físicos e microbiológicos externos provocam a formação de radicais livres, que são bastante reativos e causadores do estresse oxidativo no tecido (Guaratini *et al.*, 2007). A figura 1 revela que as ficocianobilinas possuem estrutura molecular semelhante à bilirrubina, que é uma proteína presente no sistema sanguíneo que serve como substrato para peroxidases durante o aumento da concentração de radicais livres (Aycicek, Erel, 2007; Cavazos *et al.*, 2023). Portanto, essa característica pode conferir caráter antioxidante aos pigmentos fotossintéticos da cianobactéria.



**Figura 1:** Estrutura molecular do grupamento ligado a ficocianina, ficoeritrina e bilirrubina.

**Fonte:** Autoria própria.

### Compostos Fenólicos Totais

Foi realizada a quantificação de compostos fenólicos totais presentes no extrato bruto obtido. Para isso, inicialmente obteve-se a curva padrão de ácido gálico e, a partir da equação da reta (Equação 5), calculou-se a concentração de fenólicos no extrato.

$$[CFT] = \frac{A_{765} - 0,0095}{0,0118} \quad \text{Equação 5}$$

Onde  $A_{765}$  é a absorvância do extrato no comprimento de onda de 765 nm.

De acordo com a tabela 2, o extrato apresentou 15,5 mg EAG.mL<sup>-1</sup>. Ao considerar-se a massa utilizada na extração, constatou-se a presença de 3101,5 mg EAG.100g<sup>-1</sup> fenólicos na biomassa, ou seja, 3,1% da biomassa produzida em fotobiorreator é composta por CFT.

**Tabela 2:** Teor de compostos fenólicos totais no extrato obtido e na biomassa utilizada, comparando com referências bibliográficas.

Concentração *[ ]* de Compostos fenólicos totais da <i>Spirulina</i>			
Referência	[ ] no extrato (mg EAG.mL <sup>-1</sup> )	[ ] na biomassa (mg EAG.100g <sup>-1</sup> )	Percentual na biomassa (m/m%)
<b>Este trabalho</b>	15,5	3101,5	3,1
<b>Uzlasir <i>et al.</i> (2024)</b>	-	726,0	0,73
<b>Berrouane (2022) -Etanol</b>	-	33,0	0,033
<b>Berrouane (2022) -Metanol</b>	-	31,0	0,031

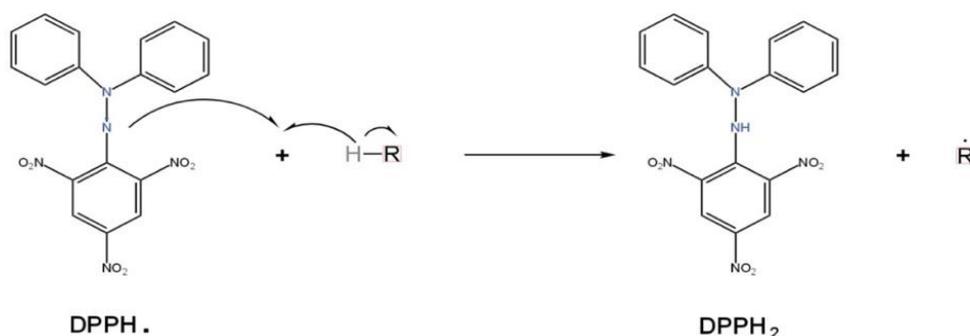
O estudo realizado por Pérez *et al.* (2023) revela o teor fenólico em frutos como maçã, laranja e nozes, que são considerados alimentos com alto valor nutricional, iguais a 0,2%, 0,28% e 2,7% na biomassa, respectivamente. Em relação à *Spirulina*, a tabela 2 mostra que Uzlaşır *et al.* (2024) constataram a presença de 726 mg EAG.100g<sup>-1</sup> no extrato recuperado por 4 ciclos de C/D utilizando água como solvente. Já Berrouane (2022) recuperou 0,330 mg EAG.g<sup>-1</sup> e 0,310 mg EAG.g<sup>-1</sup>, em extração por Soxhlet utilizando etanol e metanol como solventes, respectivamente. O valor alcançado, pelos autores, de CFT na cianobactéria é inferior apenas à noz, podendo significar uma composição de fenólicos superior na *Spirulina*, quando comparado a vários outros alimentos.

Os teores de CFT da *A. platensis* descritos na literatura são inferiores ao encontrado no presente trabalho. Esse resultado pode indicar uma baixa eficiência do processo de extração

utilizado pelos autores, visto que empregando água como solvente e US120 + C/D, foram recuperados 3101,5 mg EAG.100g<sup>-1</sup> de fenólicos, cerca de 4,3 vezes a mais da eficiência descrita por Uzlaşır *et al.* (2024) e 93 vezes superior a Berrouane (2022). Esta diferença também pode ser fruto de uma biomassa com maior teor em compostos fenólicos, pelo processo de cultivo realizado.

### Capacidade antioxidante

O ensaio de capacidade antioxidante se baseia no potencial que o extrato possui de reduzir o radical DPPH. O mecanismo de reação ilustrado no esquema 1 indica que o radical DPPH abstrai o hidrogênio da molécula antioxidante e se reduz a DPPH<sub>2</sub>. Devido ao hidrogênio ligado ao anel aromático da cadeia ter sido substituído por um radical hidroxila (-OH), compostos fenólicos são capazes de sequestrar radicais livres, que se estabilizam na molécula por sofrerem ressonância (Berrouane, 2022). Em relação às ficobiliproteínas, outros mecanismos de ação podem estar envolvidos, visto que a ficoeritrina e a ficocianina são capazes de reduzir o radical DPPH e outros radicais livres, respectivamente, pela presença das aminas secundárias em sua molécula (Cavazos *et al.*, 2023).



**Esquema 1:** Reação do radical DPPH com molécula antioxidante.

**Fonte:** Autoria própria.

Assim, para avaliar a capacidade antioxidante do extrato, foram utilizadas 4 diluições e o extrato sem diluir. Não foi realizada a determinação da concentração em massa total do extrato, que será realizada em uma oportunidade futura, assim, foi considerado o teor em compostos fenólicos totais (15,5 mg.mL<sup>-1</sup>) na discussão, por ter sido bastante expressivo. De acordo com a tabela 3 as amostras apresentaram um potencial de inibição de até 43,9%, sendo essa, a amostra concentrada. Observou-se que a concentração de 7,75 mg.mL<sup>-1</sup> de fenólicos totais diminuiu significativamente a capacidade de inibir o radical livre, obtendo um I% de 15,2%. Isso ocorre devido à disponibilidade dos agentes redutores, em diferentes diluições, visto que em soluções mais concentradas, há maior teor dos metabólitos.

**Tabela 3:** Resultados do potencial de inibição de DPPH de acordo com as diluições do extrato.

Fator de diluição	Concentração de CFT no extrato (mg.mL <sup>-1</sup> )	Índice de inibição de DPPH (I%)*
1 x	15,5	43,9 % <sup>a</sup>
2 x	7,75	15,2 % <sup>b</sup>
10 x	1,55	3,2 % <sup>c</sup>
20 x	0,775	2,1 % <sup>d</sup>

30 x

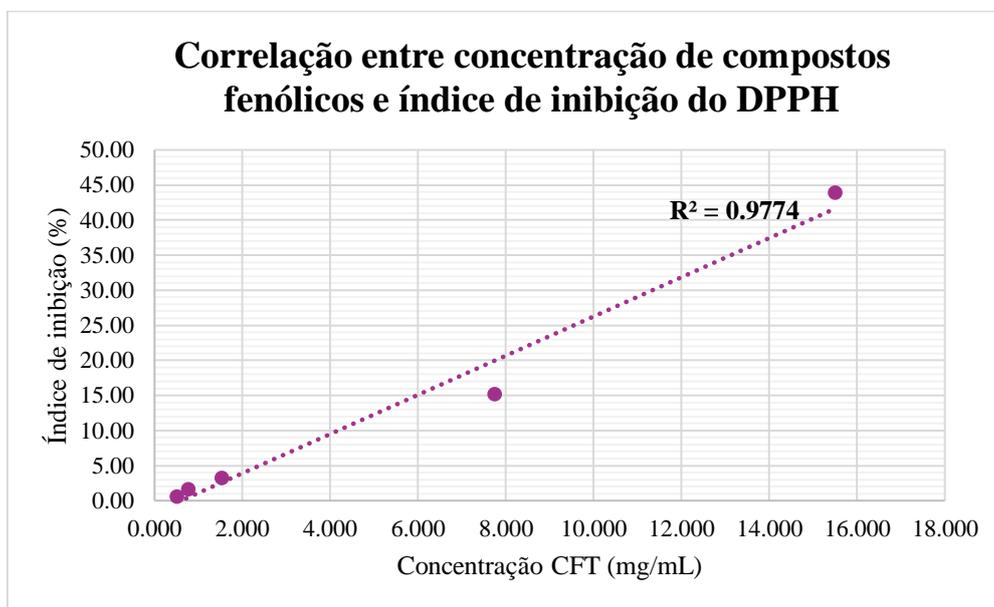
0,517

0,58 %<sup>d</sup>

\* Média %; resultados com letras iguais não apresentam diferenças significativas.

Nihal *et al.* (2018) identificaram um potencial de inibição de 100% do extrato puro de ficocianina ao utilizar a concentração de 0,15 mg.mL<sup>-1</sup>. A purificação da ficobiliproteína pode ter influenciado na alta capacidade antioxidante do extrato, visto que ao utilizar um extrato bruto de *Spirulina platensis*, Józsa *et al.* (2020) constataram uma inibição de até 55% do radical DPPH, índice próximo ao encontrado no presente trabalho.

A concentração de fenólicos totais influenciou na capacidade antioxidante do extrato (gráfico 2), visto que houve uma correlação positiva ( $R^2 = 0,977$ ) entre esta concentração e o índice de inibição. Este resultado indica uma forte dependência da concentração de fenólicos da solução na ação de sequestro dos radicais de DPPH. Essa correlação também foi comprovada por Sousa *et al.* (2007), que utilizaram extratos fenólicos de algumas espécies de plantas medicinais.



**Gráfico 2:** Correlação entre a concentração da amostra e o índice de inibição de DPPH.

## Conclusões

Foi obtido um extrato de *Spirulina platensis* rico em ficocianina (4,8 mg.mL<sup>-1</sup>) a partir da utilização de 120 minutos da suspensão aquosa da biomassa em banho ultrassônico combinado com 3 ciclos de congelamento-descongelamento. Foi observado que há presença de 15,5 mg de compostos fenólicos por mL de extrato, 1,67 mg.mL<sup>-1</sup> de aloficocianina e 0,21 mg.mL<sup>-1</sup> de ficoeritrina. Além disso, o extrato bruto se mostrou bastante eficaz contra radicais livres, inibindo até 44% do radical DPPH. Dessa forma, os resultados norteiam o trabalho à identificação dos compostos fenólicos que compõem o extrato aquoso bruto. Além disto, dados os resultados promissores, como próxima etapa será realizada a verificação da ação antimicrobiana do mesmo frente às bactérias causadoras da acne e sua citotoxicidade em células humanas. O potencial antioxidante do extrato rico em ficocianina e fenólicos é promissor e significativo para futuros estudos visando sua aplicação em dermocosméticos.

## Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Nilópolis (IFRJ) e ao Instituto Nacional de Tecnologia (INT) pela disponibilidade da infraestrutura, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro pelo apoio financeiro (bolsas de Iniciação Tecnológica) e ao grupo do LABIM por todo auxílio diário.

### Referências

AMARANTE, Marina *et al.* Produção da Enzima Anidrase Carbônica e de Ficobiliproteínas pela Microalga Spirulina. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3esp, p. 313, 2013.

ARAÚJO, Rita *et al.* Current status of the algae production industry in Europe: an emerging sector of the blue bioeconomy. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 626389, 2021.

ATHIYAPPAN, Kerthika Devi; CHAUDHURI, Rayanee; BALASUBRAMANIAN, Paramasivan. Enhancing phycocyanin yield from Spirulina sp. under salt stress using various extraction methods. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 6, p. 258, 2024.

AYCICEK, Ali; EREL, Ozcan. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 4, p. 319–322, 2007.

BALDASSIN, Giuliana *et al.* 3. Estudo retrospectivo sobre a prevalência do uso de contraceptivos orais e de medicamentos convencionais no tratamento da acne inflamatória. **Revista Científica UMC**, v. 2, n. 2, 2017.

BARROS, Katharina Kardinele da Silva *et al.* **Produção de biomassa de Arthrospira platensis (Spirulina platensis) para alimentação humana**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

BENNETT, Allen; BOGORAD, Lawrence. COMPLEMENTARY CHROMATIC ADAPTATION IN A FILAMENTOUS BLUE-GREEN ALGA. **Journal of Cell Biology**, v. 58, n. 2, p. 419–435, 1973.

BERROUANE, Nour El Houda. **Extraction et caractérisation des pigments de la spiruline par des méthodes physiques, enzymatique et par solvant supramoléculaire**. 2022. Tese de Doutorado.

BORBA, Vivian Ipaves de Almeida; FERREIRA, C. L. S. Cianobactéria Arthrospira (Spirulina) Platensis: Biotecnologia e Aplicações. **Centro de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz**, p. 1-23, 2018.

BRENNER, Fabiane Mulinari *et al.* Acne: um tratamento para cada paciente. **Revista de ciências médicas**, v. 15, n. 3, 2006.

CAMARGO, Brendha *et al.* Efeitos colaterais do uso contínuo de Isotretinoína, uma visão abrangente. **CONTRIBUCIONES A LAS CIENCIAS SOCIALES**, v. 16, n. 12, p. 31277–31294, 2023.

CAPELLI, Bob; CYSEWSKI, Gerald R. Potential health benefits of spirulina microalgae\*: A review of the existing literature. **Nutrafoods**, v. 9, n. 2, p. 19–26, 2010.

CAVAZOS, DE Aguirre *et al.* FICOBILINAS: USOS, APLICACIONES Y PERSPECTIVAS. **Revista Planta**, v. 16, n. 28, 2023.

GOMES, Suellen; TORRES, Alexandre G. Optimized extraction of polyphenolic antioxidant compounds from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) cake and evaluation of the polyphenol profile by HPLC: Extraction of polyphenolic compounds from Brazil nut cake. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 8, p. 2805–2814, 2016.

GUARATINI, Thais; MEDEIROS, Marisa H. G.; COLEPICCOLO, Pio. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 206–213, 2007.

JÓZSA, Liza *et al.* Formulation of Creams Containing Spirulina Platensis Powder with Different Nonionic Surfactants for the Treatment of Acne Vulgaris. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4856, 2020.

MALUKI, Azar Hadi. The frequency of polycystic ovary syndrome in females with resistant acne vulgaris. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 9, n. 2, p. 142–148, 2010.

MELO, Enayde De Almeida *et al.* Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639–644, 2006.

NIHAL, Badduri *et al.* FORMULATION AND DEVELOPMENT OF TOPICAL ANTI ACNE FORMULATION OF SPIRULINA EXTRACT. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 10, n. 6, p. 229, 2018.

PÉREZ, Maria; DOMINGUEZ-LÓPEZ, Inés; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 46, p. 17543–17553, 2023.

PISPAS, Konstantinos *et al.* Optimizing Phycocyanin Extraction from Cyanobacterial Biomass: A Comparative Study of Freeze–Thaw Cycling with Various Solvents. **Marine Drugs**, v. 22, n. 6, p. 246, 2024.

RAGUSA, Irene *et al.* Spirulina for Skin Care: A Bright Blue Future. **Cosmetics**, v. 8, n. 1, p. 7, 2021.

SETYANINGSIH, I *et al.* In vitro evaluation of face mask containing extract and biomass of Spirulina platensis and its antibacterial activity. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 404, n. 1, p. 012054, 2020.

SOUSA, Cleyton Marcos De M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

STAMU-O'BRIEN, Caroline *et al.* Psychodermatology of acne: Psychological aspects and effects of acne vulgaris. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 20, n. 4, p. 1080–1083, 2021.

TAVANANDI, Hrishikesh A. *et al.* Simple and efficient method for extraction of C-Phycocyanin from dry biomass of Arthrospira platensis. **Algal Research**, v. 31, p. 239–251, 2018.

UZLAŞIR, Türkan; ŞAŞMAZ, Hatice Kübra; KELEBEK, Haşim. Comparison of Extraction Techniques for Determining Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Spirulina platensis. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 12, n. 4, p. 554–560, 2024.