

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación
Revisión de literatura en uso de aceite de escualeno en la industria
cosmética, farmacéutica y alimentaria

Estudiante

Gabriela Estefany Lara Ferrer

Asesores

Jorge Cardona, Ph.D.

Luis Maldonado, Ph.D.

Honduras, julio 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Resumen	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
Metodología.....	12
Descripción del Estudio.....	12
Estrategia de Búsqueda	12
Organización de la Información	12
Análisis de Información.....	13
Resultados y Discusión.....	14
Historia y Evolución del Proceso de Extracción	14
Generalidades del Escualeno	17
Fuentes de Obtención.....	19
Aceite de Hígado de Tiburón	19
Aceite de Oliva	22
Amaranto	25
Tabaco.....	27
Escualeno del Cultivo de Microorganismos.....	28
Escualano	29
Hidrogenación de Escualeno a Escualano.....	30
Análisis del Escualano	33

Biosíntesis de Escualano a Partir de Azúcar de Caña.....	35
Escualeno, la Industria Cosmética y Farmacéutica.....	39
Emulsiones Lipídicas	39
Agente Administrador de Fármacos	41
Papel Biológico del Escualeno y Escualano.....	43
Efectos del Escualeno en la Piel.....	46
Tratamiento de Enfermedades de la Piel.....	47
Antioxidante.....	48
Anticáncer	50
Escualeno y la Industria Alimentaria.....	50
Conclusiones	53
Recomendaciones.....	54
Referencias.....	55

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Ecuaciones de búsqueda empleadas para la investigación.....	12
Cuadro 2. Estructuras químicas del escualeno y compuestos análogos.....	18
Cuadro 3. Propiedades físicas y químicas del escualeno	19
Cuadro 4. Especies de tiburón y contenido de escualeno	20
Cuadro 5. Métodos de hidrogenación de escualeno a escualano	34
Cuadro 6. Composición del escualeno derivado de la caña de azúcar	37
Cuadro 7. Comparación de la composición de escualeno obtenido de diferentes fuentes	38
Cuadro 8. Composición del sebo en humanos.....	44

Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama de flujo general del proceso de refinado de aceites vegetales crudos	25
Figura 2. Estructura química del escualeno (A) y escualano (B)	29
Figura 3. Proceso de hidrogenación con catalizador de níquel	31
Figura 4. Diagrama del flujo de proceso para el escualano derivado de caña de azúcar	36
Figura 5. Análisis sensorial comparando el isohexadecano, ciclometicona y hemiescualano	39
Figura 6. Escualeno como vehículo portador de fármacos: emulsiones lipídicas	40
Figura 7. Vista en sección de la piel con glándulas sebáceas.....	44

Resumen

El escualeno es un terpeno lineal, precursor de hormonas en animales y esteroides en plantas, con propiedades únicas que le confieren un alto valor para la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. Su principal fuente de extracción es el aceite de hígado de tiburón, sin embargo, debido a la amenaza que esto representa para la especie, existe un gran interés por parte de la comunidad científica en desarrollar nuevas fuentes sostenibles de escualeno. El objetivo de esta revisión literaria fue recopilar información acerca de los métodos de obtención, extracción y transformación del escualeno, nuevas fuentes vegetales, propiedades benéficas y la aplicación de este compuesto en la industria. Para la investigación bibliográfica, se consultaron más de 100 artículos científicos. Se identificó que el escualeno ha logrado ser extraído del aceite de oliva, azúcar, semilla de amaranto, tabaco y mediante el cultivo de microorganismos, siendo el aceite de oliva y la azúcar las fuentes de escualeno vegetal de mayor explotación comercial. El uso de este compuesto en la industria es limitado por su susceptibilidad a la oxidación por lo que debe ser transformado mediante hidrogenación a escualano. Diversos estudios han comprobado las propiedades anticancerígenas y antioxidantes del escualeno. También, es un excelente portador de fármacos en vacunas e ingrediente de productos cosméticos y de cuidado de la piel por su capacidad hidratante y emoliente. Debido a esto, la demanda de escualeno incrementará en las próximas décadas, por tanto, es necesario estudiar y garantizar la calidad y rendimientos del escualeno de origen vegetal.

Palabras clave: Aceite de oliva, azúcar de caña, escualano, farneseno, levaduras.

Abstract

Squalene is a linear terpene, a precursor of hormones in animals and sterols in plants with unique properties that provide it a high value for the pharmaceutical, cosmetic and food industries. Its main source of extraction is shark liver oil; however, due to the threat that this represents for the species, there is great interest on the scientific community in developing new sustainable sources of squalene. The objective of this literary review was to collect information about the methods of obtaining, extraction and transformation of squalene, new plant sources, beneficial properties, and the application of this compound in industry. For the bibliographic research, more than 100 scientific articles were consulted. It was identified that squalene has been extracted from olive oil, sugar, amaranth seed, tobacco and through the cultivation of microorganisms, olive oil and sugar being the sources of vegetable squalene with the greatest commercial exploitation. The use of this compound in industry is limited due to its susceptibility to oxidation, so it must be transformed by hydrogenation to squalane. Various studies have proven the anticancer and antioxidant properties of squalene. Also, it is an excellent carrier for drugs in vaccines and as an ingredient in cosmetic and skin care products due to its moisturizing and emollient capacity. For these reasons, the demand for squalene will increase in the coming decades, therefore, it is necessary to study and guarantee the quality and yields of squalene of plant origin.

Keywords: Cane sugar, farnesene, olive oil, squalane, yeasts.

Introducción

El escualeno es un terpeno lineal, precursor de esteroides en plantas y de hormonas en animales acuáticos como peces y tiburones. También, es fuente de carbono en la fermentación aeróbica y anaeróbica de diferentes microorganismos (Ghimire et al. 2016). Es considerado además un valioso ingrediente utilizado ampliamente en la industria cosmética por sus propiedades únicas como antioxidante, emoliente, hidratante y oclusivo que evita la pérdida transepidérmica de agua (Kim y Karadeniz 2012; McPhee et al. 2014) y con una gran importancia para la industria alimentaria y farmacéutica (Soni y Sharma 2016). El mercado de escualeno se divide principalmente en tres sectores, el 69.2% se destina a la elaboración de productos cosméticos, el 22.8% es utilizado en la industria alimentaria y el 8% al sector farmacéutico (Rosales-García et al. 2017).

Este compuesto fue descrito por primera vez en (1916) por el ingeniero japonés Tsujimoto Mitsumaru (Lozano-Grande et al. 2018). Al hacer un recuento histórico del escualeno, habitantes de la isla japonesa Izu consumían un aceite al que le llamaban “samedawa” que significa “aceite curativo”. Años después, se descubrió que este aceite contiene alto contenido de lo que hoy conocemos como escualeno (Ghimire et al. 2016). Este compuesto recibió su nombre debido a que fue aislado por primera vez del tiburón (*Escualenoualus* spp.) específicamente, del aceite de hígado de tiburón o “kuroko-zame” (Popa O et al. 2015).

Actualmente, la fuente natural más rica de escualeno sigue siendo el hígado de tiburón. Sin embargo, su extracción presenta muchas limitantes (Popa O et al. 2015), que se detallarán a continuación. En primer lugar, la caza de estos animales está prohibida en muchos países, ya que la pesca intensiva de tiburones pone en peligro la existencia de esta especie, debido a que su ciclo reproductivo es bastante largo y su crecimiento lento. Adicional a esto, se habla de la presencia de Compuestos Orgánicos Persistentes (COP, por sus siglas) y metales pesados encontrados en el medio marino que se acumulan en el hígado de esta especie (Popa O et al. 2015). También, otro factor a tomar en cuenta es que el escualeno obtenido del tiburón comúnmente utilizado en la industria

farmacéutica puede presentar diversos patógenos que hayan infectado a los tiburones y así como consecuencia transmitirlos al ser humano constituyendo un peligro para la salud. Debido a lo anteriormente expuesto, existe en la actualidad un gran interés por parte de la comunidad científica por encontrar nuevas fuentes naturales de escualeno, especialmente de origen vegetal (Popa O et al. 2015; Lozano-Grande et al. 2018).

El escualeno se ha identificado en diversas fuentes vegetales a diferentes concentraciones y puede ser obtenido de las olivas, la caña de azúcar, semillas de amaranto, germen de trigo, aceite de palma, granos de arroz, soya, aceite de semillas de uva, aceite de avellana, aceite de maní y aceite de maíz. De estas fuentes, la que tiene mayor concentración de escualeno es el amaranto (McPhee et al. 2014; Lozano-Grande et al. 2018). Sin embargo, las fuentes de origen vegetal más utilizadas para la extracción comercial de escualeno son la oliva y la caña de azúcar.

El escualeno (2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,20-tetracosahexano) principal componente de los lípidos poliinsaturados de la superficie cutánea presenta algunas ventajas para la piel como emoliente, antioxidante, y así como también para la hidratación y sus actividades antitumorales (Huang et al. 2009). Por otro lado, este compuesto es considerado inestable por ser insaturado, lo que lo hace propenso a oxidarse y poco práctico para su uso en la industria cosmética. Por lo tanto, para poder utilizarlo efectivamente, debe ser convertido a escualano. Esto se obtiene a través de la saturación de los seis dobles enlaces aislados del altamente insaturado escualeno.

Cabe mencionar que el escualano presenta propiedades emolientes excepcionales, una forma molecular más estable y mejores propiedades de dispersión y emulsificación, lo que lo hace compatible con los ingredientes en una formulación dermocosmética (McPhee et al. 2014). El escualano comercial es obtenido de dos formas, mediante la hidrogenación del aceite de oliva y la fermentación del azúcar usando *Saccharomyces cerevisiae* (Naziri et al. 2011), esta levadura es un microorganismo importante para la producción de terpenoides como esteroides, carotenoides y alcoholes fenólicos (Mantzouridou y Tsimidou 2010). El escualeno y el escualano son compuestos que

se encuentran presentes en el sebo humano (Aproximadamente en un 13 y 2.5 %, respectivamente). De este modo, la molécula de escualeno juega un papel crucial en la síntesis de esteroides humanos, particularmente en la síntesis del colesterol (Ciriminna et al. 2014; McPhee et al. 2014)). Sin embargo, la producción de escualeno en el cuerpo se va reduciendo con el aumento de edad (Boussouira y Pham 2016).

Finalmente, otro factor a tomar en cuenta sobre este compuesto es que diversos estudios (Kim y Karadeniz 2012; Reddy y Couvreur 2009), han demostrado que este compuesto presenta propiedades nutricionales, medicinales y farmacéuticas. Por lo que esta revisión bibliográfica provee una visión general del escualeno y de las fuentes de obtención, métodos de extracción, además de su uso como un compuesto con potencial amplio, debido a la bastedad de ventajas en su uso tanto en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria. Los objetivos de esta revisión bibliográfica fueron:

Discutir las propiedades benéficas del escualeno en la salud humana.

Identificar las fuentes vegetales de escualeno como alternativa al aceite de hígado de tiburón.

Determinar los procesos de obtención, extracción y transformación del escualeno a escualano y su aplicación en las industrias cosmética, alimentaria y farmacéutica.

Metodología

Descripción del Estudio

Como tema de estudio, se seleccionó el proceso de obtención, extracción, transformación y usos del escualeno en la industria cosmética, farmacéutica y alimenticia. Esta revisión bibliográfica abarcó las temáticas de historia, procesos, calidad, y aplicaciones de escualeno de origen animal y vegetal, así como su transformación a escualano.

Estrategia de Búsqueda

Para el proceso de investigación bibliográfica se consultó diferentes fuentes de información con menos de 15 años desde su publicación como revistas, reportes técnicos, tesis doctorales, normas y manuales, empleando las ecuaciones de búsqueda mostradas en el Cuadro 1.

Cuadro 1

Ecuaciones de búsqueda empleadas para la investigación

Idioma	Ecuación
Español	Aceite de escualeno
	Extracción del escualeno
	Métodos de determinación de escualeno
	Fuentes vegetales de escualeno
	Production of escualene
	Olive oil escualenoualene
Inglés	Sugar cane escualenoualene
	Hydrogenation of escualenoualene to
	Escualenoualane
	Phytoescualenoualene
	Escualenoualene and the cosmetic industry
	Escualenoualene and the food industry

Organización de la Información

La información fue organizada de manera sistemática y detallada mediante el programa Citavi® de acuerdo con el título, autor, fuente bibliográfica y aporte a la investigación. Los documentos encontrados fueron agrupados en temas de interés de acuerdo con lo estipulado en el diseño de la investigación.

Análisis de Información

Se identificaron los autores con más citas y mediante la lectura de resúmenes y conclusiones, se analizaron los principales artículos con ideas importantes y aspectos relevantes para el tema de estudio. Se clasificaron los temas de interés y grupos de artículos de acuerdo con el nivel de aporte a la investigación. Los artículos contenidos dentro de los temas de interés más relevantes fueron revisados con mayor detalle.

Resultados y Discusión

Historia y Evolución del Proceso de Extracción

Al comienzo de la vida en la Tierra, hace unos 3,500 millones de años, las bacterias y más tarde en el período precámbrico, las células de la membrana de los organismos estaban llenas de escualeno (Reddy y Couvreur 2009). En ese momento, la sustancia era esencial para su supervivencia en un entorno hostil con falta de oxígeno. Después de millones de años de desarrollo evolutivo, el hígado del tiburón de aguas profundas constituye la fuente más rica de escualeno. El aceite de hígado de tiburón consiste en aproximadamente un 60-85% de esta materia orgánica (Tjan 2001).

Desde la antigüedad, los pescadores de todo el mundo se beneficiaron de las maravillosas propiedades del aceite extraído del hígado de los tiburones, y de animales prehistóricos que viven por debajo de los 1000 m de profundidad (Das B et al. 2003). Los shogunes (Dictadores militares) del antiguo Japón, reconocieron los beneficios del aceite de hígado de tiburón de aguas profundas como fuente de poder, fuerza, energía y vitalidad, llamándolo "Tokubetsu no Miyage", que significa "regalo precioso". Este aceite también era conocido y utilizado por los residentes costeros y los pescadores de Micronesia, que se referían a él como "aceite milagroso" (Popa O et al. 2015). Los locales de la península de Izu japonesa llamaron a este aceite de hígado de tiburón "Samedawa", que significa "cura todo". Se acostumbraron a usarlo para curar una amplia gama de condiciones (Popa O et al. 2015).

Otra fuente de escualeno y a base de hierbas es la planta de amaranto, un tipo de planta de grano que puede sobrevivir tanto en calor como en suelos extremadamente secos. Produce tallos de 6 pies con plumas rojas o magentas. La palabra griega "amaranto" significa "nunca marchitarse". En la India, la hierba de amaranto se ha utilizado durante miles de años. Es tan rica en escualeno y tan común en esa región como el olivo en el mediterráneo. Se sabe que los soldados aztecas comían una sopa muy espesa de esta hierba antes de ir a la guerra. La planta de amaranto fue prohibida por los misioneros españoles que se sintieron perturbados por su asociación con el sacrificio humano. De

hecho, creían que la clave para la supresión de la cultura azteca fue la aniquilación de la planta (Das B et al. 2003).

Al igual que los aztecas que bebían sopa de amaranto, se sabía que los antiguos guerreros de Japón y China, e incluso los maoríes de Nueva Zelanda, bebían aceite de hígado de tiburón antes de partir para la guerra. Por lo tanto, podemos rastrear el reconocimiento cultural de los productos ricos en escualeno con cualidades de supervivencia únicas en la región mediterránea, escandinava, el subcontinente indio, el Lejano Oriente y América Central (Das B et al. 2003).

El escualeno fue descubierto en 1916 por el investigador japonés Dr. Mitsumaru Tsujimoto, experto en aceites y grasas en la Estación de Pruebas Industriales de Tokio. El separó la fracción insaponificable del aceite de hígado de tiburón "kurokozame" y descubrió la existencia de un hidrocarburo altamente insaturado (Tsujimoto 1916; Ciriminna et al. 2014). Diez años después, Tsujimoto logró obtener por un procedimiento de vacío fraccionado del aceite de hígado de dos especies de tiburones de aguas profundas un hidrocarburo insaturado, con la fórmula química $C_{30}H_{50}$, al que denominó "escualeno" (Tsujimoto 1916; Ciriminna et al. 2014). El nombre proviene de la denominación de la familia de los tiburones: Escualenoualidae, (Tsujimoto 1916; Ciriminna et al. 2014) que viven a una profundidad inferior a 400 m. Los estudios de Tsujimoto en 1920 mostraron que el escualeno estaba presente en 16 de las 36 especies de tiburones estudiadas de las aguas marinas japonesas.

Hasta las últimas décadas del siglo XX, no se sabía que el escualeno existía en pequeñas cantidades también en el cuerpo humano. Los recién nacidos tienen la mayor concentración de escualeno, pero la reserva comienza a caer repentinamente entre los 30 y 40 años. En el cuerpo humano, el escualeno es sintetizado por el hígado y secretado en grandes cantidades por las glándulas sebáceas. Es transportado en la sangre por las lipoproteínas de densidad pequeña y muy pequeña (Reddy y Couvreur 2009).

A escala comercial, el escualeno se ha obtenido tradicionalmente del aceite de hígado de tiburón de aguas profundas, que tiene una larga historia de uso en China, Japón y Corea como alimento saludable. En 1931, Paul Karrer de la Universidad de Zurich en Suiza, quien ganó el premio nobel de química en 1937, demostró inequívocamente que la estructura química del escualeno era $C_{30}H_{50}$ (McPhee et al. 2014). Debido a sus múltiples dobles enlaces, el escualeno se consideró demasiado inestable para la mayoría de los usos prácticos, hasta alrededor de 1955, cuando Sebastien Sabetay de la firma francesa Laserson y Sabetay tuvieron la idea de hidrogenarlo para formar escualano, o perhidroescualeno como se le conocía en ese entonces. Esto permitió rápidamente que el producto se comercializara como un importante ingrediente cosmético (Sabetay 1956; Ciriminna et al. 2014).

A finales de la década de 1970, apareció por primera vez en el mercado el escualano totalmente sintético producido por la empresa japonesa Kuraray. Fue producido por la reacción catalizada con base de 1,3-butadieno, un subproducto de la síntesis de acetileno a partir del gas natural, y dos moléculas de geranil acetona (Una molécula fabricada en una escala de decenas de miles de toneladas para la síntesis de isofitol, un intermedio para la fabricación de vitaminas E, K1 y otros terpenoides), seguido de la hidrogenación del producto. A pesar de su muy alta pureza, el costo del material debido a este proceso de varios pasos presumiblemente limitó su uso en productos de consumo convencionales resultante (Nishida et al. 1983; MCPhee et al. 2014).

Sin embargo, hasta la década de 1980, su recuperación directa se consideraba antieconómica hasta que varias empresas españolas patentaron métodos para extraer y purificar el escualeno de los residuos del procesamiento del aceite de oliva (McPhee et al. 2014). Finalmente, la empresa Hispano-Química S.A. (ahora BASF), comercializó “escualano vegetal” o fitoescualano derivado del destilado desodorizante del aceite de oliva (OODD, por sus siglas en inglés), un producto de desecho concentrado del paso final del proceso de refinación del aceite de oliva que contiene hasta un 30% de escualeno. Posteriormente, se patentaron mejoras de esta tecnología (Steiner et al. 2004).

Desde el año 2011 Amyris Inc., ha estado trabajando en el desarrollo un nuevo enfoque basado en la vía isoprenoide, para permitir la fabricación a escala comercial de escualano a partir de azúcares fermentables. El β -Farnesene, el precursor biosintético natural del escualeno se produce a escala industrial mediante fermentación utilizando la levadura común *Saccharomyces cerevisiae* (McPhee et al. 2014). La tecnología para producir escualeno a partir del tabaco fue desarrollada en 2011 por el Dr. Joshua Yuan de la Universidad Texas A&M (Maisashvili et al. 2016), quien diseñó una vía vegetal única para utilizar plantas de tabaco modificadas genéticamente para producir las largas cadenas de hidrocarburos necesarias para producir escualeno.

Generalidades del Escualeno

El escualeno es un compuesto triterpénico estructuralmente único que es uno de los componentes principales (Alrededor del 13%) de los lípidos de la superficie de la piel (Passi et al. 2002). Es un hidrocarburo poliinsaturado con fórmula $C_{30}H_{50}$ y formado por seis unidades de isopreno (Kim y Karadeniz 2012). Recibió ese nombre porque se aisló por primera vez del aceite de hígado de tiburón (*Squalus spp.*), el cual contiene grandes cantidades y se considera su fuente más rica (Huang et al. 2009). Se transporta en el suero generalmente en asociación con lipoproteínas de muy baja densidad y se distribuye de manera general en los tejidos humanos, con la mayor concentración en la piel. El escualeno es un compuesto muy valioso que se encuentra comúnmente en células vegetales y animales, debido a que es un intermediario en las vías bioquímicas de los fitoesteroles y el colesterol y muy apreciado por su importancia biológica (Huang et al. 2009). El escualeno es un triterpeno que consta de 2,6,10,15,19,23 hexametiltetracosano que tiene seis enlaces dobles en las posiciones 2, 6, 10, 14, 18 y 22 con configuración. Tiene un papel como metabolito humano, metabolito vegetal, metabolito de *Saccharomyces cerevisiae* (Hastings et al. 2016). Algunas de sus propiedades físicas y químicas se detallan a continuación en el Cuadro 2.

Cuadro 2

Propiedades químicas y físicas del escualeno.

Propiedades	Valor	Unidades
Peso molecular	410.7	$\text{g} \times \text{mol}^{-1}$
Punto de fusión	-75	$^{\circ}\text{C}$
Índice de refracción	1.5	N/A
Viscosidad 25 $^{\circ}\text{C}$	12	cp
Densidad	0.8	g/ml
Punto de ebullición 25 $^{\circ}\text{C}$	285	$^{\circ}\text{C}$
Tensión superficial	~32	mN/m
Temperatura de inflamabilidad	110	$^{\circ}\text{C}$

Nota. Tomado de "Methods for Obtaining and Determination of Squalene from Natural Sources" por Popa O et al. (2015)

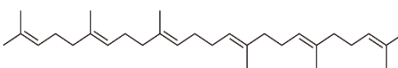
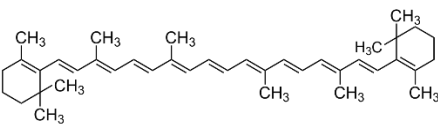
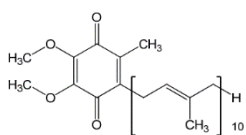
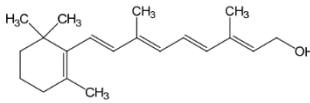
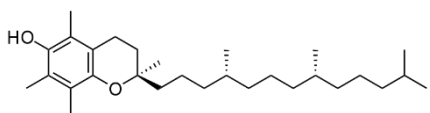
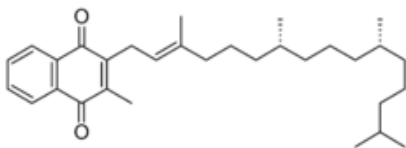
Muchos otros compuestos poliprenilo son estructuralmente similares al escualeno (Cuadro 3). Existen en la naturaleza y realizan funciones biológicas críticas. Estos incluyen el β -caroteno, la coenzima Q10 y las vitaminas A, E y K1, que se presentan aquí debido a sus beneficios para la fisiología de la piel, así como el escualeno. Por ejemplo, los animales utilizan grupos prenilo para formar la cadena lateral de la coenzima Q10 (Huang et al. 2009). Estos antioxidantes como el betacaroteno son isoprenoides o tienen una cola isoprenoide. Los compuestos bien conocidos que requieren un grupo prenilo para su síntesis incluyen las vitaminas A, D, E y K, los carotenos, y todos tienen propiedades antioxidantes (Ghimire et al. 2016). El escualeno participa en el metabolismo como precursor de la síntesis de esteroides y estructuralmente es bastante similar al betacaroteno, la coenzima Q10, las vitaminas K1, E y D mostrados en el Cuadro 3. El escualeno en la piel y el tejido graso proviene de la síntesis de colesterol endógeno, así como de los recursos dietéticos en las personas que consumen grandes cantidades de aceite de oliva y de pescado, especialmente hígado de tiburón (Gershbein y Singh 1969; Kim y Karadeniz 2012)

Los terpenos (o terpenoides) son un grupo de moléculas con una química, estructura y función extraordinariamente diversas. Dadas las muchas formas en que se puede ensamblar al patrón isoprenoide básico y los diferentes ambientes bajo las cuales los organismos han evolucionado, no es sorprendente que existan tantos terpenos en la naturaleza (Gershenzon y Dudareva 2007). De hecho,

hasta la fecha se han caracterizado más de 30.000 compuestos terpenoides, que constituyen el grupo más grande de productos naturales (Peñuelas y Munné-Bosch 2005).

Cuadro 3

Estructuras químicas del escualeno y compuestos análogos.

Nombre	Estructura	Fórmula molecular	Referencia
Escualeno		C ₃₀ H ₄₀	(Huang et al. 2009)
β-Caroteno		C ₄₀ H ₅₆	(Huang et al. 2009)
Coenzima Q10		C ₅₉ H ₉₀ O ₄	(Reddy y Couvreur 2009)
Retinol (Vit A)		C ₂₀ H ₃₀ O	(Reddy y Couvreur 2009)
Tocoferol (Vit E)		C ₃₁ H ₄₆ O ₂	(Huang et al. 2009)
Filoquinona (Vit K1)		C ₃₁ H ₄₆ O ₂	(Huang et al. 2009)

Fuentes de Obtención

Aceite de Hígado de Tiburón

El escualeno está presente como componente principal del aceite hepático de ciertas especies de tiburones de aguas profundas a una alta concentración (35 - 80%). Estos tiburones son relativamente pequeños (alrededor de 1 m de largo) y están perfectamente adaptados al hábitat de una profundidad de más de mil metros (Jame et al. 2010). Los tiburones lo utilizan para el buceo

profundo para poder respirar bien con pequeñas cantidades de oxígeno (Ofitserov 2001). Los estudios de décadas pasadas se centraron en el hígado de tiburón y su contenido de escualeno. Algunas de estas especies se enumeran en el Cuadro 4. Actualmente, los volúmenes de comercio de tiburones pesqueros están cerca de superar los niveles sostenibles (Clarke et al. 2006). Es por lo que es necesario extraer escualeno de fuentes vegetales y renovables (Czaplicki et al. 2011). Se necesitan 3000 tiburones para producir 1 tonelada de escualeno con 98% de pureza (Ciriminna et al. 2014).

Cuadro 4

Especies de tiburón y contenido de escualeno.

Especie de Tiburón	Escualeno (%)	Referencia
<i>Centroscyrnuscrepidater</i>	35.7-59.4	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Centroscyrnusowstoni</i>	37.1-53.1	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Centroscyrnuscoelolepis</i>	31.1-47.1	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Deaniacalcea</i>	43.4-66.1	(Deprez et al. 1990)
<i>Etmopterusbaxteri</i>	14.3-51.5	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Etmopterus sp. nov.</i>	20.8	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Dalatiaslichia</i>	43.4	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Centrophorussquamosus</i>	<0.01	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Centroscyrnusplunketi</i>	0.9	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Etmopterusgranulosus</i>	50.3-60.5	(Bakes y Nichols 1995)
<i>Deaniacalcea</i>	69.6	(Rosales-Garcia et al. 2017)
<i>Centroscyrnuscrepidater</i>	73	(Rosales-Garcia et al. 2017)
Tiburón de Nueva Zelanda	50-55	(Catchpole et al. 1997)
<i>Centrophorussquamosus</i>	65.5	(Kjerstad et al. 2003)
Tiburón Cubano	0.03	(Cruz-Nuñez et al. 2009)

En los últimos 40 años, el escualeno ha tenido gran interés como un compuesto importante en farmacia y cosmética; La pesca de *Squalus* spp. llegó tan lejos que, *Squalus acanthias*, *Squalus albifrons*, *Squalus brevirostris* están en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (The International Union for Conservation of Nature 2012)

OCEANA, la organización internacional de defensa y conservación de los océanos inició el programa de protección de los tiburones en 2005. La campaña logró que empresas de cosméticos grandes e importantes dieran un comunicado sobre de donde obtienen su escualeno. L'Oreal sostuvo que desde que usa escualeno a base de plantas como ingrediente de sus cremas, lociones y demás cosméticos.

Unilever® dijo que había dejado de usar aceite de tiburón en marcas importantes como Pond's® y Dove® hace algunos años y ahora se aseguraba de que los spas de belleza que posee la empresa en España hicieran lo mismo. Boots®, Henkel®, Sisley®, Estée Lauder® y Clarins® han tomado decisiones similares o nunca han utilizado fuentes de tiburones (OCEANA 2008).

Con el interés de proteger la biodiversidad, las materias primas de origen animal deben ser reemplazadas por fuentes alternativas vegetales. Es por lo que la industria cosmética debe verificar la autenticidad de la fuente de escualeno por espectrometría de masas de relación de isótopos (IRMS por sus siglas en inglés) es una técnica bien conocida y ampliamente utilizada para controlar la autenticidad del escualeno (Jame et al. 2010). El método se basa en la relación de isótopos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Las proporciones de isótopos estables de una molécula están directamente relacionadas con su origen (Vegetal, animal, fósil, sintético). Los resultados indicaron una clara diferencia isotópica entre las dos fuentes principales de Jame et al. (2010). Los mismos autores también propusieron la espectrometría de masas de relación de isótopos de combustión por cromatografía de gases (GC-C-IRMS, por sus siglas en inglés), que permitió a los fabricantes de cosméticos estar seguros de que el escualeno empleado en sus cosméticos es 100% de origen vegetal (Camin et al. 2010). Para los consumidores, esto aumenta significativamente la confianza que los productos que utilizan cumplen plenamente con las mejores normas industriales éticas y ecológicas (Jame et al. 2011).

La búsqueda de una fuente alternativa de escualeno se dirigió a los sustitutos a base plantas. El escualeno está ampliamente presente como componente de la fracción insaponificable de los aceites vegetales. Por el bajo nivel de escualeno en los aceites vegetales, no representa una fuente industrial viable. Aunque el aceite de oliva (*O. europaea*) contiene sólo un 0.6–0.7% de escualeno (Januszewska y Synowiecki 2008; Jame et al. 2010), se refinan físicamente grandes cantidades de aceite. Durante este proceso, la fracción insaponificable se concentra en el condensado de refino. Esto proporciona las bases de una fuente industrial de escualeno de oliva.

La producción industrial de escualeno a partir de aceite de oliva es considerablemente más complicada que la producción a partir de aceite de hígado de tiburón. Esto tiene un impacto significativo en los costos del escualeno de oliva en comparación con el escualeno obtenido del aceite de hígado de tiburón (Jame et al. 2010).

En el pasado, el escualano derivado del hígado de tiburón era uno de los humectantes de uso común en la industria cosmética. Una investigación realizada en 2012 por Bloom mostró que el 90% de la producción de aceite de hígado de tiburón en el mundo se destinaba a la industria cosmética, lo que correspondía a 2,7 millones de tiburones de aguas profundas capturados por año. La demanda del aceite de tiburón se debe a que se necesitan alrededor de 70 horas de tiempo de procesamiento para obtener escualano de aceite de oliva con una pureza superior al 92%. Sin embargo, solo se necesitan 10 horas para obtener escualano de tiburón con un 98% de pureza. Además, se pueden producir 50 kg de escualano de aceite de oliva a partir de 2,5 acres de tierra, lo que requiere mucha más mano de obra y tiempo. Esto puede explicar por qué el escualano derivado de plantas ha sido más caro que el escualano de tiburón (Bloom 2012; Karpuzoglu 2018).

La caza masiva de tiburones de aguas profundas provocó una disminución significativa de su población. En la década de 1990, el Consejo Europeo redujo drásticamente la pesca de especies de aguas profundas (Consejo de la Unión Europea 2007). Hoy en día, dado que las especies de tiburones se consideran en peligro crítico de extinción, y las agencias ambientales, así como los consumidores, se han vuelto cada vez más vocales sobre el uso de ingredientes de origen animal en cosméticos, la industria cosmética se ha estado moviendo hacia el uso exclusivo de escualano derivado de aceite vegetal libre de crueldad (Karpuzoglu 2018).

Aceite de Oliva

El aceite de oliva virgen es la principal fuente de grasas de la denominada dieta mediterránea. Sus propiedades sensoriales y bioactivas lo hacen distinguible de otros aceites comestibles. Los responsables de las propiedades bioactivas del aceite de oliva son su composición de ácidos grasos

(Principalmente ácido oleico) y compuestos menores. Los compuestos minoritarios del aceite de oliva están representados por polifenoles, tocoferoles, esteroides y triterpenos (Beltrán et al. 2016). En el aceite de oliva, el escualeno alcanza una concentración de 700 mg / 100 g con una variación de rango comprendida entre 90 y 870 mg / 100 g. Esta variabilidad de la concentración de escualeno puede deberse a algunos factores agronómicos como el cultivo, la madurez de la fruta y las condiciones agroclimáticas, los valores de escualeno se reducen a medida el fruto se va madurando (Beltrán et al. 2016).

Hoy en día, el aceite de oliva se convierte en una de las fuentes de escualeno vegetal más comercialmente explotada, pero su contenido no es suficiente para satisfacer la demanda (Samaniego-Sánchez et al. 2012). El aceite de oliva se produce a partir de frutos de aceituna por extracción física. Es considerado por los consumidores de todo el mundo como uno de los aceites vegetales más saludables, ya que existe una gran cantidad de evidencia sobre el papel del aceite de oliva en la prevención de enfermedades, principalmente en relación con las enfermedades cardiovasculares (Covas 2007; Pérez-Jiménez et al. 2007). Se atribuyen efectos beneficiosos para la salud del aceite de oliva gracias a su alto contenido de ácido oleico monoinsaturado, así como a la presencia de componentes menores como compuestos fenólicos, escualeno, tocoferoles y esteroides (Boskou 2009; Pérez-Jiménez et al. 2007). El escualeno, un producto intermedio de la biosíntesis de esteroides en plantas y animales, representa aproximadamente el 50% de la fracción insaponificable del aceite de oliva y es el hidrocarburo de mayor presencia con una concentración de 0.7 a 12 g por kg de aceite (Boskou 2009). El contenido de escualeno depende del cultivo y la tecnología de extracción del aceite y es drásticamente reducido durante el proceso de refinamiento (Tsimidou et al. 2002).

Por motivos económicos, la recuperación del escualeno directamente del aceite no es una opción viable. Por tanto, se ha propuesto su extracción a partir de subproductos de la industria aceitera de bajo costo, altamente disponible y con altas concentraciones de escualeno como lo es el

destilado desodorizado de aceite de oliva. Este sub-producto del refinamiento de aceite de oliva es uno de los más importantes por su contenido de ácidos grasos libres, fitoesteroles, tocoferoles, ésteres, hidrocarburos, aldehídos, ketonas y acilgliceroles (Akgün 2011). Dada sus propiedades, el escualeno sin duda alguna, es el componente más importante del destilado desodorizado de aceite de oliva. El proceso de refinamiento del aceite, donde se obtiene el destilado desodorizado, se puede resumir en la Figura 1.

En primer lugar, se realiza la obtención del aceite crudo, esta separación puede ser realizada por los siguientes métodos: Prensado, sistema trifásico, percolación y prensado en frío. El prensado es el método más antiguo, pero aún utilizado, mediante presión mecánica se extrae la fase líquida (Aceite + agua) de la oliva dando lugar a un mosto aceitoso y luego se separa la fase lipídica del agua por centrifugación. El sistema trifásico consiste en mezclar olivas maceradas con agua y someterlas a un decantador que separa la fase sólida de la fase líquida. Luego la fase líquida es sometida a centrifugación para separar el aceite del agua. La percolación consiste en separar la fase líquida de la pasta de oliva macerada mediante un plato de acero perforado, el líquido resultante es enviado a un decantador para la separación del aceite. El prensado en frío es la extracción de aceite de oliva a una temperatura menor de 25 °C (Tsimidou et al. 2002).

De acuerdo con Verleyen y colaboradores (2001), posterior a la obtención del aceite crudo, se realiza el refinamiento del aceite que puede ser por medios físicos o químicos. Este proceso es necesario en la mayoría de los casos, exceptuando el caso de los aceites extra vírgenes. Como lo mencionábamos anteriormente, el refinamiento del aceite busca eliminar sustancias indeseables o con efectos negativos en el aroma, sabor, aspecto y estabilidad del aceite.

La primera etapa del refinado consiste en el desgomado, dependiendo si es un refinado físico o químico, el desgomado puede ser realizado con agua o con ácidos. En el primer caso se agrega agua al aceite crudo y se eleva la temperatura a unos 70 °C bajo agitación para luego centrifugar y decantar el aceite.

En el caso del refinamiento químico, se calienta el aceite crudo a 60 °C y se agrega ácido cítrico bajo agitación. Luego se agrega hidróxido de sodio y agua, manteniendo la agitación. Por último, igual que en el primer caso, se realiza una centrifugación y decantación.

Luego se realiza un neutralizado adicionando hidróxido de sodio bajo agitación, se eleva la temperatura del aceite a 75 °C y se detiene la agitación para evitar romper la emulsión. Luego se realiza una centrifugación y lavados con agua ligeramente agitando la mezcla.

A continuación, se realiza un blanqueado del aceite desgomado y neutralizado. Se calienta a 95 °C a una presión de 50 mbar en un evaporador, se agrega y mezcla tierra blanqueadora agitando por 30 minutos y por último se filtra.

La desodorización es el último paso, consiste en una destilación con vapor y es donde obtenemos el destilado desodorizado. Por último, se somete este subproducto a una destilación al vacío para eliminar los ácidos grasos libres y aislar el escualeno obteniendo rendimientos entre el 92 y el 97%. En comparación con las 10 horas que aproximadamente se necesitan para extraer escualeno del aceite de hígado de tiburón, este proceso toma alrededor de 70 horas para el aceite de oliva (Camin et al. 2010).

Otra alternativa para evitar el calentamiento excesivo del aceite y el uso de solventes tóxicos es el uso de fluidos supercríticos de extracción. Las ventajas de este procedimiento son: La alta pureza del producto final y la reducción en el tiempo de la reacción dado que la extracción y concentración se dan en un solo paso. Algunas desventajas son los altos costos de los equipos necesarios para este proceso y los complejos parámetros operativos (Akgün 2011).

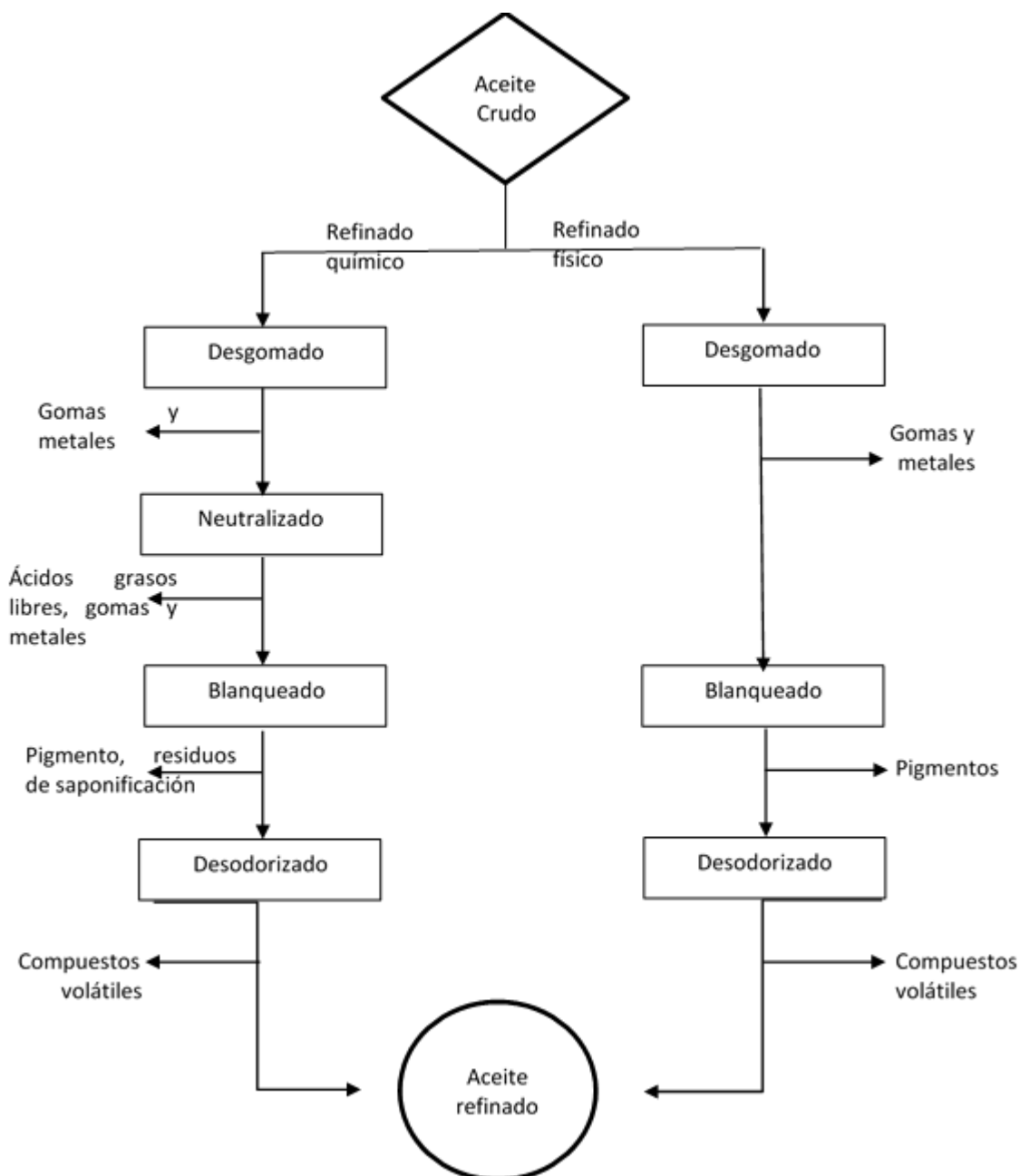
Amaranto

El *Amaranth sp.* es una planta muy conocida por su uso común, por sus beneficios gracias a la estructura química de las hojas y semillas. Fue ampliamente utilizado por Mayas, Aztecas e Incas (Piesiewicz y Ambroziak 1995; Rutkowska 2006). El amaranto contiene cantidades apreciables de

escualeno. Dependiendo de la variedad, el aceite obtenido de las semillas puede contener hasta un 8% de escualeno (Wolosiak et al. 2013).

Figura 1

Diagrama de flujo general del proceso de refinado de aceites vegetales crudos.



Nota. Tomado de "Methods for Obtaining and Determination of Squalene from Natural Sources" por Popa O et al. (2015)

Los estudios en diferentes cultivos transgénicos han demostrado que la modificación de la expresión de ciertos genes mejoró las plantas de cultivo y aumentó su resistencia a las bajas

temperaturas y salinidad del suelo (Hawrylak y Wolska-Mitasko 2007; Januszewska y Synowiecki 2008). La mejora genética del amaranto debería tender a aumentar el contenido de escualeno (Januszewska y Synowiecki 2008). El aceite de amaranto es altamente insaturado, contiene aproximadamente un 70% de fracción de ácido oleico y es una rica fuente de escualeno y tocotrienoles (Tikekar et al. 2008)

La Szarlat, empresa originaria de Polonia ha desarrollado una tecnología llamada método de prensado en frío. El método de prensado en frío es una tecnología única para producir aceite a partir de semillas de amaranto sin utilizar disolventes orgánicos. Al usar este método, el contenido y las propiedades del escualeno en el aceite de amaranto permanecen intactas, este ha permitido la extracción del aceite nativo llamado aceite virgen (Hawrylak y Wolska-Mitasko 2007).

Tabaco

Desde hace 13 años la producción de tabaco en Estados Unidos ha decrecido en un 62% debido al poco apoyo al precio de este, lo que ha tenido un gran impacto en las personas que cultivan tabaco (Teater 2015). El Censo de Agricultura de 2012 encontró que el número de granjas de tabaco disminuyó en un 82% de 56,977 en 2002 a 10,014 en 2012. La eliminación del apoyo al precio colocó a los productores de tabaco en un mercado incierto con precios riesgosos (USDA 2012). Es por eso, que en la busca de nuevas fuentes de oportunidad para el cultivo se encontró que puede ser utilizado para la producción de biodiesel, o para la producción de escualeno, siendo la segunda la mejor opción económica, ya que la demanda de este crece hasta un 26.4% anual (McPhee et al. 2014; Teater 2015).

La tecnología para producir escualeno a partir del tabaco fue desarrollada en 2011 por el Dr. Joshua Yuan de la Universidad Texas A&M (Maisashvili et al. 2016) , quien diseñó una vía vegetal única para convertir plantas de tabaco modificadas genéticamente para producir las largas cadenas de hidrocarburos necesarias para producir escualeno. Tradicionalmente, la biotecnología diseña plataformas sintéticas para convertir azúcares vegetales en hidrocarburos, que pueden usarse como biocombustible. En el laboratorio del Dr. Yuan, diseñaron la planta para producir directamente altos

niveles de hidrocarburos a partir de tabaco, sin pasar por los azúcares (Maisashvili et al. 2016). El tabaco, en el laboratorio se utiliza para producir directamente escualeno, que luego puede refinarse en combustibles pesados (Teater 2015). El Dr. Yuan estableció un rendimiento de laboratorio del 6.3% sobre la masa seca de escualeno. Aunque el escualeno no se extrae de la masa seca, este es el punto de referencia matemático del sector para determinar el rendimiento (Maisashvili et al. 2016). Actualmente, se está buscando modificar genéticamente la planta de tabaco para obtener un rendimiento del 20% (Teater 2015).

Escualeno del Cultivo de Microorganismos

Los microorganismos son una fuente interesante de escualeno ya que no es necesario cosechar en grandes porciones de tierra las microalgas (*Schizochytrium mangrovei*) representan una fuente alternativa viable de escualeno que alcanzan los 33 mg/g de peso seco celular, incluso cuando la biomasa es un residuo de la producción de biodiesel (Hoang et al. 2014).

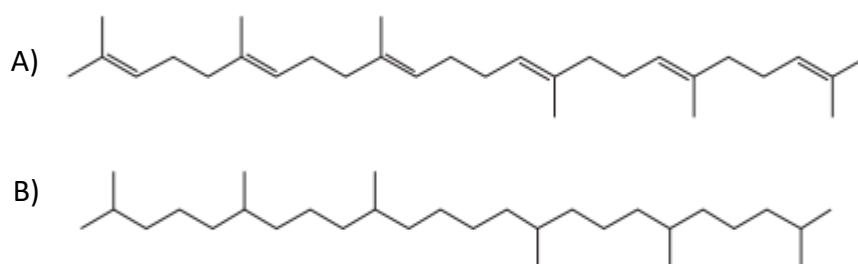
Una nueva cepa de levadura clasificada en el género *Pseudozyma*, aislada de agua de mar, es también una fuente de escualeno que produce 340.52 mg de escualeno/L con 40 g/L de glucosa y nitrógeno sódico como fuente de nitrógeno (Chang et al. 2008). La cepa *Schizochytrium* spp. CCTCC M209059 informa un contenido de escualeno similar al del aceite de tiburón. Debido a su rápido crecimiento y productividad es una fuente alternativa para la obtención de escualeno. Se recomienda una alta aireación para aumentar la síntesis de escualeno, los mismos autores determinaron que el escualeno mantiene el aceite estable (Ren et al. 2010). *Saccharomyces cerevisiae* silvestre puede acumular entre 0.62 mg/L de escualeno durante la fase de crecimiento estacionario y 3.4 mg/L de escualeno hasta el crecimiento exponencial, pero una cepa diseñada (llamada FOH-2) puede acumular más que la cepa silvestre, ya que el mecanismo de biosíntesis de escualeno está sobre expresado, y la sobreproducción de escualeno reprime la producción de etanol, regula negativamente la producción de etanol y las vías de biosíntesis post-escualeno en *S. cerevisiae*. (Rasool et al. 2016).

Escualano

Introducido por primera vez como emoliente a principios de la década de 1950 por la compañía francesa de ingredientes cosméticos Laserson & Sabetay (Sabetay 1955; Ciriminna et al. 2014), el hidrocarburo saturado escualano 2,6,10,15,19,23 hexametiltetracosano, $C_{30}H_{62}$, se obtiene mediante la saturación de los seis dobles enlaces en el escualeno lineal, todo trans altamente insaturado 2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22 tetracosahexano mostrado en la Figura 2 (Ciriminna et al. 2014).

Figura 2

Estructura química del escualeno (A) y escualano (B).



El escualeno y el escualano son componentes del sebo humano que comprenden 13 y 2.5%, respectivamente (Kim y Karadeniz 2012). La molécula de escualeno, de hecho, desempeña un papel crucial en la síntesis de esteroides humanos, particularmente en la biosíntesis del colesterol (Huang et al. 2009). Claro, incoloro, inodoro, insípido; el aceite de escualano es muy estable y no irritante. El escualano no sufre de los problemas de oxidación que tiene el escualeno. Las fuentes de escualano son aceite de oliva, caña de azúcar, aceite de amaranto, entre otros (Karpuzoglu 2018). Es un emoliente excepcional con una capacidad distintiva para penetrar en la piel humana actuando como un vehículo líquido, provocando la hidratación de la piel y aumentando la absorción percutánea de otras sustancias activas (Ciriminna et al. 2014).

Su primer nombre comercial fue Cosbiol, el escualano derivado del aceite de hígado de tiburón fue adoptado fácilmente por los formuladores de cosméticos para producir formulaciones presentes en cremas emolientes e hidratantes, maquillaje, lápiz labial y productos para el cuidado

personal de uñas y cabello (Laserson 2013). El aceite de escualano, de hecho, se emulsiona suavemente en todos los tipos de formulaciones siendo en gran medida compatible con otros ingredientes; Además, es resistente a la oxidación y su uso no requiere conservantes (Ciriminna et al. 2014). Se necesitan alrededor de 70 horas de procesamiento para obtener escualano de aceite de oliva con una pureza superior al 92%. Sin embargo, solo se necesitan 10 horas para obtener escualano de tiburón con un 98% de pureza. Además, se pueden producir 50 kg de escualano de aceite de oliva a partir de 1 hectárea de tierra, lo que requiere mucha más mano de obra y tiempo. Esto puede explicar por qué el escualano derivado de plantas ha sido más caro que el escualano de tiburón (Karpuzoglu 2018).

Dado que el escualano no se oxida, este aceite no comedogénico es ideal para pieles grasas o propensas al acné. En general, el escualano es un ingrediente perfecto para el cuidado de la piel para aquellas personas con piel extremadamente seca o sensible, así como para aquellas con tez propensa al acné o grasa pero deshidratada (Capitanio et al. 2014).

El escualano crea una barrera protectora de lípidos en la piel al impedir que la humedad se escape dejando la piel hidratada, también funciona como un emoliente natural para ayudar a llenar las barreras entre las células. Esto ayuda a que la piel se sienta más suave, fuerte y elástica, lo que ayuda a un cutis más saludable (Ciriminna et al. 2014; Karpuzoglu 2018). Incluso el escualano es producido naturalmente por el cuerpo, después de los 30 años, la producción de escualano se ralentiza drásticamente, lo que contribuye a que la piel se vea seca y sin brillo. Por lo tanto, sería ideal usar productos para el cuidado de la piel con escualano para ayudar a mantener la barrera lipídica y disminuir la sequedad (Capitanio et al. 2014).

Hidrogenación de Escualeno a Escualano

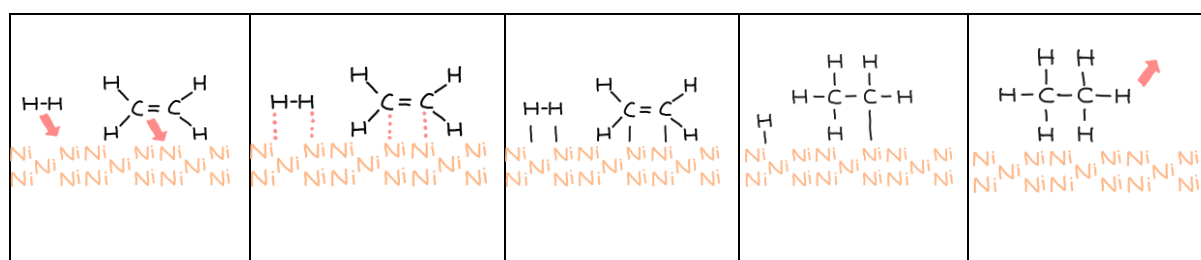
Escualano es un compuesto lipídico incoloro, inodoro, y sin sabor con una alta resistencia a la oxidación. Es conocido por actuar como un estimulante del sistema nervioso y por sus propiedades antioxidantes. Se utiliza en vacunas y tratamientos anticáncer (Garcia-Bermudez et al. 2019) y es un

emoliente excepcional con la habilidad de penetrar la piel humana actuando como un vehículo líquido (Ciriminna et al. 2014), por tanto, es un ingrediente muy importante en la industria cosmética, farmacéutica y nutraceutica (Kim y Karadeniz 2012).

El escualano se obtiene mediante la hidrogenación del escualeno. Por lo general, este proceso se realiza en un reactor discontinuo mediante un catalizador base níquel (Ni) o, recientemente, con catalizadores base paladio (Pd). Este procedimiento fue reportado por primera vez por Tsujimoto en 1916 al utilizar grandes cantidades de platino en éter dietílico con altas presiones de dihidrógeno (H_2). En la actualidad, el método industrial consiste en un catalizador de níquel y diatomita con 4 bar de presión de H_2 y a una temperatura de $200\text{ }^\circ\text{C}$ (Soni y Sharma 2016). En la Figura 3. se detallan las etapas de la hidrogenación bajo este método:

Figura 3

Proceso de hidrogenación con catalizador de níquel.



Nota. Adaptado de Brown (2000)

En primera instancia, las moléculas de H_2 y las saturaciones o sitios con dobles enlaces del hidrocarburo colisionan con el catalizador. Ambas son físicamente atraídas y separadas por fuerzas intermoleculares formando enlaces con el catalizador, a esto se le llama quimisorción. Luego, se forma un enlace entre los carbonos e hidrógenos dando lugar a la saturación de los carbonos. Eventualmente, la molécula es liberada del enlace con el catalizador y de esta manera sucede con todos los sitios de saturación del hidrocarburo o ácido graso.

Posterior a esto, se requiere de una purificación intensiva para remover el níquel que se lixivia al escualano y alcanzar los niveles permitidos para no presentar un problema de toxicidad. Esto y la rápida disminución de la actividad catalítica del níquel, son las principales desventajas de este

procedimiento (Soni y Sharma 2016). Por tanto, nuevas investigaciones han surgido para encontrar nuevos métodos de obtención de escualano. En el Cuadro 5, se detallan algunos aspectos relevantes, ventajas y desventajas de estos métodos novedosos.

Una de estas, realizada por Soni y Sharma en el 2016, consiste en el uso de arcillas montmorillonitas impregnadas con paladio (0.06 mmol de paladio por gramo de escualeno). Las condiciones del proceso fueron 200 °C a 4 bar de presión de H₂ por 6 horas sin el uso de solventes. Se demostró una alta selectividad y actividad catalítica con el uso de arcillas impregnadas con el metal (Pd) en la reducción química selectiva del escualeno. Las cantidades de paladio lixiviado a los productos del escualeno fue mínima (0.0311 ppm). Se recomienda el uso de arcillas montmorillonitas dado que conceden la posibilidad de modificar los cationes interlaminares y diferentes propiedades directamente relacionadas al desempeño de la hidrogenación como la acidez, el tamaño de los poros y el área de contacto.

Por otro lado, la investigación realizada por García en el 2019 incorpora el uso de tecnologías de impresión 3D en la optimización del proceso de reducción del escualeno. Esta consistió en diseñar y elaborar soportes que luego serían impregnados con paladio (2% p/p) y utilizarlos para contrarrestar algunas de las principales desventajas del método tradicional. Se encontró una mayor selectividad y actividad catalítica a 180 °C y 25 bar de presión de H₂ en un reactor continuo con un flujo de 250 g de fluido (75% escualeno:25% solvente orgánico) por hora. La desactivación del catalizador fue baja y no afectó la continuidad del proceso. La geometría utilizada en las estructuras 3D permitió una mejor difusión del escualeno y el dihidrógeno en la superficie del metal catalizador. También, permitió un mejor control de la tasa de reacción y reducción en la aparición de compuestos indeseables. Los niveles de paladio en el producto de la hidrogenación son menores a 5 ppb, por lo que no es necesario realizar un lavado como en el método tradicional para alcanzar los niveles seguros para su uso en productos cosméticos y farmacéuticos. Las estructuras tridimensionales optimizaron las condiciones

de la reacción y permitieron la producción de altas cantidades de escualano con un reactor más compacto y continuo.

Análisis del Escualano

En 2010, Jame y colaboradores en el laboratorio de análisis isotópico del Service Central d'Analyse (SCA, por sus siglas en inglés) pudo determinar la fuente del escualano utilizando mediciones isotópicas de carbono 13. Antes de esta fecha, los métodos se basaban en la búsqueda de impurezas específicas de tiburones o aceitunas. Dado que el escualano de tiburón es más puro que el escualano vegetal, era mucho más difícil observar los aditivos. La medición de relaciones orgánicas isotópicas estables de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ y $\text{H}/^1\text{H}$ es un método ampliamente utilizado para determinar la autenticidad y la fuente de ciertos ingredientes, por ejemplo, en perfumes y alimentos. Se realiza en un dispositivo llamado espectrómetro de masas de relación de isótopos (IRMS por sus siglas en inglés), este dispositivo midió la relación isotópica de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de dióxido de carbono (CO_2) obtenido al quemar el material orgánico. La relación medida se compara con un estándar y se expresa en porcentaje $\delta^{13}\text{C}$, correspondiente a la diferencia en partes por mil entre la muestra (Jame et al. 2010).

Para el carbono 13, el estándar internacional es un carbonato de calcio llamado VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite). Tiene una relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ más alta que la mayoría de los otros compuestos orgánicos, lo que explica por qué las mediciones de $\delta^{13}\text{C}$ son casi siempre negativas. Por ejemplo, los olivos pertenecen a un grupo de plantas con un metabolismo del ciclo de Calvin Tipo C3 y su $\delta^{13}\text{C}$ está cerca del -28%. Por el contrario, el $\delta^{13}\text{C}$ del escualano derivado de los tiburones es aproximadamente -20%. Este valor no depende ni de la ubicación donde se capturó el tiburón ni de su especie, y una diferencia de 8% entre las dos fuentes de escualano es estadísticamente significativa de modo que se pueda verificar la fuente.

Cuadro 5

Métodos de hidrogenación de escualeno a escualano.

Aspectos	Catalizadores a base de níquel	Catalizadores a base de paladio	Catalizador con impresión de soportes 3D	Nano partículas de paladio incorporadas en arcilla montmorillonita
Elemento utilizado	Níquel	Paladio	Paladio impregnado en pellets o espumas elaborados con impresora 3D	Paladio incorporado en arcillas montmorillonitas
Condiciones de la reacción	200 °C y 4 bar de H ₂ (Soni y Sharma 2016)	160 °C bajo 150 bar de H ₂ (Ciriminna et al. 2014)	Mayor selectividad a 180 °C y 25 bares de presión (H ₂) (Garcia-Bermudez et al. 2019)	Mayor reactividad y selectividad a 200 °C y 4 bar de presión (Soni y Sharma 2016)
Ventajas	Dado que se busca una saturación de los dobles enlaces, el níquel por su bajo precio es el reactivo más utilizado en la industria (Ciriminna et al. 2014)	Existen catalizadores de paladio reforzados y disponibles para la reacción (Ciriminna et al. 2014)	La geometría de la espuma o los pellets promovió la difusión del escualeno e hidrógeno en la superficie del metal (Garcia-Bermudez et al. 2019) Se puede controlar la tasa de reacción y prevenir la formación de isómeros indeseables (Garcia-Bermudez et al. 2019) Niveles de Pd en lixiviados, seguro para uso en cosméticos (Garcia-Bermudez et al. 2019)	Los costos y disponibilidad de las arcillas las convierten en buenas opciones como catalizadores de diferentes reacciones químicas (Soni y Sharma 2016) El paladio incorporado en la arcilla demostró alta actividad catalítica y selectividad en la reducción del escualeno (Soni y Sharma 2016)
Desventajas	Reacción altamente exotérmica (Garcia-Bermudez et al. 2019) Rápida inactivación del níquel y lixiviados que requieren purificación (Garcia-Bermudez et al. 2019)	La reacción no es selectiva sin la presencia de un solvente (Soni y Sharma 2016) Se da una rápida degradación del catalizador (Ciriminna et al. 2014)	Agregación de moléculas de Pd después de 40 horas de reacción continua (Garcia-Bermudez et al. 2019)	Los catalizadores (arcilla y paladio) deben de ser pretratados en una atmosfera de H ₂ por 3 h a 300 °C (Soni y Sharma 2016) El catalizador debe de ser aislado por centrifugación y secado para su reutilización (Soni y Sharma 2016)

Lo mismo ocurre con las comparaciones entre el escualano derivado del tiburón y la caña el valor isotópico es cerca de -10%. La industria cosmética europea se ha beneficiado del desarrollo de este nuevo método para verificar la autenticidad de los ingredientes que integran sus productos (Jame et al. 2010).

Biosíntesis de Escualano a Partir de Azúcar de Caña

A pesar de los diversos esfuerzos realizados por los investigadores para encontrar una opción apropiada para reemplazar el escualeno obtenido del hígado de tiburón, las cantidades obtenidas a partir de fuentes como el aceite de oliva no son suficientes. El uso comercial de escualano se ha visto limitado por un suministro inconsistente y los cambios en precios resultante, pero la biotecnología moderna ha podido aprovechar las reacciones químicas catalizadas por enzimas que se encuentran en la naturaleza junto con los pasos de procesamiento químico tradicionales para crear una fuente de alta calidad de escualano renovable a partir de caña de azúcar (McPhee et al. 2014).

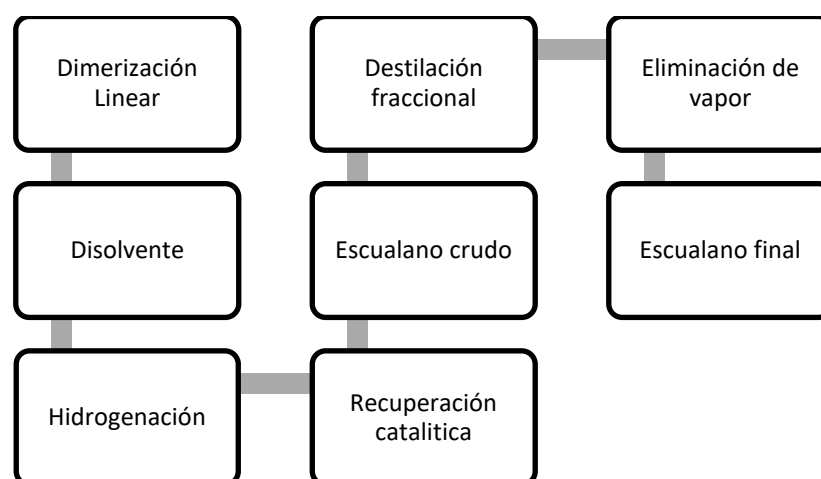
Un avance mayor fue dado con el desarrollo y comercialización de fitoescualeno obtenido a partir de trans- β -farneseno que, a su vez, es sintetizado de la fermentación de azúcar de caña por cepas genéticamente modificadas de *Saccharomyces cerevisiae* (Ciriminna et al. 2014). La empresa Amyris, desarrolló esta biotecnología para producir fitoescualano a partir del azúcar de caña derivado de microorganismos en su primera instalación industrial en Brasil (Fisher et al. 2011) comercializado con el nombre de Neossance[®]. El producto es obtenido de forma sostenible y está aprobado por el organismo ECOCERT. Este nuevo fitoescualano tiene el potencial de reemplazar al escualano extraído del aceite de oliva, ya que una hectárea de una plantación de caña de azúcar puede producir hasta 2.5 toneladas de escualano frente a 50 kg de escualano obtenidos de una extensión de tierra similar plantada con olivos. Amyris está revolucionando la industria cosmética al proporcionar ingredientes sostenibles derivados del azúcar con un rendimiento superior. Sus productos Neossance[®] Escualenoualane y Hemiescualenoualane (Alternativa a la ciclometicona) se encuentran entre los mejores emolientes del mercado (SAPCR 2016). Otras empresas como Nucelis utilizan glicerol en lugar

de sacarosa como materia prima para producir escualeno y escualano en un proceso de fermentación similar al de la levadura modificada genéticamente (Walker et al. 2013). En los últimos años, se ha desarrollado un nuevo enfoque basado en la vía isoprenoide (Chandran et al. 2011 ; Zhao L et al. 2013) para permitir la fabricación a escala comercial de escualano a partir de azúcares fermentables. El β -Farneseno, el bio-precursor sintético del escualeno, se produce a escala industrial por fermentación utilizando la levadura no patógena *Saccharomyces cerevisiae* genéticamente modificada. Luego el farneseno es convertido en escualeno mediante una dimerización catalítica con paladio. Por último, el escualeno es hidrogenado a escualano que alcanza un nivel de pureza del 92-93% y 4% de isoescualano (Cuadro 4).

Esto, a su vez, evita la necesidad de aislar escualeno lipófilo y oxidativamente inestable de la biomasa de fermentación. Las tecnologías de hidrogenación y purificación existentes se pueden utilizar para fabricar escualano de alta pureza (McPhee et al. 2014). En la Figura 4, se muestra una descripción general de este proceso.

Figura 4

Diagrama de flujo del proceso para el escualano derivado del azúcar.



Nota. Tomado de la investigación de MCPhee et al. (2014)

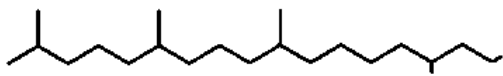
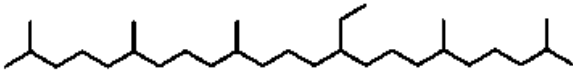
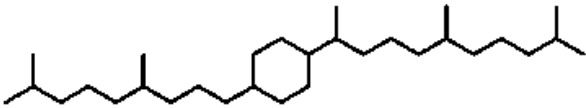
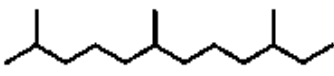
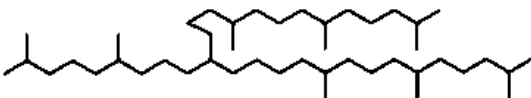
Hay varias ventajas en este proceso de fabricación, es renovable y de base biológica, certificado por el Departamento de Agricultura de EUA (USDA). El proceso también es reproducible, y

junto con la disponibilidad de materia prima, asegura la producción confiable y sostenible de escualano. El proceso de fabricación estrictamente controlado garantiza la consistencia de un lote a otro, tanto desde el punto de vista químico como sensorial (Fisher et al. 2011).

Dado que la materia prima β -farneseno, un producto de fermentación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada en el acoplamiento químico es un hidrocarburo de alta pureza, a diferencia del escualeno natural que contiene ciertas impurezas, los productos y subproductos de este proceso también son hidrocarburos. El Cuadro 6, extraído de la investigación de McPhee et al. (2014), muestra los principales productos del proceso de extracción de escualano de caña de azúcar y sus cantidades típicas.

Cuadro 6

Composición del escualano derivado de la caña de azúcar.

Componente	%	Estructura
Escualano	92-94	
Isoescualano	3-5	
Monocicloescualano	1-3	
Hemiescualeno	0-1	
Sesquiescualeno	0-1	

Nota. Tomado de la investigación de McPhee et al. (2014).

En el Cuadro 7 se muestra que el escualano derivado del azúcar, como el escualano de tiburón de alta pureza, está compuesto por un 99% de hidrocarburos C_{30} y se asemeja mucho a las características de rendimiento del aceite de oliva en cuanto a su olor, densidad, índice de refracción y viscosidad, siendo el de caña de azúcar renovable y sostenible.

Dado que la materia prima en la etapa final de hidrogenación es de una pureza más alta que la que es posible a partir de otras fuentes, el grado de saturación del escualano resultante, como lo indican los índices de bromo, también es notablemente más alto, por lo que se puede anticipar una estabilidad oxidativa mejorada (McPhee et al. 2014).

Cuadro 7

Comparación de la composición de escualano obtenido de diferentes fuentes.

Contenido de escualano $C_{30}H_{62}$	Contenido de C_{30}	Constituyentes menores
Escualano de tiburón	~99%	Ninguno.
Escualano de aceite de oliva	~94%	Ésteres de fitoesteroles y ceras de cadena larga,
Escualano de caña de azúcar	~94%	Isómeros C_{30} de escualano

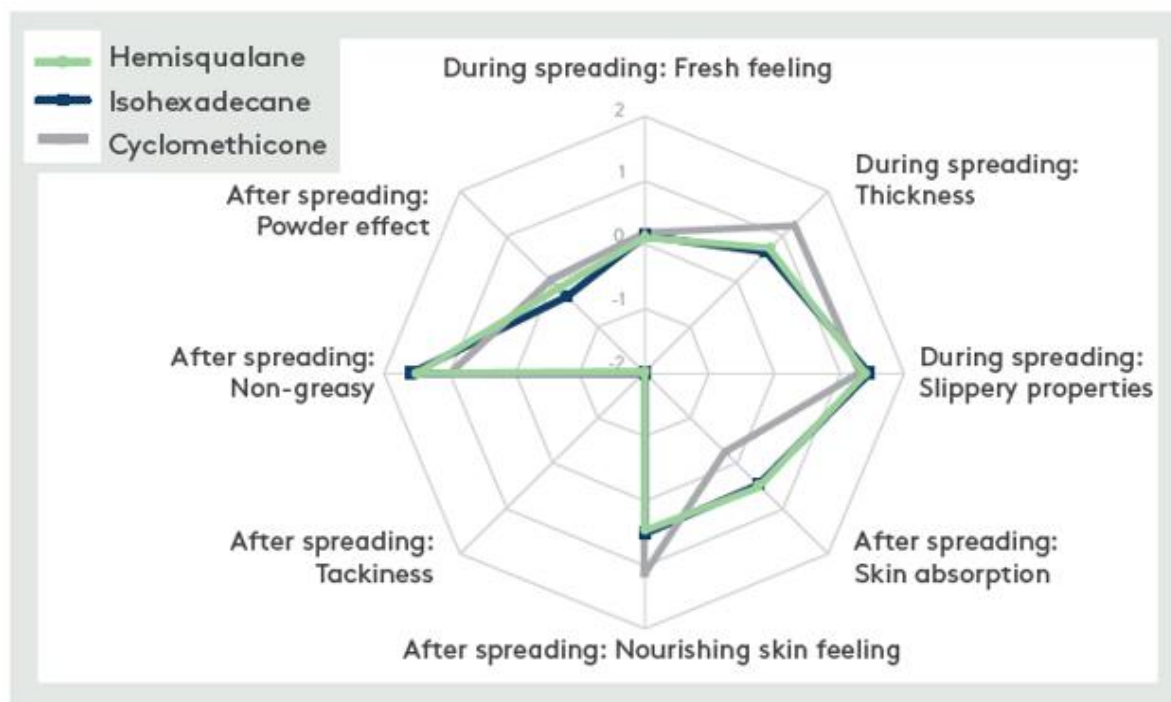
Nota. Tomado de la investigación de MCPhee et al. (2014)

Neossance™ Hemiescualano es la alternativa sostenible y de origen natural (caña de azúcar) a la ciclometicona, silicona ampliamente usada en la industria cosmética. Como ingrediente sostenible en suministro prácticamente ilimitado, forma la columna vertebral estratégica para aplicaciones en el cuidado de la piel, el cuidado del cabello, el cuidado solar, desmaquillantes y cosméticos (Aprinova 2019).

En la Figura 5, se hace una comparativa sensorial de las principales similitudes con siliconas ampliamente utilizadas en la industria cosmética como isohexadecano y ciclometicona. Podemos observar que el compuesto obtenido mediante la fermentación del azúcar de caña posee propiedades de absorción en la piel e hidratación muy similares al isohexadecano y la ciclometicona al ser aplicados en productos cosméticos para el cuidado de la piel.

Figura 5

Análisis sensorial comparando al isohexadecano, ciclometicona y hemiescualano.



Nota. Tomado de la investigación de Aprinnova (2019).

Escualeno, la Industria Cosmética y Farmacéutica

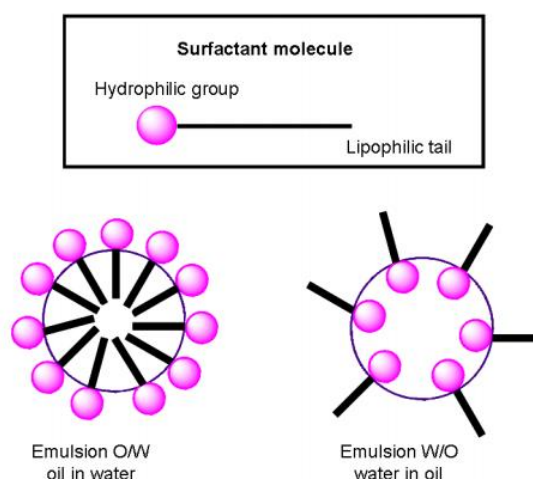
Emulsiones Lipídicas

Las emulsiones de lípidos son sistemas de administración de fármacos potencialmente interesantes debido a su capacidad para incorporar fármacos con escasa solubilidad dentro de la fase de dispersión (Chung H et al. 2001). Una emulsión es una mezcla de dos líquidos inmiscibles. Las emulsiones de lípidos se han estudiado como portadores de fármacos parenterales para la liberación sostenida y la selección de órganos. Mediante el uso de emulsiones de lípidos, también se puede evitar el contacto directo del fármaco con los fluidos corporales y los tejidos para minimizar los posibles efectos secundarios (Nicolaos 2003). Chung et al. (2001) prepararon emulsiones de lípidos de tipo aceite en agua para investigar los efectos de diferentes aceites sobre el tamaño y la estabilidad de las partículas de la emulsión. Se demostró que el escualeno forma emulsiones estables cuando se carga un fármaco lipofílico en la fase oleosa discontinua. Aunque la actividad de transfección *in vitro* de las emulsiones fue menor que la de los liposomas en ausencia de suero, la actividad de las emulsiones de

escualeno, por ejemplo, fue aproximadamente 30 veces mayor que la de los liposomas en presencia del 80% (v / v). suero ($p < 0.05$). En la Figura 6, se representa la manera en que el escualeno actúa como una molécula surfactante y emulsionante lipídico.

Figura 6

Escualeno como vehículo portador de fármacos: Emulsiones lipídicas.



Nota. Tomado de la investigación de Huang et al. (2009)

Kim (2003), encontró que una emulsión de escualeno tenía la actividad de transfección más potente y mostraba la menor citotoxicidad en un modelo de ratón después de la administración intravenosa. El escualeno como componente oleoso puede mejorar la estabilidad de las emulsiones catiónicas de forma más eficaz, lo que podría ser útil para la transferencia de genes *in vitro* e *in vivo*. Además, Wang et al. (2006) indicaron que las emulsiones con escualeno, en la fase oleosa pueden actuar como un sistema de suministro de fármaco parenteral potencial para nalbufina (Analgésico opioide) y sus profármacos. El escualeno como fase oleosa produjo el tamaño de partícula más pequeño en comparación con el aceite de coco. En el estudio *in vivo* la actividad analgésica de las emulsiones se examinó mediante una prueba de movimiento de la cola con etanol frío. El sistema de escualeno mostró la capacidad de proporcionar un suministro controlado para prolongar la duración del analgésico en ratas. La toxicidad determinada por hemólisis de eritrocitos también fue baja para las emulsiones de escualeno.

Los transportadores de fármacos ofrecen varias ventajas: permiten la administración de compuestos poco solubles, protegen los fármacos del metabolismo plasmático indeseable, mejoran la semivida, modifican la biodistribución, reducen la toxicidad y facilitan la focalización del fármaco (Couvreur y Vauthier 2006; Soppimath et al. 2001). Los lípidos han ganado una atención significativa a los efectos de la administración de fármacos por una amplia variedad de razones que incluyen biocompatibilidad, inercia, no toxicidad y capacidad para fusionarse con las membranas celulares o para transportar compuestos biológicamente activos a través de la membrana celular (Reddy y Couvreur 2009).

Agente Administrador de Fármacos

Durante los estudios experimentales realizados para verificar el efecto potencial contra el cáncer y los tratamientos antitumorales, se observó que el escualeno en combinación con otros compuestos mejora la efectividad de los fármacos y la respuesta inmune al antígeno. se llevó a cabo una investigación en la búsqueda de tratamientos específicos para dilucidar la forma de actuar y la ubicación específica para la entrega de fármacos en el cuerpo humano. La naturaleza química no tóxica de los lípidos se considera excelentes portadores por su capacidad para penetrar en la membrana celular (Lozano-Grande et al. 2018). El escualeno por su naturaleza lipídica ha sido eficaz en la preparación de emulsiones y conjugados para la liberación de fármacos, con un efecto prolongado en la vida útil. El escualeno puede prepararse en emulsiones, solo o como ingrediente secundario. Se han propuesto emulsiones de agua/escualeno con polisorbato 80 para las vacunas antigripales y emulsiones de lecitina-escualeno con Tween 80 eficaz para la inducción de anticuerpos (Kim y Karadeniz 2012). Wang et al. (2006) informaron sobre emulsiones escualeno con fosfatidiletanolamina o Pluronic® F68 que prolongan la liberación de morfina y mantienen la actividad analgésica en modelos animales *in vitro*. Otras sustancias como el hidróxido de aluminio, el sulfato de aluminio y los aceites minerales se han utilizado anteriormente para la preparación de vacunas, pero han sido ineficientes en la acción contra el antígeno, provocando una variedad de patologías como la

formación de granulomas de inyección o desarrollo de tumores (Reddy y Couvreur 2009). Una emulsión prometedor, conocida como MF59, ha sido desarrollada por la empresa Novartis®, que está formulada sobre aceite en agua (o/w) con escualeno (fase dispersa al 4,3%), tensioactivo Span85, Tween 80 y citrato en fase continua. Esta emulsión ha sido desarrollada como ayuda y estimulante del sistema inmunológico. Su eficacia se ha demostrado en varias vacunas como la malaria, la hepatitis B, la hepatitis C, el herpes, el citomegalovirus e incluso en el VIH y el virus pandémico H1N1 (Kim y Karadeniz 2012; Lippi et al. 2010).

Otras ventajas de escualeno se han encontrado en emulsiones terapéuticas para transportar y suministrar fármacos poco solubles ya que modifican la biodistribución y reducen la toxicidad, facilitando la focalización del fármaco. Estos lípidos conjugados formados por enlaces covalentes han ganado importancia en el mercado como es el caso del ácido docosahexaenoico conjugado con Paclitaxel (Taxoprexin®) o cardioplipina conjugada con gemcitabina, que ha demostrado mejorar la cinética del fármaco y aumentar el índice terapéutico (Chen P et al. 2006; Payne et al. 2006), El proceso de transporte del fármaco se ha denominado escualenilación, una técnica basada en la propiedad de la escualeno de proteger (o revestir) los compuestos anticancerígenos y antivirales para introducirlos en la célula e inducir su actividad citotóxica (Couvreur y Vauthier 2006).

La escualenilación ha permitido la formación de nanoconjuntos (100–300 nm) cuando se ensamblan en agua sin la adición de tensioactivos. Se ha demostrado que los efectos anticancerígenos de la escualenilación son superiores en células cancerosas humanas *in vitro* e *in vivo* de células murinas con leucemia (Couvreur y Vauthier 2006), sin embargo, queda mucho por investigar en modelos *in vivo*. El escualeno un compuesto de eficaz absorción en la superficie de la piel, restaurándola sin dejar residuos grasos. Se ha informado que escualeno se utiliza como fijador para perfumes y la elaboración de labiales porque acelera la dispersión del tinte y produce mayor brillo (Wołosik et al. 2013). Cuando se aplica escualeno sobre el cabello y la piel expuestos al sol, ayuda a restaurar la grasa perdida y forma fácilmente emulsiones con otras sustancias lipofílicas lo que permite no oxidarse rápidamente

(Wołosik et al. 2013). El escualeno es un constituyente natural de la piel, que tiene un efecto hidratante que contrarresta la aparición de arrugas y quemaduras mediante la fijación de moléculas de agua en la superficie de la piel. Este efecto se demostró con una sustancia sintética como el vérnix caseoso (Material graso que se encuentra en la piel de un recién nacido) compuesto de escualeno en mezcla con otros lípidos, colesterol, triglicéridos, ceramidas y ácidos grasos. Su aplicación fue exitosa y recomendada como crema contra el efecto barrera de la psoriasis (Huang et al. 2009). Otras afecciones que pueden tratarse con aplicaciones tópicas escualeno son la dermatitis seborreica y el acné, que controla la cantidad de ácidos grasos insaturados en la piel y reduce la afección (Wołosik et al. 2013). El uso de escualeno en la industria farmacéutica y cosmética es amplio, aunque se necesita más investigación relacionada con los efectos adversos en aplicaciones cutáneas.

Papel Biológico del Escualeno y Escualano

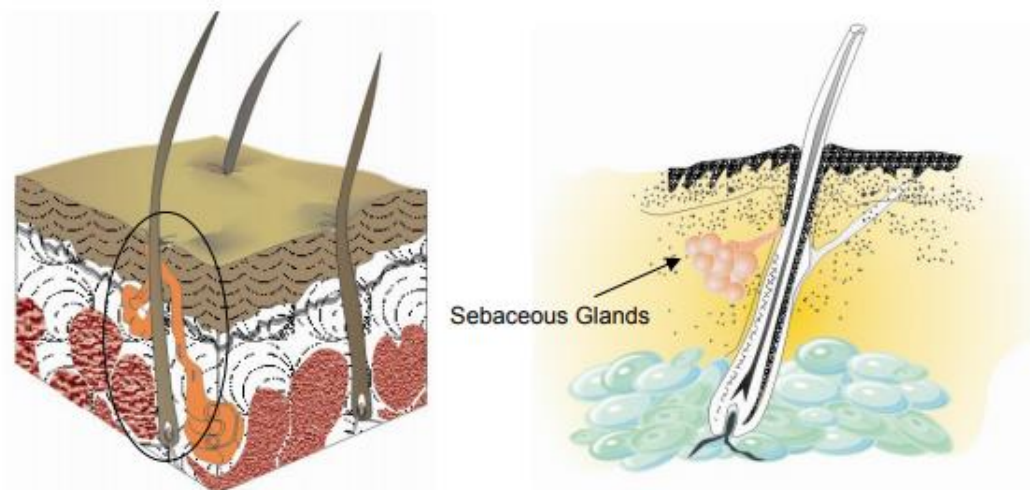
La piel humana está continuamente expuesta a factores ambientales, incluida la radiación de luz ultravioleta (UV) a través de la luz solar. La piel tiene pequeñas glándulas llamadas glándulas sebáceas que segregan sebo, materia rica en lípidos a través de los folículos pilosos para lubricar y proteger la piel y el cabello (Wołosik et al. 2013). En la Figura 7, se presenta una vista en sección de la piel con glándulas sebáceas. Se podría considerar que, debido al alto contenido de lípidos de la piel humana (Cuadro 8), debería ser bastante susceptible al estrés oxidativo inducido por la radiación UV. Sin embargo, según varios estudios, se sugiere que la protección natural de la piel contra esta alta exposición la lleve a cabo el escualeno, que es uno de los componentes principales de la piel humana (Kohn et al. 1995). El sebo de nuestra piel es un semifluido compuesto por una mezcla de triglicéridos, colesterol, ceras éster y escualeno. El sebo protege nuestra piel de la pérdida de humedad haciendo que nuestra piel sea funcional, suave y flexible. El sebo de nuestra piel contiene 13% de escualeno y 2.5% de escualano (Cuadro 8) como componentes (Karpuzoglu 2018).

En los seres humanos, el sebo se encuentra en mayor abundancia en la cara y el cuero cabelludo, aunque se distribuye por todos los sitios de la piel excepto las palmas y las plantas de los

pies. El escualeno es uno de los componentes predominantes con aproximadamente un 13% de la composición del sebo (Pragst et al. 2004).

Figura 7

Vista en sección de la piel con glándulas sebáceas.



Nota. Tomado de la investigación de Huang et al. (2009)

El potencial cosmecéutico del escualeno ha aumentado considerablemente después de los estudios que demostraron que el escualeno existía ampliamente en el sebo humano, la grasa del cabello y otros lípidos de la superficie (Passi et al. 2002). Además de los estudios cosmecéuticos, el escualeno se considera un compuesto importante para las actividades quimioprotectoras y nutracéutico (Das B et al. 2003).

Cuadro 8

Composición del sebo en humanos.

Sustancias	Composición (%)
Esteres de cera	25
Escualeno	13
Colesterol	3
Triglicéridos, ácidos grasos libres, diglicéridos	57
Escualano	2.5

Nota. Tomado de la investigación de Huang et al. (2009).

Por otro lado, el escualano es un derivado saturado del escualeno que también se identificó en el sebo humano. Sus propiedades inertes y su baja toxicidad sugerida en comparación con su

análogo escualeno ganaron la atracción de los investigadores, especialmente en el área de los cosméticos (Allison 1999). Las propiedades emolientes e hidratantes del escualano abrieron camino en el área nutracéutica y cosmeceútica gracias a su pariente insaturado, el escualeno.

Tras el descubrimiento del escualeno, el aceite de hígado de tiburón ha sido considerado como la principal fuente de escualeno junto con el aceite de oliva, que también incluye el escualeno como un hidrocarburo principal (Gershbein y Singh 1969). Hasta la fecha, el escualeno se ha investigado extensamente y se ha informado que desempeña un papel crucial en la síntesis de esteroides, especialmente colesterol en la dieta en humanos. Por su importancia en los animales marinos, como los tiburones de aguas profundas, el escualeno también ha sido probado por sus bioactividades beneficiosas, incluidos los efectos antioxidantes, antitumorales y citoprotectores (Auffray 2007; Passi et al. 2002; Rao et al. 1998).

El escualeno en la piel y el tejido graso proviene de la síntesis de colesterol endógeno, así como de los recursos dietéticos en las personas que consumen grandes cantidades de aceite de oliva y de pescado, especialmente hígado de tiburón (Gershbein y Singh 1969). La síntesis endógena de escualeno comienza con la producción de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG CoA). La reducción inicial de HMG CoA (Una reacción dependiente de niacina) da como resultado la formación de mevalonato (Charlton-Menys y Durrington 2007).

El escualeno participa en el metabolismo como precursor de la síntesis de esteroides y estructuralmente es bastante parecido al β -caroteno, la coenzima Q10, las vitaminas K1, E y D. El escualeno es sintetizado por el escualeno sintasa que convierte dos unidades de pirofosfato de farnesilo, precursor directo de terpenos y esteroides, en escualeno. Como secosteroide, la biosíntesis de vitamina D también está regulada por el escualeno. Además, el ser precursor de cada familia de esteroides hace que el escualeno sea un componente crucial del cuerpo. El escualano también existe en la composición de sebo, debido a sus propiedades únicas y su naturaleza más estable como producto industrial que el escualeno, el escualano es altamente preferible en los enfoques

cosmecéuticos y nutracéuticos. El escualano se sintetiza principalmente por hidrogenación de escualeno derivado de una variedad de fuentes naturales con la creciente demanda de escualano en el área industrial (Kim y Karadeniz 2012).

Efectos del Escualeno en la Piel

Es uno de los grandes emolientes de la naturaleza, el escualeno se absorbe rápida y eficazmente en las profundidades de la piel, devolviéndole la flexibilidad sin dejar un residuo graso (McPhee et al. 2014). Los emolientes proporcionan un método seguro y eficaz de mejora de la barrera cutánea porque proporcionan a la piel una fuente de lípidos exógenos, mejorando sus propiedades de barrera (Simpson EL. et al. 2014). Blasco en 2006, investigó nuevas emulsiones cosméticas con moléculas biomiméticas utilizando diseños experimentales. Ese estudio determinó la composición óptima de una mezcla de escualeno en una emulsión de aceite en agua. Para ello se midió la estabilidad, centrifugación, viscosidad y pH del escualeno y se realizó un análisis microscópico. Los resultados mostraron que la estabilidad y la viscosidad de las emulsiones fue mejor cuando las muestras tenían mayores porcentajes de escualeno.

Como emoliente, se espera que el escualeno aumente la hidratación de la piel debido a las oclusiones de la superficie de la piel. Además, el escualeno es una sustancia que se cree que mantiene la humedad en el estrato córneo. Se investigaron nuevos sustitutos del vérnix caseos, que es una crema protectora de barrera altamente eficaz para facilitar la hidratación del estrato córneo en pieles con deficiencia de barrera. Para ello, se mezclaron varias fracciones de lípidos con escualeno, triglicéridos, colesterol, ceramidas y ácidos grasos para producir una mezcla que puede generar composiciones similares de vérnix caseoso (Rissmann et al. 2008) . Según los resultados, las mezclas que incluían escualeno ayudaron a aumentar la barrera para mantener la hidratación de una manera comparable al vérnix caseoso. La piel humana y de rata tratada con lauril sulfato de sodio al cinco por ciento mostró una mayor pérdida de agua transepidérmica y penetración de riboflavina. Sin embargo, el tratamiento con escualeno revierte los efectos del lauril sulfato de sodio.

El escualeno de origen vegetal se puede utilizar en cosméticos y productos de cuidado personal de acuerdo con las disposiciones generales de la Directiva sobre cosméticos de la Unión Europea. El panel de expertos en revisión de ingredientes cosméticos señaló que los estudios indicaron que el escualeno se absorbía lentamente a través de la piel. La toxicidad del escualeno por todas las vías fue baja. A concentraciones del 100%, el compuesto no es irritante para la piel y los ojos. Los productos que contienen escualeno no son irritantes ni sensibilizadores dérmicos (Wołosik et al. 2013).

Tratamiento de Enfermedades de la Piel

La dermatitis seborreica y el acné son unos de los trastornos cutáneos más comunes. La cantidad correcta de ácidos grasos insaturados libres (Ácido linoleico) asegura la densidad, fluidez y viscosidad adecuadas del sebo humano. Si el sebo es suficientemente líquido y poco viscoso, fluye libremente por la superficie de la piel y causa engrosamiento de la capa externa de la piel conocida como hiperqueratosis (Jurkowska 2011; Wołosik et al. 2013). Es importante el porcentaje de triglicéridos y escualeno, ya que, cuanto más escualeno, menos cambios en la piel por acné se presentan (Jurkowska 2011).

El escualeno se usa a menudo en cosméticos contra el acné ya que cambia la composición de la capa lipídica de la piel; cuando aumenta el contenido de escualeno, las grasas se reducen adecuadamente (Jurkowska 2011). El escualeno se usa a menudo en cosméticos contra el acné que cambian la composición de la capa lipídica de la piel; cuando aumenta el contenido de escualeno, la grasa se reduce adecuadamente (Wołosik et al. 2013).

La acción protectora del escualeno con alquilglicerol frente a infecciones bacterianas y fúngicas indica que podría recomendarse para pacientes que padecen dermatitis atópica. Los pacientes con xerosis y alteraciones de la barrera cutánea son fácilmente susceptibles a la dermatitis atópica (Jurkowska 2011; Wołosik et al. 2013).

Antioxidante

Se ha informado que el escualeno posee propiedades antioxidantes. La evidencia experimental *in vitro* indica que el escualeno es un agente eliminador de oxígeno muy eficaz. Después del estrés oxidativo, como la exposición a la luz solar, el escualeno funciona como un eficaz inhibidor del oxígeno singlete y previene la correspondiente peroxidación lipídica en la superficie de la piel humana (Kelly 1999; Wołosik et al. 2013). Otros estudios han demostrado el efecto del escualeno en la reducción del anión superóxido. Estos resultados sugieren el posible papel en el alivio de la irritación de la piel (Huang et al. 2009). Recientemente se ha sugerido la aplicación tópica de antioxidantes como terapia preventiva para el foto-envejecimiento de la piel y el cáncer inducido por los rayos UV (Saint-Leger et al. 1986; Wołosik et al. 2013). Se sabe que el tratamiento de la piel con aceites ofrece una protección considerable contra las quemaduras solares debido a una fuerte banda de absorción en la región eritemógena (Aioi et al. 1995; Wołosik et al. 2013). La aplicación tópica de la crema que contiene antioxidantes (Vitamina E, CoQ10, escualeno) condujo a un aumento significativo en la salud del manto lipídico (Briganti y Picardo 2003).

Warleta et al. (2010), demostraron que el tratamiento con escualeno protegió con éxito las células epiteliales mamarias humanas contra el daño oxidativo del ADN. Las actividades antirradicales del escualeno se han medido mediante ensayos de capacidad de absorción de radicales de oxígeno y 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, 2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolin6-sulfónico). Según los resultados del ensayo, se ha informado que la capacidad de eliminación de radicales del escualeno es significativamente importante para ser un eliminador de radicales libres eficaz. Tras los ensayos de capacidad de eliminación de radicales, se han llevado a cabo pruebas *in vitro* en células epiteliales mamarias humanas y células de cáncer de mama humano que han sido dañadas por H_2O_2 .

Como era de esperar, el tratamiento con escualeno alivió el estrés oxidativo de las células epiteliales, pero no en las células tumorales, lo que sugiere un posible papel de la actividad antitumoral del escualeno a través de la protección contra el estrés oxidativo. Los casos más bajos de

cáncer en poblaciones que consumen una gran cantidad de escualeno, incluidos nutrientes como el aceite de oliva y el aceite de hígado de tiburón, podrían estar relacionados con estos resultados con el asombro de los resultados prometedores que muestran que el escualeno protege las células humanas con susceptibilidad tumoral contra el alto estrés oxidativo (Warleta et al. 2010).

Las evidencias experimentales *in vivo* apoyan el efecto antioxidante *in vitro* del escualeno. Senthilkumar y colaboradores en 2006 sugirieron que el escualeno suministrado en la dieta a ratas de laboratorio normalizó los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos después de la toxicidad inducida por ciclofosfamida. Se indujo a las ratas a tener una toxicidad celular normal en su corazón al ser alimentadas con 150 mg de ciclofosfamida / kg de rata. En el diseño experimental, se ha encontrado que el tratamiento con escualeno a 0.4 mL / día / rata entre varias concentraciones 0.2-1.0 mL / día / rata, redujo el daño oxidativo con la máxima eficacia con una dosis mínima. Además de la protección del corazón y los glóbulos rojos de los modelos *in vivo* mediante el tratamiento con escualeno, aún no se ha revelado el mecanismo *in vivo* de la eficacia del escualeno. Se sabe que el alcohol causa peroxidación de lípidos.

Además, se ha sugerido que el escualeno protege a las células de la protección de los lípidos. En este contexto, Aguilera et al. (2005), probaron la eficacia del escualeno contra la toxicidad inducida por el alcohol en el embrión de pollo para tener ideas sobre la protección de los embriones ante el alto consumo de alcohol durante el embarazo. Los embriones de pollo se inyectaron con 10 mL de etanol absoluto y 10 mL de escualeno en los grupos de prueba.

Posteriormente, se analizó la composición y estructura de los lípidos en la retina mediante análisis de lípidos y microscopio óptico, respectivamente. Los resultados mostraron que el escualeno podría reducir los efectos dañinos del alcohol en la composición lipídica y la estructura de la retina y, por lo tanto, actuar como un agente preventivo para la ingestión de alcohol durante el embarazo.

Anticáncer

Dado que el aceite de hígado de tiburón contiene más del 40% de escualeno, el hígado del tiburón representa el 20-25% de su peso corporal total, se cree que los tiburones son la fuente más rica de escualeno (Mathews 1992). En consecuencia, hay correlación entre altas cantidades de escualeno y la ausencia de cáncer en las especies de tiburones. Hay informes que sugieren una relación parcial y posible entre la baja incidencia de cáncer y el consumo de productos con alto contenido de aceite de oliva que también incluyen altas cantidades de escualeno (Owen et al. 2000).

Durante los últimos años, se descubrió que el escualeno es activo para la protección contra varios carcinógenos. Por lo tanto, una terapia adyuvante con escualeno en algún tipo de cáncer resultó ser el uso más primario del escualeno como nutraceutico. Aunque no existen ensayos en humanos que demuestren el papel del escualeno en los tratamientos contra el cáncer, las evidencias experimentales *in vitro* y en animales sugieren un papel anticanceroso de este nutriente (Kim y Karadeniz 2012).

Escualeno y la Industria Alimentaria

Diversos estudios han comprobado las propiedades antioxidantes, anticancerígenas, quimiopreventivas, hipolipemiantes e inmunoestimulantes del escualeno y el escualano. El escualeno forma parte del metabolismo humano como precursor para la síntesis de esteroides, esto lo convierte en un componente crucial para el cuerpo humano. Este compuesto se encuentra depositado en el tejido graso y la piel, es el resultado de la síntesis endógena del colesterol, así como puede ser obtenido al incluir aceites de oliva, pescado y tiburón en nuestras dietas (Kim y Karadeniz 2012).

Entre el 60 y el 80% del escualeno exógeno es absorbido y distribuido a diversos tejidos, mientras que, el escualeno endógeno es sintetizado en el hígado y luego transportado a la piel y demás órganos por medio de la sangre (Lozano-Grande et al. 2018). Se ha comprobado que el escualeno es absorbido en el cuerpo como colesterol, con solo un 20% de conversión a esteroides durante su tránsito

por el intestino delgado. De igual manera, en 102 pacientes con problemas de hipercolesterolemia, el consumo de escualeno redujo el colesterol total, el colesterol de baja densidad y los niveles de triglicéridos después de 20 semanas de tratamiento con escualeno y pravastatina (Chan P et al. 1996).

De acuerdo con resultados de estudios, la capacidad del escualeno de capturar radicales libres es significativa. Mediante pruebas *in vitro*, llevadas a cabo en células epiteliales y células de cáncer de mama afectadas por peróxido de dihidrógeno, se comprobó la capacidad del escualeno de reducir el estrés oxidativo, lo que sugiere un posible rol o actividad antitumoral. También, se encontró menor incidencia de cáncer en poblaciones con alto nivel de consumo de nutrientes que cuentan con escualeno como el aceite de oliva y el aceite de hígado de tiburón (Warleta et al. 2010; Owen et al. 2000).

En evidencias experimentales Senthilkumar et al. (2006), demostraron el efecto antioxidante del escualeno, el suplemento dietético de este compuesto normalizó el nivel de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en ratas de laboratorio con toxicidad inducida de ciclofosfamida. También, se comprobó su efectividad como agente preventivo de la peroxidación provocada en fetos de aves provocado por el consumo de alcohol. Los resultados demostraron que el consumo de escualeno y escualano puede reducir los efectos del alcohol en la composición lipídica y estructura de la retina del feto (Aguilera et al. 2005). Por otro lado, se identificó que la naturaleza apolar del escualeno permite su afinidad con compuestos desionizados y permite su función como purificador de sustancias xenobióticas en el cuerpo humano. Además, promueve la eliminación de hexaclorobenceno cuando es suplementado en concentraciones de 8% en la dieta. Otras sustancias como la teofilina y estriquina pueden ser eliminadas cuando la ingesta de escualeno es mayor (Kelly 1999). Otros estudios en pacientes pediátricos determinaron que su consumo estimula las enzimas para la desintoxicación del hígado como la enzima P450. También, niños con ingesta de escualeno demostraron mayor crecimiento en tamaño y mejor desarrollo neuro-motriz (Ronco y Stéfani 2013).

A pesar de esto, el escualeno y el escualano siguen siendo sub-utilizados en la industria de alimentos funcionales dada que es vulnerable a oxidación. En los últimos años, se ha estado evaluando la viabilidad de su encapsulación con quitosano y proteínas del suero de leche. Se logró una eficiencia de encapsulación del $75.4 \pm 0.22\%$ mediante secado por aspersión (Kumar et al. 2017). En este estudio se concluyó que la emulsificación del escualeno con quitosano y proteínas del suero de la leche junto con la subsecuente encapsulación es un proceso potencial para producir escualeno estable para su uso en aplicaciones alimenticias.

Conclusiones

Se recabó información que demuestra los beneficios del escualeno en la salud humana y sus propiedades emolientes, hidratantes, y antioxidantes, entre otras.

Se identificaron cuatro fuentes vegetales y una a partir de microorganismos que contienen escualeno siendo el aceite de oliva y azúcar de caña las fuentes de mayor importancia comercial.

Se revisó literatura sobre los principales procesos utilizados para la extracción de escualeno que son: la extracción con fluidos supercríticos, la fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* y para el escualano, la hidrogenación.

Se revisó literatura que muestra el amplio uso de escualeno y escualano como adyuvantes en vacunas y en la industria cosmética como ingredientes debido a sus propiedades emolientes e hidratantes.

Se revisó que a pesar de sus propiedades benéficas para la salud humana el escualeno aún no está siendo utilizado como ingrediente funcional en la industria alimentaria debido a su susceptibilidad a oxidación y degradación.

Recomendaciones

Revisar nuevas técnicas y posibles mejoras al proceso de extracción de escualeno de origen vegetal que garanticen su producción y satisfacción de la demanda global.

Ampliar las investigaciones en cuanto a los posibles efectos adversos del consumo de escualeno, el mecanismo de liberación y asimilación en el cuerpo humano y el modo de acción contra células cancerígenas.

Realizar una investigación sobre encapsulación del escualeno y otras técnicas que incrementen su estabilidad y permitan su uso como ingrediente funcional en la industria alimentaria.

Evaluar los alimentos funcionales que se podrían desarrollar con el escualeno como ingrediente, así como en qué otras industrias podrían tener este compuesto una aplicación.

Referencias

- Aguilera Y, Dorado ME, Prada FA, Martínez JJ, Quesada A, Ruiz-Gutiérrez V. 2005. The protective role of squalene in alcohol damage in the chick embryo retina. *Exp Eye Res.* 80(4):535–543. eng. doi:10.1016/j.exer.2004.11.003.
- Aioi A, Shimizu T, Kuriyama K. 1995. Effect of squalene on superoxide anion generation induced by a skin irritant, lauroylsarcosine. *International Journal of Pharmaceutics.* 113(2):159–164. doi:10.1016/0378-5173(94)00190-G.
- Akgün NA. 2011. Separation of squalene from olive oil deodorizer distillate using supercritical fluids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113(12):1558–1565. doi:10.1002/ejlt.201000466.
- Allison AC. 1999. Squalene and squalane emulsions as adjuvants. *Methods.* 19(1):87–93. eng. doi:10.1006/meth.1999.0832.
- Aprinova. 2019. The Plant Based silicone alternative: Feel the Difference With Our Green and Sustainable Alternativ. <https://aprinova.com/neossance-hemisqualane/>.
- Auffray B. 2007. Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using Commiphora myrrha essential oil. *Int J Cosmet Sci.* 29(1):23–29. eng. doi:10.1111/j.1467-2494.2007.00360.x.
- Bakes MJ, Nichols PD. 1995. Lipid, fatty acid and squalene composition of liver oil from six species of deep-sea sharks collected in southern australian waters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology.* 110(1):267–275. doi:10.1016/0305-0491(94)00083-7.
- Beltrán G, Bucheli ME, Aguilera MP, Belaj A, Jimenez A. 2016. Squalene in virgin olive oil: Screening of variability in olive cultivars. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118(8):1250–1253. doi:10.1002/ejlt.201500295.
- Blasco L, Duracher L, Forestier J-P, Vian L, Marti-Mestres G. 2006. Skin Constituents as Cosmetic Ingredients. Part I: A Study of Bio-mimetic Monoglycerides Behavior at the Squalene-Water Interface by the “Pendant Drop” Method in a Static Mode. *Journal of Dispersion Science and Technology.* 27(6):799–810. doi:10.1080/01932690500482137.
- Bloom. 2012. The hideous price of beauty: cosmetics industry drives deep-sea sharks extinctions.
- Boskou. 2009. Olive oil: Minor constituents and health. CRC Press. ISBN: 9780367387143.
- Boussouira B, Pham DM. 2016. Squalene and Skin Barrier Function: From Molecular Target to Biomarker of Environmental Exposure. En: Wondrak GT, editor. *Skin Stress Response Pathways.* Cham: Springer International Publishing. p. 29–48.

- Briganti S, Picardo M. 2003. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 17(6):663–669. eng. doi:10.1046/j.1468-3083.2003.00751.x.
- Brown P. 2000. *Advanced Level Organic Chemistry: Reaction mechanisms - hydrogenation of alkenes*. Estados Unidos: -. <https://docbrown.info/page06/OrgMechs1e.htm>.
- Camin F, Bontempo L, Ziller L, Piangiolino C, Morchio G. 2010. Stable isotope ratios of carbon and hydrogen to distinguish olive oil from shark squalene-squalane. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 24(12):1810–1816. eng. doi:10.1002/rcm.4581.
- Capitania B, Lora V, Ludovici M, Sinagra J-L, Ottaviani M, Mastrofrancesco A, Ardigò M, Camera E. 2014. Modulation of sebum oxidation and interleukin-1 α levels associates with clinical improvement of mild comedonal acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 28(12):1792–1797. eng. doi:10.1111/jdv.12431.
- Catchpole OJ, Kamp J-C von, Grey JB. 1997. Extraction of Squalene from Shark Liver Oil in a Packed Column Using Supercritical Carbon Dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res*. 36(10):4318–4324. doi:10.1021/ie9702237.
- Chan P, Tomlinson B, Lee CB, Lee YS. 1996. Effectiveness and safety of low-dose pravastatin and squalene, alone and in combination, in elderly patients with hypercholesterolemia. *J Clin Pharmacol*. 36(5):422–427. eng. doi:10.1002/j.1552-4604.1996.tb05029.x.
- Chandran SS, Kealey JT, Reeves CD. 2011. Microbial production of isoprenoids. *Process Biochemistry*. 46(9):1703–1710. doi:10.1016/j.procbio.2011.05.012.
- Chang M-H, Kim H-J, Jahng K-Y, Hong S-C. 2008. The isolation and characterization of *Pseudozyma* sp. JCC 207, a novel producer of squalene. *Appl Microbiol Biotechnol*. 78(6):963–972. eng. doi:10.1007/s00253-008-1395-4.
- Charlton-Menys V, Durrington PN. 2007. Squalene synthase inhibitors: clinical pharmacology and cholesterol-lowering potential. *Drugs*. 67(1):11–16. eng. doi:10.2165/00003495-200767010-00002.
- Chen P, Chien P-Y, Khan AR, Sheikh S, Ali SM, Ahmad MU, Ahmad I. 2006. In-vitro and in-vivo anti-cancer activity of a novel gemcitabine-cardiolipin conjugate. *Anticancer Drugs*. 17(1):53–61. eng. doi:10.1097/01.cad.0000185182.80227.48.
- Chung H, Kim TW, Kwon M, Kwon IC, Jeong SY. 2001. Oil components modulate physical characteristics and function of the natural oil emulsions as drug or gene delivery system. *Journal of Controlled Release*. 71(3):339–350. doi:10.1016/s0168-3659(00)00363-1.
- Ciriminna R, Pandarus V, Béland F, Pagliaro M. 2014. Catalytic Hydrogenation of Squalene to Squalane. *Org. Process Res. Dev*. 18(9):1110–1115. doi:10.1021/op5002337.

- Clarke SC, McAllister MK, Milner-Gulland EJ, Kirkwood GP, Michielsens CGJ, Agnew DJ, Pikitch EK, Nakano H, Shivji MS. 2006. Global estimates of shark catches using trade records from commercial markets. *Ecol Lett.* 9(10):1115–1126. eng. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00968.x.
- Consejo de la Unión Europea. 2007. Examen de la gestión de las poblaciones de peces de aguas profundas.
- Couvreur P, Vauthier C. 2006. Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease. *Pharm Res.* 23(7):1417–1450. eng. doi:10.1007/s11095-006-0284-8.
- Covas M-I. 2007. Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacol Res.* 55(3):175–186. eng. doi:10.1016/j.phrs.2007.01.010.
- Cruz-Nuñez G, Palmadóttir, Heioa, García Rodríguez E, Jonsdóttir R. 2009. Quality of Cuban shark liver oil. Comparison with Icelandic cod liver oil. *Revista Electrónica de Veterinaria.* 10(2).
- Czaplicki S, Ogródowska D, Derewiaka D, Tańska M, Zadernowski R. 2011. Bioactive compounds in unsaponifiable fraction of oils from unconventional sources. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113(12):1456–1464. doi:10.1002/ejlt.201000410.
- Das B, Yeger H, Baruchel H, Freedman MH, Koren G, Baruchel S. 2003. In vitro cytoprotective activity of squalene on a bone marrow versus neuroblastoma model of cisplatin-induced toxicity. implications in cancer chemotherapy. *Eur J Cancer.* 39(17):2556–2565. eng. doi:10.1016/j.ejca.2003.07.002.
- Deprez PP, Volkman JK, Davenport SR. 1990. Squalene content and neutral lipids composition of livers from Deep-sea sharks caught in Tasmanian waters. *Mar. Freshwater Res.* 41(3):375. doi:10.1071/MF9900375.
- Fisher K, Schofer SJ, Kanne DB, inventores. Squalene and isosqualene compositions and methods for preparing the same. US20110287988A1.
- García-Bermudez J, Baudrier L, Bayraktar EC, Shen Y, La K, Guarecuco R, Yucel B, Fiore D, Tavora B, Freinkman E, et al. 2019. Squalene accumulation in cholesterol auxotrophic lymphomas prevents oxidative cell death. *Nature.* 567(7746):118–122. eng. doi:10.1038/s41586-019-0945-5.
- Gershbein L, Singh E. 1969. Hydrocarbons of dogfish and cod livers and herring oil. *J Am Oil Chem Soc.* 46(10):554–557. eng. doi:10.1007/BF02633182.
- Gershenson J, Dudareva N. 2007. The function of terpene natural products in the natural world. *Nat Chem Biol.* 3(7):408–414. eng. doi:10.1038/nchembio.2007.5.
- Ghimire GP, Thuan NH, Koirala N, Sohng JK. 2016. Advances in Biochemistry and Microbial Production of Squalene and Its Derivatives. *J Microbiol Biotechnol.* 26(3):441–451. eng. doi:10.4014/jmb.1510.10039.

- Hastings J, Owen G, Dekker A, Ennis M, Kale N, Muthukrishnan V, Turner S, Swainston N, Mendes P, Steinbeck C. 2016. ChEBI in 2016: Improved services and an expanding collection of metabolites. *Nucleic Acids Res.* 44(D1):D1214-9. eng. doi:10.1093/nar/gkv1031.
- Hawrylak B, Wolska-Mitasko B. 2007. Plant invertases: Physiological function, regulation of activity and application in biotechnology. *Biotechnologia.* 2(77):63–80.
- Hoang MH, Ha NC, Le Thom T, Tam LT, Anh HTL, Thu NTH, Hong DD. 2014. Extraction of squalene as value-added product from the residual biomass of *Schizochytrium mangrovei* PQ6 during biodiesel producing process. *J Biosci Bioeng.* 118(6):632–639. eng. doi:10.1016/j.jbiosc.2014.05.015.
- Huang Z-R, Lin Y-K, Fang J-Y. 2009. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules.* 14(1):540–554. eng. doi:10.3390/molecules14010540.
- Jame P, Casabianca H, Batteau M, Goetinck P, Salomon V. 2010. Differentiation of the Origin of Squalene and Squalane Using Stable Isotopes Ratio Analysis. Vol. 136.2010(1):p. 2–10.
- Jame P, Casabianca H, Batteau M, Goetinck P, Guibert S, Watts R. 2011. Determination of Squalane Origin in Commercial Cosmetic Creams Using Isotope Ratio Mass Spectrometry. Vol. 137.2011(1):p. 12-18.
- Januszewska J, Synowiecki J. 2008. Characteristics and suitability of amaranth components in food biotechnology. *Biotechnologia.* 89–102.
- Jurkowska. 2011. Acne Vulgaris as a complication of seborrhea. <http://cosmetic.pl/pro/index.php?grupa=6&art=1133770593&dzi=113018323>.
- Karpuzoglu E. 2018. What is squalene in skincare? Why should you care? [sin lugar]: AveSeena.
- Kelly G. 1999. Squalene and its potential clinical uses. *Altern Med Rev.* 4(1):29–36. eng.
- Kim S-K, Karadeniz F. 2012. Biological importance and applications of squalene and squalane. *Adv Food Nutr Res.* 65:223–233. eng. doi:10.1016/B978-0-12-416003-3.00014-7.
- Kim Y. 2003. The effects of serum on the stability and the transfection activity of the cationic lipid emulsion with various oils. *International Journal of Pharmaceutics.* 252(1-2):241–252. doi:10.1016/s0378-5173(02)00676-2.
- Kjerstad H, Fossen I, Willemsen MH. 2003. Utilization of Deep-sea Sharks at Hatton Bank in the North Atlantic. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 31:333–338. doi:10.2960/J.v31.a25.
- Kohno Y, Egawa Y, Itoh S, Nagaoka S, Takahashi M, Mukai K. 1995. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism.* 1256(1):52–56. doi:10.1016/0005-2760(95)00005-w.

- Laserson F. 2013. Neossance, third generation squalane. *AZ Guide of Cosmetic Ingredients*. 325–328.
- Lippi G, Targher G, Franchini M. 2010. Vaccination, squalene and anti-squalene antibodies: facts or fiction? *Eur J Intern Med*. 21(2):70–73. eng. doi:10.1016/j.ejim.2009.12.001.
- Lozano-Grande MA, Gorinstein S, Espitia-Rangel E, Dávila-Ortiz G, Martínez-Ayala AL. 2018. Plant Sources, Extraction Methods, and Uses of Squalene. *International Journal of Agronomy*. 2018:1–13. doi:10.1155/2018/1829160.
- Maisashvili A, Bryant HL, Richardson JW. 2016. Economic feasibility of tobacco leaves for biofuel production and high value squalene. *International Food and Agribusiness Management Review*. 19(4):145–162. doi:10.22434/IFAMR2015.0179.
- Mantzouridou F, Tsimidou MZ. 2010. Observations on squalene accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* due to the manipulation of HMG2 and ERG6. *FEMS Yeast Res*. 10(6):699–707. eng. doi:10.1111/j.1567-1364.2010.00645.x.
- Mathews J. 1992. Sharks still intrigue cancer researchers. *J Natl Cancer Inst*. 84(13):1000–1002. eng. doi:10.1093/jnci/84.13.1000-a.
- McPhee D, Pin A, Kizer L, Perelman L. 2014. Squalane from Sugarcane. *Cosmetics and Toiletries magazine*. 129(6). http://www.centerchem.com/Customer-Content/www/News/PDFs/CT1407_RenewableEmollientfromSugarcane-Amyris.pdf.
- Naziri E, Mantzouridou F, Tsimidou MZ. 2011. Squalene resources and uses point to the potential of biotechnology. *Lipid Technology*. 23(12):270–273. doi:10.1002/lite.201100157.
- Nicolaos G. 2003. Improvement of cefpodoxime proxetil oral absorption in rats by an oil-in-water submicron emulsion. *International Journal of Pharmaceutics*. 263(1-2):165–171. doi:10.1016/s0378-5173(03)00365-x.
- Nishida T, Ninagawa Y, Itoi K, Fujita Y. 1983. New industrial synthesis of squalane. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 56(9):2805–2810.
- OCEANA. 2008. Unilever to End Use of Shark Products in Cosmetics: Oceana Campaigns for Cosmetic Industry to Stop Using Shark Liver Oil. Washington DC: [sin editorial].
- Ofitserov E. 2001. *Amaranth: Perspective Raw Material For Food-Processing And Pharmaceutical Industry*. Ulyanovsk: Uliyanovsk State University.
- Owen R, Mier W, Giacosa A, Hull W, Spiegelhalder B, Bartsch H. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*. 38(8):647–659. doi:10.1016/s0278-6915(00)00061-2.

- Passi S, Pità O de, Puddu P, Littarru GP. 2002. Lipophilic antioxidants in human sebum and aging. *Free Radic Res.* 36(4):471–477. eng. doi:10.1080/10715760290021342.
- Payne M, Ellis P, Dunlop D, Ranson M, Danson S, Schacter L, Talbot D. 2006. DHA-paclitaxel (Taxoprexin) as first-line treatment in patients with stage IIIB or IV non-small cell lung cancer: report of a phase II open-label multicenter trial. *J Thorac Oncol.* 1(9):984–990. eng.
- Peñuelas J, Munné-Bosch S. 2005. Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection. *Trends Plant Sci.* 10(4):166–169. eng. doi:10.1016/j.tplants.2005.02.005.
- Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P, Lopez-Segura F, Lopez-Miranda J. 2007. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Mol Nutr Food Res.* 51(10):1199–1208. eng. doi:10.1002/mnfr.200600273.
- Piesiewicz H, Ambroziak Z. 1995. Amaranth nutritional aspects. (43):32–33.
- Popa O, Băbeanu NE, Popa I, Niță S, Dinu-Pârvu CE. 2015. Methods for obtaining and determination of squalene from natural sources. *Biomed Res Int.* 2015:367202. eng. doi:10.1155/2015/367202.
- Pragst F, Auwärter V, Kiessling B, Dyes C. 2004. Wipe-test and patch-test for alcohol misuse based on the concentration ratio of fatty acid ethyl esters and squalene CFAEE/CSQ in skin surface lipids. *Forensic Sci Int.* 143(2-3):77–86. eng. doi:10.1016/j.forsciint.2004.02.041.
- R G Kumar L, Chatterjee NS, Tejpal CS, Vishnu KV, Anas KK, Asha KK, Anandan R, Mathew S. 2017. Evaluation of chitosan as a wall material for microencapsulation of squalene by spray drying: Characterization and oxidative stability studies. *Int J Biol Macromol.* 104(Pt B):1986–1995. eng. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.114.
- Rao C, Newmark H, Reddy B. 1998. Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. *Carcinogenesis.* 19(2):287–290. eng. doi:10.1093/carcin/19.2.287.
- Rasool A, Ahmed MS, Li C. 2016. Overproduction of squalene synergistically downregulates ethanol production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Chemical Engineering Science.* 152:370–380. doi:10.1016/j.ces.2016.06.014.
- Reddy L, Couvreur P. 2009. Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 61(15):1412–1426. eng. doi:10.1016/j.addr.2009.09.005.
- Ren L-J, Ji X-J, Huang H, Qu L, Feng Y, Tong Q-Q, Ouyang P-K. 2010. Development of a stepwise aeration control strategy for efficient docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. *Appl Microbiol Biotechnol.* 87(5):1649–1656. eng. doi:10.1007/s00253-010-2639-7.
- Rissmann R, Oudshoorn MHM, Kocks E, Hennink WE, Ponc M, Bouwstra JA. 2008. Lanolin-derived lipid mixtures mimic closely the lipid composition and organization of vernix caseosa lipids. *Biochim Biophys Acta.* 1778(10):2350–2360. eng. doi:10.1016/j.bbamem.2008.06.017.

- Ronco AL, Stéfani E de. 2013. Squalene: a multi-task link in the crossroads of cancer and aging. *FFHD*. 3(12):462. doi:10.31989/ffhd.v3i12.30.
- Rosales-Garcia T, Jimenez-Martinez C, Davila-Ortiz G. 2017. Squalene Extraction: Biological Sources and Extraction Methods. *IJEAB*. 2(4):1662–1670. doi:10.22161/ijeab/2.4.26.
- Rutkowska J. 2006. Amaranthus – a plant friendly to man. *Przegl.* (1):6–10.
- Sabetay S. 1955. Five years of perhydro-squalene—A revolution in cosmetics. *Riechstoff Arom.* 5:274–276.
- Sabetay S. 1956. Perhydro-squalene. *Revue Fran Corps Gras.* 3:26–30.
- Saint-Leger D, Bague A, Cohen E, Chivot M. 1986. A possible role for squalene in the pathogenesis of acne. I. In vitro study of squalene oxidation. *Br J Dermatol.* 114(5):535–542. eng. doi:10.1111/j.1365-2133.1986.tb04060.x.
- Samaniego-Sánchez C, Oliveras-López MJ, Quesada-Granados JJ, Villalón-Mir M, Serrana HL-G. 2012. Alterations in picual extra virgin olive oils under different storage conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 114(2):194–204. doi:10.1002/ejlt.201100191.
- SAPCR. 2016. South Africa Pharmaceutical and Cosmetic Review. 43:1–57. <https://journals.co.za/loi/im.sapcr/group/d2010.y2016>.
- Senthilkumar S, Yogeeta SK, Subashini R, Devaki T. 2006. Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. *Chem Biol Interact.* 160(3):252–260. eng. doi:10.1016/j.cbi.2006.02.004.
- Simpson EL, Chalmers JR, Hanifin JM, Thomas KS, Cork MJ, McLean WHI, Brown SJ, Chen Z, Chen Y, Williams HC. 2014. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *J Allergy Clin Immunol.* 134(4):818–823. eng. doi:10.1016/j.jaci.2014.08.005.
- Soni VK, Sharma RK. 2016. Palladium-Nanoparticles-Intercalated Montmorillonite Clay: A Green Catalyst for the Solvent-Free Chemoselective Hydrogenation of Squalene. *ChemCatChem.* 8(10):1763–1768. doi:10.1002/cctc.201600210.
- Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. 2001. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release.* 70(1-2):1–20. doi:10.1016/s0168-3659(00)00339-4.
- Steiner R, Drescher M, Bonakdar Mehdi, Johannsbauer W, inventores. Method for producing squalene. Estados Unidos US20040015033A1.
- Teater B. 2015. SynShark Producing Valuable Shark Oil in Tobacco Plants. [sin lugar]: [sin editorial]. <https://www.ncbiotech.org/news/synshark-producing-valuable-shark-oil-tobacco-plants>.

- The International Union for Conservation of Nature. 2012. Red List of Threatened Species. [sin lugar]: [sin editorial]. <https://www.iucnredlist.org/>.
- Tikekar RV, Ludescher RD, Karwe MV. 2008. Processing stability of squalene in amaranth and antioxidant potential of amaranth extract. *J Agric Food Chem.* 56(22):10675–10678. eng. doi:10.1021/jf801729m.
- Tjan L. 2001. Squalene. The miraculous essential omega 2 oil. *Secrets from the sea. Natural Sources for Health, Science for Life.*
- Tsimidou M, Koski A, Psomiadoi E, Hopia A, Kefalas P, Wahala Kristiina, Heinonen M. 2002. Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *European Food Research and Technology.* 214(4):294–298.
- Tsujimoto M. 1916. About "kuroko-same" shark oil. *Journal of the Society of Chemical Industry.* 9(104):953–958.
- Tsujimoto M. 1920. Squalene: A Highly Unsaturated Hydrocarbon in Shark Liver Oil. *J. Ind. Eng. Chem.* 12(1):63–72. doi:10.1021/ie50121a020.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2012. Agricultural Census. Estados Unidos: [sin editorial]. https://www.nass.usda.gov/Publications/AgCensus/2012/Full_Report/Volume_1,_Chapter_1_US/.
- Verleyen T, Verhe R, Garcia L, Dewettinck K, Huyghebaert A, Greyt W de. 2001. Gas chromatographic characterization of vegetable oil deodorization distillate. *Journal of Chromatography A.* 921(2):277–285. doi:10.1016/S0021-9673(01)00881-0.
- Walker KA, Knuth ME, Fong NM, Beetham PR, inventores. Methods and compositions for producing squalene using yeast. US8470568B2.
- Wang J-J, Sung KC, Hu OY-P, Yeh C-H, Fang J-Y. 2006. Submicron lipid emulsion as a drug delivery system for nalbuphine and its prodrugs. *Journal of Controlled Release.* 115(2):140–149. eng. doi:10.1016/j.jconrel.2006.07.023.
- Warleta F, Campos M, Allouche Y, Sánchez-Quesada C, Ruiz-Mora J, Beltrán G, Gaforio JJ. 2010. Squalene protects against oxidative DNA damage in MCF10A human mammary epithelial cells but not in MCF7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 48(4):1092–1100. eng. doi:10.1016/j.fct.2010.01.031.
- Wołosik K, Knaś M, Zalewska A, Niczyporuk M, Przystupa AW. 2013. The importance and perspective of plant-based squalene in cosmetology. *J Cosmet Sci.* 64(1):59–66. eng.
- Zhao L, Chang W, Xiao Y, Liu H, Liu P. 2013. Methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Annu Rev Biochem.* 82:497–530. eng. doi:10.1146/annurev-biochem-052010-100934.