



**CETMAR**  
CENTRO TECNOLÓGICO DEL MAR

# Las algas como recurso. Valorización. Aplicaciones industriales y tendencias.

## **Coordinadores**

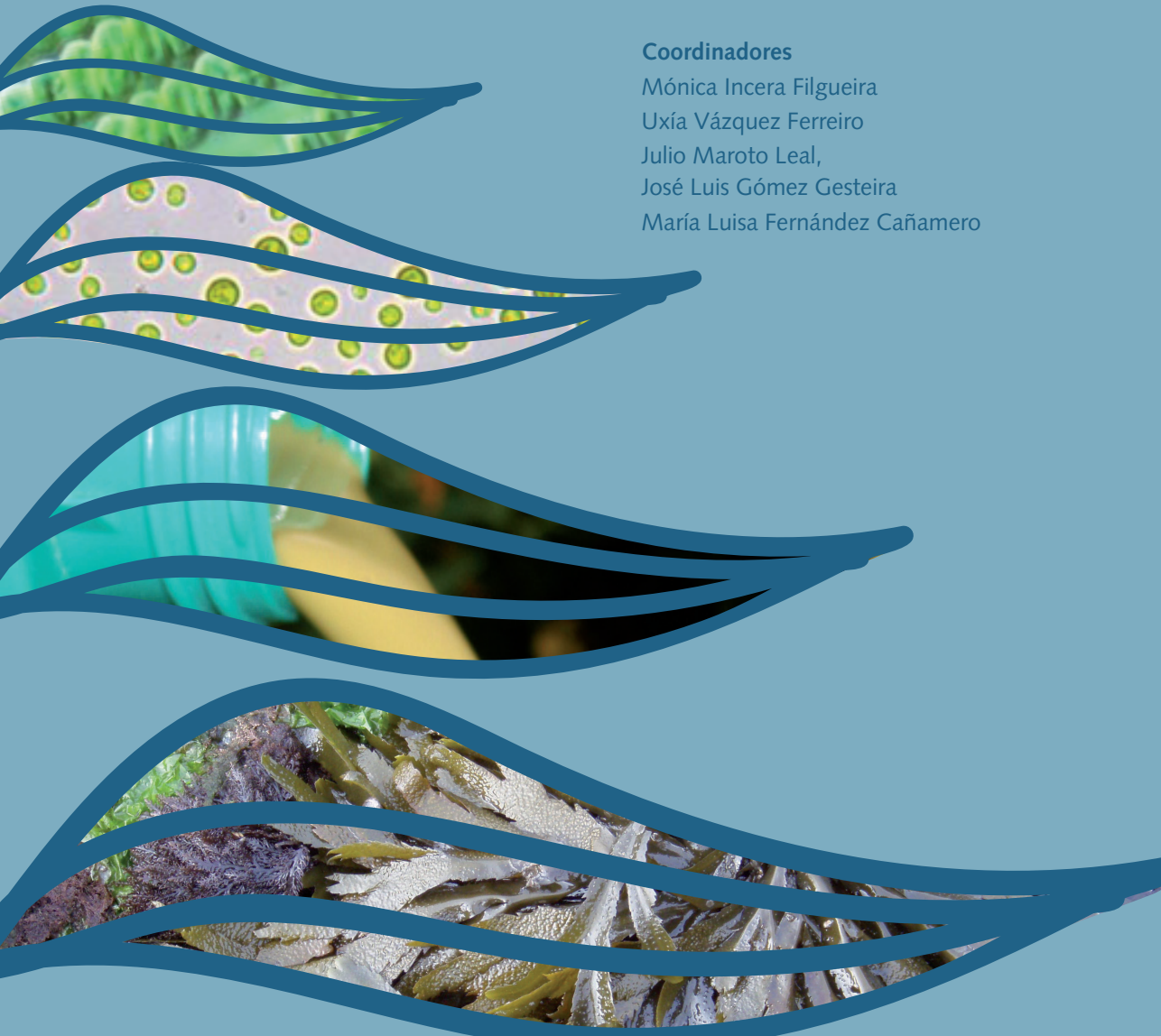
Mónica Incera Filgueira

Uxía Vázquez Ferreiro

Julio Maroto Leal,

José Luis Gómez Gesteira

María Luisa Fernández Cañamero





# Las algas como recurso.

Valorización. Aplicaciones  
industriales y tendencias.



**Edita**

© Centro Tecnológico del Mar - Fundación CETMAR

**Coordinación del libro:**

Mónica Incera Filgueira, Uxía Vázquez Ferreiro, Julio Maroto Leal,  
José Luis Gómez Gesteira, María Luisa Fernández Cañamero

**Fotos cedidas por:**

Francisco Gabriel Ación, Franck Hennequart, Mónica Incera

**Depósito Legal**

VG 724-2011

**ISBN**

978-84-615-3593-4

**Diseño e impresión**

Tórculo Artes Gráficas, S.A.

# Índice

|               |    |
|---------------|----|
| PRÓLOGO ..... | 05 |
|---------------|----|

## BLOQUE I: LAS ALGAS EN GALICIA: FACTORES QUE CONDICIONAN SU EXPLOTACIÓN Y OPORTUNIDADES DE VALORIZACIÓN

|                    |    |
|--------------------|----|
| Introducción ..... | 11 |
|--------------------|----|

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| SECCIÓN I: VISIÓN GENERAL ..... | 13 |
|---------------------------------|----|

|   |    |
|---|----|
| Capítulo 1. Las algas del noroeste de la Península Ibérica. Conocimiento del recurso, limitaciones y oportunidades de explotación<br><i>por Rosa María Viejo García</i> ..... | 15 |
|---|----|

|  |    |
|--|----|
| Capítulo 2. La explotación de macroalgas marinas en Galicia: situación actual y marco legal <i>por Manuel García Tasende</i> ..... | 33 |
|--|----|

|   |    |
|---|----|
| SECCIÓN II: ALTERNATIVAS DE APROVECHAMIENTO ..... | 47 |
|---|----|

|   |    |
|---|----|
| Capítulo 3. Extractos de algas como bioestimulantes del crecimiento de las plantas <i>por Franck Hennequart</i> ..... | 49 |
|---|----|

|   |    |
|---|----|
| Capítulo 4. Algas y subproductos marinos como fuente de ingredientes funcionales para la industria alimentaria <i>por María Hayes</i> ..... | 63 |
|---|----|

|  |    |
|--|----|
| Capítulo 5. Las algas: potencial nutritivo y aplicaciones cosméticas<br><i>por Nathalie Bourgougnon, Gilles Bedoux, Amélie Sangiardi y Valérie Stiger-Pouvreau</i> ..... | 81 |
|--|----|

|  |    |
|--|----|
| Capítulo 6. Extracción de compuestos bioactivos a partir de algas para uso cosmético <i>por Andrea Vázquez Pérez</i> ..... | 95 |
|--|----|

**BLOQUE II: MICROALGAS COMO EJEMPLO DE  
VALORIZACIÓN DE ORGANISMOS MARINOS. APLICACIONES  
INDUSTRIALES. TENDENCIAS**

|   |            |
|---|------------|
| Introducción .....  | 111        |
| <b>SECCIÓN I: ASPECTOS GLOBALES .....</b>   | <b>113</b> |
| Capítulo 1. Introducción a las microalgas: diversidad, fisiología y papel en los ecosistemas marinos <i>por Cristina Sobrino García</i> .....   | 115        |
| Capítulo 2. Sistemas de producción masiva: valorización de biomasa microalgal <i>por Stef A. van Bergeijk</i> .....   | 127        |
| Capítulo 3. Colecciones de cultivos de microalgas: utilidad de las mismas <i>por Unidad Asociada Fitoplancton Tóxico (CSIC-IEO)</i> .....   | 147        |
| Capítulo 4. Modificación genética de microalgas: una necesidad industrial <i>por Diego López Alonso y Federico García-Maroto</i> .....  | 157        |
| <b>SECCIÓN II: APLICACIONES INDUSTRIALES .....</b>  | <b>173</b> |
| Capítulo 5. Captación de CO <sub>2</sub> y producción de biocombustibles a partir de microalgas <i>por Francisco Gabriel Acién Fernández, Cynthia V. González López y José M. Fernández-Sevilla</i> .....   | 175        |
| Capítulo 6. Funciones de las microalgas en acuicultura <i>por José Pedro Cañavete Hors</i> .....  | 195        |
| Capítulo 7. Biofiltración de efluentes mediante algas: valorización de la biomasa (alimentos funcionales y biodiesel) <i>por Félix L. Figueroa, Celia Gil Jerez, Rosa M. Rico, Miguel Ángel Morínigo, Juan Luis Gómez-Pinchetti y Roberto Abdala Díaz</i> ..... | 209        |
| Capítulo 8. Aplicaciones industriales de las microalgas y descubrimiento de biomoléculas de interés <i>por Carlos Padilla-Martínez y Antonio Fernández Medarde</i> .....  | 225        |

## Prólogo

Como todos los universos más próximos, el de las algas, que sin duda lo es, suele pasarnos desapercibido a pesar de su atractivo innegable. Totalmente ubicuas, se han adaptado a cuantas localizaciones acuáticas pudiera haber, en especial las marinas, sacando máximo provecho, a través de sus múltiples morfologías y metabolismos adaptados, de cuanto ecosistema pudiera haber disponible. Las unicelulares se han erigido en la base de la vida en los océanos; un papel esencial y decisivo. Las pluricelulares, más evidentes, pueblan las franjas litorales desempeñando igualmente tareas imprescindibles en la dinámica de las poblaciones costeras.

Hubo que esperar a las técnicas desarrolladas con el pasado siglo para desvelar la enorme disparidad de formas que atesoraban las microalgas, así como la gran variabilidad metabólica y posibilidades que, en cuanto a la identificación de principios básicos y compuestos bioactivos con potencialidad industrial, éstas guardaban. Las macroalgas, por el contrario, siempre convivieron con las poblaciones humanas asentadas en la costa, sin que todas ellas obtuvieran similar partido.

Son muchas y diversas las posibles aplicaciones de las algas, en su acepción más general, en el plano industrial. Algunas se encuentran aún en fase de estudio, otras representan una realidad empresarial contrastable y, sin duda, quedan por descubrir múltiples facetas hoy día desconocidas. Sea como fuere, la potencialidad que las algas nos ofrecen es poco menos que insondable, y su puesta en valor está aún muy lejos de haberse consumado.

Como cualquier organismo, su presencia cumple un cometido en su ámbito natural y, por tanto, ya de por sí, llevan inherentemente asociada una función. No obstante, las capacidades de las diferentes especies pueden incrementarse bajo determinadas condiciones favorables, amplificando sus propiedades en beneficio de determinados procesos industriales: estaríamos hablando de Valorización. Éste es el término que subyace, como objetivo principal, en el proyecto de acrónimo

BIOTECMAR y título “Explotación BIOTECnológica de productos y subproductos MARinos”, (programa de cooperación transnacional del Espacio Atlántico 2007-2013), cuya pretensión es dar a conocer y transferir herramientas biotecnológicas y procesos de valorización a las empresas del Área Atlántica, para contribuir a la diversificación de las actividades vinculadas a la explotación y la gestión sostenible de los recursos marinos.

El auge que el estudio de las algas ha adquirido en los últimos años, con la consiguiente aparición de numerosas empresas y grupos de investigación afines; la amplia gama, no suficientemente conocida, de usos y utilidades posibles a nivel industrial; la escasa repercusión que dichas opciones tienen en nuestro ámbito más próximo, así como un tejido empresarial débil y poco menos que anecdótico en torno a estas “materias primas” infrautilizadas, son razones objetivas que nos revelan un panorama complejo, sumamente ramificado y en continuo crecimiento, a la par que difícil de conocer en toda su amplitud.

Tales evidencias, unidas al concepto de valorización de los organismos marinos como telón de fondo del proyecto BIOTECMAR, empujaron al Centro Tecnológico del Mar, como miembro del consorcio de dicho proyecto, a organizar en el marco del mismo y a lo largo del año 2010 sendos seminarios dirigidos, de forma monográfica, a macro y microalgas. Los contenidos fueron cuidadosamente seleccionados de manera que, de forma compendiada, se cubrieran todos los aspectos posibles y se diera así respuesta a cuantos planteamientos pudieran hacerse.

Ambos seminarios tuvieron una notoria acogida, y dejaron entrever un interés latente hacia las algas como motor industrial. Nació así la idea de publicar este libro en donde quedara recogida toda la información vertida durante aquellas Jornadas y que conforma un mosaico completo sobre las potencialidades de estas formas de vida. Manifiestamente, es su intención y vocación servir de guía y orientación a todos aquellos que quieran adentrarse en este auténtico universo y sopesar sus múltiples posibilidades.

Este libro no hubiera llegado a ser una realidad de no haber contado con la desinteresada colaboración de un amplio número de profesionales; nuestro empeño no hubiera llegado a buen puerto de no mediar su generosa aportación.



Estamos en débito con todos los científicos y representantes de empresa que han dado forma y contenido al texto, así como a los ya mencionados seminarios. A todos ellos, desde estas páginas, agradecemos su altruista esfuerzo y compromiso.

*Centro Tecnológico del Mar  
Fundación CETMAR*



# Bloque I

Las algas en Galicia:  
factores que condicionan  
su explotación y  
oportunidades  
de valorización





## Introducción

Las algas constituyen un recurso abundante y a la vez infrautilizado de las costas gallegas. A diferencia de otros países de nuestro entorno, donde representan una fuente de riqueza para muchas empresas, la puesta en valor de este recurso en Galicia está todavía lejos de su verdadero potencial.

El seminario que inspira la primera parte de este libro tuvo lugar el 24 de junio de 2010 en la sede del Centro Tecnológico del Mar-Fundación CETMAR, en Vigo. Dicho evento, dirigido a un público interesado en conocer las posibilidades que ofrecen las macroalgas como fuente de materia prima, tenía por objeto cubrir, de forma rigurosa pero asequible, aquellos aspectos ecológicos y legales del recurso, así como dar a conocer las oportunidades tecnológicas y de mercado en diferentes aplicaciones industriales.

Con el fin de dar una visión general sobre el recurso, **Rosa Viejo**, Profesora Titular de la Universidad Juan Carlos de Madrid, iniciaba la ronda de ponencias con una revisión del conocimiento actual de las algas que colonizan el litoral gallego y sus posibilidades de explotación. A continuación, **Manuel Tasende**, Técnico de la Consellería do Mar, Xunta de Galicia, describía la situación actual de esta explotación, así como los requisitos legales vigentes.

Las distintas alternativas de aprovechamiento económico fueron abordadas en un segundo bloque, en el que **Franck Hennequart**, Director Técnico Director de Oilean Glas Teo (Irlanda), explicó los aspectos más relevantes de la obtención de extractos comerciales de algas para su uso como bioestimulantes del crecimiento de las plantas.

Manuela Buján, responsable del Dpto de I+D de la empresa alimentaria Portomuñños, presentó su empresa como ejemplo de innovación en la industria comercializadora de algas para consumo humano. A continuación **Maria Hayes**, gestora del proyecto científico NutraMara (Marine Functional Foods Research Initiative) en el Ashtown Food Research Centre (Irlanda) expuso los retos que enfrenta este proyecto en la búsqueda de nuevos ingredientes funcionales para su uso en alimentación.

**Nathalie Bourgoignon**, Profesora Titular de la Université Européenne de Bretagne, y participante en el proyecto Biotecmar, repasó la explotación de algas en Francia, el potencial nutritivo de estas y sus aplicaciones cosméticas.

Para concluir las ponencias de la jornada, **Andrea Vázquez**, Directora Técnica de la empresa cosmética Iuvenor Lab, reveló su punto de vista sobre el empleo de ingredientes cosméticos obtenidos a partir de algas en Galicia.



# Sección I

## VISIÓN GENERAL







# Las algas del noroeste de la Península Ibérica. Conocimiento del recurso, limitaciones y oportunidades de explotación.

Rosa María Viejo García

Área de Biodiversidad y Conservación. Departamento de Biología y Geología. Universidad Rey Juan Carlos, c/ Tulipán s/n 28933 Móstoles, Madrid.

Dirección e-mail: rosa.viejo@urjc.es

## Resumen

A la hora de plantear una explotación comercial de macroalgas marinas, es preciso conocer el patrón de distribución y abundancia de las especies de interés comercial así como las tendencias temporales. Se necesita asimismo evaluar los impactos ecológicos de la recolección de poblaciones de algas nativas y de la introducción y explotación de especies exóticas. En este capítulo se describe la singular distribución de las macroalgas en la costa noroeste de la Península Ibérica y los cambios temporales observados en la distribución de algunas especies. Se analiza la introducción de especies exóticas y finalmente se comentan algunas herramientas útiles en la gestión sostenible de poblaciones de algas.

## Introducción

El nombre de *algas* engloba un conjunto muy heterogéneo de seres vivos, la mayoría acuáticos, que incluye tanto especies unicelulares, sólo detectadas con un microscopio, como organismos multicelulares y macroscópicos que podemos observar a simple vista. Este capítulo se refiere a las algas macroscópicas o *macroalgas* y en concreto a aquellas marinas, las que observamos cubriendo las rocas cuando paseamos por la costa en bajamar.

Las macroalgas no son verdaderas plantas, a pesar de que se utilice a menudo el término coloquial de *vegetales marinos* para describirlas, dado su interés culinario. Estos organismos carecen de raíces, tallos y hojas, y aunque se fijan al sustrato

rocoso por medio de un disco basal, obtienen todos los nutrientes del agua. La diferencia primaria entre macroalgas y plantas verdaderas está en la naturaleza de las estructuras reproductoras, más sencillas en las primeras (Mauseth, 2009).

Al igual que todos los demás seres vivos, las algas se clasifican mediante un sistema jerárquico que refleja el grado de parentesco evolutivo entre organismos. El nivel fundamental de clasificación es la especie. Las especies que están estrechamente relacionadas se agrupan en géneros, los géneros en familias y así sucesivamente hasta llegar a las categorías taxonómicas superiores, las divisiones y reinos. El nombre científico de una especie es siempre un binomio en latín. La primera palabra corresponde al género y la segunda a la especie. Esta última puede describir una característica morfológica, o referirse al lugar de origen del organismo. Por ejemplo, *Palmaria palmata* es un alga roja de forma palmeada.

Las macroalgas pertenecen a tres grupos de diferente origen evolutivo y con diferente pigmentación: las algas verdes (división clorófitas), rojas (división rodófitas) y pardas (división feófitas). Estos grupos se diferencian por su coloración, que se debe a la presencia de diferentes pigmentos fotosintéticos. Las algas verdes tienen clorofila a y b. Este grupo incluye especies uni- y multicelulares, y la mayoría son de agua dulce, aunque hay diversas especies marinas, como las del género *Ulva* (“lechuga de mar”). La mayor parte de las algas rojas son multicelulares y conspicuas, muchas de ellas marinas. Su color rojo se debe a un pigmento denominado ficoeritrina que les permite absorber la luz que llega a mayores profundidades. Por último las algas pardas son casi exclusivamente marinas, y su anatomía y morfología es la más compleja de todo el grupo. Presentan clorofila a y c y otros pigmentos como las fucoxantinas.

En diversas partes del mundo se recolectan o cultivan macroalgas marinas para su uso comercial. Tradicionalmente han sido utilizadas como alimento para el ganado o fertilizantes para los campos. Diversos polisacáridos con aplicaciones en la industria alimenticia y cosmética se obtienen asimismo de macroalgas, como los carragenatos y agar-agar de algas rojas y los alginatos de algas pardas. En países asiáticos y más recientemente en occidente, varias especies tienen interés alimenticio.

La estructura de las macroalgas marinas recrea en el mar las formaciones arbóreas y el sotobosque de ecosistemas terrestres. Las algas no son sólo alimento sino

también hábitat y refugio para numerosas especies de invertebrados y vertebrados marinos, constituyendo por tanto la base de las redes tróficas en ecosistemas costeros. Las actividades humanas y el calentamiento global de los océanos están dando lugar a una pérdida de hábitats con complejidad estructural en los sistemas marinos que incluyen los campos de macroalgas (Airoldi et al. 2008).

A la hora de plantear una explotación comercial de este recurso marino es preciso determinar en primera instancia el patrón de distribución de las especies de interés comercial y sus tendencias temporales. Se necesita asimismo evaluar las repercusiones en el ecosistema costero de la recolección de poblaciones de algas nativas y de la introducción y explotación de especies exóticas. La recolección de biomasa en poblaciones de algas nativas debe realizarse sin poner en peligro la viabilidad a largo plazo de las mismas. En este capítulo se describe la singular distribución de las macroalgas en la costa noroeste de la Península Ibérica y los cambios históricos y recientes observados en las distribuciones de algunas especies de gran porte. Se analiza la introducción de especies exóticas de forma accidental o intencionada para su cultivo y finalmente se comentan brevemente algunas herramientas útiles en una gestión responsable de poblaciones naturales de algas.

### **Peculiaridades de la distribución de macroalgas en la costa noroeste de la Península Ibérica**

La vertiente atlántica de la Península Ibérica presenta unas características singulares en la composición de la flora y fauna presente en sus costas rocosas. En concreto, varias especies de algas pardas de gran porte abundan en la cornisa noroeste peninsular pero desaparecen tanto hacia el interior del golfo de Vizcaya como hacia el sur de Portugal. Entre estas especies se encuentran *Fucus serratus* (especie fácil de reconocer por talo con bordes aserrados, Figura 1) e *Himanthalia elongata* (conocida como “espagueti de mar”), localizadas en la franja costera con influencia mareal, y *Laminaria hyperborea* y *Saccarina latissima* (“kombu de azúcar”), restringidas a zonas más profundas. La presencia de estas especies de gran tamaño, generadoras de estructura y típicas de aguas templado-frías confiere a las comunidades de las costas rocosas gallegas una gran similitud con las de la Bretaña francesa o el sur del Reino Unido. Dentro del grupo de las algas rojas, también hay especies abundantes en las costas del noroeste peninsular como *Palmaria palmata*, conocida como “dulce” y especie utilizada como alimento



Figura 1. Individuos de *Fucus serratus* en la localidad de San Pedro, Lugo (43° 37'N, 7° 19'W) en junio de 2007. Se observa el borde aserrado de las frondes y las partes apicales reproductoras o receptáculos, de color más claro (autor: RM Viejo)

tradicionalmente en el norte de Europa y Canadá, o *Chondrus crispus* (“musgo de Irlanda”) de la que se obtiene agar-agar. Las costas vascas y las del sur de Portugal, por otro lado, presentan una flora en general empobrecida respecto a las costas gallegas y con mayor dominancia de especies de aguas templado-cálidas, como el alga roja *Gelidium corneum* o la feofíceo *Cystoseira tamariscifolia* (Lüning, 1990).

Estas diferencias tan marcadas en cuanto a la composición de especies, con la presencia de una flora más septentrional en la cornisa noroeste peninsular, se han asociado tradicionalmente con el gradiente de temperatura superficial del agua, que se incrementa hacia el interior del golfo de Vizcaya y el sur de Portugal principalmente en la época estival, así como con la presencia de tramos largos de costas arenosas en estas áreas (Lüning, 1990).

A escalas espaciales más pequeñas también se manifiestan cambios en la composición de especies de macroalgas marinas, dentro de una misma localidad

y entre localidades con distinto grado de exposición al oleaje. Dentro de una localidad hay especies que se sitúan en la zona intermareal y por tanto permanecen emergidas durante los periodos de bajamar, ej. especies del género *Fucus*, mientras que otras macroalgas habitan zonas más profundas que nunca o rara vez quedan expuestas al aire, ej. especies del género *Laminaria*. En cada zona, intermareal y submareal, aparecen a su vez bandas dominadas por distintas algas. Estos patrones de distribución espacial vertical están determinados por la tolerancia de cada especie a distintos tiempos de emersión en la franja intermareal y a la cantidad y calidad de luz en la zona submareal. Las interacciones biológicas de competencia entre algas o herbivorismo también juegan un papel fundamental en la determinación de estos patrones a pequeña escala (Little y Kitching, 1996).

Entre localidades con distinta exposición al oleaje también se observan cambios importantes en el patrón de distribución de especies en costas rocosas. Este patrón está asimismo determinado por el distinto grado de tolerancia de las especies a la acción de las olas y por interacciones entre especies. En Galicia se han definido cinco tipos generales de costa relacionadas con el grado de exposición al oleaje y basadas en la diferente composición de macroalgas (Cremades et al., 2004). Así, en zonas estuáricas y protegidas aparece *Fucus ceranoides* y *Ascophyllum nodosum*, en zonas semi-protegidas *Fucus serratus* mientras que otras especies de interés comercial como *Himanthalia elongata* o *Bifurcaria bifurcata* aparecen en áreas semi-expuestas o expuestas.

Si comparamos la distribución a pequeña escala que presentan diversas algas pardas de gran porte, típicas de aguas frías en el norte de Europa, con la distribución que presentan en la Península Ibérica, se observan diferencias interesantes. En el norte de Europa, especies como *Ascophyllum nodosum* aparecen cubriendo grandes extensiones en costas expuestas o semi-expuestas a la acción del oleaje, mientras que en la Península Ibérica la distribución de ésta y de otras especies de requerimientos similares aparece restringida a ambientes estuáricos muy protegidos (Southward et al., 1995 y referencias incluidas). Estos cambios se han relacionado con condiciones ambientales más estresantes y un incremento de la presión y diversidad de herbívoros hacia el sur (Southward et al., 1995), aunque hasta el momento no se han realizado estudios experimentales para elucidar las causas de dicho patrón.

## **Cambios temporales en la distribución de macroalgas: desplazamientos en las fronteras biogeográficas de especies**

A la hora de explotar un recurso, es necesario en primera instancia conocer su patrón de distribución y abundancia así como las tendencias temporales a largo plazo. Como ya se ha comentado en el apartado anterior, varias especies de algas pardas de afinidad septentrional son abundantes en las costas gallegas pero desaparecen hacia las costas vascas y el sur de Portugal. Para estas especies, por tanto, la cornisa noroeste peninsular constituye el límite sur de su distribución geográfica, presentando en realidad dos fronteras biogeográficas: una en la costa norte española y otra en las costas portuguesas (véase Figura 2A para la distribución de *F. serratus*). Estos límites de distribución sur se han desplazado a lo largo del tiempo. En la costa norte española, por ejemplo, las especies *F. serratus* e *Himanthalia elongata* han sufrido contracciones desde finales del siglo XIX y en el caso de *F. serratus* también expansiones en su distribución, es decir, desplazamientos en su límite geográfico en la costa norte hacia el este y el oeste (Savaugau, 1897, Fischer-Piette, 1955, Anadón y Niell, 1981, Arrontes, 2002). En los años 90, el límite de distribución de estas dos especies se encontraba en la costa occidental asturiana. En la actualidad *H. elongata* ha desaparecido prácticamente de las costas de Asturias y Lugo y presenta la distribución más reducida desde finales del siglo XIX en el norte peninsular (Duarte y colaboradores, datos sin publicar). Del mismo modo, las poblaciones marginales de *F. serratus* en costas asturianas han experimentado una drástica reducción en su abundancia (Figura 2B; Viejo et al., 2011). Estos cambios, que indican una contracción en la distribución de algunas especies de algas en el norte peninsular, parecen estar relacionados con los incrementos en temperatura del agua que se han producido en la costa cantábrica desde los años 70 hasta la actualidad (de Castro et al., 2009). En las costas portuguesas se han observado cambios similares (Lima et al., 2007, Araújo et al., 2009).

Se han observado desplazamientos en los límites biogeográficos de especies en sistemas marinos de diversas partes del mundo y estos desplazamientos se producen a una tasa mayor que en sistemas terrestres (Sorte et al., 2010). Estas contracciones o expansiones en la distribución de especies suponen extinciones o colonizaciones a nivel local. En el caso de especies de algas de gran porte, generadoras de estructura y modificadoras del hábitat, que juegan un papel

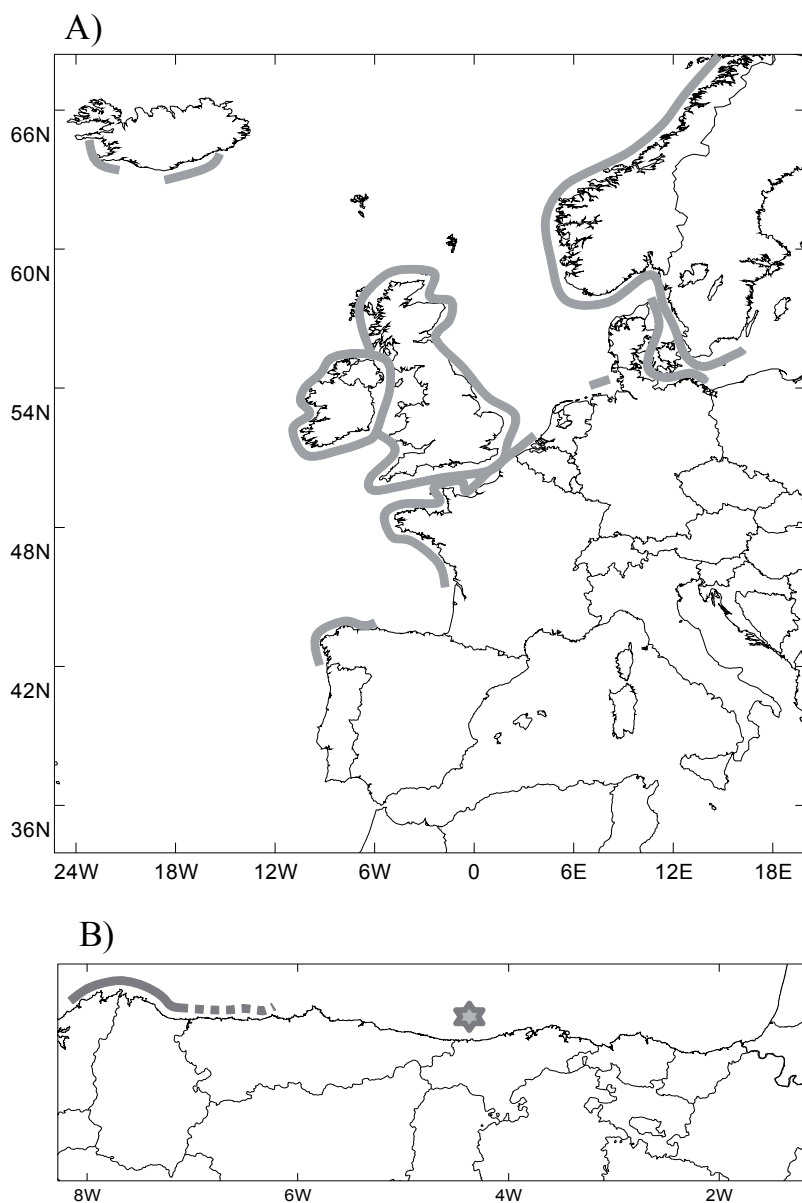


Figura 2. A) Distribución en Europa del alga parda *Fucus serratus* (modificado de Lüning 1990) B) Cambios históricos y recientes en la distribución de esta especie en el norte de la Península Ibérica. La estrella indica el límite de distribución a finales del siglo XIX, situado en San Vicente de la Barquera; las líneas marcan la distribución de la especie desde los años 90; la línea discontinua indica el brusco declive en densidad observado en la costa occidental asturiana desde el inicio del presente siglo (Viejo et al., 2011 y datos sin publicar).

semejante al de los árboles en un bosque, los cambios en su distribución pueden originar importantes modificaciones en el conjunto de la comunidad costera.

Estos cambios se pueden detectar mediante seguimientos a largo plazo de la distribución y biomasa de macroalgas. Como ejemplo, en las costas del sur de Nueva Escocia, Canadá, la compañía Acadians Seaplant Limited realiza seguimientos temporales de la biomasa de *Ascophyllum nodosum* desde 1995 para establecer tasas anuales de explotación sostenibles. Hasta el año 2004, en esta zona aparecían áreas extensas dominadas en un 99 % por *Ascophyllum*, pero a partir de esta fecha se produjo una reducción de la biomasa de esta especie y un incremento significativo de otra alga parda de menor valor comercial, *Fucus vesiculosus*, cambios aparentemente relacionados de nuevo con incrementos en la temperatura superficial de las aguas (Ugarte et al., 2009).

### **Cambios temporales en la distribución de macroalgas: la introducción de especies exóticas y su explotación comercial**

Las expansiones o contracciones en la distribución de especies se producen en áreas con una cierta continuidad espacial de su hábitat, pero en ocasiones un organismo puede traspasar barreras geográficas e instalarse en una zona alejada. Así, diversas actividades humanas relacionadas con el comercio mundial y el transporte de personas han originado introducciones de especies en regiones diferentes a las de su origen, sea de forma accidental o intencionada. En la actualidad estas introducciones se están incrementando y en algunas bahías marinas se identifican nuevas especies cada 30-40 semanas (Hewitt et al., 2007).

Una gran proporción de esas especies introducidas en sistemas marinos son macroalgas, constituyendo entre el 8 y el 38 % de las especies foráneas y pudiendo llegar a constituir el 5% de la flora en una región (Schaffelke et al., 2006, Johnson y Chapman, 2007). A diferencia de otras especies marinas, para las que el principal vector de transporte es el agua de lastre de los barcos, para las algas exóticas son las prácticas de acuicultura y los cascos de los barcos las principales vías de introducción conocidas (Williams y Smith, 2007). La mayoría de las introducciones de algas son accidentales (Johnson y Chapman, 2007). Estos organismos pueden ser transportados de manera fortuita adheridos a los cascos de barcos o sobre conchas de moluscos comerciales importados. No obstante, el creciente interés



comercial de algunas especies de algas hace que se lleven a cabo introducciones intencionadas de las mismas para su cultivo.

Una especie que sobrevive al transporte y se establece, se convierte en invasora si en lugar de permanecer localizada en el punto de introducción es capaz de expandir su distribución en la nueva área geográfica (Figura 3). Es importante destacar que es difícil determinar si una especie introducida es o no invasora, ya que la fase de expansión puede no producirse inmediatamente tras la colonización y la duración de ese intervalo en muchos casos se desconoce. El impacto ecológico de una especie exótica puede por tanto ser muy diferente si se evalúa en un corto plazo de tiempo desde su detección o después de décadas tras su introducción.

Las especies invasoras son una de las principales amenazas para la biodiversidad a nivel mundial y originan importantes impactos ecológicos y económicos, incluso graves problemas de salud humana (Kolar y Lodge, 2001). Por este motivo, recientemente se han publicado numerosos artículos científicos de revisión

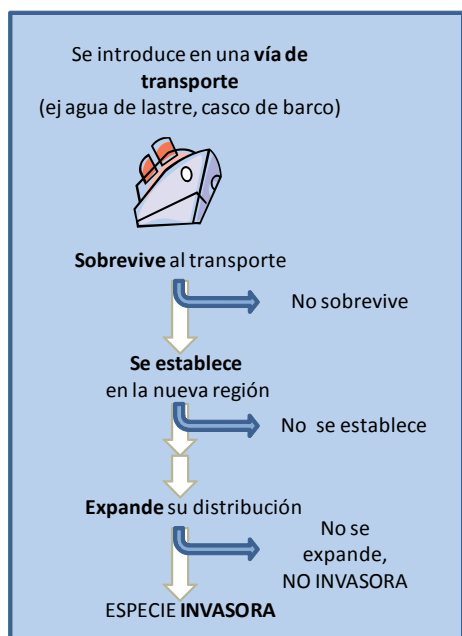


Figura 3. Secuencia que debe seguir una especie para traspasar barreras de dispersión, introducirse en una nueva área geográfica y convertirse en especie invasora (modificado de Kolar y Lodge, 2001)

sobre las introducciones de especies exóticas en general y de macroalgas en particular. Estas revisiones tratan de aspectos tales como las características de las especies introducidas y de las comunidades receptoras que determinan el éxito de la invasión, los impactos ecológicos y económicos o los métodos de erradicación y control de algas invasoras (ej. Schaffelke et al., 2006, Hewitt et al., 2007, Johnson y Chapman, 2007, Williams y Smith, 2007). De las más de 270 especies de algas introducidas en el mundo, no obstante, sólo se han evaluado de forma cuantitativa el posible efecto ecológico y económico de 17 de ellas (Williams y Smith, 2007).

Entre las especies exóticas tratadas ampliamente en estas revisiones y que

han sido introducidas en costas del noroeste peninsular, destacan dos algas pardas de gran talla, ambas de origen japonés: *Sargassum muticum* y *Undaria pinnatifida*. Esta última especie tiene interés comercial y es comúnmente conocida como “wakame”. Las dos especies colonizan la zona intermareal inferior y submareal. *Sargassum muticum* apareció por primera vez en Europa en la década de los 70 y posiblemente ha sido introducida de forma accidental en Normandía y Bretaña (Francia), con la importación de semilla de ostra japonesa, *Crassostrea gigas*. Desde entonces, la especie ha extendido su distribución por toda Europa. La introducción de *Undaria pinnatifida* en costas atlánticas europeas se realizó en los años 80 de forma intencionada en la Bretaña francesa para su cultivo y explotación (Pickering et al., 2007). Ambas especies aparecieron por primera vez en costas del noroeste peninsular en los años 80 (Fernández et al., 1990 y referencias incluidas, Cremades, 1995).

Las características de una especie introducida pueden en parte determinar el éxito de la invasión y los impactos ecológicos y económicos generados. Así, *Sargassum muticum* presenta una serie de características que la definen como un alga invasora agresiva, como son su elevada fecundidad y tasa de crecimiento y la presencia de mecanismos de dispersión a corta y larga distancia (Norton, 1976). Por otro lado, las características de las comunidades receptoras también influyen en el resultado e impactos de la introducción. La presencia de perturbaciones en las comunidades receptoras, áreas con poca cobertura de algas nativas, facilita la colonización de esta especie (Andrew y Viejo, 1998). Una vez establecida, la especie puede persistir y propagarse en ausencia de la perturbación inicial. Numerosos estudios observacionales y experimentales indican efectos negativos sobre la diversidad y la abundancia de especies nativas, aunque el impacto es variable dependiendo de la intensidad de la invasión. Varios de estos estudios han sido llevados a cabo en costas del noroeste peninsular (ej. Viejo, 1997, Sánchez y Fernández, 2005, Olabarria et al., 2009).

*Undaria pinnatifida* presenta un ciclo de vida con dos fases, una de ellas es microscópica, el gametófito, que tiene tolerancia a un rango amplio de temperaturas (17-31°C) (Henkel y Hofmann, 2008). Una vez establecido en la naturaleza, es casi imposible de erradicar. La fase macroscópica es el esporófito, de gran talla (>2 m en especímenes intermareales) y que es capaz de colonizar condiciones

muy diversas de profundidad y exposición al oleaje (Henkel y Hofmann, 2008, Russell et al. 2008). Al igual que *S. muticum*, la presencia de zonas alteradas o perturbadas facilita el establecimiento inicial de esta especie, como ocurrió en la colonización en Australia (Schaffelke et al., 2006 y referencias incluidas). *U. pinnatifida* es una de las dos únicas especies de algas que aparecen incluidas en la lista de las 100 especies invasoras más dañinas a nivel mundial de la IUCN (Unión Mundial para la Conservación de la Naturaleza) junto con *Caulerpa taxifolia* (Lowe et al., 2004). No se considera invasora en el Mediterráneo pero sí en las costas atlánticas europeas. De hecho, está incluida en la lista de las 100 especies invasoras más dañinas a nivel europeo (proyecto DAISIE, *Delivering Alien Species Inventories for Europe* financiado por la Comisión Europea, página web: <http://www.europealiens.org/>). Existen menos estudios a nivel global sobre esta especie que en el caso de *C. taxifolia* o *S. muticum*. Aunque las respuestas observadas varían entre áreas geográficas, una gran proporción de los trabajos muestran efectos negativos del dosel estacional que forman los esporófitos sobre la biomasa y diversidad de las macroalgas nativas (Williams y Smith, 2007). Hasta el momento no hay estudios experimentales que evalúen el posible efecto de la introducción de *U. pinnatifida* en costas del noroeste peninsular.

La introducción de una especie exótica va acompañada de un riesgo ecológico que es *a priori* difícil de determinar. Como ejemplo, en la Bretaña francesa se permitió el cultivo de *Undaria pinnatifida* en 1983 basándose en la hipótesis de que las bajas temperaturas del agua permitirían el crecimiento del esporófito pero no la reproducción del mismo. Por lo tanto, se asumió que el cultivo en el mar sería controlable. Sin embargo, las estimas de los límites térmicos de esta especie resultaron ser erróneas y *U. pinnatifida* se extendió rápidamente, invadiendo las costas del sur del Reino Unido (Meinesz, 2007).

En el caso de introducciones intencionadas como la acuicultura, es necesario llevar a cabo evaluaciones rigurosas del riesgo ecológico y el impacto económico a medio y largo plazo. Como recomendación, no se deberían cultivar algas que estén en listas nacionales o internacionales de especies invasoras agresivas o que en artículos científicos aparezcan efectos negativos de estas especies sobre las comunidades receptoras. La mejor defensa frente a los riesgos es la prevención y aplicar el principio de precaución significa cultivar especies nativas en lugar de especies exóticas. El

cultivo de especies foráneas actúa como vector de introducción de las mismas o si esta especie ya está establecida su cultivo puede favorecer su expansión al añadir nuevos focos de propagación en el área geográfica receptora. La evaluación de los riesgos de invasión dio lugar a que fueran rechazadas las propuestas para cultivar la macroalga gigante del Pacífico *Macrocystis pyrifera* en Europa en los años 50 y 70, basándose en que esta especie podría completar su ciclo reproductor en las temperaturas del Canal de la Mancha. La prohibición se produjo a partir de una recomendación de ICES (Consejo Internacional para la Exploración del Mar) y debido asimismo a la presión pública. Si no se hubiera prohibido, probablemente esta especie (que puede alcanzar decenas de metros de longitud) habría colonizado las costas atlánticas europeas, desde Noruega hasta España.

La detección temprana de introducciones es crucial para la erradicación y control de especies exóticas. No obstante, incluso en el caso de especies exóticas conspicuas y diferentes de la flora nativa, como el caso de *Sargassum muticum*, la detección temprana es poco frecuente y suele ser resultado del azar. Como ya se ha comentado, la primera cita en Europa de esta especie japonesa es de los años 70 (en Isla de Wight, sur del Reino Unido) cuando se cree que el alga se introdujo de forma accidental en costas francesas a finales de los años 60 (Meinesz, 2007 y referencias incluidas). La erradicación de macroalgas una vez establecidas es muy difícil y costosa y han tenido éxito en contadas ocasiones, cuando la respuesta ha sido muy rápida y el tiempo transcurrido desde la introducción muy corto, como en la introducción del alga *Caulerpa taxifolia* en California y en Australia (Schaffelke et al., 2006). Si la especie exótica está establecida y presenta una extensa distribución y abundancia, con pocas posibilidades de erradicación, se podría plantear su explotación comercial utilizando prácticas de recolección que no favorezcan su propagación sexual o vegetativa.

### **Explotación de poblaciones de macroalgas nativas: la utilidad de los ensayos experimentales**

La explotación de poblaciones naturales de algas nativas debe realizarse manteniendo la viabilidad de las mismas a largo plazo, no sólo para preservar este recurso económico, sino por el papel fundamental que desempeñan las algas en los sistemas costeros y por tanto, por el valor ecológico y económico

de sus funciones. La explotación sostenible implica conservar una capacidad reproductora adecuada en las poblaciones para mantener el reclutamiento de nuevos individuos. Se requiere, por tanto, conocer el ciclo de vida de la especie, la tasa de crecimiento, las características y época de la reproducción y la presencia o no de propagación vegetativa.

Para determinar la mejor práctica de recolección y evaluar los impactos de la explotación, es recomendable llevar a cabo pruebas experimentales donde se comparen diversos métodos, tasas y tiempos de recogida de biomasa. Asimismo, se deberían realizar seguimientos para determinar los efectos de las prácticas de recolección tanto en la estructura y dinámica de la población explotada (ej. tasas de crecimiento y mortalidad, estructura de tallas) como en los hábitats y fauna asociada. Los estudios experimentales requieren efectuar comparaciones de los resultados en áreas manejadas con zonas control no manipuladas.

Un ejemplo del uso de ensayos piloto en la mejora de la gestión de poblaciones naturales es el realizado en costas canadienses para la explotación de poblaciones naturales de *Ascophyllum nodosum*. Esta especie se explota desde finales de los años 50 para su uso como fertilizante, alimento para ganado y como fuente de alginatos.

Desde los últimos 15 años las cantidades recogidas y la extensión del área explotada se han incrementado por el aumento de la demanda. A pesar de este incremento (la extensión actual explotada es de más de 3.000 hectáreas y 2.000 km lineales de costa), los métodos de corta han pasado de mecanizados a ser totalmente manuales y el porcentaje de biomasa recogido no supera el 17-25 % de la biomasa total explotable (Ugarte et al., 2006). Los ensayos experimentales y el programa de seguimiento proporcionaron una gran cantidad de información sobre el impacto de la recolección en la estructura y complejidad del hábitat. Una de las conclusiones obtenidas fue que con el método manual y el porcentaje retirado, la reducción en biomasa producida por la extracción se recuperaba en tan sólo un año. Esta rápida recuperación estaba asociada a la estimulación del crecimiento de frondes que permanecían sombreados antes de la recolección. Los estudios piloto sirvieron en definitiva, para perfilar un plan de extracción con un impacto reducido en las comunidades costeras.

## **Agradecimientos**

Los comentarios de David Gutiérrez han mejorado considerablemente la redacción del capítulo. La información sobre los cambios recientes en la distribución de especies constituyen parte del trabajo de investigación financiado por los proyectos I+D del Ministerio Español de Ciencia e Innovación con referencias CGL2004-05379/BOS y CGL2007-66095/BOS. Agradezco al personal del Centro Tecnológico del Mar-Fundación CETMAR y en especial a Mónica Incera la oportunidad ofrecida de participar en el Seminario organizado en el marco del proyecto Biotecmar, participación que ha dado lugar a este capítulo.

## Referencias bibliográficas

- Airolidi L., Balata D., Beck M.W. (2008) The Gray Zone: Relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 366: 8-15.
- Anadón R. y Niell F.X. (1981) Distribución longitudinal de macrofitos en la costa asturiana (N de España). *Investigación Pesquera*, 45: 143-156.
- Andrew N.L. y Viejo R.M. (1998) Ecological limits to the invasion of *Sargassum muticum* in northern Spain. *Aquatic Botany*, 60: 251-263.
- Araújo R., Bárbara I., Tibaldo M., Berecibar E., Díaz-Tapia P., Pereira R. Santos R., Sousa-Pinto I. (2009) Checklist of benthic marine algae and cyanobacteria of northern Portugal. *Botanica Marina*, 52:24-46.
- Arrontes J. (2002) Mechanisms of range expansion in the intertidal brown alga *Fucus serratus* in northern Spain. *Marine Biology*, 141: 1059-1067.
- Cremades J. (1995) A introducción de algas mariñas alóctonas nas costas de Galiza. Cerna. *Revista Galega de Ecoloxía e Medio Ambiente*, 16 : 12-14.
- Cremades J., Bárbara I. y Veiga A.J. (2004) Intertidal vegetation and its commercial potential on the shores of Galicia (NW Iberian Peninsula). *Thalassas*, 20 : 69-80.
- De Castro M., Gómez-Gesteira M., Alvarez I. y Gesteira J.L.G. (2009) Present warming within the context of cooling–warming cycles observed since 1854 in the Bay of Biscay. *Continental Shelf Research*, 29 : 1053-1059.
- Fernández C., Gutierrez L.M., Rico J.M. (1990) Ecology of *Sargassum muticum* on the north coast of Spain. Preliminary observations. *Botanica Marina*, 33: 423–428.
- Fischer-Piette E. (1955) Sur les déplacements de frontières biogéographiques des especies septentrionales dans le bios intercotidal iberique: situation en 1956-57. *Ibidem*, 245: 373-375.
- Henkel S.K. y Hofmann G.E. (2008) Thermal ecophysiology of gametophytes cultured from invasive *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar in coastal California harbors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367:164-173.

- Hewitt C.L., Campbell M.L. y Schaffelke B. (2007) Introductions of seaweeds: accidental transfer pathways and mechanisms. *Botanica Marina*, 50: 326–337.
- Johnson C.R. y Champan A.R.O. (2007) Seaweed invasions: introduction and scope. *Botanica Marina*, 50: 321-325.
- Kolar C.S. y Lodge D.M. (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 199-204.
- Lima F.P., Ribeiro P.A., Queiroz N., Hawkins S.J., Santos A.M. (2007) Do distributional shifts of northern and southern species of algae match the warming pattern? *Global Change Biology*, 13: 2592-2604.
- Little C. y Kitching J.A. (1996) *The biology of rocky shores*. Oxford University Press, New York.
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., De Poorter M. (2004) 100 de las Especies Exóticas Invasoras más Dañinas del mundo. Grupo Especialista de Especies Invasoras (GEEI). Auckland, NZ: Universidad de Auckland.
- Lüning K. (1990) *Seaweeds. Their environment, biogeography and ecophysiology*. Wiley & Sons.
- Mauseth J.D. (2009) *Botany. An introduction to plant biology*. Fourth Edition. Jones and Bartlett publishers, Massachusetts.
- Meinesz A. (2007) Methods for identifying and tracking seaweed invasions. *Botanica Marina*, 50: 373-384.
- Norton T.A. (1976) Why is *Sargassum muticum* so invasive? *British Phycological Journal*, 11: 197–198.
- Olabarria C., Rodil I.F., Incera M., Troncoso J.S. (2009) Limited impact of *Sargassum muticum* on native algal assemblages from rocky intertidal shores. *Marine Environmental Research*, 67: 153-158.
- Pickering T.D., Skelton P., Sulu R.J. (2007) Intentional introductions of commercially harvested alien seaweeds. *Botanica Marina*, 50:338-350.
- Russell L.K., Hepburn C.D., Hurd C.L. y Stuart M.D. (2008) The expanding range of *Undaria pinnatifida* in southern New Zealand: distribution, dispersal mechanisms and the invasion of wave-exposed environments. *Biological Invasions*, 10:103-115.



- Sánchez I. y Fernández C. (2005) Impact of the invasive seaweed *Sargassum muticum* (Phaeophyta) on an intertidal macroalgal assemblage. *Journal of Phycology*, 41: 923–930.
- Savaugau, M.C. (1897) Note préliminaire sur les algues marines du Golfe de Gascogne. *Journal de Botanique*, 13: 166-311.
- Sorte C.J.B., Williams S.L. y Carlton T. (2010) Marine range shifts and species introductions: comparative spread rates and community impacts. *Global Ecology and Biogeography*, 19: 303-316.
- Southward A.J., Hawkins S.J., Burrows M.T. (1995) Seventy years' observations of changes in distribution and abundance of zooplankton and intertidal organisms in the western English Channel in relation to rising sea temperature. *Journal of Thermal Biology*, 20: 127-155.
- Ugarte R.A., Sharp G., Moore B. (2006) Changes in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Plant morphology and biomass produced by cutter rake harvests in southern New Brunswick, Canada. *Journal of Applied Phycology*, 18:351-359.
- Ugarte R.A., Critchley A., Serdynska A.R. y Deveau J.P. (2009) Changes in composition of rockweed (*Ascophyllum nodosum*) beds due to possible recent increase in sea temperature in Eastern Canada. *Journal of Applied Phycology*, 21: 591-598.
- Viejo R.M. (1997) The effects of colonization by *Sargassum muticum* on tidepool macroalgal assemblages. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 77: 325–340.
- Viejo R.M., Martínez B., Arrontes J., Astudillo C., Hernández L. (2011) Reproductive patterns in central and marginal populations of a large brown seaweed: drastic changes at the southern range limit. *Ecography*, 34: 75-84.
- Williams S.L. y Smith J.E. (2007) A global review of the distribution, taxonomy, and impacts of introduced seaweeds. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38: 327-359.



# La explotación de macroalgas marinas en Galicia: situación actual y marco legal.

Manuel García Tasende

Servizo de Planificación, Dirección Xeral de Ordenación e Xestión dos Recursos Mariños, Consellería do Mar, Xunta de Galicia. Rúa Valiño, 63-65 - San Lázaro, 15704 Santiago de Compostela.

Dirección e-mail: manuel.garcia.tasende@xunta.es

## Resumen

Galicia tiene una gran riqueza cualitativa y cuantitativa de algas marinas, las cuales por su amplia variedad de propiedades pueden ser empleadas en diferentes sectores productivos. Desde principios del siglo XX se han recogido algas para su comercialización en diferentes sectores (químicos, farmacéutico, alimentación, fitoterapia, etc.). La época de máxima actividad (en volumen de algas recolectadas) tuvo lugar entre 1960 y 1980, y estuvo ligada a la fuerte demanda de ficoloides (agar, alginatos y carrageninas). En la actualidad, la actividad se concentra en aquellas especies que se emplean para la obtención de carrageninas o para el sector de la alimentación. En este capítulo se analizará la evolución de la actividad extractiva en Galicia y el marco legal que la regula.

## **Evolución histórica de la explotación de las macroalgas marinas en Galicia**

Las costas de Galicia se caracterizan por la gran diversidad de especies de macroalgas marinas presentes. Recientemente han sido catalogadas un total de 618 especies: 118 Cyanophyta o cianófitas, 296 Rhodophyta o algas rojas, 127 Ochrophyta o algas pardas y 77 Chlorophyta o algas verdes (Bárbara et al., 2005). Esta amplia variedad de especies y sus numerosas propiedades motivaron que desde muy antiguo fuesen empleadas con distintos fines.

Tradicionalmente, las algas fueron utilizadas como fertilizantes y acondicionadoras del suelo y, en épocas desfavorables, como suplemento en la alimentación de animales. Para estos fines se recolectaban las algas de arribazón (argazos) que aparecían arrojadas en las playas después de los temporales que tienen lugar durante el otoño y el invierno. Estos usos se fueron abandonando a medida que se desarrollaron fertilizantes químicos y los piensos para la alimentación animal. En la actualidad, la recogida de arribazón es una actividad residual, que además está limitada por la normativa que regula el tratamiento de residuos orgánicos.

Durante las épocas de hambruna, también fueron empleadas ocasionalmente como suplemento en la alimentación humana (Tasende y Rodríguez González, 2003).

La recolección con fines industriales se inició a principios del siglo XX. En 1932, se estableció el reglamento de explotación de algas pardas para la producción de iodo. Esta actividad cesó cuando dejó de ser rentable por la importación de iodo de origen mineral, fundamentalmente procedente de Chile.

Más tarde, en 1945 también se reguló la recogida para la extracción industrial de ficoloides al establecerse en España las primeras empresas procesadoras. Hasta la Segunda Guerra Mundial, estos compuestos eran importados del Suroeste Asiático (principalmente agar procedente de Japón). Durante ese período, las importaciones de oriente cesaron lo que provocó que en occidente se iniciase el desarrollo de la tecnología necesaria para la obtención de ficoloides a partir de especies autóctonas (McHugh, 2003).

El mercado de los ficoloides tuvo un gran desarrollo durante la segunda mitad de siglo XX, lo que motivó la proliferación de la industria procesadora. En Galicia, en 1969, se habían establecido 4 empresas:

- Una de agarófitos en Ribadeo.
- Dos de alginófitos en Ribadeo y A Coruña.
- Una de carragenófitos en Porriño.

El auge de la industria productora de ficocoloides (agar, alginatos y carrageninas) entre los años 50 y 80, incrementó la demanda de la materia prima (McHugh, 2003, Bixler y Porse, 2010). En este período la industria europea y norteamericana dominaba el mercado mundial de ficoloides. En los años 70, se alcanzaron las 10.000 toneladas en peso fresco anuales (del orden de 2.000 toneladas de peso escurrido). A partir de los años 80, el escaso desarrollo tecnológico de la recogida de algas en

Galicia y la ausencia de una gestión real de estos recursos, junto a los bajos precios, motivaron que nuestros productores no pudiesen competir con la materia prima procedente de países que apostaron decididamente por la modernización del sector extractivo (Francia, Canadá o Noruega). Además las grandes multinacionales que dominan la producción de ficoloides, apostaron por realizar fuertes inversiones de I + D en países poco desarrollados, con mano de obra barata, en los que el cultivo de especies más eficientes en la producción de ficoloides aseguraban la rentabilidad del cultivo.

Actualmente en Galicia tan sólo se mantiene la recogida de algas con fines industriales en aquellas especies que forma poblaciones permanentes en la franja intermareal, y a las que por tanto se puede acceder a pie durante la bajamar y que pueden ser recolectadas a mano y transportadas en sacos hacia el interior.

En los años 90, algunos emprendedores apostaron decididamente por el uso de las algas para consumo directo por el hombre, principalmente para el sector de la alimentación. Estas iniciativas han generado una nueva forma de explotación de algas marinas, ampliando el espectro de especies recolectadas y con una mayor especialización de los recolectores debido a las exigencias cualitativas requeridas por este sector.

La producción anual de algas desde que las competencias sobre este recurso fueron transferidas a esta Comunidad Autónoma se mantuvo por debajo de las 605 t cosechadas en 2009 (Figura 1). Entre 1993 y 2000, la producción mantuvo una cierta estabilidad anual en torno a las 440 t anuales. Desde 2000, se produce un cambio motivado principalmente por la aparición de las primeras empresas dedicadas a la producción de algas para alimentación humana. Esta tendencia se truncó en 2003 debido a la marea negra provocada por el hundimiento del petrolero *Prestige* en noviembre de 2002.

De las 618 especies catalogadas, tan sólo 12 fueron recolectadas en 2009. Estas especies son demandadas por la industria productora de carrageninas y por las empresas de alimentación (Tabla 1). De las 605 toneladas recolectadas, 427 (71 %) fueron empleadas para la producción de carrageninas y el 21% restante (178 t) en alimentación. Esta distribución motiva que las especies de las que se recolectan las mayores cantidades anualmente son aquellas que se emplean para la producción de carrageninas (*Chondrus crispus*, *Mastocarpus stellatus* y *Gigartina* spp).

Figura 1 Producción de macroalgas marinas en Galicia entre 1993 y 2009. Se muestran las toneladas en peso para cada uno de sus usos principales.

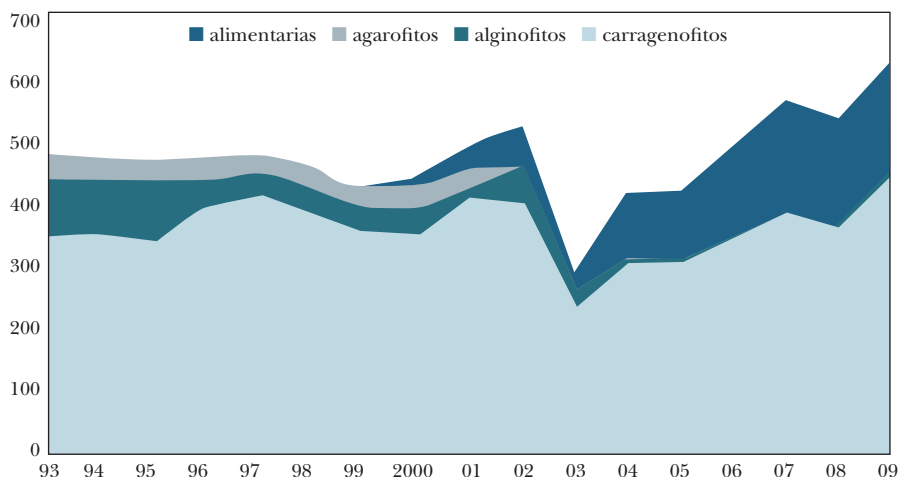


Tabla 1. Producción de algas en el año 2009. Se muestran las cantidades recolectadas por especie y fin comercial, así como las entidades que las recolectan.

| Aplicaciones   | Especies                      | TONELADAS   |            |            |            |
|----------------|-------------------------------|-------------|------------|------------|------------|
|                |                               | Cofradías   | Empresas   | Total      | %          |
| Carrageninas   | <i>Chondrus crispus</i>       |             |            |            |            |
|                | <i>Mastocarpus stellatus</i>  | 5           | 422        | 427        | 71         |
|                | <i>Gigartina spp</i>          |             |            |            |            |
| Alimentación   | <i>Himanthalia elongata</i>   | 4           | 82         | 86         | 14         |
|                | <i>Laminaria spp</i>          | 38          | 27         | 65         | 11         |
|                | <i>Undaria pinnatifida</i>    | 10          | 4          | 14         | 2          |
|                | <i>Ulva rigida</i>            | 4           | 3          | 7          | 1          |
|                | <i>Saccorhiza polyschides</i> | 0,1         | 4          | 4          | 0,6        |
|                | <i>Porphyra spp</i>           |             | 1          | 1          | 0,2        |
|                | <i>Rhodophyceae</i>           | 1           |            | 1          | 0,2        |
|                | <b>Total alimentación</b>     | <b>57,1</b> | <b>121</b> | <b>178</b> | <b>29</b>  |
| <b>Total</b>   |                               | <b>62,1</b> | <b>543</b> | <b>605</b> | <b>100</b> |
| <b>% total</b> |                               | <b>10</b>   | <b>90</b>  |            |            |

En la actualidad, la recogida de algas puede ser realizada tanto por mariscadores incluidos en el plan de explotación presentado por la organización a la que pertenezcan o por personal propio de las empresas procesadoras de algas. En 2009, el 90% de la producción fue recolectada dentro del plan de explotación presentado por las empresas transformadoras.

En la actualidad no tenemos información sobre la explotación de algas de arribazón al ser su recogida libre y por tanto su control no corresponde a la administración pesquera. Estas algas pueden ser empleadas para la producción de agar (arribazones de *Gelidium* spp en la zona de Mougás y Costa da Morte) o para fertilizantes (arribazones de algas pardas y/o verdes).

A continuación se analizarán los diferentes usos para los que son empleadas las algas marinas recolectadas en Galicia. Se detallan las especies explotadas, los métodos de recolección, su comercialización y problemática. Finalmente se abordará el marco legal que regula la explotación de las algas marinas en Galicia.

## 1. Producción industrial de carrageninas

Los ficoloides (agar, alginatos y carrageninas) son los extractos de algas que presenta un mayor interés desde un punto de vista comercial. Cada uno de estos compuestos tiene propiedades únicas lo que ha motivado que tengan sus nichos propios de mercado. En Galicia, actualmente sólo queda una empresa productora de ficoloides, especializada en la producción de carrageninas.

Las carrageninas son polisacáridos sulfatados que se pueden disolver en agua o leche, y actúan como gelificantes, espesantes, estabilizantes y homogeneizantes. En la actualidad se identifican diferentes moléculas de carrageninas que difieren entre sí en su estructura y propiedades y, en consecuencia, en sus aplicaciones y su valor comercial. Las carrageninas de mayor interés para la industria son:

- Las carrageninas *kappa* ( $\kappa$ ) e *iota* ( $\iota$ ) que tienen un efecto gelificante cuando se disuelven en agua caliente y leche y dan lugar a geles de consistencia suave y delicada que los hace muy apreciadas por la industria alimentaria.
- La carragenina *lambda* ( $\lambda$ ) tiene un efecto espesante cuando se disuelve en agua fría o leche, dando lugar a geles más ásperos.

El 80% de las carrageninas se destinan a la industria alimentaria donde se utilizan como aditivos (código internacional E407 para las carrageninas refinadas y E407a para las semirefinadas), y más concretamente para la de derivados lácteos (52% del total). El 20% restante se dedica a la elaboración de otros productos de uso doméstico (dentífricos, geles de baño, etc.), así como en cosmética y en la industria farmacéutica, donde son utilizadas en la elaboración de tratamientos para úlceras gástricas e infecciones víricas. También son empleados en la producción de alimentos para animales, aunque su producción ha descendido en la última década.

La producción mundial de carrageninas se incrementó de las 42.000 toneladas producidas en 1999 a las 52.000 t de 2009. El volumen de negocio se duplicó durante ese período de los 291 x 10<sup>6</sup> \$ a 527 x 10<sup>6</sup> \$. Su precio medio aumentó de 7 \$/kg en 1999 a 10,5 \$/kg en 2009. Hasta el año 2000 se estimó un crecimiento anual del 5%, que se redujo en la década pasada a valores 2,3 % (McHugh, 2003, Bixler y Porse, 2010).

Desde 1960, Galicia es la principal productora de carrageninas dentro del estado español. En los años 70, se recolectaban del orden 1.000 toneladas anuales de algas secas que representaban más del 80 % del total español. La materia prima explotada se conoce con el nombre de *liquen*, que consiste en una mezcla de algas de las especies *Chondrus crispus*, *Mastocarpus stellatus* y *Gigartina* spp. Estas especies tienen ciclos biológicos complejos en las que cada una de sus fases produce mezclas de las diferentes variedades de carrageninas, kappa ( $\kappa$ ), iota ( $\iota$ ) y lambda ( $\lambda$ ), que han de ser separados por medios físico-químicos en las plantas de procesado. En los años 80 comenzaron a importarse algas procedentes del sudeste asiático, que en general, producen un tipo mayoritario de carrageninas y proceden de cultivo. Esto provocó un descenso en la demanda de algas gallegas para la producción de carrageninas. En 2009, se recogieron 420 toneladas de peso seco de liquen. Estas cantidades suponen entre el 15-20% de total de algas requeridas por la empresa procesadora. El resto de la producción de carrageninas se obtiene de algas importadas del sudeste asiático y de Chile.

Las especies carragenófitas están repartidas por toda la costa gallega, en localidades expuestas o semiexpuestas al oleaje, siendo los tramos de costa entre A Guarda y Baiona, a Costa da Morte y la Mariña lucense donde se concentra



las mayores densidades (Catoira, 1993, Xunta de Galicia, 1998). La biomasa total de carragenófitos presentes en las costas gallegas se estimó entre 2.000 y 2.500 toneladas de peso seco.

Durante la realización del proyecto CARRASEA (2004 – 2006), se estimó el contenido en carrageninas en las especies recolectadas en Galicia. El contenido varió entre el 22 y 67% del peso seco de las frondes. Conviene decir que estos datos hacen referencia al peso seco de frondes deshidratadas en laboratorio a 60º C durante 16 h hasta obtener un peso constante.

La recolección de carragenófitos se realiza entre los meses de abril y octubre. En este período las poblaciones de los carragenófitos *C. crispus* y *M. stellatus* alcanzan los valores máximos de biomasa, y de contenido en carrageninas por fronde. La recolección se realiza a mano arrancando las frondes de mayor tamaño, lo que permite la persistencia de los discos de fijación y las frondes juveniles que constituirán el reservorio que permitirá la regeneración de las poblaciones. La mecanización de la recolección resulta difícil ya que los carragenófitos forman cinturas de vegetación muy estrecha y en costas por lo general muy abruptas. El tiempo de recuperación de las poblaciones explotadas tras la recolección a mano se estimó entre 12 – 18 meses (Proyecto CARRASEA 2004 – 2006).

Casi la totalidad de la producción (98% del peso total) es cosechada en el marco del plan de explotación presentado por la empresa. Una vez recolectadas las algas se dejan escurrir durante algunos días en las rocas o algún lugar próximo hasta que son trasladadas a un almacén. La propia empresa dispone a lo largo de la costa de representantes que se encargan de realizar los pedidos y coordinar el traslado de las algas a la planta de producción. El precio medio del *Liquen*, oscila entre los 0,30 y 0,75 € el kilogramo cuando se trata de algas frescas y de 0,75 a 1,20 € el kilogramo de algas secas.

Aunque está actividad es la que mueve un volumen mayor de algas desde hace más de 50 años, siguen detectándose la misma problemática en el sector extractivo (escasa modernización, precios poco atractivos, baja profesionalización y escasa investigación) lo que motiva que resulte poco competitiva frente a productos importados. Tan sólo en aquellas épocas en las que los desastres naturales provocan grandes pérdidas en las cosechas locales en esos países o el incremento de los precios del combustible encarecen el precio del producto importado,

los productores nacionales muestran un mayor interés por las algas autóctonas (McHugh, 2003, Bixler y Porse, 2010).

## 2. Otras aplicaciones industriales

En el pasado también fueron recolectadas algas para la producción de agar y alginatos. Al igual que los carrageninas, son polisacáridos de pared celular que por sus propiedades se emplean en infinidad de aplicaciones. Básicamente constituyen agentes gelificantes y/o espesantes.

**2.1 Agar.-** El agar es un polisacárido complejo de bajo contenido en sulfatos (menos de 5%) y propiedades gelificantes. A diferencia de las carrageninas, no reaccionan con las proteínas de la leche, siendo más difícil de solubilizar por lo que se han de disolver en agua hirviendo. La mayor parte del agar producido es consumido por la industria alimentaria (65% de total mundial) que lo utiliza como aditivo (código internacional E406). Otro 21% se vende triturado. Para la purificación y separación fina de compuestos activos mediante técnicas de electroforesis se utiliza la agarosa. El agar bacteriológico se utiliza como agente gelificante en la preparación de medios de cultivo, así como en crecimiento y propagación *in vitro* de tejido vegetal. En 2009, la industria biotecnológica consumió el 9% de la producción mundial de agar (Bixler y Porse, 2010).

En Galicia en el pasado fueron explotadas las especies del género *Gelidium* (*G. sesquipedale* y *G. latifolium*) para la obtención de agar bacteriológico. Son especies que tienen su máximo desarrollo en el infralitoral lo que dificulta su explotación. Principalmente, se recolectaban las grandes cantidades de biomasa que eran arrojadas a la costa tras los temporales. En la actualidad, la recogida de estas especies es residual y de difícil cuantificación al proceder fundamentalmente de los arribazones. La industria productora de agar se abastece de algas recolectadas en Asturias, Cantabria y País Vasco donde estas especies forman grandes praderas que pueden ser explotadas de forma mecánica.

**2.2 Alginatos.-** Los alginatos a diferencia del agar y la carrageninas no son solubles en agua caliente por lo que para disolverse han de emplearse las sales derivadas del ácido algínico. La industria textil es la principal consumidora de alginatos (50% del total), principalmente como espesantes de los colorantes empleados en los estampados de los tejidos. La industria alimentaria consume un 30 % de

la producción mundial (código internacional E401 a E405) en la elaboración de postres lácteos y helados. También se utilizan para dar textura y suavizar la superficie del papel o como excipientes en la industria farmacéutica. Están presentes también en numerosos productos de uso doméstico.

En Galicia se recolectaban para la obtención de alginatos *Laminaria ochroleuca* y *Laminaria hyperborea* especies localizadas en el infralitoral, así como *Ascophyllum nodosum* y *Fucus* spp, localizadas en el intermareal. La explotación de estas especies para este fin ha sido abandonada también por la imposibilidad de mecanizar su recogida como si ha ocurrido en países como Noruega y Francia. Algunas de estas especies también fueron empleadas para la elaboración de fertilizantes y sustratos para la fijación de taludes. En la actualidad, algunas empresas emplean algunas de estas especies para la elaboración de productos para herboristerías o para cosmética.

### 3. Algas alimentarias

La explotación de algas para consumo humano como alimento fue fomentada en Galicia, en unos casos por empresas de alimentación que buscaban diversificar su actividad con nuevos productos, o bien por nuevas iniciativas empresariales dedicadas exclusivamente a la comercialización de algas. Las formas de comercialización son diversas: en fresco, deshidratadas, en conservas, incorporadas a otros productos, trituradas para ser usadas como condimentos, etc. Su consumo aún está poco extendido en Galicia, aunque cada vez es más empleada en el sector de la restauración.

La demanda de algas para este fin ha mostrado un gran crecimiento (Figura 1). En 2009 fueron comercializadas 178 toneladas para alimentación (Tabla 1). Las especies más demandada fueron *Himanthalia elongata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* y *Undaria pinnatifida*, que representan más del 90% de la producción anual. El resto de la producción corresponde a: *Chondrus crispus*, *Porphyra* spp, *Ulva rigida*, *Saccorhiza polyschides*, *Palmaria palmata* y *Codium* spp.

Los ciclos biológicos de estas especies son variables y, en general, sus poblaciones alcanzan su máximo desarrollo entre primavera y verano. La actividad recolectora se mantiene a lo largo de todo el año, aunque se concentra en los meses de máxima biomasa.

Los métodos de recolección son muy variables al tratarse de especies que viven a diferentes profundidades. Las especies que tienen su máximo desarrollo en la franja litoral y primeros metros del infralitoral (*H. elongata*, *C. crispus*, *Pophyra* spp., *U. rigida*, *Codium* spp.) pueden ser recolectadas accediendo a pie a los intermareales durante la bajamar. Para recolectar las especies que habitan zonas más profundas o de difícil acceso (*L. hyperborea*, *S. latissima*, *S. polyschides* y *U. pinnatifida*) es necesario disponer de una embarcación para acceder a las zonas de recolección. En algunos casos la recolección es realizada por buceadores profesionales.

Las exigencias cualitativas son mayores que en el caso de las algas recolectadas con fines industriales, por lo que los recolectores requieren una mayor especialización. Los canales de comercialización también son diferentes ya que las algas suelen ser transportadas en fresco y tan sólo se dejan escurrir en el litoral para eliminar el exceso de agua. En general, la empresa procesadora contacta con mariscadores de una localidad a las que les encarga una cantidad de una o varias especies. Los precios que se paga son variables según las especies y la demanda, aunque en general son superiores a los de las especies recolectadas para la extracción de ficoloides.

La problemática de esta actividad es la misma que la que sufren los recolectores de carragenófitos: precios bajos y escaso desarrollo tecnológico. Las técnicas de cultivo experimentadas no han supuesto por ahora una mejora cuantitativa o cualitativa de la producción.

Las empresas transformadoras también encuentran problemas relacionadas con la comercialización de este producto al no existir un registro sanitario específico, ni un catálogo de especies autorizadas propio. Esto ha motivado en algún caso el decomiso de una partida de algas (*Laminaria ochroleuca*), puesto que se toma como referencia el catálogo francés que tan sólo autoriza *L. digitata* entre las laminariales, pero esta especie no está presente en nuestras costas.

## **Marco legal de la explotación y procesado**

La Ley 11/2008 de pesca de Galicia, modificada por la Ley 6/2009, establece que la recogida de algas podrá ser realizada por personas que pertenezcan a organizaciones de productores de base o por empresas.

1. En el caso de las organizaciones de productores de base deberán presentar un plan de gestión para la recogida de algas, que será realizada por aquellos miembros de la misma que se acojan al plan y que estén en posesión del título administrativo habilitante.
2. En el caso de las empresas y entidades de carácter económico también deberán presentar un plan de gestión, y la recolección puede ser realizada por el personal contratado o por la personas constituyen la sociedad.

Para la recogida de argazos por las personas que constituyen la empresa no es necesario estar en posesión de ningún título administrativo habilitante, aunque en el futuro se regulará la forma y condiciones de recolección.

Las entidades interesadas en la explotación de algas deben presentar un plan de gestión en el que se establecen las condiciones en las que tendrá lugar la campaña de explotación. (Decreto 423/1993). Los recolectores de algas deben estar en posesión de un permiso de explotación o tener una relación contractual con la empresa titular del plan. Queda exento de este requisito la explotación de algas de arribazón que puede ser ejercida libremente todos los días del año, sin necesidad de permiso alguno. Los planes de explotación aprobados por la Consellería do Mar son publicados anualmente en el Diario Oficial de Galicia, dentro del Plan General de Explotación Marisquera.

Una vez aprobado el plan, las entidades que realizan la explotación deben solicitar mensualmente, y con una antelación de quince días, a la Consellería autorización para realizar la recogida, debiendo indicar las especies, personas, calendario de los días de actividad previstos y las zonas. Las algas podrán ser extraídas a pie o desde embarcación (< 10 TRB o 10 GT) con técnica de buceo (Decreto 15/2011). En la recolección se podrán emplear hoces y cuchillos. La actividad recolectora podrá ser realizada de lunes a viernes, siempre en días laborales. El horario de trabajo para marisqueo a pie será desde dos horas y media antes hasta dos horas y media después de la bajamar, estando limitado este horario hasta las 18.00 horas, o de 8:00 a 14:00 horas, en el caso de la recogida desde embarcación.

La obtención del permiso de explotación de algas estará condicionada a que el titular esté inscrito en el plan de explotación correspondiente (Decreto 425/1993). Cuando la extracción sea realizada con técnicas de buceo, el permiso de explotación

quedará condicionado a la posesión de la titulación o a los requisitos específicos de esta modalidad regulada en el Decreto 64/2008.

La comercialización de las algas marinas será diferente según la explotación sea realizada por las organizaciones de base por las empresas (Decreto 419/1993). En el caso de las empresas la extracción puede ser realizada por titulares de permisos de explotación o a través de recolectores que acrediten relación contractual con la empresa. Para comercializar su cosecha la empresa está autorizada para realizar la primera venta (Orden de 27 de maio de 2005), aunque para ello debe estar inscrita en el Registro Gallego de Empresas Haliolimentarias (Decreto 419/1993).

## Referencias bibliográficas

- Bixler H.J y Porse H. (2010) A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, DOI: 10.1007/s10811-010-9529-3.
- Bárbara I., Cremades J., Calvo S., López-Rodríguez M.C., Dosil J. (2005) Checklist of the benthic marine and brackish Galician algae (NW Spain). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, Vol 62, Nº 1: 69 – 100.
- Catoira J.L. (1993) Prospección, análisis e cartografía de macroalgas e ourizo de mar no litoral de Galicia. *Memorias Fases I-IV. Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura*. Xunta de Galicia.
- McHugh D.J. (2003) A guide to the seaweed industry. *Fao Fisheries Technical Paper* 441.
- Tasende M.G. y Rodríguez González L.M. (2003) Economic seaweeds of Galicia (NW Spain). *Thalassas*, 19(1): 17 – 25.
- Xunta de Galicia (1999) Ordenación integral do espacio Marítimo Terrestre de Galicia.
- Xunta de Galicia (2007) Final report of project CARRASEA (Aquareg - Interreg IIIc): Approach for a sustainable exploitation of Carrageenan seaweed resources in Galicia and Ireland, October 2004 – June 2006.





## Sección II

# ALTERNATIVAS DE APROVECHAMIENTO





# Extractos de algas como bioestimulantes del crecimiento de las plantas

Franck Hennequart

Director Técnico, Oilean Glas Teo ([www.ogt.ie](http://www.ogt.ie))

Coasociado de OCEANIDE ([www.oceanide.eu](http://www.oceanide.eu))

Oilean Glas Teo (OGT), Ballymun Industrial Estate, Kilcar, Co. Donegal, Ireland

Dirección e-mail: [franck@ogt.ie](mailto:franck@ogt.ie)

## Resumen

Las macroalgas son algas marinas que cumplen una función vital en la ecología costera marina. Durante muchos siglos, las algas se han venido aprovechando para diversas aplicaciones en todo el mundo; actualmente uno de los principales modos de empleo gira en torno al cultivo agrícola de vegetales, especialmente en lo que respecta a la mejora de la calidad y el rendimiento. A partir de la explotación de las algas, ya sean intactas, secas o en forma de extractos líquidos, ha surgido todo un sector de actividades económicas e industriales. Con el objetivo de fomentar el desarrollo comercial los productos de este tipo que tienen como base algas gallegas, es fundamental evaluar correctamente el escenario actual de esta industria. Saber cuáles son los productos más importantes, cuáles son las cualidades fundamentales que presentan, cuál es la estructura del sector, son algunas de las cuestiones básicas que aborda este artículo. Los dos pilares principales de esta actividad comercial son una primera evaluación de la disponibilidad de la biomasa, que es esencial, y el análisis del posible impacto ecológico que tendría la actividad extractiva. También es imperativo contar con un claro posicionamiento respecto de la demanda y valor de mercado, en paralelo al marco legislativo adaptado, para poder considerar la situación como se requiere. Se discutirán las conclusiones sobre los potenciales ejes de desarrollo.

## **Extractos de algas como bioestimulantes del crecimiento de las plantas**

Las macroalgas, entre ellas las llamadas kelps, producen materia orgánica por medio de una combinación de energía solar, dióxido de carbono y nutrientes del agua marina. El tamaño que alcanzan estas especies, todas ellas macroscópicas, oscila entre unos pocos cm y más de 60 m de las especies de kelp gigante.

Las algas desempeñan un papel fundamental en las áreas costeras, ya que mantienen el delicado equilibrio físico-químico, además de servir como refugio a multitud de especies marinas. Ya sean vivas o de arribazón, las algas también representan una fuente de alimentación para diversas especies marinas (Lobban y Harrison, 1994).

Las tres categorías principales se describen y clasifican generalmente por el color predominante, con lo que tenemos algas verdes, rojas y pardas (Dring, 1992).

La inmensa mayoría de los productos comerciales desarrollados a partir de algas para uso agrícola se basan en las algas pardas.

El uso de algas está muy extendido y los registros más antiguos de su aprovechamiento datan del 14.000 a. c. Se han encontrado restos de algas al excavar el hallazgo de una cabaña de un chamán en Monte Verde, en Chile, lo que implica que por aquel entonces ya se empleaban como alimento o para fines medicinales (Dillehay et al., 2008).

Una de las principales formas de explotación desarrolladas en todo el mundo a partir de las algas como recurso es su empleo como acondicionadores del suelo de cara a su explotación agrícola para el cultivo de plantas, frutales o verduras, como suplementos de aporte de minerales o, más recientemente, como bioestimulantes de los cultivos.

Las algas de arribazón se recogían y recogen en las playas de toda la costa occidental europea (Escocia, Irlanda, Normandía, Bretaña, Galicia...), generalmente para mezclarlas con arena y obtener así un fertilizante básico para los terrenos de los agricultores locales. Con el fin de iniciar la aplicación de este producto en regiones situadas tierra adentro, posteriormente se desarrolló un producto que tiene como base algas cortadas y secas. Algunas compañías, sobre todo empresas escocesas, empezaron muy rápidamente a producir extractos líquidos (Chapman y Chapman, 1980).

La alimentación es otra de las principales aplicaciones de las algas. Sólo en el mercado asiático, su valor supera los 6.000 millones de dólares anuales. Se usan principalmente para preparar sushi y como verduras marinas, frescas o como ingredientes de sopas (Tseng y Fei, 1987). En los países occidentales también se ha probado a emplear las algas en la cocina, pero su uso está más relacionado con períodos de hambruna, con lo cual acarrearán una imagen peyorativa. Uno de los principales aprovechamientos comerciales de las algas consiste en emplearlas como materia prima para obtener coloides. Los coloides son polisacáridos estructurales, como los alginatos, el agar y los carragenanos extraídos de las algas y utilizados como estabilizadores o agentes espesantes en gran diversidad de sectores del mercado, desde la alimentación o las bebidas hasta la producción de pinturas y cosméticos (Bixter y Porse, 2010).

Los productos cosméticos y de balneario o *spa* son otro de los sectores en expansión, donde el uso de algas gana en importancia, ya sean enteras o en forma de extracto, diluidas en agua u otros medios solventes apropiados. Sin embargo, la mayoría de estos productos contienen pequeñas cantidades de materia prima y, en consecuencia, este sector continúa siendo un nicho de mercado (McHugh, 2003).

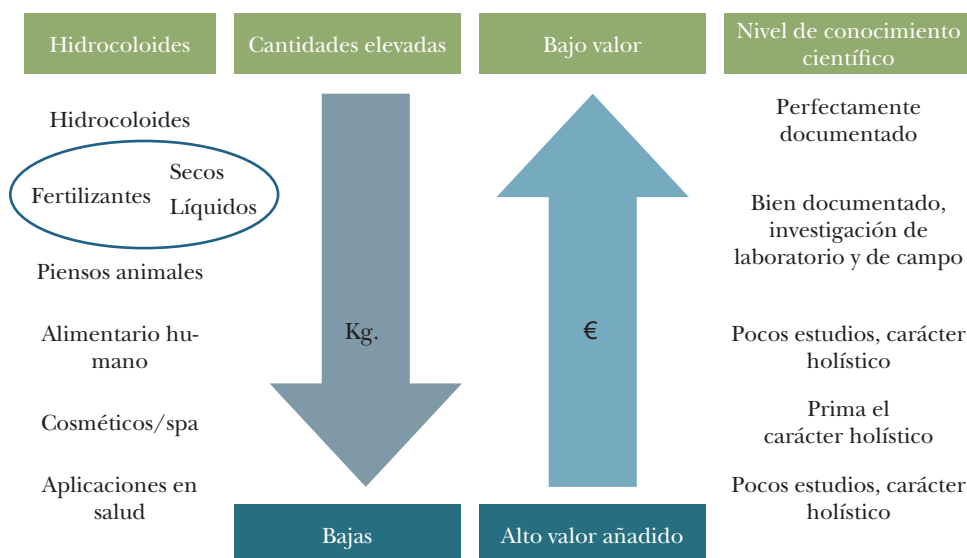


Figura 1. Evolución de la relación de demanda de mercado/necesidad de algas y su valor de mercado

La alimentación natural y saludable para animales y humanos es otro nicho de mercado nuevo. Se han descrito algunas propiedades funcionales de extractos de algas o compuestos específicos derivados de algas, como los fucoidanos y los laminaranos, caracterizados como potentes agentes bioactivos naturales, estimulantes del sistema inmunitario y antivirales. En ciertos casos, también se han observado propiedades anticancerígenas (Holdt y Kraan, 2010). Un puñado de empresas, sobre todo en Asia, está desarrollando actualmente alimentos y bebidas funcionales que cuentan con esos compuestos entre sus ingredientes.

Como se describe en la Figura 1, si observamos de cerca la relación entre la demanda real de algas por sectores y su valor, comprobaremos que existen líneas interesantes; si se comercializan grandes volúmenes de coloides o fertilizantes, su precio por kilogramo es muy bajo, mientras que dirigiéndose a la salud humana y animal, después a los cosméticos y finalmente al sector farmacéutico, las cantidades de algas demandadas son muy inferiores, cayendo en picado mientras que su valor en el mercado experimenta un remonte acusado. Alrededor de los hidrocoloides ha surgido ya un mercado, mientras que las aplicaciones con ingredientes funcionales representen un nicho de mercado de alto valor pero muy pequeño. Resulta interesante observar en paralelo que, mientras que las aplicaciones de algas para la obtención de hidrocoloides y fertilizantes sí son ampliamente conocidas y están bien descritas desde el punto de vista científico, a día de hoy los conocimientos sobre sus aplicaciones en el campo de la cosmética y la salud siguen en un nivel de investigación mucho más básico, e incluso de carácter holístico para ciertas aplicaciones cosméticas.

Para sopesar la posibilidad de aprovechar las algas para su uso agrícola fue importantísimo evaluar qué especies podrían sostener y dar pie al desarrollo del mercado. Históricamente, las algas pardas se han aprovechado para enriquecer los campos de labor, posteriormente también para la extracción de yodo y, más adelante, para la obtención de alginatos. Estos intereses comerciales han propiciado la extensión y asentamiento de un sólido conocimiento sobre su ciclo vital, composición y biomasa. Las principales especies que se utilizan para aplicaciones destinadas a la agricultura son *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria* sp., *Ecklonia maxima*, *Macrocystis pyriphera* y *Lessonia species* (McHugh, 2003).

Las algas pardas están compuestas principalmente por agua, con una media del 80 %. La proporción más importante de materia seca está representada por los

hidratos de carbono, que constituyen entre el 40 y el 70 % del contenido; entre los que se incluyen celulosa, alginatos, laminaranos, fucoidanos y manitol. Las algas pardas contienen también entre un 3 y un 10 % de proteínas, sobre todo pigmentos, vitaminas y aminoácidos libres; presentan también alrededor de un 4 a 8 % de polifenoles, aproximadamente entre un 2 y un 4 % de lípidos, una rica variedad de macro- y microelementos (K, Ca, Na, Mg, Zn, B, Fe, Se, etc.) que resultan muy interesantes para los usos agrícolas (Dring, 1992).

Sin embargo, el principal desafío estribaba en reunir todos esos compuestos y transferirlos al suelo, o incluso a las plantas a través de la pulverización de sus hojas. Como hemos mencionado anteriormente, lo primero que se hizo fue recoger algas de arribazón, generalmente ya secas por la acción del viento y el sol, para aprovecharlas como abono en las regiones costeras. Esta práctica, todavía vigente en Europa y Sudamérica, consiste en recoger las algas completas, pero pronto hubo quien empezó a cortar las algas secas así recogidas, por motivos de transporte y almacenamiento.

A medida que quedaron a la vista los beneficios de las algas en los campos de cultivo locales y creció la demanda surgió también un mercado para otros fines como la extracción de yodo y alginatos.

Algunas empresas empezaron a recoger algas de arribazón para molerlas antes de envasarlas; posteriormente, al amparo de la rápida expansión del mercado de los alginatos, se inició la recogida de algas frescas, que se cortaban para después secarlas al sol. Pronto aparecieron las técnicas de secado mecánico, estimuladas por las cantidades exigidas y la consistencia del producto seco. En Irlanda la principal actividad de las empresas dedicadas al procesamiento de algas sigue consistiendo en recogerlas, lavarlas, triturarlas y secarlas por medios mecánicos para la producción de alginatos, productos fertilizantes y piensos para consumo animal. Los sistemas de cribado permiten producir distintas tallas del producto, para adecuarse a las necesidades de cada mercado.

Sin embargo, estas algas secas cortadas (también llamadas harinas) son beneficiosas para la tierra de labor de forma indirecta, gracias a la paulatina liberación de nutrientes que induce parte de la fauna microbiana del suelo, que recurre a los azúcares (carbono) como fuente de alimentación. Por tanto, el uso de estas harinas de algas en la agricultura está limitado exclusivamente a

su actuación como agente corrector de suelos, que normalmente se mezcla con compost o turba.

Este aprovechamiento no ha logrado nunca un gran éxito comercial, ya que el preparado de algas generalmente cuenta con un alto contenido de sales, es difícil de aplicar y tarda mucho en degradarse, por lo que no requiere aplicaciones regulares ni genera demanda. Por todas estas razones, la aparición de extractos líquidos de algas empezó alrededor de la década de los 60 del Siglo XX (Booth, 1969).

El reto más importante que había que superar era diseñar una técnica de extracción eficaz. Las algas están formadas por millones de células y cada una de ellas, que podríamos comparar con una caja, contiene todos los compuestos que hemos enumerado antes, ya sea dentro de la caja o en la membrana de la caja.

Como se puede ver en la Figura 2, el principio general de la producción de un extracto líquido se basa en un corte inicial, seguido de un procedimiento de extracción; ambas acciones posibilitan que se libere la mayoría de los compuestos solubles en la fracción líquida. Seguidamente se procede a la separación de los

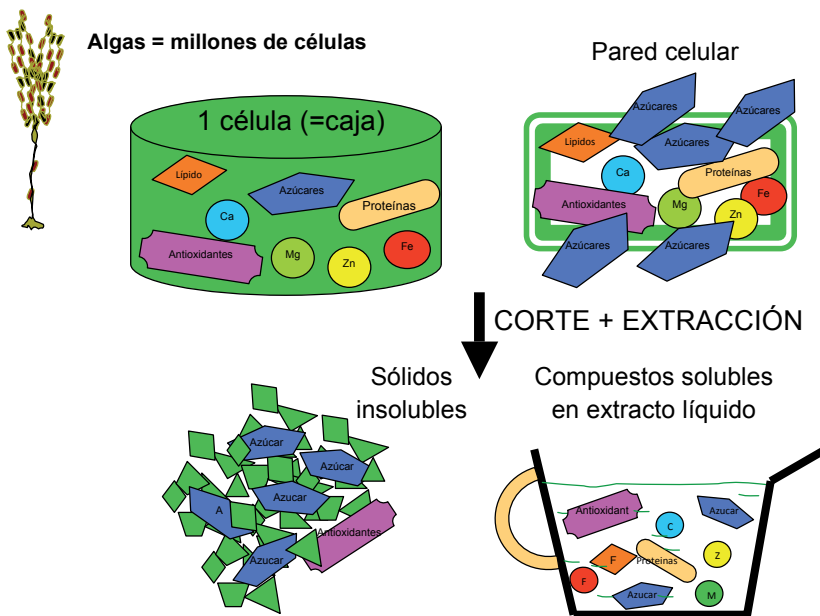


Figura 2. Descripción esquemática de los extractos de algas producidos



sólidos, constituidos en su mayor parte por compuestos no solubles, como celulosa, algunos alginatos y ciertos pigmentos. Se obtiene como producto una solución líquida, que contiene la mayoría de los compuestos activos solubles, incluidos azúcares complejos, proteínas, antioxidantes, macro- y microelementos.

Hasta la fecha, el mercado se ha poblado con multitud de extractos de algas distintos, que varían de acuerdo con la especie de alga utilizada, la técnica de extracción, la concentración, formulación, etc. La modalidad extractiva más utilizada hoy es la extracción alcalina, cuya base es añadir calor y potasa, con el fin de obtener un extracto alcalino negruzco. Este tipo de extracto constituye la inmensa mayoría de la producción actual de extractos comerciales para el mercado de los fertilizantes. Durante los últimos 15-20 años se han ido concibiendo nuevos extractos, a partir de procesos en frío, para que el producto final conserve tantos compuestos funcionales como sea posible. Es cierto que el calor afecta a algunos de los compuestos, como alguna proteína o antioxidante, así que la idea básica de estas extracciones es mantener la temperatura de procesamiento tan baja como sea posible, para retener el máximo volumen de compuestos sensibles a la temperatura que sea factible, lo que potencia la eficiencia del extracto. Estos extractos novedosos obtenidos por medio de procesos en frío se usan cada vez más e incluso permiten conocer más en profundidad los mecanismos que actúan en beneficio de las plantas.

El objetivo de este capítulo no es exponer los efectos más importantes de los extractos líquidos de algas en las plantas, para ello una obra de consulta muy completa es "Seaweed and Plant Growth", del Profesor T. L. Senn, del Departamento de Horticultura de la Universidad de Clemson, EE. UU.

Los principales efectos sobre las plantas, estudiados científicamente y que ahora anuncian las empresas que comercializan extractos de algas se manifiestan en el desarrollo de las raíces, un mayor rendimiento, mejor resistencia a las condiciones de estrés y un incremento en la vida media en los lineales de las frutas y hortalizas recolectadas.

Los efectos sobre las raíces y el rendimiento productivo generalmente están asociados a los hidratos de carbono, a la composición mineral y al contenido en hormonas vegetales de los extractos; la resistencia frente a los factores de estrés abióticos (relacionados con el clima y el suelo) y bióticos (relativos a organismos

patógenos) normalmente están más ligados a la composición de azúcares (polisacáridos como los laminaranos) y al contenido y composición de minerales y antioxidantes (pigmentos, vitaminas, aminoácidos libres y polifenoles).

No obstante, en vista de las grandes disparidades entre los extractos comerciales de algas presentes en el mercado, que difieren en naturaleza, procesamiento y concentraciones, son muchos los usuarios finales de tales productos que siguen considerando sus resultados en los sistemas de producción como poco consistentes.

La eficacia de los extractos de algas está relacionada obviamente con la naturaleza de las algas empleadas y del proceso aplicado, ya que cada uno de los compuestos descritos actúa a uno o varios niveles distintos de la planta. Por tanto, para asegurarse que el efecto es constante y consistente, resulta esencial garantizar que el producto final cuenta con el máximo nivel de conservación de compuestos activos con todas sus características.

Los cultivos englobados en sistemas de producción se enfrentan a presiones relacionadas con el clima, como la sequía, la radiación ultravioleta, fuertes precipitaciones o heladas, así como también factores de estrés relacionados con el suelo, tal como las estructuras de suelos pobres, los altos niveles de salinidad, los desequilibrios químicos (como las altas concentraciones de fertilizantes NPK, pesticidas...). Estos sistemas también corren los riesgos que supone la alta densidad de su población. La fisiología vegetal se ve gravemente alterada por todos estos parámetros y por multitud de procesos oxidativos, que ocurren por la acción de radicales libres, provocados por la acumulación de factores de estrés, lo que a su vez debilita a las plantas de los sistemas de producción intensiva y las hace más sensibles a las enfermedades (hongos, bacterias, virus...). Así, la fisiología general de la planta sufrirá las repercusiones y en tal caso, normalmente, las cifras de rendimiento experimentarán un agudo descenso (Cheeseman, 2007).

Los novedosos procesos en frío producen extractos de algas que habitualmente son más ricos en antioxidantes y en todos los demás compuestos sensibles al calor que los extractos alcalinos clásicos. Parte de los beneficios adicionales para su uso con plantas y cultivos estriban en que no solo aportan minerales, fuentes de carbono y oligosacáridos como elicitadores del sistema de defensa de las plantas, sino que ayudan también a limitar los factores de estrés oxidativo.

En consecuencia, suponen productos innovadores, completamente naturales (sin la adición de ningún producto químico) que ofrecen una resistencia eficaz ante los factores de estrés, que de forma consistente impulsa los índices de productividad.

El sector de las algas para la agricultura se halla estratificado en niveles distintos, como se representa esquemáticamente en la Figura 3. El primer nivel representa a los recolectores de algas; la mayor parte de las algas utilizadas en este sector son procedentes de stocks naturales, mientras que las algas cultivadas suponen una porción minoritaria, por motivos de viabilidad entre los costes de producción y el valor en el mercado. El segundo nivel del sector está compuesto por los procesadores primarios, que compran las algas a los recolectores. La mayoría de las procesadores primarios se dedican a secar las algas y, en algunos casos, a producir por sí mismos extractos líquidos, la mayoría para vender la harina de algas al tercer nivel del sector, donde se encuentran los productores de extractos alcalinos líquidos. El tercer nivel está formado por muchas compañías, con base en todos los continentes del planeta; la competencia entre estos productores es muy feroz, para lograr que sus productos se distribuyan y lleguen a los demás niveles del

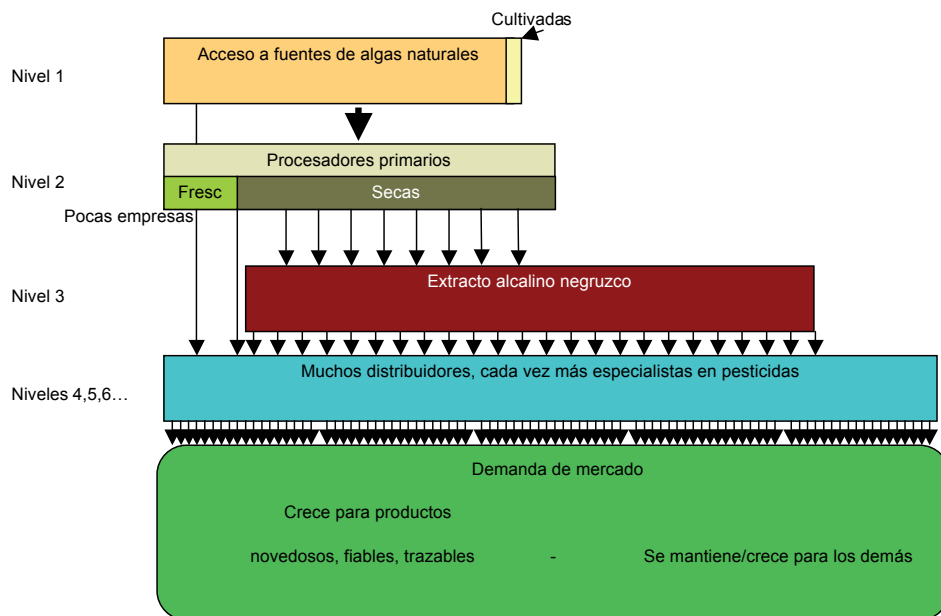


Figura 3. Representación de los diferentes niveles de actividad del sector del aprovechamiento de las algas para aplicaciones agrícolas

sector, los distribuidores. El sector de la distribución se divide y estructura a su vez en tantos niveles como intermediarios haya: comerciantes a granel, cooperativas y usuarios finales (productores de frutas y hortalizas) comparten estas actividades.

Como ya se ha mencionado anteriormente, solamente algunas compañías, de entre los procesadores primarios, procesan algas frescas para obtener los innovadores extractos procesados en frío; son éstas las empresas que compiten con los extractos alcalinos clásicos para acceder a los niveles de distribución, aunque en ciertos casos ofrecen esos productos en paralelo junto con los extractos alcalinos para necesidades de producción específicas, en lugar de presentarlos como alternativas directas.

Aunque el mercado ya está bastante saturado por los distintos extractos de algas de diversas calidades, aún sigue existiendo una creciente demanda de extractos líquidos novedosos, de resultados consistentes y trazables. Esta demanda está impulsada sobre todo el hecho de conocer mejor los mecanismos de acción de dichos extractos, la optimización de la tecnología y, lo que es aún más importante, las nuevas normativas que han entrado en vigor. En la mayoría de los países desarrollados, así como en las naciones en vías de desarrollo, las normativas sobre el empleo de agentes químicos y pesticidas en la producción agrícola son cada vez más y más estrictas; en consecuencia, surge la oportunidad de que los productos naturales eficaces incrementen su cuota de mercado en este sector.

Con el objetivo de desarrollar una actividad comercial dirigida al aprovechamiento de las algas para el sector agrícola, los dos puntos clave que se deben considerar son el acceso a una fuente de recursos sostenible y la elección de los mercados objetivo.

Un recurso sostenible es una fuente de algas a la que es fácil acceder durante todo el año y de la que tenemos una idea clara sobre su biomasa disponible. En el caso de los stocks naturales, la evaluación de la biomasa debe basarse en estudios ecológicos independientes, complementados con estudios de impacto de la recolección o cosecha que tengan en cuenta la técnica de recolección elegida para la explotación comercial. Simultáneamente es necesario recopilar cuidadosamente información sobre las normativas y los derechos de recolección y explotación, para garantizar las bases jurídicas de la actividad. Además hay que ponderar y analizar a fondo la técnica de recolección que se implantará con el

objeto de mantener un suministro constante, para que su impacto medioambiental sea mínimo y a la vez económicamente viable, teniendo en cuenta el valor del producto en el mercado.

Como ejemplo, en Oilean Glas Teo (OGT), la recolección se efectúa exclusivamente a mano, con un control estricto del modo en que se cortan las algas. Los recolectores están obligados a respetar y dejar un estipe de unos 20 cm en la roca, para favorecer el adecuado crecimiento y recuperación de las poblaciones. Los cálculos de la biomasa disponible siguen basados en un estudio realizado en 1998 por el Gobierno de Irlanda, pero OGT ha implantado controles internos sobre la biomasa. La empresa también ha desarrollado un sistema de gestión rotatorio para controlar el nivel de presión de la recolección sobre las distintas áreas donde crecen las algas. En términos de regulaciones, los recolectores son propietarios de licencias, generalmente transmitidas en forma de derechos de generación en generación y OGT adquiere las algas que ellos recogen a un precio fijo por tonelada de algas frescas. OGT ha establecido asimismo un sistema de trazabilidad, destinado a controlar el ciclo de rotación y los volúmenes cosechados en las distintas zonas.

En la evaluación de los recursos como materia prima para esta actividad comercial, la elección de las especies utilizadas, su impacto medioambiental y el posicionamiento respecto a la competencia son factores cruciales. Llegados a este punto, hay que preguntarse qué especies estarían disponibles en Galicia (¿*Sargassum* sp.?), si contamos con estudios ambientales (de biomasa, de impacto), y cómo se orientaría en el mercado un producto basado en esas especies disponibles. A día de hoy, solamente hay pequeños ejemplos de extractos comerciales basados en el alga *Sargassum* sp. que otorgarían al producto un posicionamiento diferente en comparación con los productos basados en *Ascophyllum nodosum* o *Laminaria* sp.



Extracto líquido de algas procesado en frío de OGT

Por lo tanto la cuestión del mercado objetivo es fundamental. La competencia en la franja de productos de baja calidad es muy dura, a causa del gran número de empresas asiáticas con capacidad para producir a bajo coste.

La competencia en las franjas de calidad media y alta es menos intensa, pero se trata de mercados más exigentes en cuanto a la demanda y los controles de calidad, y donde se recomiendan innovación y perfeccionamiento constantes.

La cuestión relativa al mercado objetivo es, además, importante debido a la normativa legal aplicable. Existe una vasta pluralidad e incoherencia entre las normas de un país a otro en lo que atañe a la comercialización de los extractos de algas para uso agrícola. Dentro de la Unión Europea, aunque están surgiendo nuevos reglamentos que deberían armonizar y facilitar el comercio entre los estados miembro, el marco general donde se encuadran sigue siendo poco claro. En la UE, hasta la fecha, siguen en vigor la mayoría de las leyes nacionales, pero son muy dispares entre sí. En el contexto del desarrollo de este tipo de actividades en Galicia, un primer paso desde la perspectiva de abordar una explotación comercial sería mirar al mercado nacional, puesto que España constituye uno de los principales productores de frutas y hortalizas de Europa.

Finalmente, si la meta es poner en marcha una actividad de este tipo, hay que invertir mucho tiempo y esfuerzo en idear el tipo de procesos que se quieran desarrollar, en considerar a qué mercados se van a dirigir, en pensar en las experiencias locales y las competencias y habilidades con que se cuenta, en la ubicación de la planta de transformación y los lugares de recolección y en el posicionamiento global del nuevo producto.

Todos estos elementos son clave y necesitan ser evaluados cuidadosamente, puesto que serán los pilares sobre los que se asiente la actividad para dibujar una curva sostenible y en ascenso.

## Referencias bibliográficas

- Bixler H.J. y Porse H. (2010) A decade of change in the seaweed colloid industry. *Journal of Applied Phycology*, DOI 10.1007/s10811-010-9529-3
- Booth B. (1969) The manufacture and properties of liquid seaweed extracts. *Proceeding of Internaional Seaweed Symposium*, 655-662.
- Chapman V.J. y Chapman D.J. (1980) *Seaweeds and their uses*. pp. [i-iv], v-ix, [x], 1-334. London & New York: Chapman & Hall.
- Cheeseman J.M. (2007) Hydrogen peroxide and plant stress: A challenging relationship. *Plant Stress*, 1(1): 4-15 Global Science Books.
- Dillehay T.D., Ramírez C., Pino M., Collins M.B., Rossen J., Pino Navarro J.D. (2008) Monte Verde: Seaweed, Food, Medicine and the peopling of South America. *Science*, 320 (5877): 784-786.
- Dring M. (1992) *The Biology of Marine Plants*. Cambridge University Press, 141p.
- Holdt S.L. y Kraan S. (2010) Bioactive compounds in seaweeds: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, DOI 10.1007/s10811-010-9632-5.
- Lobban C.S. y Harrison P.J. (1994) *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, 366p.
- McHugh D.J. (2003) *A guide to the seaweed Industry*. FAO Fisheries Technical Paper 441.
- Senn T.L. (1987) *Seaweed and Plant Growth*. Clemson, S.C. p. 181 pp. ISBN 0-939241-01-3
- Tseng C.K. y Fei X.G. (1987) Macroalgal commercialization in the Orient. *Proceedings of International Seaweed Symposium*, 12: 167-172.





# Algas y subproductos marinos como fuente de ingredientes funcionales para la industria alimentaria

Maria Hayes

Food BioSciences Department, Teagasc Food Research Centre, Ashtown, Dublin 15, Dublin, Republic of Ireland.

Dirección e-mail: maria.hayes@teagasc.ie

## Resumen

Existe un enorme potencial para el desarrollo de compuestos marinos bioactivos en Irlanda destinados a su empleo como ingredientes de alimentos funcionales. Hasta la fecha, en comparación con Asia y Oriente Medio, las actividades destinadas a explotar los recursos marinos con el fin de idear alimentos funcionales, tanto en Irlanda como en el resto de Europa, han sido limitadas. La Iniciativa de Investigación en Alimentos Funcionales Marinos (Marine Functional Foods Research Initiative), también conocida como NutraMara, es un programa concebido de cara al desarrollo de alimentos funcionales basados en productos marinos, puesto en marcha por el Instituto Marino de Irlanda (Irish Marine Institute, MI) y el Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación (Department of Agriculture, Fisheries and Food, DAFF). Cuenta con fondos aportados por la Estrategia Irlandesa para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación (Irish Strategy for Science, Technology and Innovation, SSTI) 2006-2013 y por la Medida de Investigación Institucional en Alimentación (Food Institutional Research Measure, FIRM). NutraMara trata de añadir valor al sector marino proporcionando oportunidades y conocimientos de relevancia para el desarrollo de nuevos productos alimentarios. El programa de trabajo de NutraMara pretende identificar productos e ingredientes alimentarios novedosos de origen marino, lo que permitiría a Irlanda convertirse en uno de los protagonistas del mercado de alimentos funcionales, mercado que ya hoy representa un valor de 74.000 millones de dólares en todo el mundo. NutraMara se centra en cuatro recursos marinos, que son los siguientes: (1) residuos del procesamiento de pescados, subproductos o restos de materias primas, (2)

especies de algas y pescados infrautilizadas, (3) microalgas y (4) acuicultura, tanto de peces como de moluscos. Este capítulo describe la estructura del proyecto NutraMara, los retos que los socios participantes en NutraMara afrontan (transformadores de productos marinos y empresas productoras de ingredientes alimentarios), los usos tradicionales de los ingredientes de origen marino y sus posibilidades de aprovechamiento para los alimentos funcionales, así como los mercados actuales y potenciales para este tipo de productos.

## Introducción

Las algas comestibles, incluidas las de los órdenes Protista como son las *Laminariales* (pardas), *Chlorophyta* (verdes) y *Rhodophyta* (rojas) tienen a sus espaldas una larga historia como parte de las dietas alimentarias entre las culturas asiáticas. Además, los hidrolizados de proteínas de pescado o FPH son de uso común en zonas de Asia como Camboya y Tailandia en la cocina cotidiana y también se producen en Escandinavia. Sin embargo, en la mayoría de las naciones europeas el entorno marino representa un inmenso recurso cuyo potencial no ha sido explotado hasta la fecha en su totalidad como fuente de materias primas para la producción de componentes bioactivos destinados a servir como ingredientes de alimentos y bebidas. Es más, actualmente hay pocos ingredientes de alimentos funcionales derivados del mar en el mercado alimentario, un segmento en el que los compuestos bioactivos que contiene cada alimento están caracterizados a nivel molecular y han sido sometidos a suficientes estudios de intervención dietética y sobre animales, necesarios para obtener la autorización de la declaración de propiedades saludables de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (ESFA). Esto supone un problema de marketing para los fabricantes de ingredientes que quieran obtener una autorización de las entidades de control sanitario para comercializar sus productos dentro de la Unión Europea (UE). Estos obstáculos constituyen una oportunidad para los científicos dedicados a la investigación marina y alimentaria, para que aúnen esfuerzos con el fin de ayudar a las empresas transformadoras de productos marinos y a los productores de ingredientes alimentarios a potenciar al máximo sus beneficios económicos en lo que respecta a las actividades de procesamiento y a desarrollar nuevos productos, con unas declaraciones de propiedades saludables aptas para recibir la aprobación de la EFSA.

Las macroalgas se recolectan y usan en todo el mundo de formas muy diversas, como puede ser su aplicación como agentes emulsionantes en alimentación (Dhargalkar y Pereira, 2005) o como ingredientes en fórmulas de cosméticos (Dhargalkar y Verlecar, 2009). Además hay un gran potencial en la industria de bioprocesamiento marina para aprovechar gran cantidad de productos y subproductos alimentarios marinos como ingredientes funcionales valiosos. Asimismo, las poblaciones indígenas han utilizado microalgas durante miles de años como ingredientes en su cocina, incluidas las algas verdeazuladas como las especies *Nostoc*, *Arthrospira* (*Spirulina*) y la *Aphanizomenon*. NutraMara es una iniciativa irlandesa, fundada para impulsar el desarrollo de esta área olvidada, la de los alimentos funcionales de origen marino. Da empleo a 30 investigadores a jornada completa en sus siete Centros de investigación NutraMara y está bajo la dirección del Centro de Investigación Alimentaria Teagasc (Teagasc Food Research Centre). El proyecto está formado por siete fases de trabajo (Figura 1).

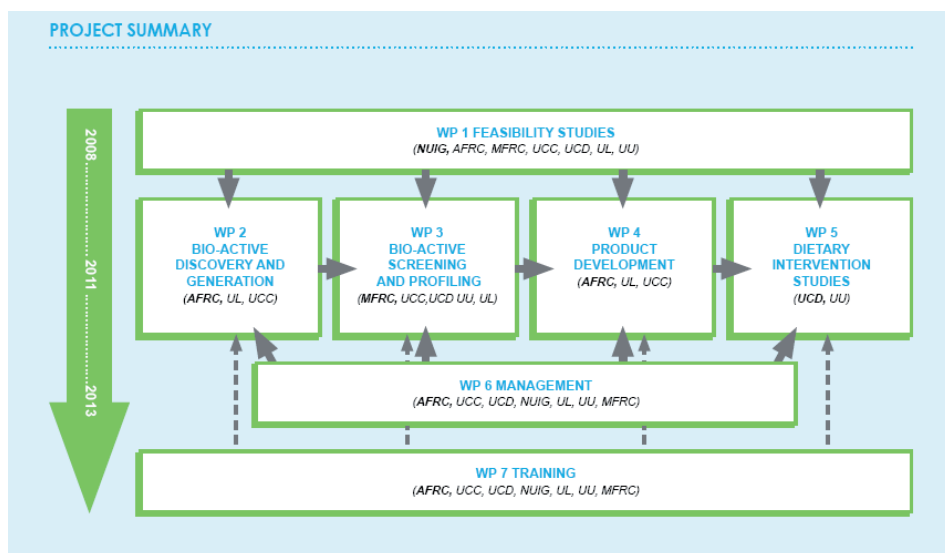


Figura 1: Estructura organizativa y de gestión del programa NutraMara. La Iniciativa de Investigación sobre Alimentos Funcionales de Origen Marino (Marine Functional Foods Research Initiative), también conocida como programa NutraMara, se divide en siete fases de trabajo, centradas en el aislamiento y la recuperación y obtención de componentes bioactivos derivados del mar, procedentes de microalgas, macroalgas, residuos de la transformación industrial de pesca y de la acuicultura. Su objetivo es identificar y caracterizar ingredientes alimentarios funcionales de origen marino para utilizarlos en bebidas y alimentos que, a su vez, podrán aspirar a que la EFSA valide sus declaraciones de propiedades saludables.

El presente capítulo presenta y explica el trabajo de NutraMara y explora las posibilidades de aprovechar los recursos marinos como ingredientes bioactivos que se podrían incorporar en alimentos funcionales para prevenir o tratar un sinnúmero de dolencias.

## Usos tradicionales de las algas

Hay varias algas que se consumen como alimentos en todo el mundo. *Porphyra* sp. género donde se incluye el “nori” se usa para preparar sushi y el alga “haba-nori” (*Petalonia binghamiae*) se consume seca y ligeramente tostada (Kuda et al., 2006). *Undaria pinnatifida* figura a menudo en sopas y ensaladas, también la encontramos comercialmente en productos alimentarios como el té, la mostaza, las salsas chutney y los tallarines (BienManger, 2010). Las algas pardas cuentan con aplicaciones comerciales en las industrias especializadas en la extracción de alginatos que se siguen empleando en la fabricación de hilos y en la industria farmacéutica como material para la encapsulación de pastillas. La especie *Porphyra* también se emplea en Gales para elaborar un tipo de pan denominado “laver bread”. En Irlanda, el llamado musgo de Irlanda (carragaheen) se emplea como ingrediente para caldos y sopas, mientras que el alga roja *Palmaria palmata* (Linnaeus) Kuntze, también llamada **dulse**, dillisk o dilsk, lechuga de mar o creathnach, también se emplea para elaborar la variedad de pan “dulse bread”. En épocas más recientes, se han añadido algas a productos a base de cereales, como las pastas. Por ejemplo, al agregar alga wakame (*Undaria pinnatifida*) en polvo como ingrediente, se obtienen pastas alimenticias con una mayor capacidad antioxidante (contenido total en fenoles, DPPH, equivalentes del ácido ascórbico (AAE), DPPH y actividades de contraposición a los radicales superoxidantes), lo que resultó aceptable en el plano sensorial hasta niveles de contenido de algas del 10 % (Prabhasankar et al., 2009).

Otras aplicaciones de las macroalgas son la incorporación de fucoidano en una bebida antioxidante (Mower et al., 2006) y un alimento desarrollado a partir del alga *Undaria pinnatifida* con actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina-I (ACE-I) (Minoru et al., 2005). Por si fuera poco, el caviar a base de algas conocido como Cavi-Art® se comercializa en Europa, producido por

Jens Moller Products, y de él se dice que resulta beneficioso al incluirlo en una dieta baja en colesterol. El sitio web BIOPEP ofrece una lista completa de todos los péptidos bioactivos que se conocen actualmente de una variedad de fuentes, incluidos los músculos de pescados y las macroalgas.

## Usos tradicionales de los productos secundarios marinos fermentados

Essuman (1992) definió el pescado fermentado como un producto de pesca que ha sufrido cambios degradativos por acción microbiana o enzimática en presencia o ausencia de sal (Essuman, 1992). Aunque su producción tiene escala global, los lugares donde más populares son los derivados fermentados del pescado son Asia y África; y su producción se podría desarrollar en el marco de desarrollo de una industria sostenible de transformación de la pesca, particularmente en Europa. Varias bioactividades fisiológicas humanas potenciales se asocian a menudo con los productos de proteínas fermentadas y anteriormente ya se han aislado péptidos bioactivos procedentes de los músculos del pescado. Se han localizado e identificado péptidos antioxidantes en los músculos de pescados vertebrados, en subproductos de la pesca y en calamares. Se han elaborado dos estudios acerca de la actividad antioxidante de los hidrolizados del músculo de la carpa plateada y la carpa herbívora (Dong et al., 2008, Ren et al., 2008). La hidrólisis se produjo por acción de la enzima Alcalasa® durante 1,5-2,0 horas.

Tabla 1. Ejemplos de productos pesqueros fermentados de Europa, Asia y África

| Country of origin and use        | Local name                  | Fish species used   | Duration of fermentation |
|----------------------------------|-----------------------------|---|--------------------------|
| Cambodia                         | Prahoc                      | Freshwater fish species ( <i>Cyprinidae</i> )                                     | variable                 |
| Indonesia                        | Ketjap-ikan                 | <i>Ctenops</i> spp.,  | variable                 |
|                                  | Trassi                      | Shrimps   | variable                 |
| Japan                            | Qunaga                      | <i>Katsuwonus pelamis</i>   | variable                 |
| Philippines                      | Patis                       | <i>Sardinella perforate</i> , <i>Leiognathus</i> spp., any fish or shrimp species | 6-12 months              |
| Philippines                      | Balao-balao                 | <i>Shrimp paste - varies in the amount of salt added</i>                          | typically 4 days         |
| Burundi                          | Ndagala                     | all fish species  | 2-5 days                 |
| Senegal                          | Guedi, tambadiang, yeet     | all fish species  | Overnight - 2 days       |
| Ghana                            | Momone, koobi, kako, ewule  | all fish species  | Overnight - 3 days       |
| Scandinavian countries           | Gaffelbitar                 | Atlantic herring ( <i>Clupea harengus</i> )                                       | 12-18 months             |
|                                  | Tidbits                     | Atlantic herring ( <i>Clupea harengus</i> )                                       | 12-18 months             |
|                                  | Surstromming (sour herring) | Atlantic herring ( <i>Clupea harengus</i> )                                       | 12-18 months             |
| Norwegian and Swedish origin     | Rakfisk                     | Trout ( <i>Salmo trutta</i> )   | 3-12 months              |
| Iceland                          | Hakarl                      | shark   | variable                 |
| Germany (of Scandinavian origin) | Gravad lacks                | all fish species  | variable                 |

Fuente: Modificado de Hall (2010), Essuman (1992).

## Estudio de caso: Extracción de quitina, quitosano y quitoooligosacáricos

### *La quitina*

La quitina es uno de los hidratos de carbono más abundantes de la naturaleza, presente como componente principal de las cutículas protectoras de crustáceos como los cangrejos, los camarones, los langostinos o la langosta, así como en las paredes celulares de ciertos hongos. Estructuralmente, la quitina es muy similar a la celulosa, el polisacárido más abundante de la naturaleza y se calcula que en el medio natural la quitina registra una tasa de producción que oscila entre  $1 \times 10^9$  y  $1 \times 10^{10}$  toneladas anuales (Chung y Cheng, 2008). Se calcula que el mercado mundial de la quitina alcanzará un volumen de 41.200 toneladas métricas en 2010.

La quitina  $(C_8H_{13}O_5N)_n$  es un biopolímero compuesto por unidades de n-acetilglucosamina (2-acetilamino-2-deoxi-D-glucopiranosas) ligadas por enlaces (1-4) glucosídicos. Debido a la presencia de un grupo libre hidroxilo en el monómero, se produce el enlace de hidrógeno entre las unidades poliméricas de acetilglucosamina, lo que da como resultado la formación de una resistente matriz de polímeros de quitina. La matriz de polímeros de quitina, al unirse con carbonato de calcio adquiere una extraordinaria resistencia, que otorga la dureza característica del exoesqueleto de los crustáceos. La quitina por sí sola solamente presenta una tendencia mínima a reaccionar con otros compuestos y por tanto se considera químicamente inerte. Es insoluble en agua y debido a su gran peso molecular, generalmente el intestino humano no la absorbe y no resulta apta como ingrediente de alimentos funcionales. Sin embargo, hay derivados de la quitina (el quitosano y los quitoooligosacáridos) solubles en ácidos débiles y agua, respectivamente. El quitosano está formado por una desacetilación parcial de la quitina en distintos grados, bajo condiciones alcalinas. Las enzimas involucradas en la formación y la degradación de la quitina han sido identificadas.

En los últimos años, tanto la quitina como el quitosano y los quitoooligosacáridos han atraído un interés considerable por su actividad biológica, tanto antimicrobiana, antitumoral, favorecedora del descenso del colesterol, efectos estimulantes del sistema inmunitario y aceleración de la curación de heridas (Chung y Chen, 2008). Cada vez se dedican más esfuerzos a investigar más modificaciones químicas del

quitosano. Hay varios derivados del quitosano, como puede ser el quitosano soluble en agua de bajo peso molecular, que ya están siendo producidos y sometidos a ensayos para probar sus posibles ventajas para la salud. La producción del quitosano se representa esquemáticamente en la Figura 2. Las proteínas se extraen del caparazón de los crustáceos mediante agentes químicos agresivos, como el hidróxido de sodio o sosa cáustica (NaOH). A continuación se extraen minerales como el carbonato de calcio y el fosfato de calcio, por medio de la acción de HCl. El blanqueamiento se consigue gracias a la acción del permanganato potásico a una temperatura de 60 °C, o bien aplicando hipoclorito de sodio a esa misma temperatura. Este tratamiento retira los pigmentos como las melaninas y los carotenos.

La quitina se trata con una base muy fuerte (40 % - 60 % (v/v)), que desesterifica los ligandos de n-acetil. Se procede a la desacetilación a temperatura ambiente o a temperaturas elevadas. Para la producción industrial de quitosano se prefieren las temperaturas altas. Posteriormente, el quitosano se seca y adopta la forma de copos o escamas. Para mejorar la calidad del quitosano, las escamas se vuelven a disolver en ácido acético, para seguidamente filtrarlas y eliminar las sustancias extrañas, con lo que se obtiene una sal de quitosano soluble en agua. La quitina es soluble en: dimetilformamida y cloruro de litio, hexafluoroisopropanol y 1-2-cloroetanol y ácido sulfúrico. El quitosano es soluble en los ácidos fórmico, acético y láctico.

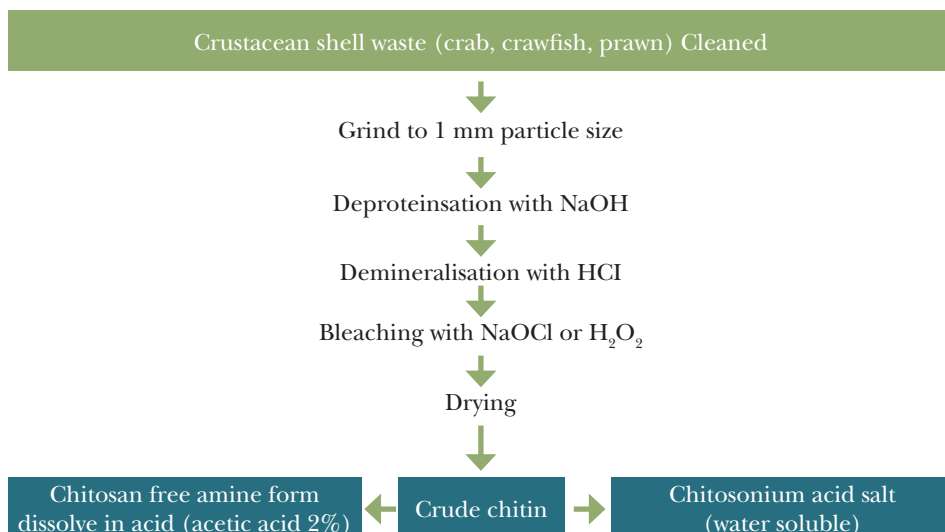


Figura 2: Esquema de producción de quitina y quitosano mediante el empleo de ácidos y bases.

## **Mercados globales para los alimentos funcionales**

El mercado mundial de alimentos y bebidas funcionales ha experimentado una expansión y está impulsado por las tendencias demográficas, económicas y sociales. Entre los factores clave figuran el envejecimiento de la población, el énfasis puesto en las medidas de control del gasto sanitario y la evolución de los entornos regulatorios y las políticas públicas. Se puede definir los alimentos funcionales como aquellos que contienen componentes (péptidos y proteínas, hidratos de carbono, aceites, grasas y fitoquímicos) que proporcionan un efecto fisiológico beneficioso al consumidor, más allá de la nutrición básica. Los ingredientes de los alimentos funcionales tienen tradicionalmente un origen lácteo o vegetal; no existe un eje principal de acción que gire en torno al aislamiento de ingredientes bioactivos de alimentos funcionales procedentes del mar. Sin embargo, los vegetales marinos, por una serie de motivos, podrían ser recursos valiosos para la extracción y producción de componentes bioactivos únicos. A causa del duro entorno en que habitan, las macroalgas han desarrollado mecanismos de defensa eficaces contra los ataques de su entorno y se consideran así una fuente rica en compuestos bioactivos. Además, los subproductos de origen marino procedentes de las industrias transformadoras de pescado, moluscos y mariscos son una fuente rica en proteínas y carbohidratos, que contienen materiales que se pueden considerar como sustratos aptos para la producción de compuestos bioactivos por medio de procesos de fermentación, hidrólisis y otras técnicas de extracción. Lo cierto es que la sobreexplotación de los bancos de pesca representa un desafío medioambiental, y que las especies marinas que actualmente no tienen ningún valor comercial también se capturan en abundancia. Por todo ello, es necesario encontrar un valor económico para estos “subproductos” de la pesca, por medio de la producción de compuestos y sustancias que aporten características nutricionales y bioactivas.

## **Retos a los que se enfrentan los interesados en el desarrollo de alimentos funcionales marinos**

El desarrollo de productos para la alimentación funcional se enfrenta a varios desafíos: la disponibilidad de materias primas sostenibles, los métodos de producción rentables y las aprobaciones de seguridad y eficacia. Por si fuera poco, es necesario que los alimentos funcionales tengan buenos resultados en el mercado. Normalmente los factores que desencadenan el éxito o el fracaso de un producto



son su sabor, una formulación correcta de su receta y la buena adaptación del ingrediente bioactivo a una matriz adecuada del alimento. NutraMara tiene como objetivo ocuparse de estos tres aspectos.

La recolección de algas es una tradición muy asentada en Irlanda, en su región occidental las algas se usaban con frecuencia en el pasado como fertilizante. Las especies recogidas de manera habitual son *Ascophyllum nodosum*, especies del género *Fucus* y las algas rojas calcáreas *Phymatolithon calcareum* y *Lithothamnion corallioides* (conocidas generalmente como maërl). Se usan sobre todo para la agricultura y como estabilizantes alimentarios, mientras que un pequeño porcentaje se emplea en la industria cosmética. Por ejemplo, *Fucus serratus* se usa en baños de algas. Si las algas se van a utilizar como materias primas de las que extraer componentes bioactivos para incluirlos en alimentos funcionales, tal vez habría que intensificar la recolección en Irlanda. Es importante garantizar el suministro de materias primas para la obtención de sustancias bioactivas. El estudio de viabilidad de NutraMara, que está llevando a cabo la Universidad Nacional de Irlanda en Galway determinará cuáles son las fuentes más sostenibles de macroalgas y subproductos marinos para su utilización en el programa de NutraMara. Por ejemplo, de acuerdo con los datos iniciales recabados en el marco del estudio de viabilidad de NutraMara, se estima que el volumen recogido de *A. nodosum* es de 74.845 toneladas anuales. Se calculó también que a lo largo de la costa irlandesa hay unas 3.000.000 de toneladas de *L. hypoborea/digitata* disponibles para su cosecha. Se identificó a las especies *Fucus sp.*, *Ascophyllum nodosum* y *Laminaria digitata* junto con las capturas accesorias de las actividades de marisqueo (*Cancer pagarus* y *Nephrops*), así como subproductos de la actividad transformadora de la caballa como fuentes de materias primas con potencial para aprovecharse de cara al desarrollo de alimentos funcionales de origen marino en Irlanda. Como alternativa a la recolección de algas, cabe también la posibilidad de fomentar la acuicultura de algas sostenibles y económicamente relevantes. Este aspecto también está bajo la lupa de la primera fase de trabajo de NutraMara.

Actualmente, las restricciones legales, los altos costes y los problemas medioambientales relacionados con el tratamiento de los residuos procedentes de la transformación de productos del mar suponen un problema de primer orden para las industrias procesadoras de productos del mar de Europa. La legislación comunitaria europea impone reglas específicas y determinados objetivos para el

tratamiento de los residuos de las actividades pesqueras en vertederos (Directiva del Consejo de la UE 1999/31/CE, 1999). Ciertamente es que, en la industria alimentaria marina, en Europa habitualmente se descartan hasta un 50 % de las capturas. Por ejemplo, si incluimos las vísceras, los subproductos resultantes del procesamiento del bacalao constituyen hasta 2/3 del peso de las capturas. Sin embargo, los residuos de las industrias procesadoras de pescados, moluscos y mariscos también se pueden considerar como sustratos para la obtención de sustancias bioactivas para aplicaciones destinadas a la horticultura, los cosméticos y los alimentos funcionales. La primera fase de trabajo del programa de NutraMara comprende la redacción de un estudio de viabilidad, que detallará la legislación vigente aplicable a las pymes y empresas transformadoras que trabajan en la explotación de los recursos marinos, que regula desde la recogida y el desarrollo de ingredientes bioactivos hasta las implicaciones sobre comercialización, marketing y etiquetado, en la fase posterior al desarrollo de los productos bioactivos. El uso de extractos marinos está regulado por la Legislación general sobre alimentos (178/2002/CE), que adjudica la responsabilidad legal derivada de la seguridad de los productos alimentarios en el mercado a la empresa o individuo que los procesa o transforma (Reglamento 178/2002/CE del Parlamento Europeo y del Consejo del 28 de enero de 2002). Esta normativa impuso la creación de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA, 2002). El reglamento abarca todos los alimentos con propiedades funcionales e incluye los nuevos alimentos, los funcionales, los aditivos alimentarios y los complementos dietéticos. Si un ingrediente funcional de origen marino se clasifica con categoría alimentaria de acuerdo con el Artículo 2 del Reglamento 178/2002/CE, debe describirse y caracterizarse por completo y definirse como aditivo alimentario (Directiva 89/107/CE), nuevo alimento (Directiva 258/1997/CE), complemento alimenticio (Directiva 2002/46/CE) o aromatizante (Directiva 91/71/CE) (Ritter y Kraatz, 2011). Actualmente existe además una gran controversia acerca del reglamento de los “alimentos funcionales” y la EFSA aprobó nuevas normas en 2006 para regular esta categoría. El Reglamento 1924/2006/CE del 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos pretende proteger a los consumidores mediante la prohibición de la información engañosa en los envases. Por lo tanto, los productores de alimentos tienen la obligación de justificar el uso de una alegación de propiedades saludables y deben fundar dicha alegación sobre bases científicas. Con este fin, es preciso caracterizar

la bioactividad de los ingredientes funcionales de origen marino con el máximo detalle posible. En consecuencia, parte de la segunda fase de trabajo del programa NutraMara, titulada “Obtención y caracterización de agentes bioactivos” gira en torno al potencial de explotación de los residuos procedentes de las industrias transformadoras de pescados, mariscos y moluscos, que se consideran materias primas de las que obtener componentes bioactivos como péptidos, quitina, quitosano y quitoooligosacáridos, así como lípidos de origen marino. Los objetivos específicos de la segunda fase de trabajo son:

- Identificar, extraer y purificar componentes bioactivos a partir de materias de origen marino, para su incorporación a alimentos funcionales con posibilidades comerciales.
- Obtener muestras de prototipos y fracciones de componentes biológicamente activos para su análisis *in vitro* e *in vivo* en la tercera fase del programa, denominada “Caracterización bioactiva *in vivo*”. La tercera fase de trabajo de NutraMara incluye el uso de modelos animales y técnicas de cultivo de tejidos para identificar agentes antioxidantes, antitrombóticos, antihipertensivos, prebióticos, anti-obesidad y antiinflamatorios.

Los procesos de extracción son de importancia crucial si se pretende aprovechar los recursos marinos renovables en la industria alimentaria. Uno de los objetivos primordiales del proyecto NutraMara es desarrollar protocolos de producción de aplicación industrial para el aislamiento de componentes bioactivos derivados de productos del mar, que se podrían aprovechar como ingredientes para alimentos. Desarrollar prácticas y procedimientos recomendables y optimizados que se puedan transmitir a las pymes y otras industrias asociadas a la explotación del mar tendrá repercusiones económicas positivas en el futuro. La segunda fase de trabajo de NutraMara tiene como eje el desarrollo de protocolos de extracción eficaces y de aplicación industrial, así como la caracterización completa de los ingredientes útiles para el sector, incluidos hidrocoloides como el agar, los alginatos y carragenanos, además de polímeros como el ácido algínico, el fucoidano y los algenanos. Entre los métodos extractivos figuran la extracción acelerada de disolventes (ASE, Accelerated Solvent Extraction), las extracciones líquido-líquido a gran escala, así como las cromatografía FLASH y el método RP-HPLC, junto con los procedimientos de identificación de espectroscopia de resonancia magnética

nuclear (RMN) y espectrometría de masas (MS). Esta fase de trabajo se centra también en aislar los elementos bioactivos desconocidos presentes en algas, microalgas y subproductos y se fija en la extracción y caracterización química y biológica completa de los carbohidratos. Estos últimos incluyen monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos como los quitooligosacáridos, con propiedades antihipertensivas, antimicrobianas, antioxidantes y anti-obesidad; lípidos como los ácidos grasos poliinsaturados; compuestos nitrogenados como los aminoácidos, péptidos y proteínas; alcaloides y compuestos fenólicos como los taninos, flavonoides lignanos y terpenoides. La tercera fase de trabajo de NutraMara tiene por objeto la caracterización biológica *in vitro* e *in vivo* de los extractos bioactivos obtenidos durante la segunda fase del programa NutraMara. Los bioensayos desarrollados en el marco de NutraMara se guían de acuerdo con el grado de relevancia de cada ensayo respecto a las tendencias de salud y las preocupaciones actuales de los consumidores. Por ejemplo: esta fase de trabajo comprende bioensayos relevantes para síndromes metabólicos y enfermedades asociadas como la obesidad, las afecciones coronarias y la diabetes. La tercera fase de trabajo también incluye estudios animales *in vivo* que ayudarán a perfeccionar los compuestos bioactivos aislados a lo largo de las fases segunda y tercera, compuestos que se utilizarán para desarrollar productos y estudios de intervención en la dieta a escala piloto. Esta manera de trabajar contribuye a limitar los gastos, ya que solamente los principales componentes activos funcionales pasarán a la fase del proyecto dedicada a la intervención en la nutrición, que a menudo resulta muy cara.

Una de las vías que se emplean con más frecuencia para producir nuevos alimentos funcionales consiste en añadir a un alimento tradicional uno o más compuestos interesantes, dotados de propiedades bioactivas demostradas. Generalmente se denominan ingredientes funcionales a los compuestos que se añaden y son responsables de las características funcionales que el nuevo producto tendría que presentar. Con esta estrategia se han creado y comercializado ya distintos productos alimentarios funcionales. En el mercado mundial de la alimentación tenemos ya, entre muchos otros, productos que afirman actuar contra la hipertensión, que tienen un efecto hipocolesterolémico, propiedades antioxidantes, efectos probióticos o prebióticos, o bien que presentan un efecto regulador del apetito. Un ejemplo de ellos es Calpis Ameal S®, una bebida láctea ya a la venta, con efectos antihipertensivos que contribuyen al control de la hipertensión sanguínea. Este producto contiene los péptidos IPP y VPP como ingredientes bioactivos. Aunque se han sugerido algunas

plantas como posibles fuentes de compuestos bioactivos interesantes, los vegetales marinos como las micro- y las macroalgas cuentan con un considerable potencial. La cuarta fase de trabajo de NutraMara, bautizada como "Desarrollo de productos a pequeña escala" implica incorporar componentes bioactivos derivados de las tres primeras fases del programa NutraMara a alimentos que actuarán como vehículos, como los panes, las carnes y la leche. Anteriormente, Hall y colaboradores (2010) habían demostrado que la *Ascophyllum nodosum*, en dosis que oscilan entre 20 y 400 g por barra de pan de molde no causa ninguna diferencia en términos de aceptabilidad por su aspecto, aroma, sabor, regusto ni textura en comparación con la variedad de pan de control no enriquecido con macroalgas (Hall et al., 2010). Lo cierto es que la incorporación de alginatos procedentes de algas marrones a productos de alimentación puede haber ampliado las propiedades anti-obesidad y antidiabéticas (Dettmar et al., 2011). En Europa, todos los productos naturales que no se hayan utilizado como ingredientes alimentarios antes de 1997 deben obtener un certificado que los identifique y autorice como nuevos alimentos. Este documento actúa como garantía de que el producto es seguro y de que todas las alegaciones sobre propiedades beneficiosas que presente están evaluadas por la EFSA. Debido a estos factores, si se pretende que los alimentos funcionales basados en productos marinos se hagan realidad, son necesarios estudios de intervención dietética. La quinta fase de trabajo de NutraMara contempla la formación de personal en técnicas y métodos relacionados con la realización de ensayos de intervención dietética.

## **Conclusión y futuro de los alimentos y bebidas funcionales derivados de productos del mar**

El interés de los consumidores por los alimentos funcionales sigue creciendo, impulsado por los esfuerzos en investigación dedicados a identificar nuevos compuestos bioactivos y aplicaciones potenciales de nuevos compuestos nutraceuticos. El motor de este mercado son las actuales tendencias demográficas y de salud. Por ejemplo, la esperanza de vida continúa al alza, así como la aportación a las cifras de población que suponen las personas de mayor edad. A día de hoy la obesidad está reconocida como un problema de salud de carácter global, con más del 62 % de la población de los Estados Unidos clasificada como obesa. En Europa se están dando tendencias similares. También repuntan las enfermedades coronarias,

el cáncer y la osteoporosis. Si bien la genética desempeña un papel destacado en el origen de estas dolencias, en su mayoría se pueden prevenir, o bien limitar sus riesgos, mediante una dieta adecuada y actividad física. Además, los consumidores son cada vez más conscientes de que pueden perfeccionar y fomentar las propiedades favorecedoras de la salud de su dieta si consumen alimentos cuya fórmula ha sido reforzada para potenciar los factores beneficiosos para la salud. Tradicionalmente, las bebidas representan una gran parte del mercado nutracéutico, pero se trata de un sector cuyo crecimiento se ha debilitado como consecuencia de la recesión. Por tanto, la necesidad de nuevas moléculas que tiene este mercado tan competitivo es más importante que nunca, especialmente si hablamos de sustancias que actúen sobre preocupaciones de salud presentes y futuras. Es esencial contar con tecnologías que posibiliten la recuperación de compuestos bioactivos de las materias primas marinas para concebir alimentos y bebidas funcionales que sean viables comercialmente. Para desarrollar con éxito alimentos mejorados con ingredientes favorecedores de la salud se requiere un conocimiento detallado y profundo de las moléculas responsables de la actividad biológica. Si queremos identificar fuentes prometedoras de compuestos beneficiosos para la salud hace falta aplicar técnicas de *screening* de alto rendimiento para detectar actividades biológicas. Los extractos y fracciones que presenten propiedades prometedoras se someterán a ensayos de alto rendimiento, para después pasar a una evaluación más detallada y amplia de la actividad biológica. Las metodologías para la extracción y purificación a escala piloto de componentes bioactivos son cruciales de cara a la explotación económica de los compuestos como ingredientes de bebidas nutracéuticas. La investigación detallada de las estructuras y la caracterización de compuestos de nueva identificación resulta clave si se pretende patentar, para comprender los mecanismos biológicos que sustentan las propiedades beneficiosas para la salud y para lograr que la EFSA valide las declaraciones sobre propiedades saludables. En este artículo hemos hablado sobre el programa NutraMara y hemos destacado las fases clave y los factores relacionados con el desarrollo de alimentos funcionales de origen marino. El futuro de los ingredientes funcionales de origen marino parece lleno de buenos auspicios y podría contemplar su inclusión como parte de alimentos consumidos en dietas a medida. Todas estas pretensiones están ligadas al campo de la genómica nutricional o nutrigenómica, que abarca estudios dedicados a investigar las interacciones entre ingredientes alimenticios y genes. Esto también forma parte de la tercera fase de trabajo de NutraMara y su potencial se expresará

por completo en la práctica cuando las tecnologías de extracción, identificación y caracterización hayan madurado lo suficiente. Es esencial que se identifiquen los agentes bioactivos marinos derivados del trabajo de NutraMara y que los procesos empleados para su aislamiento adopten una escala mayor, de acuerdo con las expectativas de la industria, para garantizar que el programa NutraMara concluye con éxito y con la creación de productos alimentarios funcionales de origen marino

### **Agradecimientos**

La autora expresa su agradecimiento al programa NutraMara (Marine Functional Foods Research Initiative) financiado por el Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación de Irlanda, así como al proyecto Biotecmar, por darle la oportunidad de realizar esta presentación en el Seminario sobre algas celebrado en Vigo en junio de 2010.

## Referencias bibliográficas

- BienManger®, 2010, [www.bienmanger.com](http://www.bienmanger.com). Accessed: 10<sup>th</sup> May, 2010.
- Chung Y.C. y Cheng C.Y. (2008) Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan. *Journal of Bioresource Technology*, 99: 2806-2814.
- Dettmar P.W., Strugala V., Richardson J.C. (2011) The key role alginates play in health. *Food Hydrocolloids*, 25: 263-266.
- Dhargalkar V.K. y Pereira N. (2005) Seaweed: promising plant of the millennium. *Science Culture*, 71: 60 –66.
- Dhargalkar V.K. y Verlecar X.N. (2009) Southern Ocean seaweeds: a resource for exploration in food and drugs. *Aquaculture*, 287: 229-242.
- Dong S., Zeng M., Wang D., Liu Z., Zhao Y., Huicheng Y. (2008) Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp. *Food Chemistry*, 107: 1483 –1485.
- Essuman K.M. (1992) A study on processing, marketing and consumption of fermented fish in Africa, FAO, Rome, [www.fao.org/docrep/T0685E/T0685E00HTM](http://www.fao.org/docrep/T0685E/T0685E00HTM) (accessed 11th May 2011).
- European Food Safety Authority (EFSA) (2009) [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu) (accessed at 10.04.2011).
- Hall A.C., Fairclough A.C., Mahadevan K., Paxman J.R. (2010) Seaweed (*Ascophyllum nodosum*) enriched bread is acceptable to consumers. *Proceedings of the Nutritional Society*, 69: 352.
- Kuda T., Hishi T., Maekawa S. (2006) Antioxidant properties of dried product of 'haba-nori', an edible brown alga, *Petalonia binghamiae* (J. Agardh) Vinogradova, *Food Chemical*, 98: 545-550.
- Minoru S., Takashi O., Akio K., Katsura F., Taku K., Takahisa N. (2005) Angiotensin converting enzyme inhibitory, European Patent No. JP2002138100 (A).
- Mower T.E. (2006) Fucoidan compositions and methods for dietary and nutritional supplements. US Patent No. 11/083826.
- Prabhasankar P., Ganesan P., Bhaskar N., Hirose A., Stephen N., Gowda L.R., Hosokawa M., Miyashita K. (2009) Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: chemical, functional and structural evaluation. *Food Chemical*, 115: 501-508.



Regulation 178/2002/EC of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety, Official Journal of the European Union, L 31, 1.2.2002.

Ritter G. y Kraatz A. (2011) Regulations and Requirements. En: Industrial Scale Natural Products Extraction, Bart, H-J., Pilz, S., (ed.), wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 269-289.



## Las algas: potencial nutritivo y aplicaciones cosméticas

Nathalie Bourgougnon<sup>1</sup>, Gilles Bedoux<sup>1</sup>, Amélie Sangiardi<sup>1</sup>, Valérie Stiger-Pouvreau<sup>2</sup>

1. Université européenne de Bretagne, Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines, Université de Bretagne-Sud, Campus de Tohannic, 56017 Vannes, France.

2. Université européenne de Bretagne, Laboratoire Environnement Marin, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Technopôle Brest-Iroise, Rue Dumont d'Urville, 29280 Plouzané, France.

Dirección e-mail: nathalie.bourgougnon@univ-ubs.fr

### Resumen

Las algas representan una parte importante de los recursos marinos explotados en nuestro planeta. De hecho, cada año se recogen en el mundo 11,3 millones de toneladas de algas frescas, con un valor de 5.700 millones de dólares. Las  $\frac{3}{4}$  partes de esta producción tienen lugar en los países asiáticos, como China, Corea y Japón, y se destinan principalmente a la alimentación. Se cultivan alrededor de 220 especies de algas; sin embargo, 6 géneros *Laminaria* (Kombu; 40,1%), *Undaria* (Wakame; 22,3%), *Porphyra* (Nori; 12,4%), *Euचेuma/Kappaphycus* (11,6%) y *Gracilaria* (8,4%) representan el 94,8% de la producción de algas, y 4 géneros (*Laminaria* 47,9%, *Porphyra* 23,3%, *Undaria* 17,7% y *Gracilaria* 6,7%) totalizan el 95,6% de su valor. Las aplicaciones alimentarias directas (« alga como verdura ») representan el principal mercado mundial en valor y volumen (76,1% del tonelaje y 88,3% del valor). Evidentemente, estas cifras son así de elevadas como consecuencia del importante consumo directo que tiene lugar en los países del Sudeste asiático. Allí las algas están presentes desde hace milenios y son un producto muy apreciado por el consumidor. Las aplicaciones de tipo hidrocoloide, con un 11,2% del tonelaje y el 10,8% en términos de valor, constituyen la segunda utilización, muy por detrás del alga para uso alimentario. Los hidrocoloides explotados industrialmente son principalmente el alginato, la carragenina y el agar. Se trata de polisacáridos cuyas propiedades texturizantes específicas (espesamiento, gelificación,

estabilización) se utilizan en numerosas aplicaciones. Las  $\frac{3}{4}$  partes de estas aplicaciones son alimentarias (aditivos desde E400 a E407 de la nomenclatura europea). Un sector emergente es el de los complementos alimentarios (10,8% del tonelaje y un valor actualmente subestimado del 0,9%) (FAO, 1994, Chopin & Sawhney, 2009). El sector de la cosmética marina se desarrolla desde hace 2 décadas con la utilización de los hidrocoloides como agente texturizante. Más recientemente se han incorporado extractos de algas en los productos cosméticos debido a sus principios activos; por ejemplo, la acción anti-edad.

## 1. Las algas en el contexto francés y en Bretaña

Francia se sitúa en el 7º lugar del mundo en cuanto a producción de macroalgas y autoriza la venta de 23 especies de algas destinadas al consumo humano. Algunas de ellas se cultivan en el archipiélago de Bréhat, en la costa norte de Bretaña. Esta región, que comprende cerca de 800 islas e islotes, posee 2.700 kilómetros de costas y uno de los campos de algas más grandes de Europa. Por ello, las algas marinas de las costas bretonas suponen una producción vegetal natural extremadamente importante y diversificada. Estos campos de algas se explotan en determinados momentos del año, ya sea en barco (Figura 1) o a pie.

Las algas proliferan en estas costas gracias a las condiciones óptimas que se dan para su desarrollo, a la escasa profundidad de los fondos rocosos y al constante drenaje producido por las corrientes y la amplitud de la marea. De este modo, en el litoral bretón hay actualmente censadas alrededor de 700 especies de algas (Arzel, 2000, Dizerbo y Herpé, 2007). La recolección y utilización de las algas pertenece a la economía patrimonial del litoral y representa el 90% de la producción francesa. Esta actividad, considerada marginal durante mucho tiempo, ha sido el modo de vida de muchas personas desde



Figura 1. Recogida de algas pardas en Bretaña

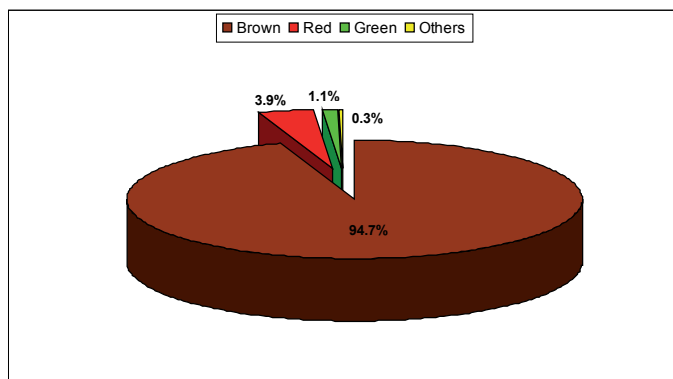


Figura 2. Porcentaje de los tres grupos principales de macroalgas recogidas en Bretaña en 2009 (Bourgougnon y Stiger-Pouvreau, 2011)

hace varios siglos. En un primer momento fueron los habitantes de la costa quienes explotaban este cultivo para destinarlo al autoconsumo. Así, las algas se convirtieron en una fuente de ingresos para una gran cantidad de familias. De hecho, se pueden utilizar para abonar el campo y también como combustible. La mejora en el rendimiento y la profesionalización de esta actividad condujo a su regularización por parte del Servicio de Asuntos Marítimos. El comercio de algas aumentó debido a que la industria de la sosa, y después la del yodo, se interesó por los habitantes de la costa para realizar las labores de recogida. Parece que una de las primeras fábricas que se instalaron en Bretaña fue la de Conquet, en el Finisterre francés, construida en 1828. Desde la década de 1920, las empresas comenzaron a utilizar algas cada vez con más frecuencia (Arzel, 1987). La extracción de sosa y yodo y el posterior descubrimiento de los coloides trajeron consigo una implantación progresiva de empresas en el litoral bretón. A partir de los años 80 fueron múltiples las empresas que mostraron interés, desde el sector de la cosmética hasta el agroalimentario pasando por el farmacéutico y la talasoterapia. Una sesentena de barcos equipados recogen las algas laminarias entre Pleubian y la punta de Permach, pasando principalmente por las zonas de Abers y el archipiélago de Molène. Cada año, entre 50.000 y 60.000 toneladas de algas, fundamentalmente pardas (Figura 2), son recogidas en Bretaña para su transformación en coloides que se utilizan en la industria agroalimentaria y cosmética, o sirven como abono.

Las algas se vienen utilizando en la medicina china desde hace milenios. Gracias a su gran diversidad biológica, las algas marinas suponen una fuente de nuevos

principios activos interesantes en los sectores agroalimentario, farmacéutico y cosmético. Se han determinado químicamente más de 15.000 compuestos originales (Ioannou y Roussis, 2009, Bourgougnon y Stiger-Pouvreau, 2011). Asimismo, los productos derivados de las macroalgas poseen una amplia gama de actividades biológicas: son antibacterianos, antifúngicos, antivirales, antineoplásicos, anticoagulantes, tóxicos, antitumorales, antipalúdicos, antihelmínticos, antiinflamatorios, antiprotozoarios, inmunosupresores, etc. (Bourgougnon y Stiger-Pouvreau, 2011).

## 2. Potencial nutritivo de las algas

Las algas pueden incluirse en dietas normales y en dietas especiales como complemento o aporte específico. De hecho, sus propiedades nutritivas aportan prometedoras perspectivas que, en el mundo occidental, constituyen otra vía para la valorización de las algas en la alimentación humana (MacArtain et al., 2007). Los componentes principales de las algas son los hidratos de carbono, con un 53%, seguidos por los minerales (25%) y las proteínas (20%) (Figura 3).

### 2.1 Los minerales

Las algas toman del mar una gran variedad de elementos minerales. Los tres grandes grupos de algas (Heterokontophyta o algas pardas, Rhodophyta o algas rojas, Chlorophyta o algas verdes) son prácticamente equivalentes en cuanto a la cantidad de minerales. No obstante, se puede observar una ligera ventaja en las pardas y las rojas (hasta el 36% de la masa seca) frente a las verdes (hasta el 30%).

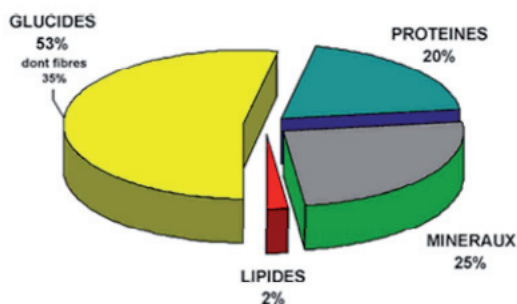


Figura 3. Composición media de las algas (% de materia seca)

Existe una amplia diversidad de elementos. Además de macroelementos como sodio, calcio, magnesio, potasio, cloro, azufre y fósforo, encontramos igualmente una gran cantidad de oligoelementos esenciales como yodo, hierro, zinc, cobre, selenio, molibdeno, flúor, manganeso, boro, níquel y cobalto (los seis primeros de esta lista son oligoelementos esenciales con riesgo de deficiencia). 1.500 millones de personas en el mundo sufren deficiencia de **yodo**; por tanto, el interés del alga como aporte ocasional en la alimentación o como ingrediente suplementario es evidente.

Las laminarias y las fucas pueden acumular, respectivamente, de 1.500 a 8.000 ppm y de 500 a 1.000 ppm en peso seco, principalmente en forma de yodo mineral. Con algunas excepciones, el contenido en las algas rojas y verdes es inferior (100 a 300 ppm en peso seco).

La biodisponibilidad varía en función de la especie y el tratamiento del alimento. Tras ingerir *Laminaria japonica*, el yodo es absorbido en un 98% por la rata y excretado al 100% por el hombre, lo que demuestra una biodisponibilidad total. La suplementación de yodo mediante algas requiere un riguroso control de la recogida y una gestión racional de los lotes de algas en función de la estación para reducir las variaciones estacionales. La deficiencia de yodo representa un problema importante debido a su extensión en el mundo y la gravedad de sus consecuencias. Esta deficiencia es la causa principal del retraso mental en todo el mundo. La prevalencia de bocio en la población mundial se estima en un 12,56% (Valeix, 2003).

En Francia, el consumo medio de **calcio** es de 900 mg/día, pero esta cifra oculta una gran variabilidad individual que expone a grupos importantes (mujeres embarazadas, adolescentes, personas de edad avanzada) a un riesgo de deficiencia. Las algas constituyen una de las fuentes vegetales de calcio más importantes, con niveles que pueden alcanzar el 7% de la masa seca en el caso de las macroalgas. Más interesante aún, el alga roja *Lithothamnium calcareum* o *maërl*, que tiene las paredes impregnadas de carbonato de calcio, contiene del 25 al 34% de calcio. Se utiliza principalmente como abono calcáreo para suelos. Aparece también en el mercado de los complementos alimentarios minerales y de los cosméticos. La biodisponibilidad del calcio del maërl, relacionada con su solubilidad en condiciones gástricas (pH = 1,5), entre otras, está demostrada. *Lithothamnium calcareum* recibió en 1996 una opinión favorable para su utilización en complementos alimentarios

por parte de la Dirección General de Competencia, Consumo y Represión de Fraudes francesa (no publicada) y para su incorporación a la fabricación de panes especiales (BID n° 4/99-079). *Palmaria palmata* (Rhodophyta) y *Undaria pinnatifida* (Heterokontophyta) contienen una cantidad 20 veces superior de calcio que la leche, asociadas a grandes cantidades de potasio y magnesio que ayudan a su asimilación. *Ulva lactuca* (Chlorophyta) contiene el doble de hierro que el germen de trigo y 12 veces más que las lentejas. Las algas contienen una cantidad de magnesio de 5 a 10 veces superior que el germen de trigo. Todas las categorías son también líderes en cuanto al aporte de magnesio. Una cantidad de 5 g en peso seco aporta el 100% de las necesidades diarias.

## 2.2 Las vitaminas

Las algas contienen prácticamente todas las **vitaminas**, a pesar de las grandes variaciones estacionales. El interés principal reside en los niveles de provitamina A (algas rojas), vitamina C (pardas o verdes) y vitamina E (pardas). En general, hay una gran presencia de vitaminas del grupo B (especialmente B2 y B3), con una peculiaridad en el caso de la vitamina B12: las algas contienen una proporción significativa, a diferencia de las plantas terrestres, en las que no está presente. Si bien algunas vitaminas aparecen en cantidades notables, el interés del contenido de vitaminas de las algas radica, más allá de estos niveles individuales, en el concepto de cóctel.

## 2.3 Las proteínas y los antioxidantes

Las algas marinas, al menos determinadas especies, presentan una fuente potencial de **proteínas** vegetales que pueden tener gran valor para la alimentación humana o animal. Es el caso principalmente de algunas Chlorophyceae y Rhodophyceae, cuya proporción de proteínas puede alcanzar un nivel del 26 al 35% del peso seco de la planta. Por lo general, las proteínas de las algas están bien equilibradas en aminoácidos, que se encuentran en cantidades importantes en determinadas especies. Los contenidos descritos son comparables, e incluso superiores, a los de ciertas leguminosas como la soja, que es una fuente de proteínas vegetales para la nutrición animal. En cuanto a su composición en aminoácidos, determinadas Ulvas (algas verdes) tienen una proporción de aminoácidos esenciales como la valina, la leucina o la isoleucina comparable a la que presentan las leguminosas.



Asimismo, tienen niveles de metionina y treonina superiores a los encontrados en estas plantas terrestres. *Palmaria palmata*, alga roja más conocida como Dulce, se caracteriza por una fracción proteica constituida principalmente por aminoácidos de interés nutritivo como la valina, la leucina e incluso la metionina. El contenido de proteínas de las algas marinas cambia a lo largo del año y de una especie a otra. La espirulina, microalga de agua dulce, es conocida por sus excepcionales niveles de proteínas (70% de la materia seca). Su digestibilidad en el hombre alcanza el 60% (Fleurence et al., 1995, Fleurence, 1999) (Tabla 1). Entre las proteínas de las algas, hay que citar la presencia de moléculas particulares en determinadas algas rojas y azules: las ficobiliproteínas (Denis et al., 2010). Estos compuestos, formados por un enlace covalente de una bilina (núcleo tetrapirrólico abierto) y una cadena proteica, son los principales pigmentos de estas algas, pigmentos que forman parte del sistema de recogida de energía luminosa. Las ficobiliproteínas (ficocianina de espirulina y ficoeritrina de algas rojas) tienen además propiedades antioxidantes que podrían aprovecharse para la prevención o el tratamiento de enfermedades degenerativas: determinadas formas de cáncer, enfermedades cardiovasculares u oftálmicas vinculadas con el estrés oxidativo (Galland-Irmouli et al., 1999) (Figura 4).

Tabla 1. Composición en aminoácidos de algunas macroalgas (Fleurence, 1999).

| Amino acids   | <i>Laminaria digitata</i> (brown seaweed) (1) | <i>Undaria pinnatifida</i> (brown seaweed) (2) | <i>Ulva armoricana</i> (green seaweed) (3) | <i>Ulva pertusa</i> (green seaweed) (2) | <i>Palmaria palmata</i> (red seaweed) (4) | <i>Porphyra tenera</i> (red seaweed) (2) | <i>Chondrus crispus</i> (red seaweed) (5) | Leguminous plants (6) | Ovalbumin (2) |
|---------------|---|--|--|---|---|--|---|-----------------------|---------------|
| Histidine     | 1.3   | 2.7  | 1.2-2.1                                    | 4.0                                     | 0.5-1.2                                   | 1.4                                      | 0.9                                       | 3.8-4.0               | 4.1           |
| Isoleucine    | 2.7   | 2.9  | 2.3-3.6                                    | 3.5                                     | 3.5-3.7                                   | 4.0                                      | 1.8                                       | 3.6                   | 4.8           |
| Leucine       | 5.4   | 5.1  | 4.6-6.7                                    | 6.9                                     | 5.9-7.1                                   | 8.7                                      | 2.9                                       | 7.3                   | 6.2           |
| Lysine        | 3.7   | 4.3  | 3.5-4.4                                    | 4.5                                     | 2.7-5.0                                   | 4.5                                      | 4.9                                       | 6.4-6.5               | 7.7           |
| Methionine    | 1.6   | 2.0  | 1.4-2.6                                    | 1.6                                     | 2.7-4.5                                   | 1.1                                      | 0.5                                       | 1.2-1.4               | 3.1           |
| Phenylalanine | 3.2   | 3.7  | 5.0-7.1                                    | 3.9                                     | 4.4-5.3                                   | 3.9                                      | 1.5                                       | 2.4                   | 4.1           |
| Threonine     | 4.4   | 2.4  | 4.5-6.8                                    | 3.1                                     | 3.6-4.1                                   | 4.0                                      | 2.2                                       | 4.0                   | 3.0           |
| Tryptophan    | 0.8   | 0.8  | -  | 0.3                                     | 3.0                                       | 1.3                                      | -   | 1.6-1.9               | 1.0           |
| Valine        | 4.2   | 4.1  | 4.0-5.2                                    | 4.9                                     | 5.1-6.9                                   | 6.4                                      | -   | 4.5                   | 5.4           |
| Cysteine      | 1.7   | 0.5  | -  | 1.2                                     | -   | 0.3                                      | -   | 1.1-1.3               | 1.3           |
| Arginine      | 0.3   | 7.5  | 4.3-8.7                                    | 14.9                                    | 4.6-5.1                                   | 16.4                                     | 33.6                                      | 13.0-14.0             | 11.7          |
| Aspartic acid | 8.7   | 5.6  | 6.0-11.8                                   | 6.5                                     | 8.5-18.5                                  | 7.0                                      | 3.8                                       | 4.7-5.4               | 6.2           |
| Glutamic acid | 9.4   | 5.1  | 11.7-23.4                                  | 6.9                                     | 6.7-9.9                                   | 7.2                                      | 4.1                                       | 6.4-6.7               | 9.9           |
| Alanine       | 14.4  | 4.8  | 5.5-7.7                                    | 6.1                                     | 6.3-6.7                                   | 7.4                                      | 3.8                                       | -                     | 6.7           |
| Glycine       | 4.3   | 4.4  | 6.3-7.5                                    | 5.2                                     | 4.9-13.3                                  | 7.2                                      | 3.5                                       | -                     | 3.4           |
| Proline       | 3.7   | 2.8  | 5.0-10.5                                   | 4.0                                     | 1.8-4.4                                   | 6.4                                      | 1.9                                       | -                     | 2.8           |
| Serine        | 4.0   | 2.8  | 5.6-6.1                                    | 3.0                                     | 4.0-6.2                                   | 2.9                                      | 2.2                                       | -                     | 6.8           |
| Tyrosine      | 1.5   | 1.6  | 4.4-4.7                                    | 1.4                                     | 1.3-3.4                                   | 2.4                                      | 1.0                                       | 2.3-2.6               | 1.8           |
| Alanine       | 14.4  | 4.8  | 5.5-7.7                                    | 6.1                                     | 6.3-6.7                                   | 7.4                                      | 3.8                                       | -                     | 6.7           |

(1) Augier & Santimone, 1978; (2) Fujiwara-Arasaki et al, 1984 ; (3) Fleurence, 1999 a ; (4) Morgan et al., 1980; (5) Young & Smith, 1958; (6) Fowden, 1954

Hay otra familia de pigmentos muy valorada en las algas: la **astaxantina**, extraída principalmente de la microalga *Haematococcus pluvialis*, que pertenece a la gran familia de carotenoides, en la que figura también el  $\beta$ -caroteno, la luteína y la zeaxantina, y que tiene importantes propiedades antioxidantes. Este poderoso anti-radical se caracteriza por una excepcional acción antioxidante: 500 veces superior a la de la vitamina E. Debido a su importante poder antioxidante, la astaxantina se utiliza para neutralizar los radicales libres causados por los rayos ultravioleta. Los rayos ultravioleta son conocidos por causar numerosos daños en el ojo, como el envejecimiento e incluso la opacidad del cristalino (que da lugar a las cataratas). La astaxantina, la luteína y la zeaxantina se comercializan como cápsulas para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad. Entre los antioxidantes, la **vitamina E** interviene en reacciones con radicales libres inhibiendo la oxidación de lipoproteínas de baja densidad. También desempeña un papel importante en la cascada del ácido araquidónico, inhibiendo la formación de prostaglandinas y tromboxanos. Las algas pardas contienen una cantidad de vitamina E más elevada que las algas verdes y rojas.

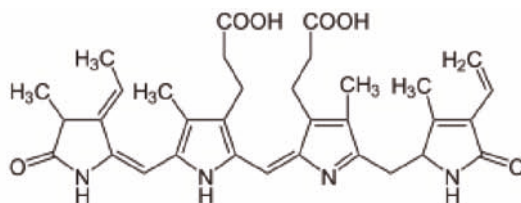


Figura 4. Estructura química de la ficoeritrina de las algas rojas.

Entre las algas pardas, las concentraciones más elevadas se observan en las fucales (*Ascophyllum nodosum* y *Fucus sp.*), que contienen entre 200 y 600 mg de tocoferoles por kilogramo de materia seca. Los **florotaninos** constituyen un grupo de moléculas muy heterogéneo (estructura y grado de polimerización) que proporciona una amplia variedad de posibles actividades biológicas. Los niveles más altos se encuentran en las algas pardas, que contienen entre el 5 y el 15% del peso seco (Singh y Bharate, 2006). La actividad antioxidante de los extractos de polifenoles de las algas pardas y rojas se ha demostrado mediante estudios *in vitro* (Maréchal y Hellio, 2009, Le Lann y Stiger, 2009, Le Lann et al., 2008). Sin embargo, a diferencia de los polifenoles de las plantas terrestres, se sabe poco sobre el papel de los florotaninos en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

## 2.4 Los lípidos

Las algas tienen un bajo **nivel lipídico** (del 1 al 3% de la materia seca). Entre las algas de las costas francesas, *Ascophyllum nodosum* (Heterokontophyta) es la única que puede contener hasta un 5%. Desde un punto de vista cualitativo, los lípidos de las algas difieren de los de las plantas terrestres, ya que presentan una mayor proporción de ácidos grasos insaturados. El tipo predominante de ácidos grasos insaturados parece una característica de la línea evolutiva considerada.

De este modo, las algas verdes, cuya composición de ácidos grasos es la más similar a la de las plantas superiores, tienen, en relación a éstas, un nivel mucho más alto de ácido oleico (C18: 1) y en ácido  $\alpha$ -linoleico ( $\omega$ 3 - C18: 3). Las algas rojas contienen niveles elevados de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos, en particular de  $\omega$ 3 - C20: 5, ácido eicosapentaenoico (el 50% de los ácidos grasos poliinsaturados en el caso de *Porphyra*) y de  $\omega$ 6 - C20: 4, ácido araquidónico. Los ácidos grasos poliinsaturados de 18 carbonos, como el ácido  $\alpha$ -linoleico ( $\omega$ 3 - C18: 3) o el ácido  $\gamma$ -linoleico ( $\omega$ 6 - C18: 2) están también representados (el 10% de los ácidos grasos totales en el caso de *Porphyra*). En el caso de las algas pardas, la distribución de los ácidos grasos es bastante comparable; sin embargo, la concentración en ácido  $\alpha$ -linoleico ( $\omega$ 3 - C18: 3) es elevada.

## 2.5 Las fibras

La pared de las algas está formada por una fase cristalina fibrilar (el esqueleto), que consta de glicanos neutros, y una fase amorfa (la matriz), formada generalmente por glicanos sulfatados. También tiene proteínas poco abundantes, a diferencia de las plantas superiores (hasta el 10% del peso seco de la pared). Los polisacáridos de la matriz suelen ser muy abundantes y representan de media del 30 al 70% del peso seco del talo. Los polisacáridos solubles que pueden ser considerados como fibras alimentarias son el agar, en el caso de las algas rojas (*Gracilaria verrucosa*, *Chondrus crispus*, *Porphyra umbilicalis*, *Palmaria palmata*), y la carragenina y los alginatos en las algas pardas (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Himanthalia elongata*, *Undaria pinnatifida*). La carragenina y el agar tienen estructuras análogas en la medida en que se trata, en ambos casos, de polímeros sulfatados de manera diversa de galactosa y/o de 3, 6- $\alpha$ -anhidrogactosa. Las diferencias esenciales entre la carragenina y el agar radican en la tasa de sulfatación (alta en el caso de la carragenina, más baja para el agar) y en la conformación de galactosa, que

pertenece a la serie D en la carragenina y a la serie L en el agar, pero solo en el caso de la 3, 6- $\alpha$ -anhidrogalactosa. Los alginatos están formados por dos unidades de ácidos urónicos: los ácidos D-manurónicos unidos en  $\alpha$ -1,4 y los ácidos L-gulurónicos, unidos en  $\alpha$ -1,4. Los polisacáridos de la fase de la matriz dan lugar a soluciones con gran viscosidad o gelificadas, residuos estables en presencia de una gran diversidad de aditivos, lo que explica los distintos usos industriales posibles: en la industria alimentaria, en la del papel, o el textil. Asimismo, se pueden utilizar como agentes estabilizantes o clarificantes (eliminación de los microorganismos durante la fermentación del vino, de la cerveza...), como agentes enlazantes, como gelificantes, etc. bajo las denominaciones E400, E401, etc.

Las fibras solubles suelen asociarse con comportamientos de hidratación (absorción, retención, hinchazón) que afectan al tránsito del bolo alimenticio en el estómago y el intestino delgado, y que pueden tener efectos hipocolesterolemiantes e hipoglucemiantes (Bourgougnon & Stiger-Pouvreau, 2011).

### 3. La legislación

No existe una **normativa europea** específica para las algas. A nivel de países, Bélgica es el único que menciona las algas en su legislación relativa a los productos alimentarios. En Francia, las algas marinas se consideran alimentos no tradicionales y su utilización como materia prima o producto intermedio en la industria alimentaria se rige por una normativa reciente (dictamen del Consejo Superior de Higiene Pública de Francia publicado en el Boletín Oficial del Ministerio de Sanidad (n°90/45, p. 103) y B.I.D n°2/98-030).

En dicha normativa se incluye una lista de especies y grupos autorizados para el consumo humano y recomendaciones sobre los límites aceptables de algunos contaminantes. En Francia, a día de hoy, se pueden utilizar 23 algas, de las cuales 3 son microalgas. Entre las macroalgas se citan 7 algas pardas (*Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Himanthalia elongata*, *Undaria pinnatifida*, *Laminaria digitata*, *Laminaria saccharina* y *Laminaria japonica*), 11 algas rojas (*Palmaria palmata*, *Porphyra umbilicalis*, *Porphyra tenera*, *Porphyra yezoensis*, *Porphyra dioica*, *Porphyra purpurea*, *Porphyra laciniata*, *Porphyra leucostica*, *Chondrus crispus*, *Gracilaria verrucosa* y *Lithothamnium calcareum*) y 2 algas verdes (*Ulva sp.* (1990), *Enteromorpha sp.* (1990)).

3 microalgas forman parte de la lista de algas autorizadas: *Spirulina sp.* (1990), *Chlorella sp.* y *Ondontella aurita* (2002). El aceite extraído de *Schizochytrium sp.*, con un alto nivel de DHA (32%), ha recibido una autorización para comercialización en virtud del Reglamento (CE) n° 258/97 de la Comunidad Europea (2003/427/CE y extensión de los usos – Sometimiento a la Agencia Francesa de Seguridad Sanitaria de los Alimentos (AFFSA) n° 2008-SA-0316, Sometimiento vinculado n° 2001-SA-0095). El aceite extraído de *Ulkenia sp.* (32% de DHA) ha recibido también un dictamen favorable relativo al uso para alimentación (Reglamento de la CE 2009/777/CE) (Normativa sobre algas alimentarias, Resumen del Centre d'Étude et de Valorisation des Algues (CEVA), 2010). Con el objetivo de garantizar la seguridad alimentaria, las algas autorizadas deben cumplir criterios precisos respecto a los niveles máximos en metales pesados y yodo, así como criterios microbiológicos para los productos secos. Por ejemplo, el alga fresca lavada debe almacenarse a -4 °C durante 3-4 días, los productos acabados frescos salados pueden conservarse 3 meses, etc.

#### 4. Las algas en la cosmética

Desde hace dos décadas las algas se han utilizado ampliamente en la industria cosmética de Francia. En total, el 5% de las especies se destinan a tal fin, lo que incluye 30 variedades. Se pueden utilizar como excipientes (2-20%) gracias a sus propiedades gelificantes o espesantes. En forma de polvos que se pueden dispersar en el agua, entran en la formulación de geles acuosos, de geles protectores solares (como geles cicatrizantes tras la exposición al sol), de geles anti-inflamatorios, de agentes revitalizadores para el cabello en las lociones capilares, de fijadores para el cabello y de lociones suavizantes. Los extractos de algas pueden intervenir también como activos (0,2-2%) gracias a sus propiedades tonificantes, hidratantes, nutrientes, anti-edad o anti-radicales. Por último, se pueden integrar como aditivos (<0,2%) gracias a sus propiedades colorantes, aromatizantes o conservadoras: máscaras, envoltentes, etc. En cosmetología suelen utilizarse tres tipos de algas: *Fucus*, *Ascophyllum* y determinadas especies de *Laminaria*. Sin embargo, no hay mucha información sobre la acción de estas algas sobre la piel o el cabello. Las algas se utilizan de formas diversas: secas, microestalladas o liofilizadas, en papilla o criotrituradas. En todo caso, pueden formar parte de productos citofiltrados, extractos acuosos, alcohólicos o glicolípidicos, etc. En general, hay una escasa

proporción de algas en la composición de los novedosos productos que se anuncian con “principio activo marino”.

## **5. Conclusión**

En este capítulo se ilustra el potencial nutritivo y cosmético de las algas. Su fracción mineral variada y abundante constituye una importante contribución de macro y oligoelementos. Por lo general, las proteínas de las algas están bien equilibradas en aminoácidos, que se encuentran en cantidades importantes en determinadas especies. El contenido vitamínico forma un cóctel variado en el que están representadas la mayoría de las vitaminas. La fracción de lípidos es escasa; sin embargo, en determinadas especies es rica en determinados ácidos grasos poliinsaturados. Por último, las algas son una fuente importante de fibras alimentarias; algunas de las cuales se estudian cada vez más para aplicaciones funcionales. Por tanto, las algas pueden incluirse en dietas normales y en dietas especiales como complemento o aporte específico. Así, además de las propiedades tecnológicas de las algas (gelificantes, texturizantes, espesantes) ampliamente utilizadas en la industria agroalimentaria, sus propiedades nutritivas muestran prometedoras perspectivas que, en el mundo occidental, podrán constituir otra vía para la valorización de las algas en la alimentación, la sanidad humana y la cosmética.

## Referencias bibliográficas

- Arzel P. (2000) Sur la route des Algues, les goémoniers. Patrimoine maritime de Bretagne, Ed . Uhel Izel, 65 p.
- Arzel P. (1987) Les goémoniers, Le Chasse-marée, Editions de l'éstran, 305 p.
- Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique émis lors des séances du 14 juin 1988, du 13 décembre 1988, du 9 janvier 1990 et du 14 octobre 1997
- Bourgougnon N. y Stiger-Pouvreau V. (2011) Chemodiversity and bioactivity within red and brown marine macroalgae along French coasts (Metropole and overseas departments and territories). Handbook of macroalgae. CRC Book "Recent Advances in the Bioactivity of Seaweeds" in press
- Chopin T. y Sawhney M. (2009) Seaweeds and their Mariculture. Encyclopedia of Ocean Sciences, Pages 317-326.
- Denis C., Massé A., Fleurence J., Jaouen P. (2009) Concentration and pre-purification with ultrafiltration of a R-phycoerythrin solution extracted from macro-algae *Grateloupia turuturu*. Process definition and up-scaling. Separation and Purification Technology, 69(1): 37-42.
- Dizerbo A.H. y Herpé E. (2007) Liste et répartition des algues marines des côtes françaises de la Manche et de l'Atlantique, Iles Normandes incluses. pp. [1]-315, 92 pls. Landernau: Éditions Anaximandre.
- FAO (2004) The State of the World Fisheries and Aquaculture 2004 (SOFIA), FAO, Rome, [http://www.fao.org/sof/sofia/index\\_en.htm](http://www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm)
- Fleurence J. (1999) Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. Trends in Food Sciences and Technology, 10: 25-28.
- Fleurence J., Le Cœur C., Mabeau S., Maurice M., Landrein A. (1995) Comparison of different extractive procedures for proteins from the edible seaweeds *Ulva rigida* and *Ulva rotundata*. Journal of Applied Phycology, 7: 577-582.
- Galland-Irmouli A.V., Fleurence J., Lamghari R., Luçon M., Rouxel C., Barbaroux O., Bronowicki J.P., Villaume C., Guéant J.-L. (1999) Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse). The Journal of Nutritional Biochemistry, 10(6): 353-359.
- Ioannou E. y Roussis V. (2009) Natural products from seaweeds. Springer Science, 51-81

- Le Lann K. y Stiger-Pouvreau V. (2009) Spatio-temporal phenologies of temperate Sargassaceae: coexistence of invasive and native species. *Phycologia*, 48(4 suppl): 74.
- Le Lann K., Jegou C., Stiger-Pouvreau V. (2008) Impact of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassacean species: comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. *Phycological Research*, 56: 238-245.
- MacArtain P., Gill C.I.R., Brooks M., Campbell R., Rowland I.R. (2007) Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition Reviews*, 65:535-543.
- Maréchal J.P.y Hellio C. (2009) Challenges for the development of new non-toxic antifouling solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 4623-4637.
- Singh I.P. y Bharate S.B. (2006) Phloroglucinol compounds of natural origin. *Natural Product Reports*, 23: 558-591.
- Valeix P. (2003) La carence en iode dans le monde. *Dossier IFN*, 13



# Extracción de compuestos bioactivos a partir de algas para uso cosmético

Andrea Vázquez Pérez

Iuvenor lab S.L., Polígono empresarial O Carballiño, p-11, 32500 O Carballiño (Ourense), España

Dirección e-mail: andrea.vazquez@iuvenor.es

## Resumen

Las algas y sus derivados han sido y son ampliamente utilizados en todo el mundo para la elaboración de cosméticos. Esto es debido a sus interesantes propiedades como activos antioxidantes, hidratantes, remineralizantes, etc. En Galicia existe un amplio abanico de empresas destinadas a la recolección, procesado y comercialización de las algas, pero están centradas básicamente en aplicaciones alimentarias y agrícolas. La exploración de este sector de negocio podría ser interesante para este tipo de empresas y, además, contribuiría a resaltar la riqueza natural que tenemos en nuestra comunidad. Hoy en día Galicia es sinónimo de calidad, por ello, la obtención de extractos de algas gallegas para uso en cosmética, tiene un gran valor añadido, con grandes posibilidades de difusión en el resto de España y Europa si se invierte en la especialización, investigación y desarrollo de extractos novedosos que compitan con los ya existentes en el mercado.

## 1. Interés, propiedades y aplicaciones de las algas y sus derivados en la industria cosmética

### 1.1 *Uso de las algas en cosmética*

Las algas y sus derivados son utilizados en cosmética desde finales de los 60 de forma generalizada. Existen indicios de que se habían comenzado a utilizar ya en el Siglo XIX en Francia, concretamente en la zona de la Bretaña. Es en esta zona donde se encuentra el sector más especializado para la obtención de extractos y

derivados de algas para uso en cosmética. Distribuyen grandes cantidades cada día a todo el mundo para su empleo en la elaboración de los más variados tipos de cosméticos. Su uso está muy extendido en el sector, debido a que las propiedades que presentan se utilizan en muchos tipos de cosméticos, tanto por su actividad como hidratantes, antioxidantes, drenantes, anticelulíticos, como también por sus propiedades para modificar la textura y la viscosidad de los productos, debido a las propiedades gelificantes de algunos de sus componentes.

Los derivados de algas que se usan en cosmética, al contrario de lo que podría parecer, no están vinculados de un modo exclusivo con la cosmética natural o ecológica, si no que su uso está totalmente extendido en cosméticos de todo tipo de mercados, llegando a convertirse, por su amplia variedad de funciones, en una gama de materias primas básicas en la industria cosmética mundial. Los derivados de las algas que se utilizan en cosmética, podemos clasificarlos en dos grandes grupos:

- **Activos:** que aportan al producto cosmético propiedades que lo hacen, de algún modo, beneficioso para la piel, permitiendo reivindicar una actividad determinada como hidratante, emoliente, tonificante, remineralizante, anticelulítico, etc.
- **Excipientes:** que se utilizan para obtener una mejor textura del producto, modificar su viscosidad, su reología o dar una mayor estabilidad a la fórmula.

Las algas pueden emplearse frescas o secas, en aplicaciones locales, realizadas con el producto en caliente o disueltas en agua marina a modo de baños remineralizantes y tonificantes. Este tipo de aplicaciones se suelen llevar a cabo en centros de estética, balnearios o centros de talasoterapia. No obstante, lo más habitual es el uso de extractos obtenidos, mediante diferentes métodos, a partir de macro y microalgas. Estos extractos son ricos en componentes bioactivos de gran utilidad en cosmética. Se utilizan como ingrediente activo de numerosas formulaciones cosméticas, a diferentes concentraciones para la elaboración de cremas faciales, leches corporales, mascarillas, exfoliantes, geles de baño, etc.

### *1.2 Actividades cosméticas*

Los extractos de algas presentarán diferentes actividades dependiendo de las algas a partir de las cuales se hayan obtenido, ya que cada una presenta diferentes

moléculas activas, y también del procedimiento de extracción. Las actividades por las que estos extractos son más utilizados en cosmética podrían ser, entre otras, las siguientes:

- **Actividad antioxidante:** Algunas sustancias presentes en las algas presentan capacidad antioxidante, anti-radicales libres, lo cual favorece un proceso que ralentiza los efectos del envejecimiento prematuro de la piel.
  - **Fenoles:** Su estructura le confiere un gran poder antioxidante que funciona a través de un mecanismo de neutralización de radicales libres, inhibiendo las reacciones radicalarias y también por el efecto quelante de diversos iones metálicos que por sí mismos son catalizadores de los radicales libres. Se ha demostrado también (Kang et al., 2003) la acción de diversos compuestos polifenólicos extraídos de algas pardas como inhibidores de radicales libres.
  - **Beta-caroteno:** Precursor de la vitamina A, potente agente antioxidante.
  - **Tocoferoles:** Gran poder antioxidante, protegen a los aceites, los lípidos de las membranas celulares y los orgánulos celulares de la oxidación. El alfa-tocoferol es el que mayor actividad biológica presenta y es de gran importancia en la piel (Le Poole, 1995) Posee también actividad contra radicales libres inducidos por radiación UV, especialmente útil para frenar sus reacciones en cadena en la membrana plasmática.
  - **Vitamina C:** Presenta propiedades fotoprotectoras similares a las de la vitamina E, ya que neutraliza los radicales generados por los rayos UVB. Además, actúa como cofactor en la síntesis de colágeno mediante la estimulación estimula la síntesis de colágeno. Disminuye, además, la producción de la enzima metaloproteínasa, que degrada el colágeno. (Chiu y Kimball, 2003)
  - **Niacina (Vitamina B3):** Existen datos sobre la prevención, con aplicaciones tópicas, de la pérdida de colágeno de la dermis que acompaña al fotoenvejecimiento. Hay estudios que demuestran que mejora la función barrera de la piel, atenúa los signos de fotoenvejecimiento (manchas, rojeces, etc) y reduce la producción de sebo (Bissett et al., 2004)
  - **Fucoidanos:** Estos polisacáridos estimulan la producción de fibroblastos a nivel dérmico y la producción de colágeno y otros componentes de la

matriz. Inhiben la tirosinasa, que forma parte del proceso de pigmentación (manchas) y la elastasa, proteasa que rompe las fibras de elastina de la matriz.

- **Actividad hidratante:** Los carbohidratos son higroscópicos y contribuyen así al mantenimiento hídrico del estrato córneo. Además, algunos de ellos forman una película protectora sobre la piel, evitando y retrasando la pérdida de agua transepidérmica.

Otros componentes como los aminoácidos y ciertos minerales colaboran en esta acción, permitiendo así restablecer y mantener el equilibrio hídrico de la piel. Los alginatos son codiciados en la industria cosmética por sus propiedades: filmógenas, suavizantes, hidratantes, y por su capacidad para formar preparados que se extienden bien sobre la superficie de la piel y que son agradables al tacto. (Bruneton, 2001)

- **Actividad antiedema y anticelulítica:** Las sales minerales, y en especial el yodo, provocan una estimulación del metabolismo general, y un aumento de los intercambios osmóticos, provocando así una eliminación de los líquidos superfluos, una estimulación de la circulación y una mayor eliminación de toxinas.

El edema es uno de los desencadenantes de la celulitis, por lo tanto, al reducirlo, se está contribuyendo a la mejoría de esta disfunción (Benaiges, 2006)

La información de este apartado está basada en documentación técnica facilitada por la empresa Provital Group S.L.

### *1.3 Especies más utilizadas*

Algunas de las especies de algas más utilizadas en la industria cosmética son:

*Fucus vesiculosus:* Fuente de minerales. Alto contenido en Yodo. Incrementa los intercambios iónicos y activa el metabolismo de las células adiposas ayudando a eliminar toxinas.

*Chondrus crispus:* Alga roja rica en minerales, incluyendo Manganeseo, Zinc, Calcio y Magnesio. Contiene también polisacáridos de carácter polianiónico capaces de enlazar el agua a las proteínas de la piel. Esto le confiere propiedades de hidratación, calmante, humectantes y suavizantes.

*Codium tomentosum*: Alga verde que contiene una importante cantidad de ácido glucurónico, el cual regula la distribución de agua en la piel, protegiéndola de los efectos dañinos de un ambiente excesivamente seco.

*Laminaria saccharina*: Contiene proteínas, vitaminas, minerales y carbohidratos, que regulan la actividad de las glándulas sebáceas y poseen acción anti-inflamatoria.

*Laminaria digitata*: Promueve la regeneración tisular y reactiva el metabolismo celular.

*Lithothamnium sp.*: Tonifica la epidermis. Remineraliza y revitaliza la piel. Presenta un gran poder calmante

*Ascophyllum nodosum* y *Asparagopsis armata*: contienen componentes antiirritantes, y reduce el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el cual estimula la dilatación de los vasos sanguíneos. Si este factor es demasiado alto pueden causarse problemas de capilares dilatados, rojeces, irritabilidad, muy típicos en las pieles más sensibles.

*Enteromorpha compressa*: Contiene glicosamina, hydroxyprolina y polisacáricos, y estimula la circulación sanguínea.

*Ulva lactuca*: Inhibe la acción de la elastasa, enzima que degrada la elastina, proteína que, junto con el colágeno, se encarga de mantener la elasticidad y firmeza de la piel.

#### 1.4 Moléculas bioactivas

Cada una de estas algas es rica en determinadas moléculas bioactivas, que son las que le confieren, las propiedades de las que hemos hablado anteriormente. Según el procedimiento de obtención del extracto que se emplee, y también del tipo de algas de las que se parta, se obtendrán unas u otras moléculas bioactivas y a diferentes concentraciones, de ahí la diferente actividad de los extractos obtenidos a partir de cada especie. Algunas moléculas, debido a su interés, se aíslan para utilizarlas como activos o como excipientes de la formulación, para conseguir una determinada textura o aportar estabilidad al producto.

Algunas de estas moléculas son por ejemplo:

- TERPENOS

Fucosterol, es un terpeno esteroideo extraído de alga marina *Ecklonia stolonifera* (Sudáfrica), que presenta extraordinaria actividad antioxidante, emoliente, reactiva la circulación sanguínea y contribuye al mantenimiento del nivel de hidratación cutáneo.

- CAROTENOIDES

Los carotenoides son unos pigmentos naturales liposolubles, producidos por multitud de microorganismos y plantas. Los carotenoides tienen una gran importancia en el mundo de la cosmética, no solo como pigmentantes, sino también por sus efectos beneficiosos como antioxidante. El B- caroteno, como precursor de la vitamina A puede ser transformado enzimáticamente a vitamina A (retinol) y aplicado a productos cosméticos como importante agente antioxidante, para combatir los efectos provocados por los radicales libres que intervienen de forma activa en el proceso de envejecimiento.

- ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS

Una falta de ácidos grasos insaturados en la piel puede producir dermatitis o deshidratación dérmica, ya que son fundamentales en la constitución de la barrera hidrolipídica que mantiene la piel protegida y evita la pérdida de agua.

Microalgas marinas tales como *Tetraselmis suecica*, *Porphyridium cruentum* y *Chaetoceros calcitrans*, producen altos niveles de ácido araquidónico y ácidolinoléico. *Nannochloropsis* produce ácido eicosapentenoico y la especie *Isochrysis galbana* produce grandes cantidades de ácido docosahexaenoico.

Todos estos ácidos grasos se pueden utilizar en cosmética como activos para mejorar la emolencia de la piel y reforzar la barrera hidrolipídica de la misma.

- PROTEINAS

La Ficoeritrina es una proteína que actúa como pigmento en las algas rojas. Esta proteína tiene numerosas aplicaciones en biotecnología, alimentación, medicina (terapias de diagnóstico), procedimientos analíticos y también en cosmética.

La B- Ficoeritrina, presente en el alga roja *P. cruentum*, es utilizada como colorante natural en alimentación, farmacia y cosmética.

Existen otros colorantes naturales aislados a partir de algas rojas y algas verdeazuladas que pueden ser usados en formulaciones cosméticas.

- MICOSPORINAS

Son moléculas de bajo peso molecular, solubles en agua y con propiedades para absorber la radiación UV comprendida entre los 310-325nm. Están presentes en microalgas, en otros microorganismos marinos y también en algunas especies de algas rojas tales como *Gracilaria cornea*. Estas moléculas desarrollan un papel fundamental en la protección de la piel a los rayos UV, además, actúan como antioxidantes actuando frente a los radicales libres, responsables de los procesos de oxidación.

- TOCOFEROL

El Tocoferol es un componente liposoluble muy efectivo para la protección de la piel. Es un precursor de la vitamina E y presenta una elevada actividad antioxidante. Se emplea como activo, para evitar los procesos de oxidación de la piel, y también como estabilizante de las formulaciones, para evitar la oxidación de los aceites contenidos en ella.

- COMPONENTES FENÓLICOS

Los componentes fenólicos han sido asociados con actividad antioxidante y protección de la piel frente a los efectos de los rayos UV, ayudando a combatir los efectos oxidativos que estos producen en la piel.

- POLISACÁRIDOS

Los polisacáridos obtenidos de las algas y sus derivados se utilizan también en cosmética. Se puede extraer por ejemplo D-glucosa, D-manosa, D-galactosa y D-ácido glucurónico. Se suelen usar como excipientes en cosmética, debido a su alto poder gelificante, como estabilizante de emulsiones o para incrementar la viscosidad de los productos.

- FUCOIDAN

Fucoidan es un polisacárido sulfatado presente en algunas especies de algas pardas tales como *Laminaria japonica*, *Fucus vesiculosus*, *Undaria pinnatifida*, *Cladospiphon okamuranus* e *Hizika fusiforme*. Estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado que Fucoidan presenta propiedades de protección de la piel, propiedades antioxidantes y anti-aging, además de otras funciones como anti-viral,

anti-inflamación, anti-coagulante o anti-tumoral, ya de interés no en el campo de la cosmética, sino en el de la medicina.

- CARRAGENATOS

Los Carragenatos, líneas polisacáridicas sulfatadas, extraídos de varios tipos de algas rojas de la familia de las Rodofitas, son moléculas que presentan masas moleculares de entre 300 y 600 kDa. Son moléculas largas, flexibles, y presentan formas curvas y estructuras helicoidales.

Ofrecen un amplio rango de texturas, ayudando a incrementar la viscosidad de las formulaciones y contribuyendo a mejorar la estabilidad de ciertas emulsiones. Por ello son utilizados como excipientes en numerosas formulaciones cosméticas de todo tipo.

- ALGINATOS

Los alginatos, obtenidos a partir de las algas pardas. Son hidrocoloides altamente funcionales para espesar y estabilizar formulaciones a pH bajo.

El modo de obtención suele ser la extracción de ácido algínico a partir de las algas pardas (Phaeophyceae, Laminaria) mediante el uso de bases y ácidos minerales. El ácido algínico se puede convertir luego en diferentes sales del tipo de Sodium alginate.

La estructura de los alginatos depende de las algas de las que se obtienen y de las condiciones de crecimiento de las mismas. Los alginatos extraídos de *Durvillea* o *Ascophyllum*, que son especies que contienen altos niveles de ácido manurónico, dan lugar geles suaves, la red formada es más elástica y con más porosidad. Los alginatos obtenidos a partir de *Laminaria hyperborrea*, especie con niveles altos de ácido gulucurónico dan lugar a geles más rígidos y con alta porosidad.

- AGAR

Es un polisacárido no ramificado obtenido a partir de las algas rojas, compuesto de unidades alternadas D y L-galactopiranosas. Se suele usar como espesante y emoliente en numerosas formulaciones cosméticas.

El Agar que se obtiene a partir de algas rojas como *Pterocladia* sp., *Pterocladia* sp. y *Gelidium* sp., es de alta calidad. No obstante, más del 50% del Agar que se consume es obtenido a partir de *Gracilaria gracilis* (Atlántico) y *Gracilaria chilensis* (Chile).



El Agar es usado para modificar la viscosidad de las preparaciones cosméticas y también en alimentación y preparaciones farmacéuticas.

## **2. El papel de las diferentes industrias del sector cosmético en el proceso de explotación de las algas. Posibilidades reales de producción y comercialización en Galicia**

La explotación de las algas en Galicia, no está orientada prácticamente al sector cosmético, aun siendo una de las comunidades autónomas que más posibilidades tendría de desarrollarlo, dada la gran variedad de especies presentes en nuestras costas, y toda la estructura creada para el sector alimentario y agrícola, que podría ser aprovechada para impulsar este nuevo sector de mercado, creciente en todo el mundo.

Para poder comprender las posibilidades de desarrollo existentes en el sector cosmético, se considera importante explicar cual es la estructura empresarial del mismo.

### *2.1 Empresas productoras de materias primas*

En primer lugar, como primer eslabón de la cadena, están las empresas productoras de los ingredientes cosméticos (materias primas). Estas pueden ser empresas del sector químico, del sector alimentario, o creadas en exclusiva para la obtención de sustancias destinadas al uso en cosmética. En el caso concreto que nos atañe, aquí englobaríamos a cualquier empresa productora de extractos obtenidos a partir de las algas. Estos ingredientes o materias primas, son los elementos que serán vendidos después a las fábricas de producto terminado que los utilizarán como componentes de sus formulaciones.

Cuando se trata de un producto natural que hay que procesar, como es el caso, esta empresa puede recogerlo directamente con sus medios y procesarlo en sus instalaciones o subcontratar la recogida y centrarse solo en el procesado para llegar a obtener la materia prima con las propiedades y la composición necesarias, así como las condiciones de calidad requeridas.

Esta empresa, productora de la materia prima, antes de introducir un ingrediente cosmético en el mercado, debe asegurarse de que cumpla la normativa que asegura

su correcta calidad y seguridad, además de presentar todos los documentos exigidos por las autoridades, según los reglamentos y las directivas europeas vigentes.

### *2.2 Empresas distribuidoras de materias primas*

Puede ser la misma empresa que produce la materia prima la que se encargue de distribuirla entre las empresas fabricantes de productos cosméticos, aunque lo más habitual es que el productor de la materia prima la venda a un distribuidor especializado en el sector, que ofrece normalmente una variedad mayor de producto, ya que se encarga de comercializar los productos de diferentes empresas productoras representadas.

### *2.3 Empresa fabricante de producto cosmético*

Las empresas que se dedican a la fabricación de productos cosméticos tienen que contar con una licencia de autorización de la actividad, otorgada por la Agencia española del Medicamento, organismo perteneciente al Ministerio de Sanidad, después de la realización de las correspondientes evaluaciones e inspecciones.

El papel de este tipo de empresas es el de comprar las materias primas a un productor o a un distribuidor y, con ellas, realizar diversas formulaciones cosméticas que posteriormente se lanzarán al mercado.

El fabricante de producto cosmético siempre exigirá a su proveedor (el productor de la materia prima), toda la información que garantice la calidad y seguridad del ingrediente que va a emplear en su fórmula. El fabricante del producto cosmético es el responsable de la seguridad de su uso, pero si el problema fuese causado por el ingrediente cosmético, el fabricante puede reclamar la responsabilidad subsidiaria al productor de la materia prima.

## **3. ¿Puedo introducir mi producto en el sector cosmético?**

Esta es una pregunta que se podría plantear cualquier responsable de una empresa dedicada al procesado de algas para el sector alimentario o agrícola y la respuesta probablemente sea que sí.

Lo más importante es determinar si existe la posibilidad de que el producto del que estamos hablando, sea demandado por el sector cosmético, al que queremos dirigirnos. Ante esta duda nos encontramos con dos posibilidades:

- El extracto de algas que podemos obtener es ya utilizado en cosmética.
- Apostar por un extracto de una especie no utilizada en cosmética, y que presente una actividad interesante para este sector. Se podrían solicitar incluso patentes en el caso de considerarlo oportuno.

Pongámonos en el caso concreto de que, a través de un proyecto de investigación se descubre que una determinada especie de alga, tiene unas propiedades excelentes para la piel, u otro caso diferente, que se nos ocurre la posibilidad de utilizar un alga invasora, o una especie de la que se obtengan excesivos desechos de procesos industriales, para la obtención de activos cosméticos.

Ante esta posibilidad puede surgir la duda de cuales son los pasos a seguir, si se puede hacer, cuales son los límites que se deben cumplir, etc.

Lo primero que debemos hacer es averiguar si esa especie de alga o la sustancia que se obtenga a partir de ella y sea de interés, está en el listado de sustancias prohibidas para uso en cosmética o en el listado que recopila todas las sustancias que se pueden usar en cosmética con el criterio de nomenclatura utilizado internacionalmente, INCI (International Nomenclator of Cosmetics Ingredients)

Si está en el listado de sustancias prohibidas no puede ser utilizada, ya que si se ha incluido en él es porque hay pruebas científicas de que o bien puede causar algún daño o bien excede las propiedades que se pueden atribuir a un cosmético.

En el caso de que no esté en ese listado, el paso siguiente sería comprobar si está incluido en el “Diccionario INCI”, que es el listado completo de sustancias utilizadas en cosmética.

Si está incluida, el proceso es muy fácil, esa sustancia se puede introducir en el sector cosmético, siempre que reúna las condiciones de calidad y seguridad para ser usada en cosmética, y siempre que sea obtenida según los procedimientos correctos y en las instalaciones adecuadas, cumpliendo todas las exigencias de las autoridades competentes.

Si el producto no estuviese incluido, habría que solicitar una denominación INCI nueva y aportar para ello las pruebas que sean requeridas por el organismo competente para otorgar la autorización, para demostrar su utilidad y su seguridad de uso en aplicaciones cosméticas.

En conclusión, podemos afirmar que las algas y sus derivados son ampliamente utilizados en cosmética, y el mercado presenta un interés creciente por este tipo de productos. Cada vez nos encontramos con más marcas cosméticas que apuestan por el desarrollo de productos con activos naturales y ecológicos, dentro de los cuales, las algas y sus derivados representan un papel fundamental.

Esto, unido a la demanda creciente de productos con valor añadido, con propiedades diferenciales que los hacen distintos a otros similares existentes, hace que la opción de utilizar las algas gallegas, para la obtención de subproductos destinados al sector cosmético, se convierta en una alternativa muy interesante a los sectores convencionales en los que se ha centrado la industria en los últimos años.

## **Agradecimientos**

Agradezco a CETMAR el haberme brindado la posibilidad de escribir esta pequeña aportación, que lo que pretende es dar una opinión, desde un punto de vista práctico, de cómo y porqué debemos potenciar el uso de las algas gallegas en cosmética.

Agradezco también a Iuvenor lab, la empresa para la que trabajo, el hacer posible que dediquemos parte de nuestro tiempo a la colaboración con proyectos que pretenden ayudar al desarrollo de las materias primas gallegas como ingredientes en cosmética.

## Referencias bibliográficas

- Kang K., Park Y., Hwang H.J., Kim S.H., Lee J.G., Shin H.C. (2003) Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents against vascular risk factors. *Archives of Pharmacal Research*, 26(4):286-293.
- Le Poole H.A.C. (1995) Natural oils and fats multifunctional ingredients for skin care. *Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide*, 47-56.
- Chiu A. y Kimball A.B. (2003) Topical vitamins, minerals and botanical ingredients and modulators of environmental and chronological skin damages. *Br. N. Dermatol*, 149: 681 – 691.
- Bisset D.L., Blong J.E., Berge C.A. (2005) Niacinamide: AB vitamins that improves aging facial skin appearance. *Dermatologic Surgery*, 31: 860-865.
- Benaiges A. (2006) Celulitis. Evolución y tratamiento. *Offarm*, 25(4): 64–70.
- Bruneton J. (2001) *Farmacognosia*. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 49-51



## Bloque II

Microalgas como  
ejemplo de valorización  
de organismos marinos.  
Aplicaciones industriales.  
Tendencias.







## Introducción

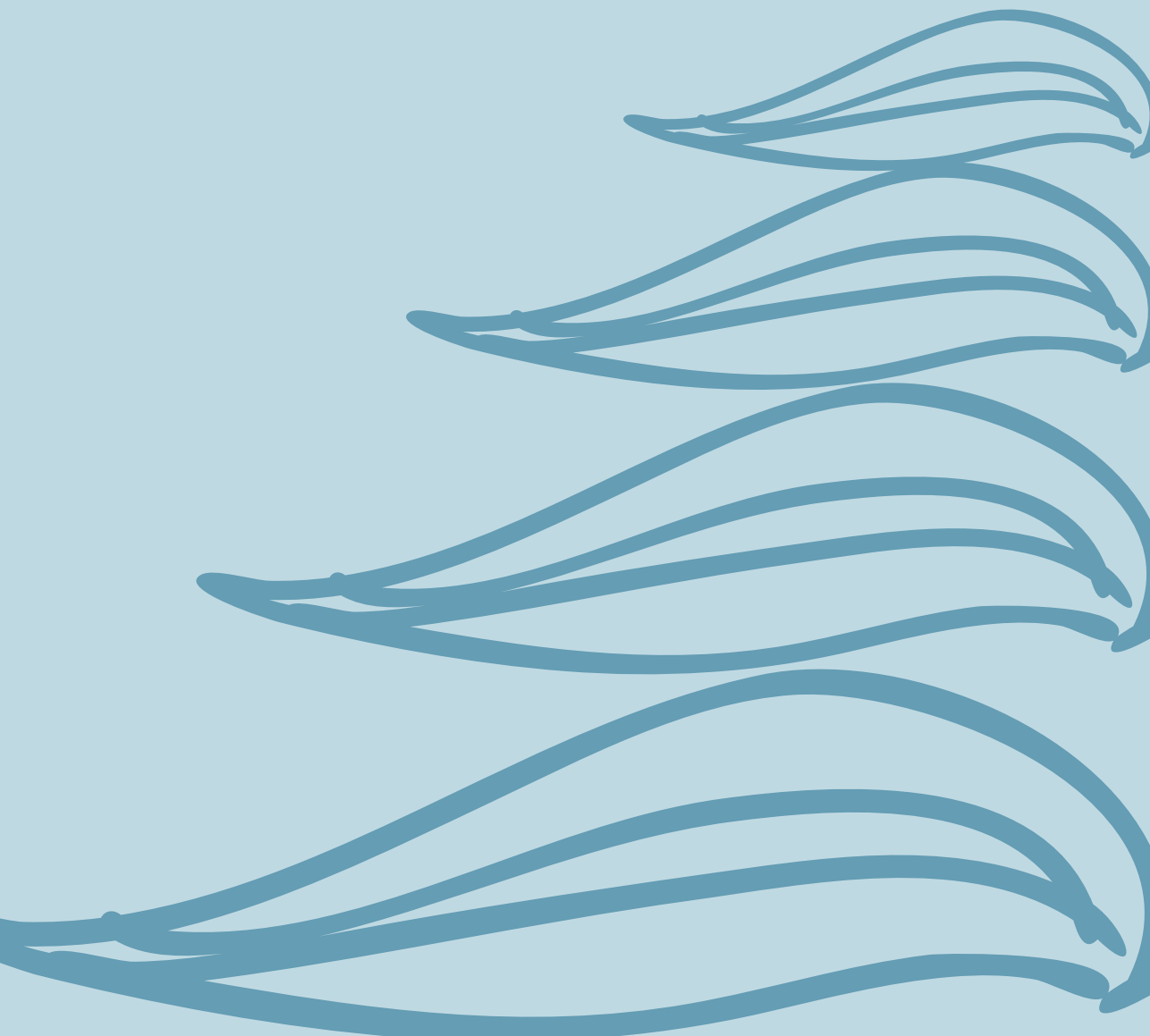
Aún siendo unos organismos que suelen pasar desapercibidos, las microalgas constituyen un recurso abundante y enormemente diverso en las aguas gallegas. El aprovechamiento de este recurso en nuestra comunidad tiene aún mucho camino que recorrer respecto a otros contextos geográficos, bien sea a nivel mundial como estatal.

El 10 de noviembre de 2010 se celebró un segundo seminario enmarcado en el proyecto Biotecmar dirigido esta vez a aquel público interesado en conocer las posibilidades que ofrecen las microalgas como fuente de materia prima y sus múltiples aplicaciones. Este seminario tenía como objetivo cubrir, de manera clara, todas las vertientes relacionadas con la optimización de su cultivo y con el apartado industrial.

**Cristina Sobrino**, Investigadora Parga Pondal del Departamento de Ecología y Biología Animal de la Universidad de Vigo, hizo una introducción a las microalgas desde el punto de vista de su diversidad, su fisiología y su papel en los ecosistemas marinos. **Stef van Bergeijk**, Investigadora del IFAPA Centro El Toruño, desveló las claves de los sistemas de producción masiva que permiten incrementar la biomasa algal. Seguidamente, **José M. Franco**, Investigador Científico del Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo y miembro de la Unidad Asociada Fitoplancton Tóxico (CSIC-IEO), indicó las principales colecciones de microalgas y explicó su utilidad para la comunidad científica. Para completar la perspectiva sobre los aspectos generales involucrados en la producción de microalgas, **Diego López Alonso**, Catedrático de Genética de la Universidad de Almería, habló de la modificación genética de microalgas y de la necesidad de esta para la industria.

Las diferentes aplicaciones industriales de las microalgas fueron abordadas por **Francisco Gabriel Ación**, Profesor titular del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería, centró su ponencia en temas relacionados con la captación de CO<sub>2</sub> y la producción de biocombustibles. **Pedro J. Cañavate Hors**, Investigador Titular del IFAPA Centro El Toruño, describió la función de las microalgas en acuicultura y **Félix López Figueroa**, Catedrático de Ecología de la Universidad de Málaga, comentó aspectos sobre la biofiltración de efluentes y la posterior valorización de la biomasa en la obtención de alimentos funcionales y biodiesel.

Cerró la jornada **Carlos Padilla-Martínez**, Responsable de la unidad de microalgas de Instituto Biomar, para hablar del descubrimiento de biomoléculas de interés y sus aplicaciones biomédicas, farmacéuticas y cosméticas.



# Sección I

## ASPECTOS GLOBALES





# Introducción a las microalgas: diversidad, fisiología y papel en los ecosistemas marinos

Cristina Sobrino García

Universidad de Vigo. Campus Lagoas-Marcosende. 36310 Vigo, España.

Dirección e-mail: sobrinoc@uvigo.es

## Resumen

Las microalgas son organismos acuáticos autótrofos muy diversos, con un papel imprescindible en las cadenas tróficas, los ciclos biogeoquímicos y la regulación del clima, entre otros. Su metabolismo autótrofo y su elevada diversidad y productividad les confieren importancia como productores potencialmente viables económicamente de moléculas con interés industrial, y como organismos con aplicaciones a gran escala. La obtención de resultados satisfactorios dependerá de la inversión en investigación y desarrollo de los países así como en la mejora de nuestro conocimiento sobre la fisiología y ecología de las microalgas.

## Descripción de las microalgas

Hoy en día parece existir una dicotomía en el modo en el que se utilizan las palabras fitoplancton y microalgas. Generalmente el fitoplancton hace referencia al conjunto de los organismos acuáticos fotoautótrofos que se encuentran a la deriva en la columna de agua, mientras que el término microalgas encaja mejor con el de los protistas fotosintéticos, eficientes conversores de energía solar y ávidos consumidores de CO<sub>2</sub> y nutrientes. Esta dicotomía no sólo ocurre fuera del ámbito científico. Aquellos científicos que trabajan con fitoplancton parecen ser más afines al ámbito de la oceanografía, mientras que los que trabajan con microalgas se mueven en campos más relacionados con la fisiología, la acuicultura o como probablemente veremos en los distintos capítulos de este libro, la biotecnología. Lo cierto es que a pesar de que los ámbitos científicos, las metodologías e infraestructuras, y hasta el tipo de técnicas que utilicemos al

trabajar con fitoplancton o con microalgas sean diferentes, estamos trabajando con los mismos microorganismos y que los resultados obtenidos en unos ámbitos son interesantes y aplicables para los otros, y viceversa. Las diferencias rozan el límite de lo subliminal (¡hasta el fitoplancton aparece frecuentemente fotografiado sobre fondos azules mientras que las microalgas sobre tonos verdes!) y a pesar de que sus definiciones no coincidan en su totalidad, el significado de las dos palabras es el mismo.

Para empezar definiendo las microalgas, o fitoplancton, podemos decir que son organismos unicelulares fotosintéticos autótrofos acuáticos, ya que utilizan la energía solar para transformar el carbono inorgánico disuelto (CID) en el agua en carbono orgánico gracias a la fotosíntesis, y viven principalmente suspendidos en medio líquido. La mayoría son inmóviles o tienen movilidad reducida, por lo que son desplazados dependiendo de las corrientes o turbulencia del medio. Esta característica conforma la raíz de la palabra “plancton” (del griego *πλαγκτος*, *plagktós*, “errante”). Además presentan unas tasas de crecimiento muy elevadas, también variables dependiendo de las especies y de las condiciones del medio, pero que puede llegar a ser de hasta 2 divisiones por día en el medio natural.

Debido a que viven en un ambiente muy fluctuante causado por la mezcla vertical de la columna de agua que les desplaza de ambientes profundos, más oscuros y normalmente más fríos y ricos en nutrientes, a superficie en tiempos relativamente cortos, son fisiológicamente muy flexibles, presentando una gran capacidad para adaptarse a las diferentes condiciones de luz, temperatura y disponibilidad de nutrientes (principalmente nitrato, fosfato y silicato). Esta misma capacidad para adaptarse a diferentes ambientes y condiciones externas del medio, así como su gran variabilidad genética hace que sean organismos de morfología y aspecto muy diverso. Podemos observar microalgas solitarias, microalgas que forman filamentos o cadenas e incluso agrupaciones de células que forman colonias de varios milímetros de diámetro. Muchas de ellas presentan células especializadas como los acinetos y heterocistes que son esporas de resistencia y células especializadas en captar  $N_2$  (g), respectivamente, y que aparecen principalmente en cianobacterias. Asimismo, su tamaño es muy variable con rangos comprendidos ente 2 y 200  $\mu m$  y su aspecto externo varía dependiendo de si son células desnudas o de si se encuentran cubiertos con caparzones silíceos o calcáreos, los cuales pueden conferir a la célula una morfología realmente espectacular.

## **Cronología e importancia ecológica**

Desde que A. van Leeuwenhoek descubrió los microorganismos en 1676 el número de descripciones de organismos unicelulares aumentó de manera exponencial. No obstante, no es hasta 1830 cuando C.G. Ehrenberg, científico alemán con conocimientos en geología y microscopía, cita una microalga por primera vez. Su descubrimiento se basó en reconocer la presencia de diatomeas en forma de esqueletos silíceos en rocas de origen marino que él denominó diatomitas. Casi al mismo tiempo, en 1847, J. Dalton Hooker relata la asociación de las microalgas con el hielo marino y describe que el color marronáceo presente en los icebergs y las placas de hielo antártico era causado por la presencia de microorganismos pigmentados. Hoy los conocemos de forma genérica como las algas del hielo. Por fin en 1892, el científico F. Schuett publica el primer tratado sobre la biología del fitoplancton en idioma alemán. No es hasta mediados del siglo XX cuando esta primera etapa de descubrimientos, principalmente descriptivos, da paso a estudios de índole fisiológica, y posteriormente ecológica, entre los que cabe destacar la detección de la unidad fotosintética por Emerson y Arnold en 1932 (Emerson y Arnold, 1932), el método de determinación de producción primaria con  $^{14}\text{C}$  por Steeman-Nielsen en 1952 (Steeman-Nielsen, 1952) o la importancia del picofitoplancton y del bucle microbiano en las redes tróficas pelágicas de las áreas oligotróficas del océano (Azam et al., 1983).

La importancia del picofitoplancton reside en ser uno de los principales productores primarios en aguas oceánicas oligotróficas en las que debido a su lejanía de la costa y a la elevada estratificación vertical, entre otros factores, presentan una concentración de nutrientes muy baja. Hasta entonces organismos de este tamaño habían sido difíciles de observar debido a falta de técnicas especializadas, como por ejemplo la citometría de flujo, y los balances globales de producción primaria presentaban grandes incógnitas. La producción primaria se define como la cantidad de carbono orgánico (o energía) que queda disponible desde los productores primarios a los siguientes niveles de la cadena trófica. Es “primaria” porque incorpora por vez primera el carbono inorgánico disuelto en el medio, en forma de  $\text{CO}_2$  o bicarbonato, y lo transforma a carbono orgánico gracias al uso de la energía de la luz. De esta forma se constituye la base de la cadena trófica siendo el fitoplancton el principal productor primario de los sistemas acuáticos pelágicos. A pesar de su pequeño tamaño, y de estar limitado

a vivir en la capa superficial del océano donde todavía hay luz suficiente para realizar la fotosíntesis, el fitoplancton es el responsable del 95% de la producción primaria en el océano y del 50% de toda la producción primaria del planeta. Entre las áreas más productivas del océano por unidad de volumen se encuentran las zonas costeras y de afloramiento, mientras que entre las áreas menos productivas destacan los giros oceánicos subtropicales.

La relevancia de la producción fitoplanctónica es primordial para sustentar la vida en el océano, lagos y ríos pero existen casos realmente excepcionales que sobrepasan las expectativas atribuidas a las microalgas como principales productores primarios del medio pelágico. Uno de ellos son los ecosistemas polares. En los ecosistemas polares el fitoplancton sustenta no sólo la cadena trófica acuática sino también la terrestre. En el Océano Antártico, el fitoplancton, principalmente diatomeas de gran tamaño y especies del género *Phaeocystis*, son comidos por el krill antártico (*Euphasia superba*), que a su vez es la principal presa de los niveles tróficos superiores. El krill es ingerido por ballenas, peces y cefalópodos, pero también por pingüinos. Estos pingüinos son devorados por orcas en el medio marino, y por focas y aves que depredan sus huevos en el medio terrestre, entre otras especies animales antárticas.

Otro ejemplo interesante de la relevancia ecológica de las microalgas son los arrecifes de coral. Los arrecifes de coral son sistemas altamente productivos que se encuentran en unas de las zonas menos productivas del océano, es decir, zonas oligotróficas que carecen de los nutrientes necesarios por las microalgas para realizar la fotosíntesis y transformar el CID en carbono orgánico. En estos sistemas, microalgas del género *Symbiodinium* han sido capaces de desarrollar una estrategia de vida que les permite obtener los recursos que le faltan al propio medio. Las microalgas se han adaptado a vivir en simbiosis con un animal, un pólipo de coral, aprovechando los residuos producidos por el metabolismo respiratorio de éste para fotosintetizar e incrementar de manera muy significativa la productividad del sistema. Como consecuencia de esta simbiosis y del reciclaje y uso eficiente de los nutrientes generados, los arrecifes de coral son uno de los ecosistemas marinos más productivos y con mayor diversidad del medio acuático.



## Aplicaciones de las microalgas a pequeña escala

El origen de las microalgas data de hace 2,4 billones de años. Todas las microalgas descienden evolutivamente de las cianofíceas y todas ellas son importantes desde el punto de vista biogeoquímico porque transformaron la atmósfera antigua gracias a su capacidad para realizar la fotosíntesis oxigénica. Es decir, fueron las responsables de transformar una atmósfera rica en CO<sub>2</sub> y metano en una atmósfera en la que predomina el O<sub>2</sub> por encima de estos otros compuestos y en la cual podrían empezar a evolucionar organismos respiratorios. La producción de oxígeno por parte de las microalgas fue también responsable de la creación de la capa de ozono, al concentrarse moléculas formadas por tres átomos de oxígeno en una fina capa situada a aproximadamente unos 50 km de la superficie del planeta, en la estratosfera. La capa de ozono es altamente efectiva absorbiendo la radiación ultravioleta (UV) de onda corta (y por lo tanto altamente dañina debido a su elevada energía) emitida por el sol. Antes de la formación de la capa de ozono la vida estaba restringida al medio acuático donde la radiación UV se absorbe rápidamente. La formación de la capa de ozono permitió a los organismos desarrollarse y vivir en el medio terrestre.

Sin embargo, a pesar de que las cianobacterias se crearon hace 2,4 billones de años no es hasta hace 2.100 millones de años que aparecen las primeras algas eucariotas. Los registros muestran que las algas rojas son entre las eucariotas, las más antiguas, seguidas por las algas verdes y finalmente las pardas. Además, análisis de las secuencias de RNA ribosomal muestran cómo cada grupo, a diferencia de los animales o plantas terrestres, aparecen a lo largo de la evolución de forma independiente, lo cual se ve reflejado en la alta riqueza específica del fitoplancton. Una de las implicaciones de esta diversificación genética es la elevada variedad bioquímica, con la consecuente importancia para usos industriales, de determinados metabolitos de las microalgas. Entre los principales metabolitos microalgales que a día de hoy tienen interés industrial destacan los pigmentos (clorofilas, carotenos, xantofilas), los metabolitos de reserva, los ácidos grasos y lípidos y las toxinas. Entre los pigmentos, el  $\beta$ -caroteno (*Dunaliella*) y la astaxantina (*Haematococcus*, *Chlamydomonas*) son dos de los más utilizados aunque también se producen de manera significativa luteína (clorofitas), peridina (dinoflagelados), fucoxantina (algas pardas y diatomeas) y ficobilinas. Los metabolitos de reserva más extraídos

son el almidón, algunos azúcares y el glicerol, especialmente por su importancia en la industria de los biocarburantes o biofuels, al igual que algunos lípidos y ácidos grasos. Entre estos destaca la producción de omega-3 como producto dietético y alimenticio (Meeting, 1996). Una aplicación bien diferente es la de las toxinas obtenidas a partir de microalgas. Aunque aún se desconoce mucho de su potencial como productos del ámbito biotecnológico o farmacéutico constituyen unos de los venenos más potentes aislados de organismos vivos. La toxina diarreica (*Dinophysis*, *Prorocentrum*), la toxina paralizante (*Alexandrium*, *Gymnodinium*), la anatoxina (*Anabaena*) y la microcistina (*Microcystis*) son unas de las más dañinas y habituales tanto en aguas costeras como en aguas dulces de ríos, pantanos y lagos.

### **Aplicaciones de las microalgas a gran escala**

El desarrollo industrial de las últimas décadas no sólo ha afectado a la utilización de las microalgas a pequeña escala como recurso para la obtención de moléculas con importancia económica. Hoy en día existen muchos temas abiertos relacionados con las microalgas que implican un esfuerzo significativo en la gestión de los planes de investigación y desarrollo de algunos países. Entre ellos cabe destacar tres por su importancia ecológica: el uso de microalgas en sistemas de depuración de aguas, la inmovilización de CO<sub>2</sub> de plantas eléctricas y grandes industrias y la adición de hierro para promover la captura de CO<sub>2</sub> atmosférico en regiones del océano ricas en nutrientes y bajas en clorofila (high nutrient-low chlorophyll areas o HNLC). El primero tiene como objetivo eliminar el exceso de nutrientes, principalmente compuestos nitrogenados, de las aguas residuales de granjas y ciudades antes de que sean vertidos a los sistemas acuáticos. Sobre este tema se hablará en el capítulo 7 del presente bloque. En los otros dos casos el metabolismo autótrofo de las microalgas es utilizado para, desde dos aproximaciones metodológicas diferentes, paliar el incremento de CO<sub>2</sub> atmosférico de origen antropogénico causante del cambio climático. La inmovilización de CO<sub>2</sub> de origen industrial consiste en conectar directamente los gases provenientes de industrias o plantas eléctricas a cultivos de fitoplancton que puedan soportar vivir en concentraciones de CO<sub>2</sub> muy por encima de las atmosféricas (e.g. 40% CO<sub>2</sub> frente al 0,03% CO<sub>2</sub>) de la atmósfera actual (Sato et al., 2002). De este modo se evita que este CO<sub>2</sub> llegue a la atmósfera y al mismo tiempo se produce una gran cantidad de biomasa microalgal potencialmente útil para otros fines. La metodología está muy ligada

a la ingeniería industrial y todavía no es una práctica ampliamente utilizada. Por último la adición de hierro, también conocida como la fertilización con hierro o “iron fertilization” pretende reducir, o incluso contrarrestar, el incremento de temperatura planetario causado por el efecto invernadero mediante la inducción de proliferaciones o “blooms” de fitoplancton en determinadas zonas del océano. La fertilización con hierro fue propuesta en los años 80 por un oceanógrafo americano, John Martin. Aprovechando la existencia en el océano de regiones ricas en nutrientes pero limitadas en hierro (metal traza esencial en la molécula de clorofila), Martin pretendía incrementar la producción primaria en las zonas fertilizadas y con ello secuestrar CO<sub>2</sub> atmosférico al fondo del océano. Su frase “Dame medio tanque de hierro y te daré otra edad de hielo” se hizo sumamente famosa. Los experimentos comenzaron en 1995 y han sido continuados por numerosos grupos de investigación tanto norteamericanos como de otros países hasta la actualidad. La mayor parte de los experimentos se han llevado a cabo tanto en el Pacífico ecuatorial y subártico como en el Océano Antártico. Otras zonas de interés han incluido áreas de afloramiento cercanas a las costas de California y Perú.

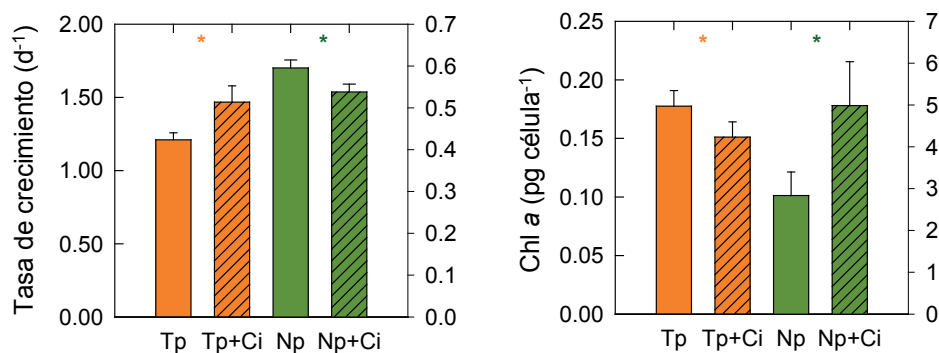


Figura 1. Tasas de crecimiento (d<sup>-1</sup>) y concentración celular de clorofila *a* (Chl *a*, pg célula<sup>-1</sup>) medidos en cultivos de *Thalassiosira pseudonana* (Tp) y *Nannochloropsis oculata* (Np) aclimatados a diferentes concentraciones de CO<sub>2</sub> en el medio. Bajo CO<sub>2</sub> (380 ppmv CO<sub>2</sub>) corresponde a las células aireadas con concentraciones de CO<sub>2</sub> presentes en la atmósfera actual (Tp o Np); Alto CO<sub>2</sub> (1000-2000 ppmv CO<sub>2</sub>): corresponde a las células aireadas con concentraciones elevadas de CO<sub>2</sub> (Tp+ Ci o Np+Ci). Los ejes en posición izquierda de cada gráfica muestran los valores para *Thalassiosira* y los ejes en posición derecha los valores para *Nannochloropsis*. Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos (t-test, p < 0.05, n=4-5). Modificado de Sobrino et al., 2008.

A pesar de su interés científico y potencialidad como paliativo del incremento de CO<sub>2</sub> atmosférico, la iniciativa de Martin ha sido en general criticada por la comunidad científica debido, entre otros factores, a la falta de control sobre los blooms de fitoplancton y sus consecuentes efectos secundarios. Se observó que el crecimiento del fitoplancton tras la fertilización dependía del área experimental elegida. Además, la fertilización por sí sola no permite controlar la proliferación de unas especies con respecto a otras; la toxicidad del fitoplancton aflorado, su calidad como alimento disponible para los siguientes niveles tróficos o la velocidad de degradación del material orgánico, con la consecuente formación de capas anóxicas profundas, es desconocida y podría entrañar más riesgos que ventajas.

Una de las razones por las que la investigación referente a la captación de CO<sub>2</sub> por el fitoplancton muestra respuestas inesperadas es que nuestro conocimiento sobre la fisiología de las microalgas en escenarios de alto CO<sub>2</sub> es aún escaso. Sabemos que de todas las formas de CID presentes en el medio, es decir carbonato, bicarbonato y CO<sub>2</sub>, sólo el CO<sub>2</sub> puede pasar pasivamente a través de la membrana plasmática mientras que tanto el CO<sub>2</sub> como el bicarbonato pueden ser incorporadas activamente a la célula mediante mecanismos concentradores de carbono (CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms, CCMs). Los CCMs están presentes en la mayoría de las microalgas e incluyen tanto a la enzima anhidrasa carbónica (interna en el citosol o en el cloroplasto o externa en el espacio periplásmico) como a transportadores de membrana. No obstante la presencia de un determinado tipo de CCM no implica que se encuentre activado en un determinado momento por lo que la combinación de tipos de CCMs y su activación es tal que es muy difícil predecir la respuesta del alga al incremento de CO<sub>2</sub> del medio (Beardall y Giordano, 2002).

Un ejemplo puntual de la necesidad de ampliar nuestro conocimiento sobre la fisiología de las microalgas en un contexto de cambio climático (o incluso global) lo muestran las respuestas de *Nannochloropsis oculata* y *Thalassiosira pseudonana* aclimatadas a crecer bajo concentraciones elevadas de CO<sub>2</sub> (Sobrinho et al., 2008). *Nannochloropsis* es una microalga perteneciente al grupo de las Eustigmatofíceas que incorpora activamente bicarbonato. Por otro lado la diatomea *Thalassiosira* puede incorporar CID activamente en forma de bicarbonato y CO<sub>2</sub>. Al aclimatar a ambas especies a una atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub>, el incremento de CO<sub>2</sub> no estimula la división celular en *Nannochloropsis*, sin embargo estas condiciones incrementan el contenido de clorofila *a* (Chl *a*) por célula (Figura 1). Debido

a esto la producción normalizada por biomasa (*i.e.* gC gChl  $\alpha^{-1}$  h $^{-1}$ ) desciende en condiciones de alto CO $_2$  (Figura 2). Por el contrario *Thalassiosira* sí que incrementa su tasa de crecimiento cuando crece en atmósferas enriquecidas con CO $_2$ , la concentración de Chl *a* por célula desciende y la producción primaria por biomasa aumenta (Figs. 1 y 2). Es decir, microalgas que basan su metabolismo autotrófico principalmente en bicarbonato como fuente de CID puede que no se vean afectadas por el incremento de CO $_2$  atmosférico mientras que microalgas que utilizan CO $_2$  sí, independientemente de la presencia de un mecanismo de incorporación de bicarbonato.

Para aumentar el grado de complejidad, si exponemos a estas mismas microalgas aclimatadas a concentraciones presentes y futuras de CO $_2$  a condiciones adversas como por ejemplo la exposición a radiación solar que incluye radiación visible y radiación UV fotoinhibitoria las respuestas son también diferentes. La figura 3 muestra las funciones espectrales de efecto biológico (Biological Weighting

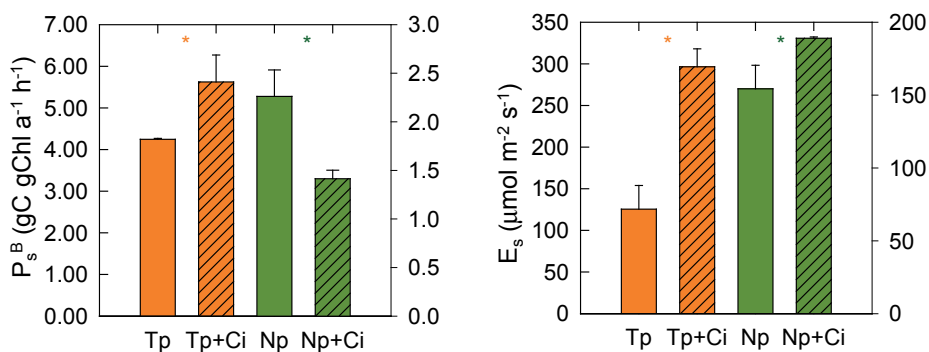


Figura 2. Parámetros fotosintéticos obtenidos de cultivos de *Thalassiosira pseudonana* (Tp) y *Nannochloropsis oculata* (Np) aclimatados a diferentes concentraciones de CO $_2$  en el medio. Bajo CO $_2$  (380 ppmv CO $_2$ ) corresponde a las células aireadas con concentraciones de CO $_2$  presentes en la atmósfera actual (Tp o Np); Alto CO $_2$  (1000-2000 ppmv CO $_2$ ): corresponde a las células aireadas con concentraciones elevadas de CO $_2$  (Tp+ Ci o Np+Ci).  $P_s^B$  es la producción normalizada por biomasa (gC gChl  $\alpha^{-1}$  h $^{-1}$ ) y  $E_s$  es la intensidad de saturación ( $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Los ejes en posición izquierda de cada gráfica muestran los valores para *Thalassiosira* y los ejes en posición derecha los valores para *Nannochloropsis*. Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos (t-test,  $p < 0.05$ ,  $n=2-4$ ). Modificado de Sobrino et al., 2008.

Functions, BWFs) para la inhibición de la fotosíntesis de las dos especies citadas, aclimatadas a ambas concentraciones de  $\text{CO}_2$ . Las BWFs se definen cualitativamente como funciones que expresan la respuesta de un determinado proceso biológico en función de la longitud de onda de la radiación UV y cualitativamente como el conjunto de coeficientes  $\epsilon(\lambda)$  ( $(\text{mW m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$ ) que miden la sensibilidad de un determinado proceso biológico a la radiación UV. Según esto se observa que en todos los casos el efecto sobre la fotoinhibición aumenta a medida que se exponen las microalgas a longitudes de onda progresivamente más bajas. Sin embargo *Thalassiosira* aclimatada a concentraciones elevadas de  $\text{CO}_2$  muestra mayor sensibilidad al daño producido por la radiación ultravioleta que cuando las concentraciones son similares a las de la atmósfera actual. Por el contrario, en el caso de *Nannochloropsis* las diferencias no son significativas (Figura 3). La respuesta parece estar relacionada con un descenso, causado por el incremento de  $\text{CO}_2$ , en la cantidad o actividad de los metabolitos encargados de la reparación celular. La hipótesis propuesta plantea que bajo condiciones favorables en ambientes enriquecidos en  $\text{CO}_2$ , las células capaces de incorporar y asimilar el

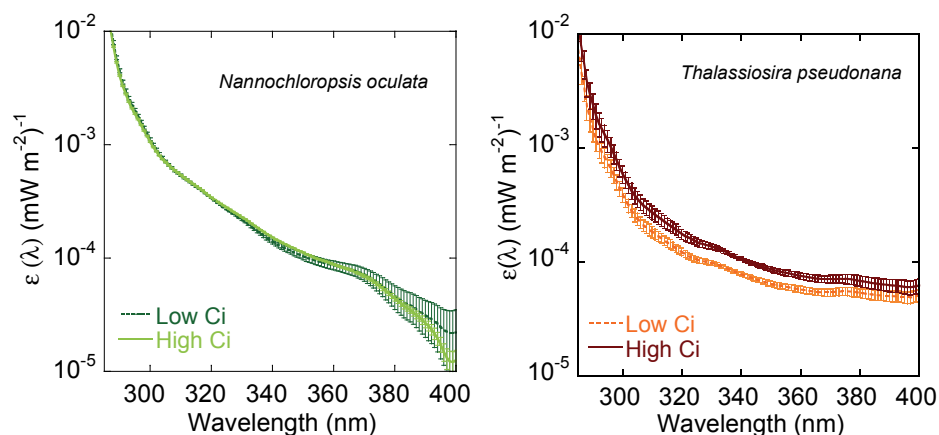


Figura 3. Funciones espectrales de efecto biológico (Biological Weighting Functions, BWFs) para la inhibición de la fotosíntesis obtenidas de cultivos de *Thalassiosira pseudonana* (Tp) y *Nannochloropsis oculata* (Np) aclimatados a diferentes concentraciones de  $\text{CO}_2$  en el medio. Bajo  $\text{CO}_2$  (380 ppmv  $\text{CO}_2$ ) corresponde a las células aireadas con concentraciones de  $\text{CO}_2$  presentes en la atmósfera actual (Low Ci); Alto  $\text{CO}_2$  (1000-2000 ppmv  $\text{CO}_2$ ): corresponde a las células aireadas con concentraciones elevadas de  $\text{CO}_2$  (High Ci). Modificado de Sobrino et al. 2008.

CO<sub>2</sub> incrementan la eficiencia del uso de recursos y disminuyen la producción de metabolitos no necesarios. Esto hace que cuando las condiciones se vuelven adversas las células no estén preparadas para contrarrestar el daño producido y muestren mayor inhibición que si no hubieran crecido en ambientes enriquecidos en CO<sub>2</sub> (Sobrino et al., 2005, 2008).

En conclusión, las microalgas son organismos acuáticos autótrofos muy diversos, con un papel imprescindible en las cadenas tróficas, los ciclos biogeoquímicos y la regulación del clima, entre otros. Su metabolismo autótrofo y su elevada diversidad y productividad les confieren importancia como productores potencialmente viables económicamente de moléculas con interés industrial, y como organismos con aplicaciones a gran escala destinados a paliar algunos de los efectos perjudiciales para el medio ambiente causados por el desarrollo humano. En cualquier caso, la obtención de resultados satisfactorios dependerá de la mejora en nuestro conocimiento sobre la fisiología y ecología de las microalgas.

## **Agradecimientos**

La autora agradece la financiación concedida por la Smithsonian Institution y la Xunta de Galicia para la realización de este trabajo mediante contrato posdoctoral y programa Isidro Parga Pondal, respectivamente, y la financiación parcial con fondos Xunta de Galicia-FEDER (2010/87).

## Referencias bibliográficas

- Azam F., Fenchel T., Field J.G., Gray J.S., Meyer-Reil L.A., Thingstad F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*, 10: 257-263.
- Beardall J. y Giordano M. (2002) Ecological implications of microalgal and cyanobacteria CCMs and their regulations. *Functional Plant Biology*, 29: 335-347.
- Emerson R. y Arnold W. (1932) The photochemical reaction on photosynthesis. *The Journal of Cell Biology*, 16(2): 191-205.
- Meeting F.B. (1996) Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*, 17: 477-489.
- Satoh A., Kurano N., Senger H., Miyachi S. (2002) Regulation of energy balance in photosystems in response to changes in CO<sub>2</sub> concentration and light intensities during growth in extremely-high-CO<sub>2</sub>-tolerant green microalgae. *Plant Cell Physiology*, 43(4): 440-451.
- Sobrinho C., Neale P.J., Lubián LM. (2005) Interaction of UV-radiation and inorganic carbon supply in the inhibition of photosynthesis: Spectral and temporal responses of two microalgae with different carbon concentration mechanisms. *Photochemistry and Photobiology*, 81: 384-393.
- Sobrinho C., Ward M.L., Neale P.J. (2008) Acclimation to elevated CO<sub>2</sub> and ultraviolet radiation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*: Effects on growth, photosynthesis and spectral sensitivity of photoinhibition. *Limnology and Oceanography*, 53(2): 494-505.
- Steeman-Nielsen E. (1952) The use of radioactive carbon (<sup>14</sup>C) for measuring organic production in the sea. *Journal du Conseil*, 18: 117-140.



# Sistemas de producción masiva: valorización de biomasa microalgal

Stef A. van Bergeijk

IFAPA Centro El Toruño, Junta de Andalucía, Camino Tiro del Pichón, s/n, 11500 El Puerto de Santa María.

Dirección E-mail: stefaniae@juntadeandalucia.es

## Resumen

Hasta la fecha, solamente unas cuantas especies de microalgas se produce a escala industrial. La producción se concentra principalmente en sistemas abiertos de estanques o piscinas, que parecen ser rentables en términos de dinero y energía, pero que no se pueden utilizar con las especies cuyo riesgo de contaminación es elevado. Los fotobiorreactores cerrados evitan la contaminación, pero son muy caros. Por lo tanto, el éxito de la producción comercial de microalgas será máximo en aquellos casos donde las algas se produzcan para aplicaciones o extractos específicos de gran valor añadido, bajo determinadas condiciones, como es por ejemplo el caso de la *Nannochloropsis* o astaxantina.

## Introducción

Durante los últimos años se ha prestado mucha atención a la producción de biomasa de microalgas, dado que es factible utilizarlas en la industria de los biocombustibles. Este fenómeno está impulsado fundamentalmente por las fuerzas políticas, puesto que las normativas de la UE exigen que un 10 % de la gasolina y el diesel provenga de fuentes renovables en 2020 (confirmado por la Directiva de la UE 2009/28/CE). El interés en las microalgas como fuente de biocombustibles de segunda generación se basa, teóricamente, en su alta tasa de crecimiento, su gran productividad por área y su alto contenido en lípidos si se compara con los cultivos agrícolas tradicionales. Es más, la producción de microalgas no compete con la producción de cultivos para alimentación ni ocupa áreas de tierras fértiles y aprovechables. Sin embargo, el uso de la biomasa de microalgas para obtener

biocombustibles desencadena una fuerte devaluación de esta biomasa en lugar de un incremento de su valor, ya que debe competir con el precio de la gasolina procedente exclusivamente de combustibles fósiles. En este momento, los expertos están de acuerdo en que la producción de microalgas para biocombustibles no es viable económicamente, aunque podría serlo dentro de los próximos 10 a 15 años (Wijffels y Barbosa, 2010). Se sugiere que la producción de biocombustibles que aprovecha los restos de biomasa de microalgas para la alimentación animal o para la obtención de productos de alto valor será la mejor opción para hacer que la producción de microalgas para biocombustibles sea viable comercialmente (Van Iersel y Flammini, 2010). Aquí presentamos una perspectiva general de las algas que actualmente se producen comercialmente. Describiremos y discutiremos los sistemas de cultivo abiertos y cerrados, así como los requisitos para potenciar al máximo la productividad de cultivos en masa.

## Producción global de microalgas

Hoy en día, la producción mundial de microalgas se sitúa entre 5.000 y 10.000 toneladas anuales, con un valor de mercado aproximado de 250 dólares estadounidenses por kg (Huesemann y Benemann, 2009, Wijffels y Barbosa, 2010). Estas cifras solamente incluyen la biomasa de algas seca, no los productos derivados. De toda esta producción, alrededor del 50 % es *Spirulina*, el 40 % es *Chlorella* y el 10 % es *Dunaliella*. (Huesemann y Benemann, 2009).

La *Spirulina* (*Arthrospira*) lleva mucho tiempo utilizándose para el consumo humano. Ya los aztecas cosechaban la producción natural de *Spirulina* del lago de Texcoco y, en nuestros días, las mujeres de las riberas del lago Kossorom (en el Chad) siguen recogiendo los blooms naturales de *Spirulina*. En lagos con condiciones alcalinas, situados en regiones subtropicales, la *Spirulina* puede alcanzar grandes densidades, formando gruesos tapices que flotan sobre la superficie. La *Spirulina* se puede cosechar con mallas o redes muy tupidas, ya que se trata de una especie de microalga filamentosa. Se trata de una gran ventaja también para la producción industrial, ya que hace mucho más sencillo el proceso de la recogida y lo abarata. Normalmente las microalgas unicelulares se cosechan por el método de centrifugación. Las especies más importantes son la *Arthrospira platensis* y la *Arthrospira maxima*, que se producen en tanques tipo “raceway” (tanques de paleta) de cultivo al aire libre, con un alto índice de pH en el agua

(alto contenido en bicarbonato). Los centros de producción más conocidos son Earthrise Farms (California, EE.UU.) con 44 ha y Cyanotech (Hawai, EE.UU.) con 35 ha. Se considera la *Spirulina* como un alimento natural concentrado, con un contenido del 65 % de proteínas, carotenoides, vitaminas, minerales y el ácido graso esencial  $\gamma$ -linolénico.

La *Chlorella* se viene produciendo desde la década de los 60, principalmente en el Sudeste Asiático. Es un alga verde unicelular, de pequeño tamaño y cosmopolita, con un ritmo de crecimiento muy elevado. Se produce en tanques circulares de grandes dimensiones al aire libre, cuyas aguas se remueven con dispositivos mecánicos. Presentan crecimiento mixotrófico, recurren al ácido acético como fuente de carbono en lugar de al  $\text{CO}_2$ , lo que reduce los gastos y permite que el nivel de contaminación sea bajo. El mayor productor de *Chlorella* es la empresa de Taiwan Chlorella Manufacturing and Co. (Taipei, Taiwan). La *Chlorella* contiene el polisacárido  $\beta$ -glucano, un conocido inmunoestimulante, que hoy se vende como alimento saludable y como pienso alimenticio para acuicultura.

El rasgo más interesante de la *Dunaliella* es su elevado contenido en  $\beta$ -caroteno, un pigmento fotoprotector. La *Dunaliella salina* es un alga verde halofílica que crece en condiciones de salinidad intensa. En Australia, Cognis cosecha *Dunaliella* de lagos salados en Whyalla y Hutt Lagoon con un área total de 800 ha, donde esta microalga crece forma natural. El crecimiento de la *Dunaliella* es lento, pero bajo estas condiciones naturales extremas de alta salinidad, gran intensidad lumínica, temperaturas elevadas y baja concentración de nutrientes, el riesgo de contaminación es bajo y el contenido de  $\beta$ -caroteno de las células es alto, lo que tiñe los lagos de ese color rosado-anaranjado tan típico. El  $\beta$ -caroteno se extrae de las algas gracias a la acción de aceites naturales. En Israel, Nature Beta Technologies Ltd. produce *Dunaliella* en tanques abiertos tipo "raceway". Frente al  $\beta$ -caroteno sintético, que solamente contiene la molécula denominada *todo trans*  $\beta$ -caroteno, el  $\beta$ -caroteno natural obtenido de *Dunaliella* contiene los isómeros *9-cis* y *todo trans*, además se ha observado que su actividad biológica es mejor.

En resumen, la producción industrial de microalgas más importante se desarrolla en sistemas a gran escala al aire libre y abiertos, situados principalmente fuera de Europa (EE.UU., Australia, China, Taiwán, etc.). Las especies que se cultivan crecen en condiciones extremas, siendo más competitivas que las potenciales especies contaminantes a las que se enfrentan. El aprovechamiento principal de

estas algas es en forma de complemento dietético saludable, como pastillas de algas naturales secas.

En Europa, la *Spirulina* y la *Dunaliella* no se producen a escala comercial, pero sí hay algunas empresas dedicadas al cultivo de *Chlorella sp.* Por ejemplo, las empresas alemanas Roquette Klötze GmbH & Co. KG ([www.algomed.de](http://www.algomed.de)) y Salata GmbH producen *Chlorella vulgaris* en fotobiorreactores a gran escala. Klötze afirma ser la granja de algas más grande de Europa. Anuncian que sus productos están libres de contaminantes y son de alta calidad. La compañía holandesa Ingepro B.V. ([www.ingepro.nl](http://www.ingepro.nl)) produce *Chlorella* en tanques abiertos al aire libre, dotados de ruedas de paletas. Describen el sistema como método para tratar las aguas residuales, pero la biomasa de las algas se comercializa de varias formas: como ingrediente para piensos destinados a perros y caballos, como fungicida para campos de golf, como complemento alimenticio, etc.

## Factores que influyen en la productividad de las microalgas

Una ventaja de la producción de microalgas al aire libre es poder aprovechar la luz solar como única fuente de energía para el crecimiento. Sin embargo, recurrir a la luz solar también complica el cultivo de las microalgas. La luz natural no es un recurso homogéneo en el tiempo y el espacio, ya que fluctúa desde la oscuridad hasta intensidades muy fuertes durante los ciclos diarios, así como dentro del propio cultivo una vez llegados a cierto punto. Las intensidades de luz fuertes causan la fotoinhibición, mientras que a baja intensidad la productividad de las algas se ve limitada. Por eso la eficiencia de los cultivos de algas en exteriores es baja en general. La eficiencia fotosintética (PE, según las siglas en inglés) se define como la fracción de energía lumínica fijada como energía química en forma de biomasa de microalgas por área iluminada, y se expresa como:

$$\frac{\text{Productividad (g de peso seco m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \times \text{contenido de energía (kJ g}^{-1} \text{ de peso seco)} \times 100\%}{\text{Energía de irradiancia activa fotosintética (kJ m}^{-2} \text{ s}^{-1})}$$

Se calcula un máximo teórico de la PE de 21,4 % ([www.algae.wur.nl](http://www.algae.wur.nl)). Esta estimación se basa en las siguientes asunciones: (1) son necesarios alrededor de 12 moles de fotones para fijar un mol CO<sub>2</sub> en biomasa, (2) 1 mol de CO<sub>2</sub> fijado da como resultado 1 C<sub>mol</sub> de biomasa (o 21,25 g de materia seca) con un contenido de

energía de 547,8 kJ y (3) el contenido energético de 1 mol de fotones de radiación activa fotosintética es de 218 kJ. Los valores detectados de PE en sistemas de cultivo al aire libre, no obstante, suelen hallarse por debajo de la mitad del máximo teórico.

Se han encontrado varios parámetros que influyen sobre el grado de eficiencia con que los cultivos de microalgas emplean la luz recibida para producir biomasa. Una densidad celular óptima hace posible que se explote al máximo la irradiancia que recibe el cultivo (Richmond, 2004). Los cultivos con una densidad celular muy baja, o aquellos que por contra presentan densidades muy elevadas, ofrecen cifras de productividad inferiores al máximo. En los cultivos con densidad celular tan baja, la productividad ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) también es baja, pero cuentan con la tasa de crecimiento específico más alta de ( $\text{d}^{-1}$ ), dado que hay suficiente biomasa presente como para ejercer cierto efecto en forma de la sombra que arrojan las algas entre sí, que evita los perjuicios originados por la exposición a la luz. A la inversa, en cultivos caracterizados por una densidad celular alta, tanto la productividad como la tasa de crecimiento específico son bajas, debido a la escasa cantidad de luz que reciben las células individuales. Con una densidad celular óptima, la productividad alcanza el máximo, mientras que la tasa de crecimiento específico se posiciona en torno a la mitad del valor máximo. La densidad celular óptima depende de la profundidad o de la longitud de la trayectoria o camino óptico de los sistemas de cultivo: cuanto más corto sea el camino óptico, más alta será la densidad óptima. Especialmente en cultivos donde el camino óptico sea corto (inferior a 5 cm), además de la densidad óptima, la productividad del cultivo también puede verse afectada por la frecuencia del ciclo oscuridad:luz (Grobbelaar et al., 1996). Al mezclar el cultivo se provoca que las células pasen del fondo oscuro a la superficie, que recibe una alta dosis de luz. En los cultivos en laboratorio, la actividad fotosintética se incrementó exponencialmente al aumentar la frecuencia oscuridad:luz de 10 s a 0,1 ms (Grobbelaar et al., 1996). Otra manera de reducir las repercusiones de la saturación lumínica y aumentar la PE es recurrir a la atenuación superficial de la luz (Tredici y Chini Zitelli, 1998). La atenuación superficial de la luz reduce la intensidad de la radiación solar incidente, ya que distribuye esta radiación sobre una superficie de fotosíntesis mayor y puede ser alcanzada modificando la silueta o la orientación del sistema de cultivo. Por ejemplo, la atenuación superficial de la luz es superior en un fotobiorreactor de paneles planos cuando está colocado en vertical que cuando está en horizontal.

Las consideraciones sobre los efectos de la luz sobre la productividad descritos antes solamente son válidos y ciertos cuando la luz es el factor limitante y no hay ningún otro factor que inhiba la productividad. Otros factores de peso relacionados con la productividad óptima son la transferencia de masa y la temperatura. Para disfrutar de una buena transferencia de masa, por ejemplo, para que la tasa de intercambio de nutrientes (N, P, CO<sub>2</sub>, etc.) y metabolitos (O<sub>2</sub>, etc.) entre las células y el medio en el que proliferan sea buena, es precisa una mezcla adecuada de los cultivos. Así pues, el mezclado afecta tanto a la exposición a la luz de las células como a las tasas de transferencia de masa. En cultivos de alta densidad en sistemas cerrados, la acumulación del oxígeno producido por las microalgas puede inhibir la producción, por lo que es necesaria una buena aireación de los cultivos. El efecto de la temperatura dependerá del abanico de temperaturas óptimas característico de la especie de microalga cultivada.

## **Sistemas de cultivo masivo de microalgas**

Se han diseñado varios sistemas de cultivo para tratar de mejorar la eficiencia fotosintética. En teoría la eficiencia es mayor en los fotobiorreactores que en los sistemas de tanques abiertos, ya que los fotobiorreactores tienen más posibilidades para controlar la densidad celular óptima, la atenuación superficial de la luz, la transferencia de masa y la temperatura.

Los fotobiorreactores que trabajan al aire libre se pueden dividir en tres tipos: tubulares, de paneles planos y de cilindros verticales (Tredici, 2004). Los fotobiorreactores tubulares están formados por una serie de tubos fabricados en vidrio o plástico, dispuestos en paralelo y conectados por secciones de codo en U (serpentin) o bien por colectores; disponen también de un tanque de intercambio de gases. El cultivo circula a través de los tubos y el tanque, impulsado por un sistema "air-lift" o una bomba. La ventaja que aporta el sistema de levantamiento de aire "air-lift" es que reduce la acumulación de oxígeno. Los fotobiorreactores tubulares se pueden clasificar en varios tipos: horizontales, verticales y helicoidales. Una ventaja del tipo horizontal es que puede sumergirse en agua para amortiguar las variaciones de la temperatura. La ventaja que conllevan los reactores tubulares verticales, donde los tubos se apilan horizontalmente unos encima de otros, es que la PE parece ser mayor, gracias a la mejor atenuación superficial de la luz. Los reactores helicoidales comparten esta misma ventaja. El tipo de fotobiorreactores

que es más fácil ampliar e implantar a gran escala es el tipo tubular, si bien esto no es válido para los reactores con sistema “air-lift” ni para los helicoidales. La mayor planta comercial de fotobiorreactores está en Klötze, donde se producen microalgas en fotobiorreactores tubulares verticales equipados con serpentines, y fabricados con tubos de vidrio. La planta cuenta con 20 unidades, cada una con una capacidad de 35 m<sup>3</sup>, todas instaladas en un invernadero de 1,2 ha.

Los reactores de paneles planos están contruidos con láminas paralelas de vidrio o plástico, con una superficie de varios metros cuadrados; están conectados y separados por varios cm. La circulación del cultivo se logra por la acción del burbujeo provocado por el aire introducido desde un lateral del reactor. Para refrigerar el sistema se pulveriza agua sobre las paredes de los paneles. Los reactores de paneles planos dispuestos en horizontal presentan índices de PE y productividad inferiores a los fotobiorreactores tubulares horizontales, ya que estos últimos cuentan con una mejor atenuación superficial de la luz. Por contra, los reactores de paneles planos dispuestos en vertical experimentan una atenuación superficial de la luz favorable; especialmente varios reactores de paneles planos instalados en paralelo dan como resultado un elevado índice de PE y en general una buena productividad por área. Uno de los problemas de los reactores de paneles planos es el fouling de las paredes.

Los sistemas de cilindros verticales pueden ser columnas verticales de plástico o vidrio, o bien tubos anulares, donde hay un segundo tubo incrustado dentro de un tubo exterior, lo que evita el espacio oscuro que de otra forma hay en mitad de los cultivos. Los cultivos se mezclan mediante el burbujeo de aire que entra por la parte inferior. Los sistemas de cilindros verticales son, probablemente, los que mejores resultados arrojen en términos de PE y productividad general por área, pero su ampliación a gran escala solamente es posible si se incrementa el número de unidades de cultivo, cada una dotada con su propio sistema de control (pH, temperatura, etc.), lo que conlleva costes muy elevados.

Si comparamos los sistemas de cultivo abiertos y cerrados en términos generales, las ventajas de los sistemas abiertos son su bajo coste (de construcción y mantenimiento) y que son relativamente simples, y fáciles de implantar a gran escala. Sus desventajas: las pérdidas por evaporación y el riesgo de contaminación. Las ventajas que presentan los sistemas cerrados son el bajo riesgo de contaminación y la densidad de biomasa, que en estos cultivos es generalmente más elevada, con lo que aumenta

la productividad volumétrica ( $\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) y se reduce el esfuerzo invertido para la cosecha. Sin embargo, las densidades de biomasa muy altas también serían un inconveniente, ya que con densidades elevadas hay procesos como el agotamiento de los nutrientes y el  $\text{CO}_2$ , así como la acumulación de oxígeno, que ocurren con mayor fuerza. A largo plazo, repercuten negativamente sobre la estabilidad del cultivo (Tredici, 2004). Otras desventajas son los elevados costes, la dificultad de su implantación a gran escala, la mayor cantidad de turbulencias dentro de los cultivos (que no todas las especies son capaces de soportar) y mayores fluctuaciones de la temperatura, que se deben controlar. Si expresamos los costes en términos de energía, constatamos que los fotobiorreactores son también mucho más caros que los sistemas abiertos. Los análisis del ciclo de vida muestran que el índice de producción de energía (la relación entre la producción de energía calórica de las microalgas y el aporte de energía fósil) de los sistemas abiertos se sitúa en torno a 10 o menos, mientras que el índice de producción de energía de los fotobiorreactores es de 1 o inferior. Esto implica que el aporte de energía fósil es superior que la producción de energía en forma de biomasa de microalgas.

A pesar de que los costes son superiores, hay empresas europeas que optan a menudo por emplear fotobiorreactores cerrados para sus sistemas de cultivo dedicados a la producción comercial de microalgas. Algunos ejemplos de empresas portuguesas y españolas son Necton ([www.phytobloom.com](http://www.phytobloom.com)), la recientemente fundada Fitoplancton Marino ([www.easyalgae.com](http://www.easyalgae.com)) y Algaenergy ([www.algaenergy.es](http://www.algaenergy.es)). Estas compañías se dedican principalmente a la producción comercial de la microalga marina *Nannochloropsis gaditana* (Eustigmatophyceae), por medio de fotobiorreactores tubulares verticales (Necton y Algaenergy) u horizontales. Las microalgas se venden sobre todo en forma de polvo liofilizado, para su uso en la acuicultura. Otra empresa de fundación reciente, CleanAlgae ([www.cleanalgae.es](http://www.cleanalgae.es)), también vende *N. gaditana* liofilizada, pero la produce en tanques tipo “raceway” o de paleta.

## Comparación entre sistemas abiertos y cerrados: estudios de casos

### *Nannochloropsis*

Sorprende saber que hay varias compañías de biotecnología dedicadas a las microalgas y que todas ellas trabajan en la producción comercial de *Nannochloropsis*.



Este hecho sugiere que las características de esta microalga la hacen especialmente apta para el cultivo masivo al aire libre.

Durante un taller del Grupo de Fotosíntesis Acuática (Group for Aquatic Photosynthesis, GAP) en Eilat, Israel, en 2008, se realizó un estudio en el Centro Nacional de Maricultura, concebido para comparar el rendimiento de la *Nannochloropsis sp.* en un tanque tipo “raceway” y en un fotobiorreactor de paneles planos verticales (Kromkamp et al., 2009). El tanque tipo “raceway” tenía una superficie de 60 m<sup>2</sup> y una profundidad de 35 cm, el cultivo se mezclaba por medio de una rueda de paletas, se inyectaba CO<sub>2</sub> automáticamente para mantener el pH en 8 y las pérdidas por evaporación se compensaban pulverizando agua corriente sobre el cultivo. El fotobiorreactor vertical estaba compuesto, básicamente, por un saco de plástico montado en un bastidor de metal. Tenía una superficie de 2 m<sup>2</sup> y una profundidad de 5 cm, el cultivo se mezclaba por la acción de burbujas de aire (5 l por minuto) y se refrigeraba con agua corriente que fluía a través de conductos de enfriamiento, además se agregaba CO<sub>2</sub> al caudal de aire por método manual.

La intensidad de la luz incidente oscilaba entre la oscuridad y alrededor de 2.000  $\mu\text{moles}$  de fotones  $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$  al mediodía durante los primeros días de abril, cuando se desarrolló el estudio (Figura 1). Estas variaciones

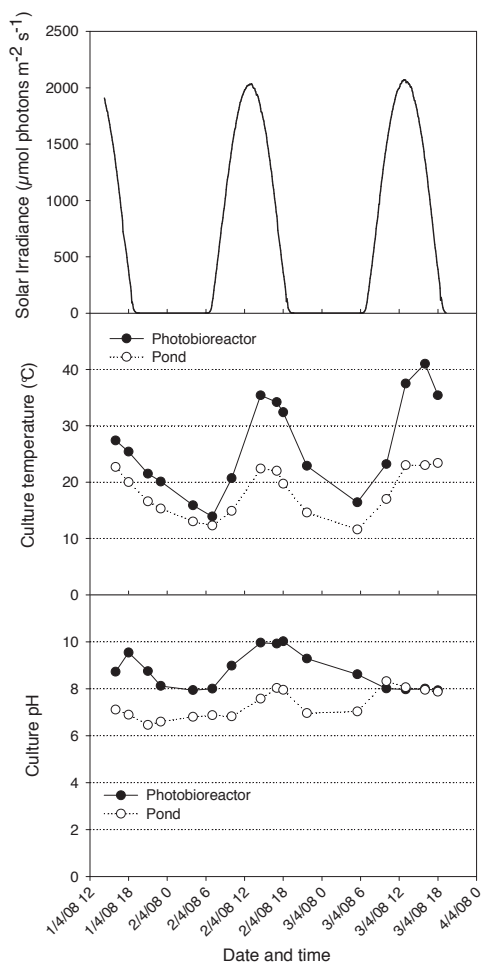


Figura 1. Parámetros físico-químicos de los cultivos de *Nannochloropsis sp.* en un tanque tipo “raceway” y un fotobiorreactor de paneles planos durante 3 días en el Centro Nacional de Maricultura de Eilat, Israel.

provocaban oscilaciones en la temperatura y el pH de los cultivos, que eran más acusadas en el fotobiorreactor que en el tanque. Durante el último día del estudio, la temperatura del fotobiorreactor llegó a superar los 40 °C, ya que los conductos de refrigeración eran claramente insuficientes. Ese día el pH del fotobiorreactor se controló con mejores resultados añadiendo más CO<sub>2</sub> (Figura 1).

Este estudio muestra cuál es la resistencia de la *Nannochloropsis sp.* ante condiciones extremas. Durante el segundo día del estudio, las microalgas del fotobiorreactor no experimentaron una fotoinhibición aguda, a pesar de estar expuestas a la gran intensidad de la luz, a temperaturas superiores a los 35 °C y con un pH por encima de 10 a mediodía. Esto se infiere de la reducción limitada de la eficiencia fotosintética del fotosistema II, Fv/Fm (adaptado a la oscuridad) del cultivo del fotobiorreactor, similar a lo observado en el cultivo del tanque tipo “raceway” (Figura 2). El valor de Fv/Fm solamente cayó de forma significativa cuando la temperatura ascendió

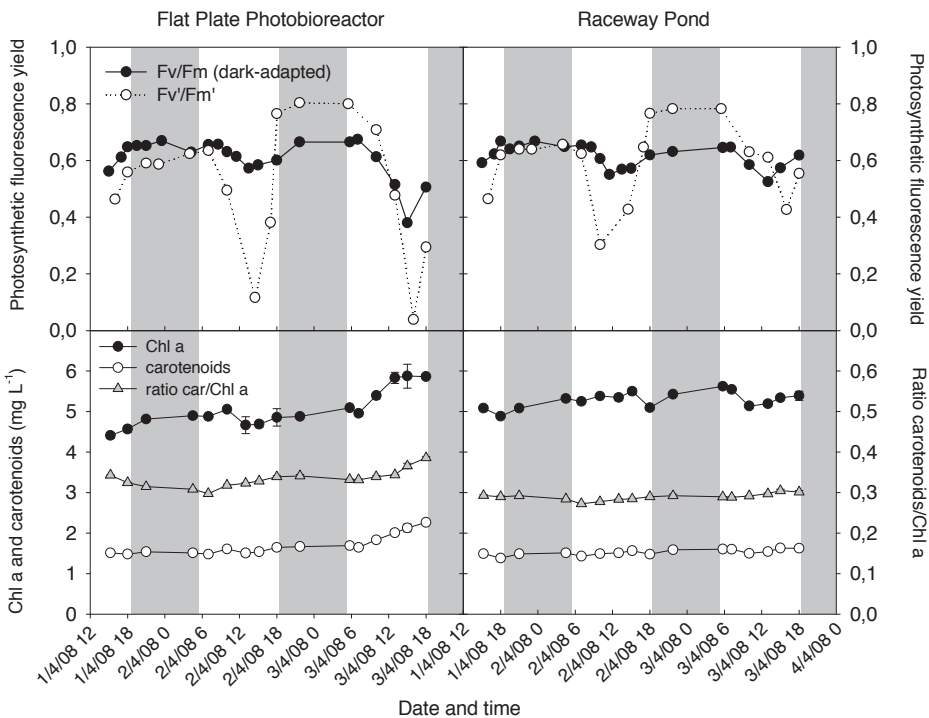


Figura 2. Fluorescencia fotosintética y contenido en pigmentos de *Nannochloropsis sp.* en un tanque tipo “raceway” y un fotobiorreactor de paneles planos durante 3 días en el Centro Nacional de Maricultura de Eilat, Israel. Las áreas grises indican las fases de oscuridad.

por encima de los 40 °C durante el tercer día, pero incluso entonces, se recuperó rápidamente. El cultivo del fotobiorreactor respondió a las condiciones de estrés incrementando el ratio de carotenoides respecto a la clorofila (Figura 2). El carotenoide más importante de la *Nannochloropsis* es la violaxantina, que cumple una función en el denominado ciclo xantófilo, un mecanismo protector contra la fotoinhibición. La explicación de la resistencia al estrés de los sistemas de cultivo al aire libre se encuentra, probablemente, en la presencia de pigmentos del ciclo xantófilo junto con las propiedades bio-ópticas de los cultivos de *Nannochloropsis*.

### *Dunaliella salina*

En las instalaciones experimentales del Centro de Investigaciones Científicas Isla de la Cartuja, en Sevilla (España), se investigó sobre la producción de biomasa de *Dunaliella salina* (UTEX 2538) y se estudió la producción de β-caroteno en tanques tipo “raceway” y en fotobiorreactores tubulares de serpiente instalados en horizontal (García-González et al., 2003, 2005). La superficie del cultivo de los tanques tipo “raceway” era de 3 m<sup>2</sup> con 10 cm de profundidad, mientras que los tubos del fotobiorreactor tenían una longitud de 90 m y un diámetro interno de 2,4 cm. Una rueda de paletas se encargaba de mezclar el cultivo del tanque tipo “raceway”. El fotobiorreactor disponía de un sistema de levantamiento de aire o “air-lift”. Se inyectaba CO<sub>2</sub> automáticamente según la demanda para mantener el pH fijado en 7,5. Ambos sistemas funcionaban de modo semicontinuo, los cultivos se diluían cada 4 días para lograr la densidad celular óptima.

Tabla 1. Biomasa y producción medias de β-caroteno de *Dunaliella salina* en un tanque tipo “raceway” y en un fotobiorreactor tubular horizontal (datos recopilados por García-González et al., 2003, 2005).

|   | Tanque tipo “raceway” | Fotobiorreactor (25 °C) | Fotobiorreactor (17-30 °C) |
|---|-----------------------|-------------------------|----------------------------|
| Densidad celular óptima (10 <sup>6</sup> células ml <sup>-1</sup> ) | 0,9                   | 2                       | 2                          |
| Productividad de biomasa (g DW m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )    | 2,3                   | 2,2                     | 0,6                        |
| Productividad de β-caroteno (mg m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )   | 200                   | 102,5                   | 35,2                       |
| Productividad de β-caroteno (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )   | 2                     | 3,75                    | 1,3                        |

La densidad celular óptima era menor en los tanques tipo “raceway”, resultado de la mayor profundidad de esos cultivos (Tabla 2). La productividad de biomasa de los tanques era igual a la del fotobiorreactor, pero solo cuando la temperatura de este último se mantenía constante a 25 °C. Si no se controlaba la temperatura, la productividad sufría una caída notoria. La productividad por área de  $\beta$ -caroteno ( $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) de la piscina era incluso mucho más alta que en el fotobiorreactor, debido a que las células de la piscina contenían más  $\beta$ -caroteno (Tabla 2). La *D. salina* del fotobiorreactor presentaba un contenido en  $\beta$ -caroteno más bajo porque estos cultivos estaban cubiertos por una pantalla protectora de la luz solar, que limitaba la intensidad lumínica para impedir los perjuicios que podría causar. Al retirar la pantalla, subía el contenido en  $\beta$ -caroteno, pero no está claro qué sucedía con la productividad en esas condiciones. Dado que la densidad celular del fotobiorreactor era mucho más elevada, la productividad volumétrica a 25 °C del  $\beta$ -caroteno ( $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) era mayor que en la piscina “raceway”. No obstante, al ser el volumen de la piscina muy superior, la producción diaria de  $\beta$ -caroteno de una de ellas es mayor que la de un solo fotobiorreactor.

A la luz de estos resultados, es obvio que este tipo de fotobiorreactor no representa una alternativa favorable para la producción *D. salina* en lugar de tanques tipo “raceway”.

Tabla 2. Eficiencia fotosintética (PE), promedio de tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y productividad total en cultivos de T-iso en interiores y al aire libre. Los datos representan la media con desviación estándar.

|   | Aire libre (FBR de 400 l) | Interior (tubos de 50 l) |
|---|---------------------------|--------------------------|
| PE (%)  | 2,51 $\pm$ 0,85           | 13,72 $\pm$ 2,23         |
| $\mu$ ( $\text{d}^{-1}$ )                         | 0,39 $\pm$ 0,085          | 0,91 $\pm$ 0,087         |
| Productividad ( $\text{g l}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) | 0,075 $\pm$ 0,038         | 0,076 $\pm$ 0,012        |
| Productividad ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) | 7,91 $\pm$ 3,26           | 11,89 $\pm$ 1,94         |

## Producción de microalgas para la acuicultura

Una forma de aprovechamiento básica de las microalgas es su empleo en acuicultura. Se usan como alimentos vivos en todas las fases de crecimiento de moluscos bivalvos, para los estadios larvales o juveniles tempranos de orejas de mar, crustáceos y ciertas especies de peces, así como para el zooplancton (rotífero,

Artemia) utilizado en las cadenas alimentarias de la acuicultura (Barsanti y Gualtieri, 2006). Aunque se está investigando la sustitución de las microalgas por dietas inertes, aún no se han alcanzado los objetivos y en muchos casos, no son posibles. Ya que las microalgas para los criaderos o “hatcheries” se producen localmente a pequeña escala en sistemas ineficientes, como tanques o bolsas con un camino óptico muy grande, situados a menudo en interiores, generalmente originan costes relativamente altos para las empresas. Se calcula que los costes de producción de los criaderos o “hatcheries” oscilan entre los 250 y los 1.500 dólares americanos por kg de peso seco (Ana Otero, comunicado personal). Ante esto, las empresas podrían aprovechar las ventajas ofrecidas por productos que se vendan ya preparados, obtenidos en instalaciones de producción a gran escala especializadas en microalgas. Un ejemplo de ello es Reed Mariculture (San José, EE.UU), que vende un concentrado líquido de *Isochrysis galbana* (T-iso) (*Isochrysis* 1800 9 % de peso seco) por aproximadamente 240 € por kg de peso seco, si se adquieren más de 80 envases de 1 l ([www.reed-mariculture.com/microalgae](http://www.reed-mariculture.com/microalgae)).

Los requisitos que deben satisfacer las microalgas para ser utilizadas en acuicultura son tener un tamaño apropiado para garantizar una buena ingesta, una buena digestibilidad y un valor nutricional adecuado. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) y los micronutrientes, como minerales y vitaminas, son esenciales para lograr un buen perfil nutricional (Støttrup y McEvoy, 2003). Aunque la *Chlorella* se usa para el cultivo de rotíferos, hay muchas otras especies, entre ellas muchas microalgas marinas, que se usan en la acuicultura marina, por ejemplo *Skeletonema costatum* y *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae), *Isochrysis aff. galbana* (T-iso) y *Paolova lutheri* (Haptophyta), *Pyramimonas virginica* y *Tetraselmis suecica* (Prasinophyceae), *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae), *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae) y *Nannochloropsis gaditana* (Eustigmatophyceae).

Un factor importante para el aprovechamiento de las microalgas en la acuicultura es la estabilidad y la conservación del producto. El éxito de la *Nannochloropsis sp.* se explica en parte por la posibilidad de liofilizar las microalgas, lo que permite conservarlas durante largos períodos y volver a resuspenderlas en agua marina, conservando su integridad y aplicarlas para enriquecer rotíferos o para la aplicación de la técnica del agua verde.

Una de las especies más importantes para la acuicultura marina es la T-iso, por su alto contenido de un ácido graso con omega-3, el ácido docosahexaenoico (DHA),

por su tamaño adecuado y porque es fácil de digerir. En el centro de investigación El Toruño (IFAPA), del Puerto de Santa María, (España), se realizó un estudio para evaluar las posibilidades de producir T-iso en sistemas cerrados al aire libre (Van Bergeijk, 2010). Para ello se cultivó T-iso en fotobiorreactores tubulares con serpentines de 400 l, formados por 10 tubos paralelos de PMMA (polimetil metacrilato) de 6 m de longitud, con un diámetro interno de 6,4 cm (Figura 3B). En El Toruño, la T-iso se cultiva de forma rutinaria en interiores, en columnas de burbuja vertical de 50 l (PMMA) de 20 cm de diámetro, dotadas de iluminación continua y a una temperatura constante de 20 °C (Figura 3A). Los cultivos en interiores cuentan con una alta tasa de crecimiento y son muy estables. Se usaron para inocular los cultivos al aire libre, que crecieron como cultivos intermitentes hasta lograr el máximo de biomasa. El estudio puso de manifiesto que en este tipo de fotobiorreactor la PE era muy baja y la productividad era inferior a la de los sistemas de interiores (Tabla 2). Parece que la T-iso es relativamente sensible a las condiciones ambientales cambiantes que imperan al aire libre y no es capaz de aprovechar eficazmente las cantidades disponibles de energía que proporciona la luz solar. Probablemente los sistemas con una mejor atenuación superficial de la luz en el espacio, como el caso de fotobiorreactores tubulares verticales instalados en un invernadero, serían más apropiados para estas especies.

## **Producción de microalgas para compuestos de alto valor**

Se cree que las microalgas tienen un enorme potencial para la producción de compuestos de alto valor. Se sabe que contienen pigmentos, ácidos grasos poliinsaturados, polisacáridos, biotoxinas, etc. con propiedades antioxidantes, inmunoestimulantes, anticancerígenas y antivirales.

Un ejemplo importante de producción comercial de compuestos de alto valor obtenidos de microalgas es el de la astaxantina extraída de la *Haematococcus pluviialis*, que en realidad es un alga verde de agua dulce (Chlorophyceae).

La astaxantina es un carotenoide con grandes propiedades antioxidantes y fotoprotectoras. Se encuentra de manera ubicua en la naturaleza, sobre todo en el medio marino y probablemente su fama se deba principalmente por ser la responsable del color rojizo o rosado de diversos animales: salmónidos, gambas, flamencos, etc. Estos animales obtienen su pigmentación a través de la dieta, que

incluye microalgas, la fuente de astaxantina. Los *Haematococcus* son el organismo que acumula la cantidad más alta de astaxantina de la naturaleza, hasta el 4 % en peso seco. El aprovechamiento como fuente de pigmentación en acuicultura (sobre todo del salmón, la trucha y el besugo) constituye el principal mercado de la astaxantina (Richmond, 2004). También se produce por métodos sintéticos, pero la demanda de los consumidores que quieren productos naturales favorece la producción natural de la astaxantina por *Haematococcus*. La astaxantina sintética se vende a un precio aproximado de 2.500 dólares por  $\text{kg}^{-1}$ , mientras que la astaxantina de origen natural alcanza precios situados en torno a los 10.000 dólares por  $\text{kg}^{-1}$  (Van Iersel y Flammini, 2010).

El proceso de producción del *Haematococcus* para obtener astaxantina consta de dos fases (Lorenz y Cysewski, 2000). Durante la primera fase, las microalgas se producen en un medio neutro y rico en nutrientes para obtener una gran cantidad de biomasa de células vegetales verdes. Esta fase debe desarrollarse en sistemas cerrados sometidos a un control estricto, ya sea al aire libre o en interiores, porque el agua dulce como medio natural permite la contaminación por acción de otros microorganismos. En la segunda fase, que tiene lugar al exterior en tanques tipo “raceway” abiertas (Cyanotech Corporation, Hawaii, EE.UU.) o fotobiorreactores tubulares verticales (Algatechnologies, Kibbutz Ketura, Israel), se aplican

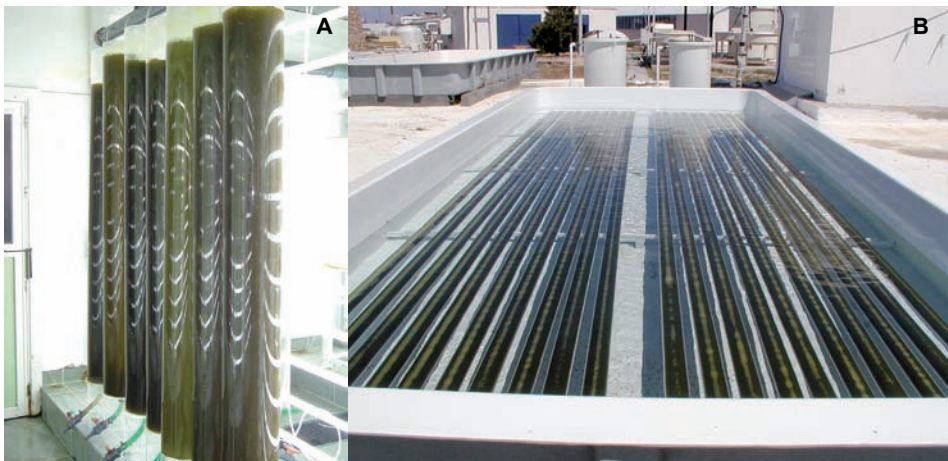


Figura 3. Cultivos de T-iso en tubos verticales de 50 l en interior (A) y en fotobiorreactores tubulares horizontales de 400 l al aire libre (B) en el centro del IFAPA en El Toruño (Puerto de Santa María).

condiciones de estrés a través de la privación de nutrientes, intensidad lumínica elevada y temperaturas altas, o con la adición de sal, que induce la formación de hematoquistes rojos, ricos en astaxantina. Ya que los quistes no son mótils y son relativamente pesados, es fácil que se decanten y se puedan centrifugar. La gruesa pared celular de los quistes provoca que la biodisponibilidad de la astaxantina de la biomasa de microalgas secas sea baja, por lo que hay que romper las células para obtener una harina de algas útil. Se puede obtener una oleorresina rica en astaxantina con la extracción de CO<sub>2</sub> supercrítica, con una estabilidad superior a la de la harina algal.

A pesar de la necesidad de tecnologías avanzadas y de los altos costes que ello conlleva, la elevada calidad y el gran valor del producto hacen posible producir comercialmente astaxantina a partir de *Haematococcus*.

## Observaciones finales

En el futuro próximo, el éxito de la producción comercial de microalgas dependerá sobre todo de que se elijan las especies correctas, con propiedades relevantes para las condiciones del cultivo y para productos específicos. Un buen ejemplo es el *Haematococcus*. La elección de los sistemas de cultivo masivo depende de las características fisiológicas de las especies de microalgas y del producto final. En general, los fotobiorreactores cerrados son caros, pero de cara a los resultados comerciales, la calidad de los productos tiende a ser más importante que el coste de la producción. Además, para muchas especies que no crecen bajo condiciones ambientales extremas, es probable que el cultivo estable en sistemas abiertos al aire libre no sea viable, por el riesgo de contaminación. Está claro que es crucial contar con conocimientos profundos de la fisiología de las especies cultivadas. La extracción de la biomasa de microalgas y la preparación de productos con una composición bioquímica determinada probablemente incrementen su valor. Es importante que la composición esté garantizada y que se cuente con la autorización de las agencias alimentarias, especialmente para el uso de productos la nutrición humana.

La combinación sugerida de producción de microalgas para la obtención de compuestos de alto valor y para biocombustibles podría no ser una solución práctica. Una razón obvia es que las condiciones controladas y estrictas y los altos costes que



acarrea la producción de compuestos de alto valor no coinciden con los requisitos para la producción de microalgas destinadas a servir como biocombustibles. Por si fuese poco, las dimensiones del mercado de los compuestos de alto valor conocidos obtenidos de las microalgas son varios órdenes de magnitud inferior que el volumen del mercado de los biocombustibles.

## Referencias bibliográficas

- Barsanti L., Gualtieri P. (2006) *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Taylor and Francis Group, Boca Raton, U.S.A. 301 pp.
- García-González M., Moreno J., Cañavate J.P., Anguis V., Prieto A., Manzano C., Florencio F.J., Guerreo M.G. (2003) Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. *Journal of Applied Phycology*, 15(2-3): 177-184.
- García-González M., Moreno J., Manzano J.C., Florencio F.J., Guerrero M.G. (2005) Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis-beta-carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 115(1): 81-90.
- Grobbelaar J.U., Nedbal, L., Tichý, V. (1996) Influence of high frequency light/dark fluctuations on photosynthetic characteristics of microalgae photoacclimated to different light intensities and implications for mass algal cultivation. *Journal of Applied Phycology*, 8: 335-343.
- Huesemann M.H. y Benemann J.R. (2009) Biofuels from microalgae: review of products, processes and potential, with special focus on *Dunaliella* sp. En: *The alga Dunaliella. Biodiversity, physiology, genomics and biotechnology*. Science Publishers, Enfield, USA, pp. 445-474.
- Kromkamp J.C., Beardall J., Sukenik A., Kopecky J., Masojidek J., van Bergeijk S., Gabai S., Shaham E., Yamshon A. (2009) Short-term variations in photosynthetic parameters of *Nannochloropsis* cultures grown in two types of outdoor mass cultivation systems. *Aquatic Microbial Ecology*, 56(2-3): 309-322.
- Lorenz R.T. y Cysewski, G.R. (2000) Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a source of astaxanthin. *Trends in Biotechnology*, 18(4): 160-167.
- Richmond A. (2004) Biological principles of mass cultivation. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. A. Richmond (ed.), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp. 125-177.
- Støttrup J.G. y McEvoy L.A. (eds.) (2003) *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 318 pp.

- Tredici M.R. (2004) Mass production of microalgae: Photobioreactors. En: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Richmond A. (ed.), Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp. 178-214.
- Tredici M.R. y Chini Zitelli, G. (1998) Efficiency of sunlight utilization: tubular versus flat photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 57(2): 187-197.
- Van Bergeijk S.A., Salas-Leiton E., Cañavate J.P. (2010) Low and variable productivity of *Isochrysis* aff. *galbana* (T-iso) in outdoor tubular photobioreactors. *Aquacultural Engineering*, 43(1): 14-23.
- Van Iersel S. y Flammini A. (2010) Algae-based biofuels: applications and co-products. FAO Environmental and Natural Resources Service Series, No. 44-FAO, Rome 2010 ([www.fao.org/docrep/012/i1704e/i1704e00](http://www.fao.org/docrep/012/i1704e/i1704e00)).
- Wijffels R.H. y Barbosa M.J. (2010) An outlook on microalgal biofuels. *Science*, 329(5993): 796-799.



## Colecciones de cultivos de microalgas: utilidad de las mismas

Unidad Asociada fitoplancton Tóxico (CSIC-IEO)

Centro Oceanográfico de Vigo. Subida a RadioFaro 50-52; 36390-VIGO

Dirección e-mail: santi.fraga@vi.ieo.es

Componentes de la unidad (por orden alfabético): Isabel Bravo<sup>1</sup>, Laura Escalera<sup>1</sup>, Amelia Fernández<sup>1</sup>, Santiago Fraga<sup>1</sup>, José M. Franco<sup>2</sup>, Isabel Ramilo<sup>1</sup>, Beatriz Reguera<sup>1</sup>, Pilar Rial<sup>1</sup>, Pilar Riobó<sup>2</sup>, Francisco Rodríguez<sup>1</sup>.

1 Centro Oceanográfico de Vigo (IEO)

2 Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC)

### Resumen

Históricamente las primeras colecciones de cultivo se sitúan en Kral (Praga, siglo XIX), primera ciudad en tener un catálogo, si bien la más antigua es la colección de hongos de Lovaina (Bélgica).

Posteriormente se crea la American Type Culture Collection (ATCC), en 1925, de carácter comercial aunque sin vínculo directo con la Universidad de Manassas (USA).

La Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) nace en el CSIC en 1960 y actualmente está ubicada en la Universidad de Valencia.

A partir de 1972 las colecciones de cultivos se agrupan en la organización internacional denominada World Federation for Culture Collection (WFCC). En Europa, a su vez, están dentro de la European Culture Collection Organization (ECCO) fundada en 1982.

### ¿Qué es una colección de cultivos?

Son organizaciones que principalmente se ocupan de mantener convenientemente cepas de microorganismos, células superiores o diversos materiales biológicos y los suministran, previa petición, a laboratorios microbiológicos

o de biología celular. Son por lo tanto servicios de apoyo a los trabajos de microbiología.

Las funciones y servicios que prestan las Colecciones de Cultivos se pueden resumir en los siguientes puntos:

- La recolección es el servicio más típico de las colecciones ya que reúnen cepas que les llegan a través de distintos conductos, las conservan convenientemente y las suministran previa petición.
- La conservación consiste en el mantenimiento de la cepa como cultivo puro, que sea viable y genéticamente estable.
- El suministro se hace por correo de superficie, aéreo o mensajería, pero siempre empaquetado correctamente ya que siempre hay que considerarlo como material “potencialmente patógeno”.
- La recopilación de datos de las cepas microbianas y difusión de los mismos se hace mediante fichas, ordenadores, redes electrónicas, publicación de catálogos.

### **Breve reseña histórica sobre las colecciones de microalgas**

Pringsheim es considerado en la actualidad como el padre de los cultivos de microalgas, ya que en 1912 introdujo el uso de extracto de suelo en los medios y en 1913 obtuvo cultivos libres de bacterias con técnicas aplicables a cualquier microalga. Este mismo autor en 1921 recomendó el método de pipeteo para aislar microalgas y fue el primero en establecer una colección de cultivos de microalgas (Pringsheim, 1912, 1921, González et al., 1995). Más adelante, Provasoli hizo grandes aportes al estudio de los requerimientos nutricionales de las microalgas marinas (Provasoli y Pintner, 1953, Provasoli y Mc Laughlin, 1955, Provasoli, 1963, 1964, 1971) y también diseñó medios de cultivo artificiales y naturales enriquecidos que se utilizan a la fecha (Provasoli et al., 1957, Provasoli, 1963). Se hicieron adelantos importantes como los descubrimientos de los quelantes como el EDTA, el Tris que es un amortiguador y las tres vitaminas solubles, biotina, tiamina y cianocobalamina, que son esenciales para el crecimiento de los dinoflagelados, ya que aumentan los beneficios del uso del extracto de suelo y su adición hace que los cultivos de especies fotosintéticas sean más confiables y constantes. Aunque los primeros estudios de sustancias quelantes en los medios de cultivo utilizaron algas

verdes o diatomeas, las primeras demostraciones de requerimientos de vitaminas fueron hechas con flagelados heterótrofos (Jeffrey, 1979, González et al., 1995). Dentro de las siguientes décadas, diferentes especies de dinoflagelados marinos pudieron ser cultivados gracias al desarrollo de nuevos medios de cultivo, los cuales contienen los requerimientos necesarios para los diferentes tipos de nutrición, como son autotrofia, heterotrofia y mixotrofia (Spector, 1984).

A continuación presentamos las características de las principales colecciones de cultivos, con énfasis en las dedicadas a microalgas:

**CCOV (Colección de Cultivos del Centro Oceanográfico de Vigo)** ([www.vi.ieo.es/general/principal.aspx?web=covigo.aspx](http://www.vi.ieo.es/general/principal.aspx?web=covigo.aspx)). En este Centro existe una colección de cultivos de fitoplancton que incluye la mayor parte de las microalgas relacionadas con florecimientos tóxicos o nocivos de la costa de la península Ibérica (Figura 1). En su página electrónica, se muestran los resultados de estudios realizados con los dinoflagelados que tienen en cultivo, pero no aparece el listado de especies con las que cuenta la colección, ya que es una colección exclusiva para sus propias investigaciones.

Instalaciones de la CCVIEO:

- Tres cámaras de cultivo de 6 m<sup>2</sup>, temperatura controlada: 15°C, 18°C y 24°C
- Incubadores de 300 y 160 L
- Subcámaras intermitentes a diferentes temperaturas dentro de las cámaras: Baños de agua (ej. diatomeas polares a 5°C), armarios de incubación, etc.
- El equipo de laboratorio incluye cámara de flujo laminar, dos autoclaves de diferente capacidad, sistema de purificación de agua de mar base con filtros de carbón activo, fluorómetro

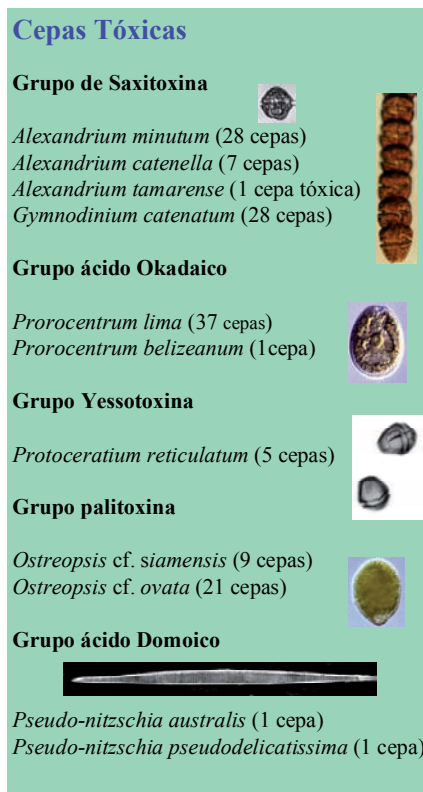


Figura 1. Listado de las especies productoras de toxinas y número aproximado de cepas.

Turner, fluorómetro Walz-Water-PAM, microscopios y medidor de luz Biospherical QSL-100, centrífuga en continuo, etc.

Actualmente existen diferentes colecciones en el mundo donde se mantienen cepas de microalgas (Figura 2 y 3). Entre las más importantes están las siguientes:

**ATCC (American Type Culture Collection)** ([www.atcc.org](http://www.atcc.org)). La colección de la ATCC se ha formado por colaboraciones de numerosas instituciones, con el fin de proveer material a la comunidad científica en general. Las instituciones que participan donando las cepas para la formación de estas colecciones especiales se benefician de que la ATCC las mantiene y distribuye. La más reciente colección que estableció la ATCC es la de microorganismos aislados de parques naturales de Estados Unidos. En cuanto a dinoflagelados, en la ATCC se mantienen varias cepas diferentes de la especie *Cryptothecodinium cohnii* (Seligo) Javornicky.

**UTEX (The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin)** ([www.utex.org](http://www.utex.org)). La colección incluye cerca de 2.000 cepas diferentes de microalgas, de aproximadamente 200 géneros diferentes, representantes de la mayoría de las divisiones o grupos algales. Esta colección de algas, designada UTEX, ha estado en operación continua desde 1953 y fue establecida por Richard C. Starr en la



Figura 2. Tubos de mantenimiento de cepas de una colección



Universidad de Indiana. Su función primordial es la de proveer de cultivos algales a la comunidad científica. Los cultivos en la colección de UTEX se utilizan por la mayoría de investigadores, profesores, biotecnólogos y otros proyectos alrededor del mundo. La colección consta de algas verdes y cianobacterias de agua dulce, macrofitas marinas, dinoflagelados marinos y algas rojas. Todas las cepas de la colección fueron obtenidas del medio natural y no están genéticamente alteradas. Casi todas las cepas de UTEX son axénicas y todos los cultivos son unialgales.

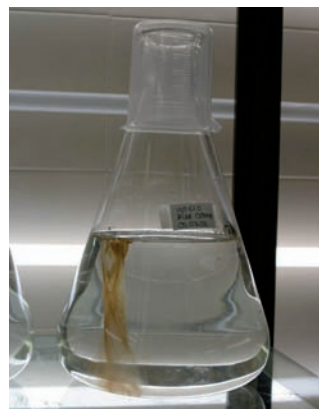


Figura 3. Cultivo de *Ostreopsis cf. siamensis*

**CCAP (Culture Collection of Algae and Protozoa, Scottish Association for Marine Science)** ([www.sams.ac.uk](http://www.sams.ac.uk)). Esta colección fue fundada por el profesor Ernst Georg Pringsheim, quien colaboró con Victor Czurda y Felix Mainx, estableciendo cultivos en el Instituto de Botánica de la Universidad de Alemania, Praga, en los años veinte. Esta colección tiene cerca de 2.000 cepas de algas y protozoarios que se distribuyen a la comunidad industrial y científica en todo el mundo. Sus investigaciones se caracterizan por interrelacionar el fitoplancton con bacterias heterotróficas y se enfocan en investigar el papel que juegan las bacterias en el crecimiento del fitoplancton, en el desarrollo de las mareas rojas y en la producción primaria. Las cerca de 2.000 cepas de algas y protozoarios que mantiene la CCAP, incluyendo cianobacterias, algas rojas, protozoarios no patógenos de vida libre, protozoarios potencialmente patógenos (como todas las especies de *Acanthamoeba* spp.) son mantenidas en subcultivos semicontinuos y las de protozoarios son criopreservadas

**La CCAC (Culture Collection of Algae at the University of Cologne)** ([www.ccac.uni-koeln.de](http://www.ccac.uni-koeln.de)). Es una colección que consta de aproximadamente 1.400 cultivos clonales. Alrededor de dos tercios de los cultivos son flagelados. La colección tiene cepas axénicas de 20 algas de agua dulce y marina y se identifican con la clave CCAC. La CCAC ha adquirido recientemente diversas cepas de la colección de Cultivos de Algas de la Universidad de Viena, que son no axénicas ni unialgales, los cuales no se han nombrado con las siglas CCAC por no cumplir con las características típicas de cultivos axénicos. La fundación de esta colección de cultivos de algas

inició en 1974, donde las primeras células fueron aisladas de una muestra de agua natural, obteniéndose cultivos clonales de algas. La Colección de Cultivos de la Universidad de Colonia fue establecida formalmente en la primavera del 2001 y se encuentra incluida en la lista de Centro de Datos de Microorganismos en el mundo con el número de registro 807.

**NBRC (Biological Resource Center), NITE** ([www.nbrc.nite.go.jp/e/index.html](http://www.nbrc.nite.go.jp/e/index.html)) ha ampliado su colección en los últimos años incluyendo las cepas de microalgas gestionadas por el MIB (Marine Biotechnology Institute) en Kamaishi, Japón, que fueron trasladadas a NITE en octubre de 2006. Alrededor de 270 cepas están ahora disponibles para su distribución desde el NBRC. Al mismo tiempo, NBRC acepta el depósito de cepas de microalgas, así como otros microorganismos.

**CCCM (The Canadian Center for the Culture of Microorganisms)** ([www.botany.ubc.ca/cccm/](http://www.botany.ubc.ca/cccm/)). La colección de este centro mantiene especímenes vivos de fitoplancton marino, microalgas de agua dulce y hongos de uso comercial, aislados por investigadores y profesores. La colección de algas marinas y de agua dulce consta de aproximadamente 300 cepas representadas en 15 clases de algas, la mayoría de los grupos del fitoplancton marino. Aunque incluye varias especies de microflagelados oceánicos aislados del Pacífico Noreste, el mayor énfasis se ha hecho en especies locales de importancia ecológica, toxicológica y biotecnológica. Aproximadamente el 75% de los aislamientos se han realizado en aguas de la Columbia Británica, y el remanente, de aguas tropicales y templadas de otras regiones. La colección de dinoflagelados dentro del CCCM es una de las más grandes del mundo y se reconoce como NEPCC (The North East Pacific Culture Collection) ([www.botany.ubc.ca/cccm/index.html](http://www.botany.ubc.ca/cccm/index.html)). El objetivo de la colección fue aislar especies ecológicamente importantes del Pacífico Norte, lo cual se mantiene vigente hoy día, sin embargo, también se tienen especies de otras localidades, incluyendo los trópicos. Los cultivos se mantienen a 16° C en un ciclo de luz:oscuridad de 14:10. Los cultivos tropicales son incubados aproximadamente a 25°C. La salinidad del medio varía de 28 a 35 ups. El medio utilizado para mantener los cultivos es el propuesto por Harrison et al. (1980) modificado con agua de mar natural, sin embargo algunos clones crecen en ese mismo medio, pero elaborado con agua de mar artificial.

**CCMP (Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton)**

([www.ccmp.bigelow.org](http://www.ccmp.bigelow.org)). Este centro de cultivo de dinoflagelados marinos fue inicialmente dedicado o desarrollado para cultivos de colecciones establecidas por el Doctor Luigi Provasoli de la Universidad de Yale y el Dr. Robert R.L. Guillard de la Institución Oceanográfica de Woods Hole, ambas en Estados Unidos. En marzo de 1980 estos investigadores publicaron el trabajo “Taller sobre recomendaciones para el establecimiento de colecciones de cultivo de dinoflagelados marinos”, donde sugieren el establecimiento de una sola colección de fitoplancton marino a nivel nacional con el Dr. Guillard como director. La CCMP forma parte de los Laboratorios Bigelow para las Ciencias Oceánicas y ofrece en su catálogo *on line* información general y específica sobre las 1.500 cepas que tiene: su identificación taxonómica, su distribución geográfica, las características del aislamiento, el medio de cultivo, las condiciones de crecimiento, el banco de genes, el mapa del lugar de colecta y fotos de los organismos. Ofrecen además cursos de cultivo de fitoplancton y facilidades para científicos visitantes. Las cepas del CCMP llevan muchos años en cultivo y la mayoría son de fitoplancton marino, aunque también tienen algunas macrofitas y microalgas de agua dulce. Sus cultivos se realizan a 5 temperaturas: -2º, 4º, 14º, 20º y 25º C. Cada cepa es conservada en tres cámaras de cultivo separadas y se mantienen por cuadruplicado. En la página electrónica del Centro, también se puede acceder a las formulaciones de los medios de cultivo que actualmente se utilizan para los dinoflagelados y alguna información relevante sobre la historia de los primeros cultivos de estos organismos.

**CODIMAR (Colección de Dinoflagelados Marinos)** ([www.cibnor.mx/es/investigacion/colecciones-biologicas/codimar/entrada](http://www.cibnor.mx/es/investigacion/colecciones-biologicas/codimar/entrada)). Esta Colección de dinoflagelados marinos pertenece al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR), en la Paz, B.C.S. México. El establecimiento de la CODIMAR fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a través del financiamiento de un proyecto, cuyo objetivo principal fue el establecimiento de la primera colección de dinoflagelados marinos vivos en México. A partir de octubre del 2000 iniciaron los trabajos tendentes a establecer la colección de dinoflagelados marinos (CODIMAR). La función principal de la colección como la de todos los demás ceparios, es la de proveer cultivos de dinoflagelados a la comunidad científica y académica nacional e internacional, para que sean utilizados

en investigación y enseñanza. La CODIMAR está constituida principalmente de dinoflagelados marinos aislados de Bahía Concepción, Bahía de la Paz y Bahía de Mazatlán en el Golfo de California. Hasta ahora la CODIMAR cuenta con 120 cepas de dinoflagelados pertenecientes a los órdenes Gymnodiniales, Gonyaulacales, Prorocentrales y Peridinales. La CODIMAR representa la primera colección en su tipo en México y es de referencia a nivel internacional para el estudio de los dinoflagelados nocivos

**CICCM (Cawthron Institute Culture Collection of Micro-Algae)** ([www.cawthron.org.nz](http://www.cawthron.org.nz)). El Instituto Cawthron y su colección de cultivos de microalgas de Nueva Zelanda poseen unas 110 cepas de cianobacterias y dinoflagelados crioconservados.

**ALISU (Colección de cultivos de algas de la Universidade de Lisboa)** Tiene unas 57 especies de un total de 88 cepas aisladas.

## **Agradecimientos**

CCVIEO (Colección de Cultivos del Instituto Español de Oceanografía de Vigo) y al proyecto EBITOX (CTQ 2008-06754-C04-04)

## Referencias bibliográficas

- Pringsheim E.G. (1912) Die Kultur von Algen in Agar. Beitr. Biol. Pfl., 11: 305.
- Pringsheim E.G. (1921) Algenkultur. Abderhalterims Hand. Biol. Arb. Meth., 11(2): 377.
- Provasoli L. y Pintner I.J. (1953) Ecological implications of *in vitro* nutritional requirements of algal dinoflagellates. Ann. N. Y. Acad. Sci., 56: 681.
- Provasoli L. y McLaughlin J.J.A. (1955) Auxotrophy in some marine and brackish dinoflagellates. J. Protozool., 2 (suppl.): 10.
- Provasoli L., McLaughlin J.J.A., Droop, M.R. (1957) Development of artificial media for marine algae. Arch. Mikrobiol., 25: 392-428.
- Provasoli L. (1963) Organic regulators in phytoplankton fertility. New York. En: the Sea Interscience M.N. Hill (ed.), 2: 165-219.
- Provasoli L. (1964) Growing marine seaweeds. Proc. Int. Seaweed Symp., 4: 9-17.
- Provasoli L. (1971) Nutritional relationships in marine organisms. En: Fertility of the sea. J.D. Costlow (Ed.) Gordon and Breach, Sci. Publ., 2: 369-382.
- Jeffrey S.W. (1979) Cultivating Unicellular Marine. CSIRO. Division of fisheries and oceanography. Ann. Rep., 1977-1979.
- Spector D. J. (ed.) (1984) Dinoflagellates. Academic Press, Orlando, 545 p.
- González M.A., Parra O.O., Cifuentes A.S. (1995) Técnicas de Cultivo de Microalgas en Laboratorio. En: Manual de Métodos Ficológicos Alvea, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C., Stein, E. (eds.). Universidad de Concepción. Chile. pp- 219-249.



# Modificación genética de microalgas: una necesidad industrial

Diego López Alonso y Federico García-Maroto

Universidad de Almería, Grupo de investigación BIO279, 04071 Almería, España

Dirección e-mail: dlopez@ual.es

## Resumen

Las microalgas, con su extraordinaria diversidad, han sido sugeridas como fuentes potenciales de un gran número de sustancias. Sin embargo, la realidad actual es que el número de productos y de especies microalgales explotadas industrialmente es muy reducido. La causa de este desequilibrio entre usos potenciales y aplicaciones vigentes estriba en el elevado coste de la producción de biomasa y la baja productividad de las microalgas. Existe un amplio consenso sobre que es necesario desarrollar la ingeniería genética de microalgas para que se conviertan en microorganismos de uso industrial. Aquí planteamos los requisitos para hacer ingeniería genética con microalgas y esbozamos un proyecto de biodiesel microalgal a modo de ejemplo.

## **Introducción. ¿Por qué utilizar microalgas?**

Las microalgas vienen siendo, desde hace décadas, objeto continuado de interés para la producción de muy diferentes sustancias. Dicho interés se fundamenta por un lado, en la extraordinaria diversidad biológica (Figura 1) que presumiblemente atesoran sus ~40.000 especies (Radakovits et al., 2010) y, por otro lado, en una serie de ventajas de las microalgas tanto frente a plantas superiores como frente a otros microorganismos cultivados industrialmente.

Frente a las plantas superiores, las microalgas se sugiere que tienen una serie de ventajas (Rodolfi et al., 2009) cuya verosimilitud vamos a discutir brevemente:

- 1) Mayor productividad por superficie. Esto parece bastante indiscutible y podemos ilustrarlo con datos de producción de aceite. La palma, que es de

largo la planta superior más productiva en aceite, alcanza cerca de 6.000 L/ha (Roettig et al., 2010). Datos recientes sostienen que se sobrepasarían los 32.000 L/ha de aceite cultivando *Nannochloropsis* sp. (Rodolfi et al., 2009). Nuestras propias estimaciones, con cifras muy conservadoras y nada por encima de la realidad, nos dicen que, con *Scenedesmus almeriensis* se pueden producir actualmente entre 10.000-20.000 L de aceite por ha y por año.

- 2) Menor consumo de agua. También es bastante verosímil porque no sería técnicamente complicado reciclar el agua resultante del cosechado de la biomasa.
- 3) No desvía recursos del circuito alimentario. Esta afirmación es rigurosamente cierta y, aunque parezca trivial, a nuestro modo de ver es una de las más determinantes. Es un problema real el “desvío” de la producción agrícola de sus usos tradicionales, en alimentación animal y humana, hacia la generación de biocombustibles lo que ya ha dado lugar a un encarecimiento del circuito alimentario generando el conocido conflicto “*food or fuel*”.
- 4) No compite con la agricultura por el agua y la tierra. Las proyecciones de la demanda de agua y tierra cultivable para abastecer el mercado de biocombustibles demuestran que es absolutamente inviable y tendría consecuencias catastróficas (Roettig et al., 2010). Por el contrario, satisfacer las necesidades de biocombustibles o de otro tipo de productos, mediante el cultivo de microalgas no supondría tal conflicto porque pueden usar agua salobre y tierras improductivas.
- 5) Pueden crecer fijando directamente el CO<sub>2</sub> emitido por una central térmica (Chisti, 2008). Es cierto, pero dista mucho de ser una situación técnicamente resuelta (véase el tratamiento detallado de este asunto en el capítulo 5 de este bloque).
- 6) No requieren herbicidas ni pesticidas. Es cierto, —siempre que sean cultivadas en sistemas cerrados a salvo de “depredadores”, competidores y parásitos—.
- 7) En el caso de tratarse de organismos transgénicos, con las microalgas no hay riesgo de un flujo de genes al ecosistema porque se cultivan en régimen de confinamiento (Specht et al., 2010).



Con el creciente desarrollo de la tecnología genética de microalgas, se está avanzando y sugiriendo la posibilidad de utilizar las microalgas como biofactorías de proteínas recombinantes, ofreciendo ventajas frente a plantas y microorganismos. Se dice que las microalgas reúnen lo mejor de ambos mundos: del vegetal, su capacidad fotosintética, y del de los microorganismos, su extraordinaria velocidad de crecimiento y la relativa sencillez de la extracción/purificación de la proteína recombinante (Specht et al., 2010).

Junto a estas ventajas más o menos reales, frecuentemente, convertidos los investigadores en mercaderes que publicitan las bondades de su mercancía (las microalgas), se hacen algunas propuestas o se proporcionan datos que no resisten el más mínimo análisis.

Por ejemplo, respecto del uso para producir lípidos, reiteradamente se afirma que puede incrementarse mediante la privación de nutrientes (generalmente el N), ocultando el hecho de que, si bien es verdad que aumenta el contenido en lípidos (Alonso et al., 2000), se produce al mismo tiempo un desplome del crecimiento del cultivo y, como consecuencia, realmente se origina una disminución de la *productividad*, ¡que es el parámetro clave en cualquier proceso productivo industrial!. En este mismo contexto, siendo el objetivo la producción de ácidos grasos o de glicerolípidos (por ej. para biodiesel), la mayoría proporciona datos sobre el contenido en *lípidos* de las microalgas “olvidando” el detalle de que, entre los lípidos extraídos de las microalgas con los métodos usuales, se incluyen una cantidad significativa (a veces el 50% o más) de lípidos tales como pigmentos, esteroides, etc., que no son glicerolípidos (Alonso et al., 1998) y que, por tanto, no sirven para el propósito planteado. A la hora de defender un uso potencial de las microalgas es exigible un mayor rigor argumental si no, simplemente, cierta honestidad intelectual.

### **¿Para qué cultivar microalgas?**

Las microalgas tienen aplicaciones en nutrición humana y animal que están comercialmente bien establecidas, algunas desde tiempos remotos, que no son objeto de este trabajo. Lo que nos planteamos son las posibilidades que tienen las microalgas como biofactorías de sustancias de muy diversa índole.

Potencialmente, las microalgas pueden utilizarse para producir un elenco virtualmente innumerable de sustancias. De modo breve, las más publicitadas podrían ser las siguientes:

1. Biocombustibles (Chisti, 2008, Roettig et al., 2010):
  - a. Biodiesel. Hay una auténtica “fiebre” por producir biodiesel microalgal que se refleja en el número de artículos (122) y revisiones (21) en el último año, que se extraen mediante búsqueda en el Web of Science®. Pero el interés no es meramente académico sino que las grandes compañías petrolíferas (ExxonMobil, Shell, BP, Repsol, etc.) están invirtiendo sumas significativas. De hecho, en 2009, ExxonMobil invirtió 600 millones de dólares americanos en programas de biocombustibles de algas fotosintéticas (Brooijmans y Siezen, 2010).
  - b. Bioetanol, producido directamente por las microalgas o bien por fermentación del almidón microalgal.
  - c. Hidrógeno, producido directamente bajo condiciones especiales (ej. anaerobiosis, deprivación de S, etc.).
  - d. Metano, mediante fermentación de los restos de biomasa procedentes de otros procesos extractivos.
2. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). Los más interesantes son: el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido araquidónico (AA, 20:4n-6), por sus implicaciones en salud humana (Alonso y Maroto, 2000).
3. Ficoeritrinas y ficocianinas, pigmentos fluorescentes con un mercado pequeño pero estable.
4. Derivados marcados con isótopos estables como  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$ .
5. Carotenoides tales como el  $\beta$ -caroteno, la astaxantina y la luteína.
6. Fármacos (antibióticos, antivirales, citotóxicos y antineoplásicos), un territorio prácticamente inexplorado y muy sugerente dada la enorme biodiversidad microalgal (~40.000 especies).

## El mercado de productos de microalgas

Frente a una oferta tan amplia y prometedora, y tras décadas de esfuerzo investigador e industrial, la realidad comercial de las microalgas como fuente de sustancias se reduce a la reflejada en la Tabla 1 (Raja et al., 2008, Rosenberg et al., 2008). Dándose la circunstancia sangrante, por ejemplo, de que los mayores productores mundiales de astaxantina (BASF y Hoffman-La Roche) no la producen cultivando *Haematococcus* sino mediante síntesis química (Raja et al., 2008). En la Tabla 1 podemos apreciar algunas incertidumbres (indicadas con signos de interrogación) que nos sugieren que, incluso, algunos de los productos recogidos en ella (ej. el biodiesel microalgal) es dudoso que se comercialicen realmente.

Tabla 1. Mercado de productos de microalgas\*.

| Producto                          | Microalga                                      | Precio (\$/kg) | Compañía                           |
|-----------------------------------|--|----------------|------------------------------------|
| β-caroteno                        | <i>Dunaliella</i>                              | 300-3.000      | Varias                             |
| Astaxantina                       | <i>Haematococcus</i>                           | 10.000         | Varias                             |
| PUFAs                             | <i>Cryptocodinium</i><br><i>Schizochytrium</i> | 60.000         | Varias                             |
| Metabolitos marcados con isótopos | ¿?   | 1-20 millones  | Spectra Stable Isotopes            |
| Ficoeritrina                      | Algas rojas<br>Cianobacterias                  | 15 millones    | BlueBiotech Int. GmbH<br>Cyanotech |
| Anticancerígeno                   | ¿?   | ¿?             | PharmaMar                          |
| Fármacos proteicos                | <i>Chlamydomonas</i>                           | ¿?             | Rincon Pharmaceuticals             |
| Biocombustibles                   | Varias   | ¿?             | Varias                             |

\*Modificado de Rosenberg et al., (2008).

Como se puede apreciar, el resultado de tantos esfuerzos, con unos microorganismos cargados de ventajas, es más bien magro, lo que nos conduce a interrogarnos acerca de la causa. A poco que se busque, la respuesta es bien simple: es muy caro producir microalgas y, por consiguiente, son muy caros los productos derivados. Como botón de muestra, supongamos que queremos producir biodiesel a partir de aceite de microalgas porque, como hemos visto antes,

la productividad de las microalgas frente a las plantas oleaginosas es imbatible (recordemos, 10.000-30.000 L/ha *vs.* 1.500-6.000 L/ha, respectivamente). Pues bien, si nos dirigimos al mercado del aceite, nos encontramos con que el coste de una tonelada de aceite vegetal (de palma, colza, etc.) viene a estar en torno a los 1.000\$ (datos para 2011 del United States Department of Agriculture, [www.fas.usda.gov/oilseeds\\_arc.asp](http://www.fas.usda.gov/oilseeds_arc.asp)), mientras que la tonelada de aceite microalgal ronda los 21.000\$ (Molina Grima, comunicación personal) o, en el mejor de los casos, 10.000\$, asumiendo un coste de 3\$/kg de biomasa (Chisti, 2008) y un 30% de aceite. En cualquiera de los casos, el coste del aceite de microalgas es varios órdenes de magnitud mayor.

Como vemos, está claro que, en las presentes circunstancias, el empleo industrial de las microalgas no puede ser sino episódico, para algún producto o alguna aplicación concreta, de elevado valor, que no encuentre competencia en otros productores convencionales (bacterias, levaduras, plantas, etc.).

### **¿Microalgas industriales?**

Existe consenso entre los expertos acerca de que, para que las microalgas lleguen a ser microorganismos industriales, es necesario seguir mejorando (abaratando) los sistemas de producción y cosechado y, sobretodo, desarrollar las herramientas que permitan manipular genéticamente las microalgas (Chisti, 2008, Rosenberg et al., 2008, Courchesne et al., 2009, Wijffels y Barbosa, 2010). No se debe de creer que tal objetivo es ilusorio, por muy lejos que hoy estemos de él. Pensemos que, la productividad de penicilina de los hongos actuales es 5.000 veces superior a la de hace 50 años (Wijffels y Barbosa, 2010) lo que se ha conseguido mejorando todos los procesos implicados en la producción: desde la cepa cultivada hasta la purificación del producto, pasando por el proceso de cultivo. Ese es el camino que tiene que recorrer la biotecnología de microalgas.

En el terreno de la biotecnología del cultivo los avances han sido espectaculares, desde los sistemas a cielo abierto (“open ponds” y “raceways”), válidos sólo para un número muy limitado de especies y poco productivos, a los elegantes y sofisticados fotobiorreactores cerrados, poco susceptibles a la contaminación y mucho más productivos. También se han probado innovadores sistemas de cosechado, pero ésta sigue siendo una etapa del proceso que admite/necesita mejoras substanciales.

Asimismo, desde los esfuerzos pioneros con diatomeas (Roessler et al., 1994), la ingeniería genética de microalgas ha avanzado significativamente (León y Fernández, 2007). Existe una serie de métodos de transformación que han funcionado en diferentes especies y, recientemente, se ha publicado la transformación vía *Agrobacterium tumefaciens* de dos especies de algas verdes (Kumar et al., 2004, Kathiresan et al., 2009). La posibilidad de aplicar este método —habitual en plantas superiores— ofrece ventajas incuestionables. Se ha demostrado el funcionamiento en microalgas de genes marcadores (*GUS*, *GFP*, etc.) y de selección (resistencia a higromicina, bleomicina, etc.). Además, se han probado con éxito un buen número de elementos genéticos reguladores. Han sido secuenciados genomas de algas verdes, algas rojas y diatomeas, y existen varios proyectos en marcha (Courchesne et al., 2009, Radakovits et al., 2010). En *Chlamydomonas reinhardtii*, al menos, se ha desarrollado un protocolo para la transformación rutinaria del cloroplasto (Specht et al., 2010).

En suma, esto prueba que se ha avanzado considerablemente. Pero aún falta mucho camino por recorrer. Pensemos que, de las ~40.000 especies de microalgas (Radakovits et al., 2010), con su extraordinaria diversidad biológica, no alcanza la decena el número de genomas secuenciados. En torno a 30 especies se han transformado (se ha descrito su transformación), pero sólo de 3 podemos decir que se pueden transformar rutinariamente y, de éstas, sólo 1 (*Phaeodactylum tricornerutum*) acredita una capacidad de cultivo a escala industrial. Consecuentemente, no se han desarrollado métodos de transformación eficientes para las especies industrialmente más prometedoras, y queda prácticamente todo por hacer en el aspecto de optimizar la expresión de los transgenes. Similar afirmación cabe hacer respecto de la transplastómica (transformación de cloroplastos) que sólo se ha desarrollado para *C. reinhardtii*.

### **Ingeniería genética: ¿qué es y qué pretende?**

En lo que llevamos escrito, hemos hecho referencia en numerosas ocasiones a la ingeniería genética y acabamos de concluir —siguiendo el consenso de los expertos— que es imprescindible desarrollarla para las microalgas con el fin de conseguir hacer de éstas microorganismos industriales equiparables a levaduras o bacterias. Es hora de que expliquemos en términos sencillos qué es la ingeniería genética.

En sentido lato, la ingeniería genética es la tecnología disponible para la manipulación de los genes. Y los genes se manipulan para modificar las propiedades o características de un organismo con una finalidad práctica. Por ejemplo, los ingenieros genéticos han aislado (clonado, en la jerga propia) el gen humano de la insulina y lo han introducido en un microorganismo (*Escherichia coli* o *Saccharomyces cerevisiae*), para que produzca insulina humana... ¡Y lo hace!

El fundamento de que sea posible modificar un carácter o, a veces, conferir una propiedad completamente nueva (ej. producir insulina humana), previamente inexistente en el organismo receptor (ej. *E. coli*) es que cada gen determina una proteína. Como las proteínas, a su vez, controlan la vida de la célula, se sigue que, si modificamos o introducimos un gen en un ser vivo, alteramos su “vida” (en el caso de *E. coli*, que venimos tomando como ejemplo ilustrativo, de ser una bacteria insignificante de origen intestinal, a ser un microorganismo de la industria farmacéutica responsable de la producción de insulina humana).

Básicamente, hacer ingeniería genética con un ser vivo es introducirle un **gen** procedente generalmente de otro organismo vivo. Para ello se utiliza un soporte que transporta el gen, lo que se denomina un **vector de transformación**, que se introduce en el organismo diana mediante un **método de transformación**, resultando un organismo modificado genéticamente o **transgénico**. Volviendo a nuestro ejemplo, la bacteria o la levadura que produce la insulina humana es transgénica.

No siempre se puede modificar un proceso mediante ingeniería genética. Por ejemplo, los dinoflagelados son particularmente ricos en citotoxinas potencialmente interesantes; pues bien, hoy por hoy, no es susceptible alterar una yesotoxina, pongamos por caso, sencillamente porque desconocemos el gen o genes que controlan su ruta de síntesis. Por tanto, el primer requisito es tener un conocimiento básico de los genes/enzimas implicados en el proceso metabólico que pretendemos modificar. Supuesto que disponemos de esta información básica, el segundo requisito es tener la especie “adecuada” para ser genéticamente modificada. Entendemos la adecuación en un doble sentido: “adecuación industrial”, o sea, una capacidad contrastada para ser cultivada a gran escala; y “adecuación genética”, es decir, que esté desarrollada la tecnología de manipulación genética para el organismo (la microalga) que queremos modificar.

Asumamos que los requisitos para hacer ingeniería genética con la especie que hemos elegido están dados (o, al menos, son razonablemente verosímiles). Pues bien, antes de plantearnos el proyecto de trabajo tenemos que decidir acerca de una serie de elementos necesarios.

- El organismo donador, el que va a ser nuestra fuente del gen o genes clave.
- El gen o genes que vamos a utilizar en base a nuestro objetivo.
- Los elementos genéticos reguladores que deben asegurar una expresión adecuada del gen (o genes).
- El vector de transformación, que vamos a utilizar como vehículo para introducir los genes.
- El método de transformación, que vamos a usar para introducir el vector con las construcciones.
- Los genes de selección junto con el método de selección que nos permita detectar las microalgas transformadas.

### **Un ejemplo: un proyecto de biodiesel microalgal**

Muchas de las expresiones anteriores pueden resultar ambiguas o poco claras. Ilustrémoslas con el caso de un proyecto concreto que estamos desarrollando.

Se trata de generar, mediante ingeniería genética, una microalga transgénica pensada para producir biodiesel.

Para entender el planteamiento del proyecto debemos previamente desarrollar los fundamentos en que se basa. Debemos saber que el biodiesel es una mezcla de ésteres, generalmente metílicos, de ácidos grasos, que se obtiene a partir de un aceite. Por tanto, para producir biodiesel microalgal necesitamos aceite de microalgas, luego el objetivo es modificar genéticamente una microalga para aumentar tanto como se pueda su contenido en aceite. El aceite, por otra parte, está constituido en casi su totalidad por triacilgliceroles (TAG) cuyo proceso de biosíntesis es bien conocido.

En las plantas terrestres se sabe que la síntesis de TAG depende críticamente de la actividad diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) para la que existen tres familias génicas distintas denominadas *DGAT1*, *DGAT2* y *DGAT3* (Mañas-Fernández et al.,

2009). También se sabe que el peso de la síntesis de TAG descansa en las proteínas DGAT1 y DGAT2, teniendo la tercera, DGAT3, una contribución minoritaria. No está claro, en cambio, entre DGAT1 y DGAT2, cual es la más determinante en la síntesis de TAG. De hecho, parece ser una cuestión específica de especie, en el sentido de que según la especie vegetal de que se trate, es una u otra de ellas la responsable del peso de la síntesis de TAG (Mañas-Fernández et al., 2009).

A la luz de estos hechos conocidos, parece razonable que los genes a utilizar para transformar la especie receptora deben ser *DGAT1* y *DGAT2*.

La especie receptora que hemos elegido es *S. almeriensis*, un alga verde, evolutivamente bastante cercana a la microalga modelo *C. reinhardtii*. ¿Por qué *S. almeriensis*? Porque se ha demostrado su capacidad para cultivarse a gran escala en cultivo continuo y a lo largo del año (adecuación industrial); porque crece muy rápidamente (elevada productividad) (Sánchez et al., 2008) y porque, si bien no se ha llevado a cabo su transformación genética, ésta es verosímil (adecuación genética). Decimos que es verosímil basándonos en las siguientes evidencias: es una clorofita y todas las clorofitas con las que se ha intentado su transformación genética, hasta el momento, han sido eficazmente transformadas. De hecho, con mucho, la gran mayoría de las microalgas transformadas con éxito son clorofitas. Más aún, las dos únicas especies transformadas mediante *A. tumefaciens* también han sido algas verdes (Kumar et al., 2004, Kathiresan et al., 2009).

Volviendo de nuevo a los genes a utilizar, estaba claro que serían *DGAT1* y *DGAT2* pero, ¿de qué procedencia?. Para dar con la respuesta más adecuada debemos de nuevo repasar el conocimiento previo relevante para el asunto. En este sentido, está perfectamente claro que en el organismo receptor funcionan mejor los genes cuanto más cercanos son evolutivamente hablando. De hecho, para este caso concreto, si se pudiera, lo mejor sería disponer de los propios genes de *S. almeriensis*. Podría intentarse la clonación de dichos genes pero es mucho más sencillo y, probablemente, igual de eficaz, usar genes de *C. reinhardtii* cuyos genomas (nuclear, plastidial y mitocondrial) están secuenciados, siendo *C. reinhardtii* un pariente relativamente cercano de *S. almeriensis*. De modo que, haciendo una búsqueda en el genoma nuclear de *C. reinhardtii* mediante BLASTp, utilizando como “sondas” una DGAT1 y una DGAT2 de plantas superiores, detectamos un gen ortólogo a DGAT2 que hemos denominado *CrDGAT2* y éste sería uno de los que utilizaríamos. Por el contrario, no se encuentra ningún ortólogo a *DGAT1*



de modo que hemos elegido para ensayar su efecto, *EpDGAT1*, un gen de una planta superior (*Echium pitardii*, Boraginaceae), que clonamos y ensayamos en levaduras en las que fue capaz de incrementar hasta en un 100% el contenido en TAG (Mañas-Fernández et al., 2009). Por otra parte, también se sabe que es fundamental respetar el sesgo de codones del organismo receptor (Heitzer et al., 2007) porque tiene una influencia considerable en el nivel de acumulación de la proteína heteróloga, hasta el punto que actualmente es habitual optimizar los genes recombinantes (Specht et al., 2010). De modo que pensamos que se debería de encargar la síntesis de *EpDGAT1* con los codones optimizados para *Scenedesmus* y utilizar esa versión optimizada.

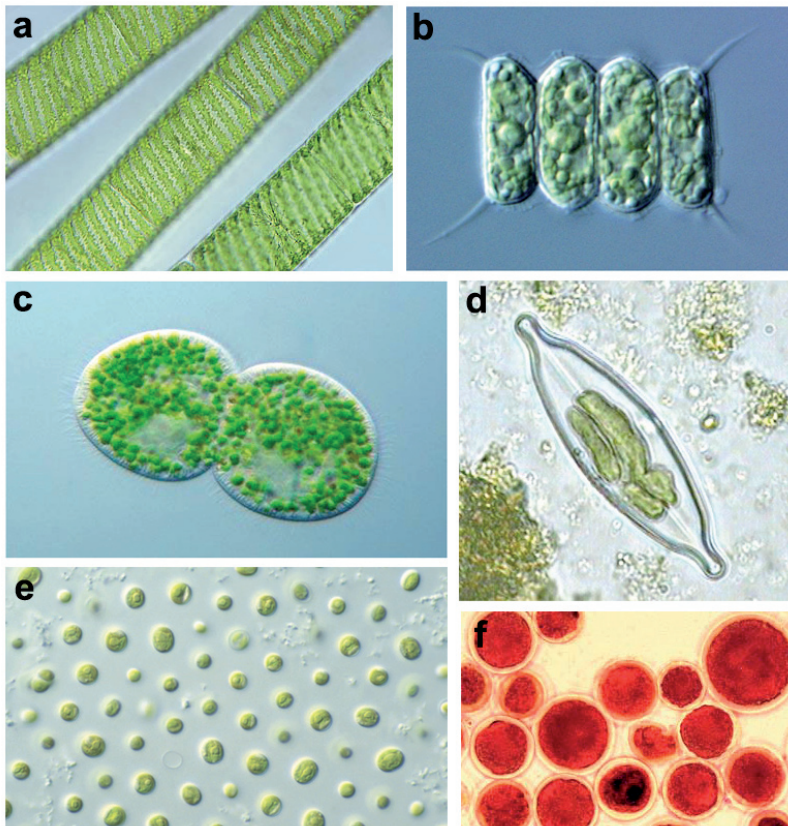


Figura 1. Algunas microalgas objeto de aplicaciones biotecnológicas. a) *Spirogyra* sp. (actualmente *Arthrospira*); b) *Scenedesmus* sp.; c) *Chlorella* sp.; d) *Phaeodactylum tricornutum*; e) *Nannochloropsis* sp.; f) *Haematococcus* sp.

Respecto de las secuencias reguladoras, se sabe que no hay problemas con las secuencias en 3' (terminadores), pues prácticamente todas las que se han ensayado, de muy diferentes orígenes, han funcionado en microalgas (León y Fernández, 2007). En cambio, es crítica la elección del promotor. El doble promotor  $\beta 5S$  del virus del mosaico de la coliflor, presente en muchos vectores, ha demostrado ser funcional en todas las algas verdes en que se ha utilizado (León y Fernández, 2007). Pero, en cualquier caso, se trata de un promotor heterólogo, ajeno a las clorofitas, por lo que es razonable suponer que un promotor potente de las propias algas verdes, puede dirigir de modo más eficiente la transcripción del gen al que va fusionado. Es por ello que, además del promotor  $\beta 5S$ , cabría considerar ensayar, con propósito de mejorar la expresión, un promotor propio de algas verdes. En este sentido, creemos que un buen candidato sería el promotor de la subunidad menor de la ribulosa-bifosfato carboxilasa, *RbcS2*, procedente también de *C. reinhardtii*. Se trata de un promotor potente que ya ha sido ensayado con éxito en otras algas verdes (León y Fernández, 2007).

En cuanto al vector de transformación/expresión sería un plásmido binario como los de la serie pCAMBIA que, a las ventajas generales que tienen este tipo de vectores, suma, la sencillez para hacer las construcciones que queremos ensayar y, el que ya han sido probados con éxito en la transformación de otras algas verdes y, en especial, en las dos en las que se ha utilizado *A. tumefaciens* como método de transformación genética (Kumar et al., 2004, Kathiresan et al., 2009).

Finalmente, como método de transformación preferido, se plantea que sería ideal el mediado por *A. tumefaciens* que ofrece una serie de ventajas indiscutibles. La transformación vía *A. tumefaciens* debería de funcionar, porque ya lo ha hecho en las dos clorofitas en que se ha intentado (Kumar et al., 2004, Kathiresan et al., 2009). No obstante, puesto que es crítico conseguir transformar, se debe de tener prevista una alternativa para el caso improbable de que no funcione la vía de *A. tumefaciens*. En ese sentido, puede considerarse como alternativa el microbombardeo, que es el procedimiento habitualmente utilizado con algas verdes y acredita ser universalmente eficaz (León y Fernández, 2007).

Con este planteamiento pensamos que es verosímil incrementar significativamente el contenido en TAG en *S. almeriensis*, como mínimo un 30%. En cualquier caso, seguiremos probablemente estando muy lejos de poder competir con otras fuentes de biodiesel. Sin embargo, creemos que lo más importante que puede resultar

de este proyecto es, —más allá de la “*proof of concept*” de que se puede aumentar sensiblemente el contenido en aceite de una microalga mediante ingeniería genética—, el desarrollo de las herramientas de ingeniería genética para una especie microalgal, *S. almeriensis*, con características innatas para ser un auténtico microorganismo industrial y no un mero modelo de laboratorio.

### **Agradecimientos**

Este trabajo ha contado con la financiación de la Consejería de Economía, Innovación y Ciencia de la Junta de Andalucía (proyecto CVI-5869).

## Referencias bibliográficas

- Alonso D.L., Belarbi E.H., Fernandez-Sevilla J.M., Rodriguez-Ruiz J., Grima E.M. (2000) Acyl lipid composition variation related to culture age and nitrogen concentration in continuous culture of the microalga *Phaeodactylum tricoratum*. *Phytochemistry*, 54(5):461-471.
- Alonso D.L., Belarbi E.L., Rodriguez-Ruiz J., Segura C.I., Gimenez A. (1998) Acyl lipids of three microalgae. *Phytochemistry*, 47(8):1473-1481.
- Alonso D.L. y Maroto F.G. (2000) Plants as 'chemical factories' for the production of polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Advances*, 18(6):481-497.
- Brooijmans R.J.W. y Siezen R.J. (2010) Genomics of microalgae, fuel for the future?: Genomics update. *Microbial Biotechnology*, 3(5):514-522.
- Chisti Y. (2008) Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, 26(3):126-131.
- Courchesne N.M.D., Parisien A., Wang B., Lan C.Q. (2009) Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches. *Journal of Biotechnology*, 141(1-2):31-41.
- Heitzer M., Eckert A., Fuhrmann M., Griesbeck C. (2007) Influence of codon bias on the expression of foreign genes in microalgae. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 616:46-53.
- Kathiresan S., Chandrashekar A., Ravishankar G.A., Sarada R. (2009) *Agrobacterium*-mediated transformation in the green alga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae, Volvocales). *Journal of Phycology*, 45(3):642-649.
- Kumar S.V., Misquitta R.W., Reddy V.S., Rao B.J., Rajam M.V. (2004) Genetic transformation of the green alga - *Chlamydomonas reinhardtii* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Science*, 166(3):731-738.
- León R. y Fernández E. (2007) Nuclear transformation of eukaryotic microalgae: Historical overview, achievements and problems. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 616(1):1-11.
- Mañas-Fernández A., Vilches-Ferrón M., Garrido-Cárdenas J.A., Belarbi E.H., Alonso D.L., García-Maroto F. (2009) Cloning and molecular characterization of the acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) gene from *Echium*. *Lipids*, 44(6):555-568.

- Radakovits R., Jinkerson R.E., Darzins A., Posewitz M.C. (2010) Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production. *Eukaryotic Cell*, 9(4):486-501.
- Raja R., Hemaiswarya S., Kumar N.A., Sridhar S., Rengasamy R. (2008) A perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Critical Reviews in Microbiology*, 34(2):77-88.
- Rodolfi L., Zittelli G.C., Bassi N., Padovani G., Biondi N., Bonini G., Tredici M.R. (2009) Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1):100-112.
- Roessler P.G., Brown L.M., Dunahay T.G., Heacox D.A., Jarvis E.E., Schneider J.C., Talbot S.G., Zeiler K.G. (1994) Genetic-engineering approaches for enhanced production of biodiesel fuel from microalgae. *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, 566:255-270.
- Roettig A., Wenning L., Broecker D., Steinbuchel A. (2010) Fatty acid alkyl esters: perspectives for production of alternative biofuels. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6):1713-1733.
- Rosenberg J.N., Oyler G.A., Wilkinson L., Betenbaugh M.J. (2008) A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(5):430-436.
- Sánchez J.F., Fernández-Sevilla J.M., Ación F.G., Cerón M.C., Pérez-Parra J., Molina-Grima E. (2008) Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: Influence of irradiance, dilution rate and temperature. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(5):719-729.
- Specht E., Miyake-Stoner S., Mayfield S. (2010) Micro-algae come of age as a platform for recombinant protein production. *Biotechnology Letters*, 32(10):1373-1383.
- Wijffels R.H. y Barbosa M.J. (2010) An outlook on microalgal biofuels. *Science*, 329(5993):796-799.



## Sección II

# APLICACIONES INDUSTRIALES







# Captación de CO<sub>2</sub> y producción de biocombustibles a partir de microalgas

Francisco Gabriel Acién Fernández, Cynthia V. González López y José M. Fernández-Sevilla

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Almería, Cañada San Urbano S/N, 04120 Almería, España

Dirección e-mail: facien@ual.es

## Resumen

En este capítulo se analiza la posibilidad de utilizar microalgas como microorganismos productores de biocombustibles a partir de CO<sub>2</sub> procedente de ciclos de combustión. Resulta evidente que el continuo alza en los precios del crudo y la preocupación que cada vez más existe en cuanto al cambio climático derivado del uso de combustibles fósiles obligan a la sociedad a buscar fuentes alternativas de energía más sostenibles y medioambientalmente amigables. En este punto, las microalgas son una interesante opción ya que son los mayores fijadores de CO<sub>2</sub> del planeta, además de poder ser utilizadas para la obtención industrial de biocombustibles como biodiesel, bioetanol y biogás. Sin embargo, actualmente la producción mundial de estos microorganismos se destina principalmente a aplicaciones de elevado valor como alimentación humana, acuicultura y cosmética, por lo que el salto de escala que es preciso dar para poder competir en el mercado de los biocombustibles supone un reto tecnológico de enorme magnitud. Los aspectos más importantes a investigar y desarrollar para alcanzar este objetivo se centran en la selección y manejo de los propios microorganismos, el diseño y operación de los reactores, el uso eficiente de los gases de combustión y el desarrollo de procesos de aprovechamiento integral de la biomasa. Las investigaciones a realizar se deben dirigir tanto hacia una mejor comprensión de los fundamentos del proceso como hacia un mejor desarrollo de los sistemas productivos de valorización de la biomasa, sin olvidar la necesidad de un aumento de escala de varios órdenes de magnitud respecto a los actuales sistemas utilizados. La producción de microalgas con fines energéticos es por tanto una tecnología en desarrollo, emergente, y que requiere de un apoyo y esfuerzo en investigación a medio y largo plazo para poder convertirse en una alternativa al uso de combustibles fósiles.

## Escenario actual

Actualmente existe una elevada preocupación por el calentamiento global del planeta provocado en gran parte por las emisiones de gases de efecto invernadero como el  $\text{CO}_2$ . Dicho compuesto es el que presenta mayor contribución al calentamiento global ya que es emitido en cantidades muy superiores a las de otros gases que presentan mayor potencial de calentamiento como el  $\text{CH}_4$  y el  $\text{NO}_x$ . Las emisiones de  $\text{CO}_2$  aumentaron un 80 % entre 1970 y 2004, y supusieron el 77 % del efecto invernadero derivado de la actividad del hombre (IPCC, 2007). La concentración atmosférica global de  $\text{CO}_2$  se incrementó desde 280 ppm en la era preindustrial a 379 ppm en 2005 y su velocidad de crecimiento va en ascenso (Figura 1). Los gases de efecto invernadero (GEI) se generan tanto de forma natural como por la acción del hombre. Teniendo en cuenta los GEI generados únicamente por el hombre, la quema de combustibles fósiles es la mayor fuente de emisiones de GEI aportando en torno al 75 % del dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y gran parte del metano ( $\text{CH}_4$ ) y óxido nítrico ( $\text{N}_2\text{O}$ ) emitidos por el hombre (IPCC, 2001) (Figura 2).

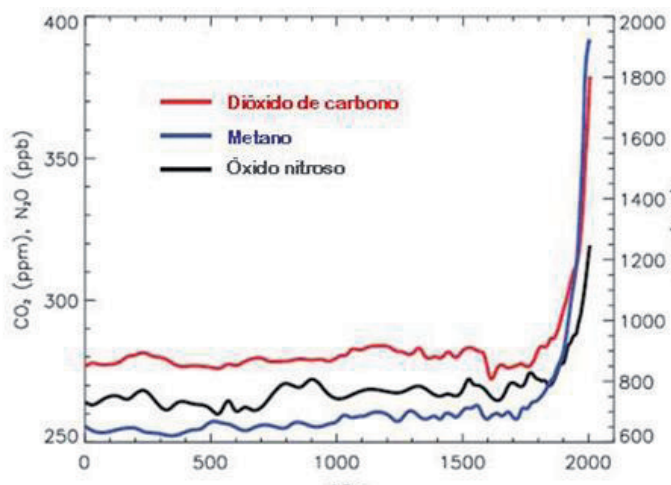


Figura 1. Concentración de dióxido de carbono, metano y óxido nítrico desde el año 0 al 2005 (IPCC, 2007).

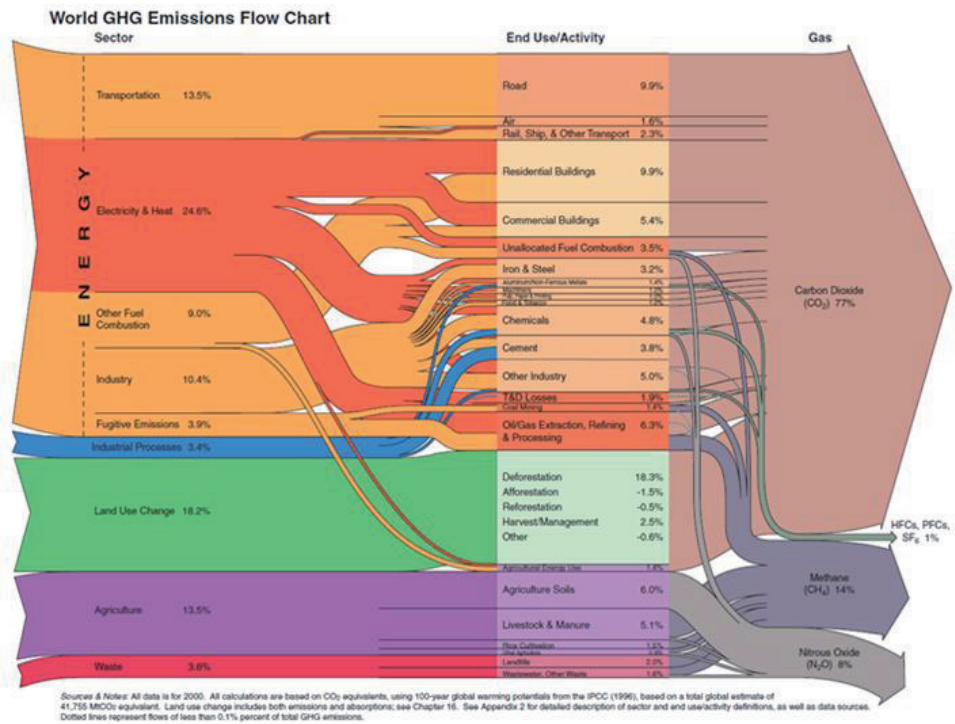


Figura 2. Distribución de la generación de gases de efecto invernadero por sectores. (IPCC, 2007).

Para resolver este problema se han puesto en marcha diversos planes como la Estrategia Española de Cambio Climático y Energía Limpia Horizonte 2007-2012 -2020, que ponen de manifiesto la necesidad de realizar campañas de concienciación del coste económico y medioambiental de la energía para reducir su consumo, desarrollar nuevas tecnologías que permitan generar energía con menores niveles de emisión de CO<sub>2</sub>, así como poner en práctica procesos que permitan retirar y almacenar, o valorizar, el CO<sub>2</sub> de los gases de combustión generados. Respecto al primer aspecto, supone una labor de información y concienciación que toda la sociedad en su conjunto debe realizar de forma unívoca. El segundo aspecto implica una sustitución tecnológica que ya está siendo puesta en marcha con la instalación de ciclos combinados de gas natural y plantas de gasificación integrada de carbones. Así, la generación de energía en centrales térmicas de carbón tradicionales supone el nivel de emisiones más elevado, de 0,95 kgCO<sub>2</sub>/Kwh, mientras que el empleo de fuel implica un nivel

de emisiones del 0,75 kgCO<sub>2</sub>/Kwh, y el empleo de centrales de gas natural de ciclo combinado, mucho más eficientes, conlleva niveles de emisiones de 0,35 kgCO<sub>2</sub>/Kwh. Sin embargo, esta sustitución no puede realizarse a corto plazo por su elevado coste económico, lo que obligará al pago de cuotas de CO<sub>2</sub> a terceros países (aprox. 25 €/TmCO<sub>2</sub>), o la compra de energía eléctrica a países con mayor nivel de desarrollo nuclear, aumentando en todo caso el costo y la dependencia energética de España respecto a terceros países ([www.ceoe.es](http://www.ceoe.es)). En cuanto al tercer aspecto, a día de hoy se han desarrollado procesos de captura y almacenamiento del CO<sub>2</sub> procedente de los gases de combustión que, aunque viables, implican un aumento del autoconsumo de los procesos, lo que supone una disminución de la eficiencia energética y un aumento del 30-50% del coste de la energía (Gambini y Vellini, 2000, Metz et al., 2007). Ello ha obligado a buscar otras alternativas para la captura y almacenamiento o valorización del CO<sub>2</sub>, por lo que se están llevando a cabo estudios a nivel mundial por diferentes grupos y organismos, analizando desde la oxidación, a la fijación del CO<sub>2</sub> por masas forestales, a su retención en el mar o la fijación fotosintética del CO<sub>2</sub>. En este sentido, los microorganismos fotosintéticos, como microalgas o cianobacterias, son únicos y muy valiosos, ya que son los mayores transformadores de CO<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> del planeta, con rendimientos de fijación de carbono más de cinco veces superiores a las mejores plantaciones de maíz, además de ser la principal fuente de biomasa y uno de los grupos ecológicos más variables del mundo (Pulz, 2001). En este sentido, todos los países están apoyando proyectos de investigación e innovación en los que se desarrollen y evalúen procesos biológicos de aprovechamiento de los gases de combustión, existiendo empresas emergentes en este sector. Así, el uso de microorganismos fotosintéticos con elevadas velocidades de crecimiento, cuyo contenido en carbono es superior al 50%, puede ser una alternativa viable a la eliminación de CO<sub>2</sub> de gases de combustión.

### **Interés de las microalgas como fuente de biocombustibles limpios**

Los cultivos de microalgas han sido propuestos desde hace más de cincuenta años como fuente de combustibles renovables para reducir el efecto del calentamiento global (Oswald y Golueke, 1960). La mayor ventaja del uso de microalgas para la eliminación de GEI es que necesitan fuentes de CO<sub>2</sub>, como los gases de

combustión de centrales térmicas, y presentan altas productividades consumiendo pocos recursos. Esto motivó que desde mediados de los años 70 el Departamento de Energía de los Estados Unidos de América (DOE) financiase proyectos de investigación en la producción de combustibles a partir de microalgas, comenzando con la producción de microalgas y su posterior transformación en biogás mediante digestión anaerobia (Benemann et al., 1979). Se desarrolló un proceso de autofloculación que permitía reducir notablemente el coste de cosechado de la biomasa y, posteriormente, la investigación se centró en los sistemas de producción de biodiesel mediante el “Aquatic Species Program” (ASP) (Sheehan et al., 1998).

Durante los años 90 se llevó a cabo en Japón un gran proyecto de investigación y desarrollo sobre la biofijación de CO<sub>2</sub> con microalgas gestionado por el “Research Innovative Technologies of the Earth” (RITE). El programa RITE se dirigió especialmente al uso de fotobiorreactores cerrados y, en particular, a sistemas basados en concentradores de radiación solar mediante espejos y la transmisión de dicha energía a los cultivos a través de cables de fibra óptica (Usui e Ikenouchi, 1996).

En la última década se siguen impulsando proyectos dirigidos a utilizar microalgas para la eliminación de CO<sub>2</sub> de gases de combustión, aunque actualmente la atención se centra en maximizar la velocidad de fijación de CO<sub>2</sub> más que en la producción de combustibles como el biodiesel. En Japón, la “Mitsubishi Heavy Industries” ha financiado proyectos en este sentido (Nakajima y Ueda, 2000). En los E.E.U.U. ha sido el DOE-NETL (Laboratorio Nacional de Tecnología Energética) quien ha financiado proyectos basados en el empleo de fotobiorreactores cerrados (Nakamura et al., 2001) incluyendo el empleo de fibra óptica, así como un macroproyecto en el “Pacific Northwest National Laboratory”. El objetivo del “DOE-NETL Carbon Sequestration Program” es el de desarrollar tecnologías de secuestro de CO<sub>2</sub> con un coste de 2,7 \$ por tonelada de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, actualmente, la tecnología de eliminación de CO<sub>2</sub> con microalgas para su transformación en biocombustibles no puede alcanzar este objetivo si no es mediante la mejora de la economía del proceso por valorización de los co-productos y/o servicios adicionales obtenidos (Benemann, 2003).

## Fundamentos del proceso

La utilización de microorganismos fotosintéticos para la fijación de  $\text{CO}_2$  se basa en el proceso natural de fotosíntesis, convirtiendo la luz y el  $\text{CO}_2$  en productos útiles como carbohidratos, hidrógeno y oxígeno. La fijación fotosintética de  $\text{CO}_2$  está catalizada por la enzima Rubisco.

Los microorganismos fotosintéticos más importantes son las cianobacterias y las microalgas, los cuales son los mayores fijadores naturales de dióxido de carbono del planeta. Así, la productividad media de una masa forestal puede alcanzar las 10 toneladas de biomasa por hectárea y año, lo que supone una fijación de  $\text{CO}_2$  de 17 t/Ha·año. Sin embargo, la utilización de microorganismos fotosintéticos alcanza una productividad de 50 t/Ha·año en reactores abiertos, por lo que demuestran ser una alternativa mucho más eficaz. Además, estos sistemas presentan la ventaja de que no requieren terrenos ni aguas de buena calidad, por lo que no compiten por los recursos propios de la agricultura (Hall y House, 1993). Para que este sistema funcione adecuadamente hay que: (i) elegir un microorganismo con elevada velocidad de crecimiento y robustez, (ii) optimizar los sistemas de cultivo para conseguir la mayor fijación de  $\text{CO}_2$  posible y (iii) definir las vías de utilización de la biomasa generada (Figura 3).

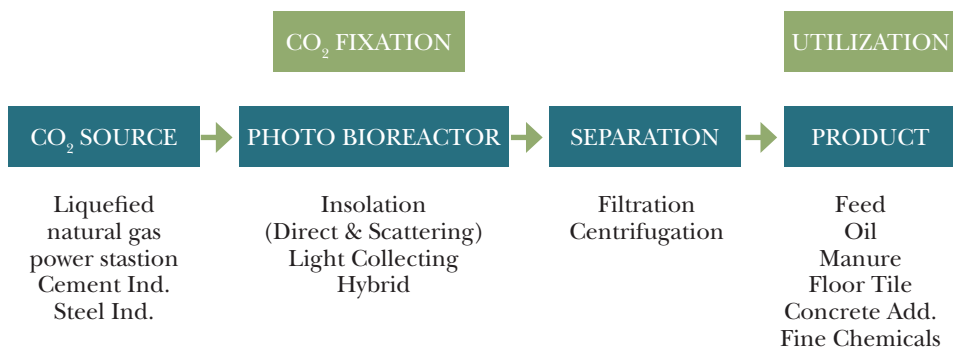


Figura 3. Concepto de fijación biológica de  $\text{CO}_2$  y su transformación en biocombustibles utilizando microalgas (Otsuki, 2001).

1. El objetivo a alcanzar para hacer de este concepto un proceso industrial realizable es conseguir un rendimiento energético y económico del mismo que lo haga viable. Para ello los aspectos principales que se deben resolver son:
2. La disponibilidad de fuentes de CO<sub>2</sub> suficientes en calidad y cantidad así como la correcta gestión de estos gases para que no supongan una reemisión a la atmósfera.
3. La selección y manejo de microorganismos capaces de transformar el carbono inorgánico en orgánico a la máxima velocidad.
4. El diseño de reactores de bajo coste y elevada eficiencia energética, que permitan operar de forma estable y continuada los sistemas de cultivo.
5. El desarrollo de procedimientos de valorización de la biomasa más eficientes, entendidos como el aprovechamiento máximo de la biomasa y su conversión en biocombustibles con elevados rendimientos.

### **Utilización de gases de combustión como fuente de CO<sub>2</sub>**

Para la producción de biomasa de microalgas en grandes cantidades hay que tener en cuenta que se necesitan enormes cantidades de CO<sub>2</sub>. Así, estequiométricamente son necesarios 1,8 kg de CO<sub>2</sub> por cada kg de biomasa seca de microalgas a producir, por lo que para reemplazar sólo el 10% del consumo de diesel de petróleo de España (31,1 ·10<sup>6</sup> Tn/año, Ministerio de Industria, 2009), por biodiesel de microalgas harían falta no menos de 17,3·10<sup>6</sup> Tn/año de biomasa de microalgas, lo que supone unas necesidades mínimas de 35,2·10<sup>6</sup> Tn/año de CO<sub>2</sub>, lo que equivale a las emisiones anuales de 5 centrales térmicas de carbón de 1 GW.

Esta elevada necesidad de CO<sub>2</sub> obliga a usar los gases de combustión como fuente de CO<sub>2</sub>. El esquema más simple de fijación fotosintética de CO<sub>2</sub> con microalgas o cianobacterias consiste en inyectar directamente el gas de combustión en el cultivo. Esto provoca la acidificación y el calentamiento del mismo, por lo que se han llevado a cabo numerosos trabajos encaminados a aislar y evaluar estirpes capaces de soportar estas condiciones, como *Chlorella* sp., *Synechocystis aqualis* o *Chlorococcum littorale* (Murakami e Ikenouchi, 1997). En este modo de operación, el pH del medio de cultivo se acidifica hasta valores de pH 3 a 5, mientras que la temperatura oscila entre 20 y 50°C, lo cual limita el número de especies capaces de

crecer en estas condiciones, e incluso la velocidad de crecimiento y eficiencia de las que pueden hacerlo. Esto ha llevado a que la mayoría de los trabajos se enfoquen a la inyección controlada del  $\text{CO}_2$  o directamente de los gases de combustión.

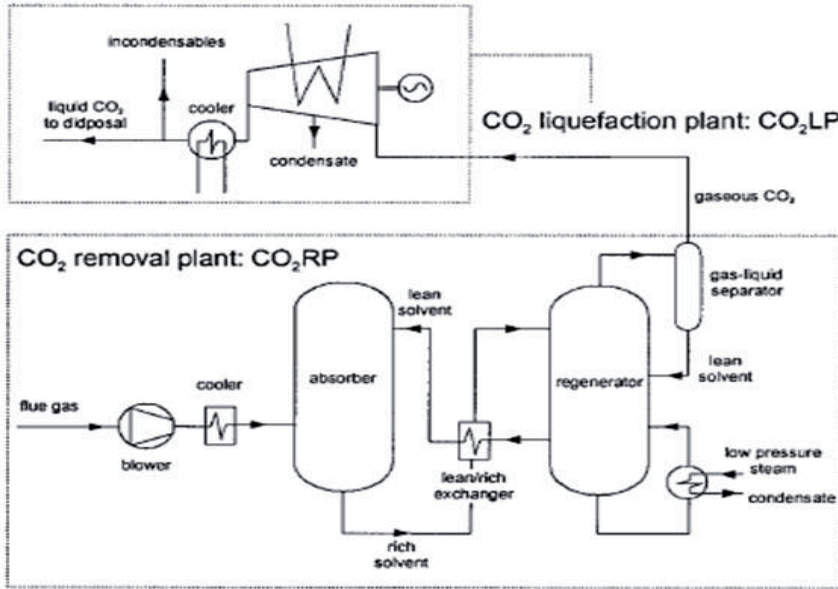


Figura 4. Esquema del sistema de separación del  $\text{CO}_2$  a partir de gases de combustión (Gambini y Vellini, 2000).

La obtención del  $\text{CO}_2$  a partir del gas de combustión mediante absorción con aminas es un proceso que hoy día se está implantando a nivel industrial como método de separación del  $\text{CO}_2$  contenido en los gases de combustión para su almacenamiento geológico (Figura 4). Sin embargo, además de conllevar problemas técnicos aún por resolver, este tipo de procesos implican un elevado consumo energético, cuantificado en  $4 \text{ MJ/kgCO}_2$ , que reduce el rendimiento energético de los ciclos de combustión y penalizan energéticamente este producto para ser utilizado posteriormente. Así, la captura y separación del  $\text{CO}_2$  contenido en los gases de combustión representa el 37% del total de energía que se puede almacenar en la biomasa de microalgas, por lo que forzosamente es necesaria la utilización directa de gases de combustión. En los últimos años, el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería ha desarrollado una tecnología de depuración de gases de combustión que permite retener en una fase acuosa



alcalina de composición optimizada hasta el 80% del CO<sub>2</sub> presente en los gases de combustión, así como el 90% del SO<sub>2</sub>, y más del 50% del NO<sub>x</sub> presente en dichos gases. Esta metodología requiere menos del 3% de la energía utilizada por los sistemas actuales de captura basados en etanolaminas por lo que elimina el problema de aumento del autoconsumo y coste de la energía. Además, no emplea etanolaminas ni ningún otro compuesto que pueda resultar tóxico por lo que la fase acuosa resultante es biocompatible para su posterior depuración biológica mediante microorganismos fotosintéticos, y la transformación de los compuestos inorgánicos absorbidos en materia orgánica susceptible de ser valorizada. Dicho proceso ha sido patentado por ENDESA Generación (nº patente P200800753, PCT/ES2009/070058). Este rendimiento de depuración del 80% es muy alto sobre todo cuando se compara con los valores obtenidos incluso con inyección controlada de CO<sub>2</sub> puro. Así, los sistemas utilizados hasta ahora en este modo de operación han mostrado valores máximos de utilización del CO<sub>2</sub> del 38% (Doucha et al., 2005), por lo que gran parte del CO<sub>2</sub> es reemitido a la atmósfera.

### **Selección de microorganismos con elevada velocidad de fijación de CO<sub>2</sub>**

La selección del microorganismo es un aspecto fundamental ya que el microorganismo es el “reactor” del proceso. Es por ello que se han realizado numerosos estudios dirigidos a la búsqueda de microorganismos adecuados, con dos aproximaciones principales. La primera consiste en buscar microorganismos capaces de crecer en ambientes ácidos, con temperaturas elevadas y en presencia de óxidos de nitrógeno y azufre típicos de gases de combustión. Los mejores resultados obtenidos siguiendo esta metodología se han alcanzado con la microalga *Chlorococcum littorale*, alcanzándose velocidades de fijación de 0,5 TmCO<sub>2</sub>/Ha·día (Kurano et al., 1995). Sin embargo, este modo de operación impone problemas técnicos relacionados con el aporte del gas de combustión al cultivo de microalgas y la eficiencia de absorción de contaminantes en el cultivo, que resulta inferior al 10% (Zhang et al., 2001). Esta tecnología sigue siendo explorada hoy día por su sencillez, siendo la metodología más ampliamente utilizada por las empresas que empiezan a surgir en este campo. Así, se buscan especies de microalgas resistentes a las condiciones ambientales propias de las centrales de combustión o directamente se burbujan gases de combustión en aguas propias de centrales

térmicas para favorecer el desarrollo de cepas autóctonas y utilizarlas en el proceso de biofijación.

La segunda opción consiste en seleccionar y operar adecuadamente microorganismos de elevada velocidad de crecimiento, a las que se les suministre el CO<sub>2</sub> procedente de los gases de combustión, pero sin que ello repercuta en una variación de las condiciones de cultivo respecto a las requeridas por el microorganismo. Este modo de operación requiere un adecuado control del suministro de CO<sub>2</sub> pero permite utilizar un mayor número de especies y en sus condiciones óptimas de cultivo. Esta aproximación ha sido la utilizada por la compañía EniTechnology, la cual ha seleccionado la microalga *Tetraselmis suecica* y la ha cultivado tanto en reactores tubulares como en reactores abiertos, suministrando el CO<sub>2</sub> a demanda como gases de combustión, y alcanzando velocidades de fijación de CO<sub>2</sub> de 0,45 TmCO<sub>2</sub>/Ha·día (Pedroni et al., 2005). Utilizando reactores verticales y la cianobacteria *Synechocistis aquatilis* se han alcanzado velocidades de fijación de CO<sub>2</sub> de 0,6 TmCO<sub>2</sub>/Ha·día (Zhang, 2001), mientras que con *Chlorella vulgaris* y en reactores abiertos inclinados, la tasa de fijación de CO<sub>2</sub> es de 0,8 TmCO<sub>2</sub>/Ha·día (Doucha et al., 2005).

Tabla 1. Contenido en carbohidratos de algunas cianobacterias (Vargas et al. 1998).

| Strain                         | Carbohydrates (% of dry weight) |
|--------------------------------|---------------------------------|
| <i>Anabaena</i> sp. ATCC 33047 | 28.0 ± 2.0                      |
| <i>Anabaena variabilis</i>     | 22.3 ± 2.5                      |
| <i>Anabaenopsis</i> sp.        | 16.3 ± 1.5                      |
| <i>Nodularia</i> sp. (Chucula) | 16.9 ± 2.6                      |
| <i>Nostoc commune</i>          | 37.6 ± 2.5                      |
| <i>Nostoc paludosum</i>        | 26.6 ± 1.9                      |
| <i>Nostoc</i> sp. (Albufera)   | 26.8 ± 4.0                      |
| <i>Nostoc</i> sp. (Caquena)    | 23.3 ± 1.7                      |
| <i>Nostoc</i> sp. (Chile)      | 23.3 ± 2.0                      |
| <i>Nostoc</i> sp. (Chucula)    | 15.7 ± 1.8                      |
| <i>Nostoc</i> sp. (Llaita)     | 20.2 ± 1.5                      |
| <i>Nostoc</i> sp. (Loa)        | 32.1 ± 1.2                      |

A la hora de seleccionar un microorganismo hay que tener en cuenta tanto sus condiciones óptimas de cultivo como su composición bioquímica promedio, ya que ésta determinará en gran medida las posibles aplicaciones de la biomasa producida. En general las cianobacterias son organismos más simples, incluso con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, pero que producen menos lípidos y más carbohidratos (Tabla 1), mientras que las microalgas son organismos más complejos, con una mayor riqueza en cuanto a su composición bioquímica, y sobre todo mayor contenido en lípidos (Tabla 2). Dentro de estas normas generales, la composición de dichos lípidos y/o carbohidratos puede variar mucho de una especie a otra e incluso dentro de una misma especie en función de las condiciones de cultivo. Por lo tanto, la correcta optimización del manejo de cada microorganismo resulta esencial para un correcto desarrollo del proceso productivo.

Tabla 2. Contenido en lípidos de algunas microalgas (Chisti, 2008).

| Strain                          | Oil (% of dry weight) |
|---------------------------------|-----------------------|
| <i>Botryococcus braunii</i>     | 25-75                 |
| <i>Chlorella sp.</i>            | 28-32                 |
| <i>Cryptocodinium cohnii</i>    | 20                    |
| <i>Cylindrotheca sp.</i>        | 16-37                 |
| <i>Dunaliella primolecta</i>    | 23                    |
| <i>Isochrysis sp.</i>           | 25-33                 |
| <i>Monallanthus salina</i>      | > 20                  |
| <i>Nannochloris sp.</i>         | 20-35                 |
| <i>Neochloris oleoabundans</i>  | 35-54                 |
| <i>Nitzschia sp.</i>            | 45-47                 |
| <i>Phaeodactylum tricomutum</i> | 20-30                 |
| <i>Schizochytrium sp.</i>       | 50-77                 |
| <i>Tetraselmis suecica</i>      | 15-23                 |

## Desarrollo de sistemas de cultivo eficientes

Respecto al sistema de cultivo, en los últimos 20 años se ha avanzado significativamente en el diseño y construcción de fotobiorreactores más baratos



Figura 5. Imágenes de las tres tecnologías más utilizadas de cultivo de microalgas: open raceways (izquierda), reactores verticales planos (centro) y reactores tubulares (derecha).

y eficientes, que permiten un mejor control de las condiciones de operación, y por tanto que permiten alcanzar productividades muy superiores (Figura 5). Hasta hace pocos años, sólo se explotaban reactores abiertos tipo “raceways”, de 10-20 cm de profundidad y 1-100 hectáreas de superficie, sin apenas control de las condiciones de operación, en los que las productividades máximas eran de 0,1 g/Ldía (Pulz, 2001). Hoy en día, debido a la mejora en los diseños y el abaratamiento de las materias primas, existen en operación reactores cerrados de cientos de metros cúbicos, con productividades más de 15 veces superiores, de hasta 2,0 g/l·día (Molina et al., 1994, Acien et al., 1998, Pulz, 2001). Más aún, se han diseñado y operado reactores cerrados, tubulares y planos, a escala de planta piloto con productividades de hasta 78 g/m<sup>2</sup>día, equivalente a una tasa de fijación de CO<sub>2</sub> de hasta 143 gCO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·día ó 1,43 TmCO<sub>2</sub>/día hectárea (Pulz, 2001). Cabe destacar aquí la tendencia actual hacia la utilización de materiales flexibles en la construcción del reactor, lo que reduce notablemente el coste y simplifica muchas labores de mantenimiento. En este sentido se ha desarrollado un reactor vertical plano en polietileno que permite reducir el coste del reactor en un orden de magnitud respecto a los sistemas tubulares cerrados manteniendo un nivel análogo de productividad e incluso con un menor consumo energético (Sierra et al., 2007). La mejora de este diseño en cuanto al aumento de la captación de luz y eficiencia de utilización de la misma, así como la reducción de su coste y consumo energético incrementará notablemente su rendimiento. Como alternativa se deben evaluar otras opciones como los reactores abiertos horizontales tradicionales y sistemas más eficientes en la captación y distribución de la luz.

Los fenómenos que reducen la productividad de los sistemas basados en microorganismos fotosintéticos son la ineficiente conversión de la energía luminosa en biomasa, la acumulación de oxígeno en el cultivo, el consumo de biomasa por

respiración en las zonas oscuras del reactor, y la insuficiente mezcla, que provoca un defectuoso suministro de CO<sub>2</sub> y nutrientes, así como fotoinhibición en las zonas externas del reactor intensamente iluminadas. De esta manera, para el diseño de un fotobiorreactor para la producción de microalgas o cianobacterias es necesario tener en cuenta la relación existente entre los diferentes factores que gobiernan estos fenómenos. Actualmente, la producción de microalgas a nivel industrial sólo se lleva a cabo en reactores abiertos con una productividad de biomasa en torno a 50 t/Ha·año. La eficiencia energética de los sistemas actuales de producción de biomasa supone que alrededor del 2 % de la energía solar recibida es fijada en forma de energía bioquímica, es decir, alrededor de 200 MJ/m<sup>2</sup>·año. Sin embargo, la eficiencia de la fotosíntesis puede llegar al 10 % de la radiación global, lo que permitiría incrementar dicho valor traduciéndose en tasas máximas de fijación de CO<sub>2</sub> de hasta 600 t/Ha·año.

Dentro del diseño de reactor otro aspecto fundamental es el suministro del CO<sub>2</sub>. Tanto el burbujeo continuo de gases de combustión como la inyección controlada a demanda de los mismos se ha demostrado altamente ineficaz en las aplicaciones llevadas a cabo hasta la actualidad, con valores máximo de utilización de CO<sub>2</sub> del 38% (Docuha, 2005). Sin embargo, la utilización de tecnologías de control predictivo basado en modelo MPC en reactores tubulares con microalgas ha permitido alcanzar eficiencias de uso del CO<sub>2</sub> de 98% (García et al., 2003), por lo que es necesario extender estas tecnologías de control a todos los diseños de reactor utilizados.

### **Desarrollo de procesos de aprovechamiento integral de la biomasa**

Por último, se deben desarrollar metodologías de recuperación de la materia orgánica así como definir las vías de aprovechamiento de la biomasa y/o productos generados, para que se pueda hacer viable económicamente el proceso. En este sentido, debido a la gran cantidad de CO<sub>2</sub> emitido por las centrales térmicas, la fijación de este CO<sub>2</sub> como biomasa daría lugar a producciones de microalgas que saturarían casi cualquier mercado. Así, una central térmica, a partir de carbón de 1 GW de potencia, genera 22.700 TmCO<sub>2</sub>/día, lo que significaría que sólo la fijación de un 10% de este CO<sub>2</sub> daría lugar a la generación de 1.150 Tm biomasa/día, cantidad similar a toda la producción anual mundial de *Spirulina platensis*, de 1.700 Tm/año (Vonshak, 1997). Por ello, la única posibilidad de aprovechamiento

de la gran cantidad de materia orgánica producida mediante la utilización de gases de combustión es su reutilización como biocombustibles o biofertilizantes. La utilización como biocombustibles, aunque representa una reemisión de  $\text{CO}_2$  a la atmósfera, implica una reducción en el consumo de combustibles fósiles por lo que no contribuye al aumento de las emisiones de  $\text{CO}_2$ . La utilización como biofertilizantes sí supone una reemisión del  $\text{CO}_2$  a la atmósfera, aunque tiene la ventaja de un aumento de la fijación indirecta que realizan las plantas fertilizadas, así como un beneficio económico que puede ayudar a acometer otras estrategias de mitigación de emisiones. Las operaciones de cosechado y acondicionamiento de la biomasa suponen más del 20% de los costes de producción y deben ser minimizados. Es necesario disponer de metodologías de concentración de la biomasa que permitan pasar de la concentración inicial, 1-3 g/L, a concentraciones finales comerciales, 150-300 g/L, mediante tecnologías de bajo coste aplicables a grandes volúmenes de cultivo: floculación, sedimentación, centrifugación, etc. Por otro lado, la transformación del  $\text{CO}_2$  en biomasa de microalgas en grandes cantidades puede constituir una fuente de problemas aún mayores si no se hace un aprovechamiento y gestión integral de la misma. En este sentido, la biomasa de microalgas es rica en proteínas, carbohidratos y lípidos por lo que se hace necesario el desarrollo de un proceso secuencial que permita obtener un catálogo de bioproductos que minimicen además la cantidad de residuos generados, así como su carácter contaminante. Cabe resaltar en este punto la necesidad de incluir una última etapa de biodigestión anaerobia, que puede hacerse en mezcla con otros materiales residuales para maximizar su rendimiento. La composición de la biomasa es determinante a la hora de definir su posible aprovechamiento. Así, la Tabla 3 resume las vías de aprovechamiento más importantes. Se observa cómo, además del precio del producto final, el otro factor determinante es el rendimiento en producto, es decir, cuanto producto se puede obtener por unidad de biomasa o materia orgánica (MO) de microalga producida. Dicho rendimiento es función directa de la composición de la microalga producida, la cual viene fijada por la propia especie de microalga y sus condiciones de cultivo. El aprovechamiento de la biomasa como biocombustible directo o su transformación en biogás mediante digestión anaerobia suponen las alternativas de menor rentabilidad, siendo más propio de residuos como los lodos de depuradora que de un producto valioso como puede ser la biomasa de microalgas. Una opción intermedia la representa la obtención de biocombustibles líquidos como bioetanol o biodiesel, siendo esta

la alternativa preferida por el sector industrial. La valorización del CO<sub>2</sub> como biofertilizante se muestra como la opción más interesante desde el punto de vista económico, si bien es un mercado más limitado que el de los biocombustibles líquidos. Por otro lado, dada la limitada capacidad de producción de las microalgas y la imposibilidad de disponer de grandes superficies, ésta vía de aprovechamiento podría suponer una opción interesante para aplicaciones de pequeña y media escala.

Tabla 3. Estimación de precios y valorización del CO<sub>2</sub> en función del tipo de producto obtenidos.

| Producto        | Precio, €/kg | Rendimiento, kg/kg | Valor MO, €/kg | Valor CO <sub>2</sub> , €/kg |
|-----------------|--------------|--------------------|----------------|------------------------------|
| biomasa         | 0,1          | 1,00               | 0,10           | 0,06                         |
| biogas          | 0,2          | 0,70               | 0,14           | 0,08                         |
| biodiesel       | 0,8          | 0,25               | 0,20           | 0,11                         |
| bioetanol       | 0,5          | 0,52               | 0,26           | 0,15                         |
| biofertilizante | 3,0          | 0,40               | 1,20           | 0,67                         |

## Conclusiones

Aunque potencialmente las microalgas, y en general los microorganismos fotosintéticos, pueden ser utilizados como fuente de biocombustibles la tecnología necesaria para ello no está actualmente disponible. Los valores teóricos que se podrían alcanzar así como algunos de los valores obtenidos a escala de laboratorio o piloto ratifican la potencialidad de este tipo de tecnologías para contribuir a la reducción de las emisiones de CO<sub>2</sub> y la sostenibilidad energética global. Sin embargo, son aún muchos los retos tecnológicos que se deben resolver antes de hacer de este tipo de procesos una realidad industrial. Las investigaciones a realizar se deben dirigir tanto hacia una mejor comprensión de los fundamentos del proceso, sobre todo en sus aspectos biológicos y bioquímicos, como hacia un mejor desarrollo de los sistemas productivos de valorización de la biomasa, sin olvidar la necesidad de un aumento de escala de varios órdenes de magnitud respecto a los actuales sistemas utilizados. La producción de microalgas con fines energéticos es

por tanto una tecnología en desarrollo, emergente, y que requiere de un apoyo y esfuerzo en investigación a medio y largo plazo para poder convertirse en una alternativa al uso de combustibles fósiles.

## **Agradecimientos**

Este trabajo ha sido realizado con el apoyo de diversas empresas e instituciones como ENDESA y el CDTI a través del proyecto CENIT-CO<sub>2</sub>, así como la Fundación CAJAMAR y Plan Nacional de Investigación Proyecto VALORICARBON (CTQ2008-06741-CO<sub>2</sub>).



## Referencias bibliográficas

- Ación F.G., García F., Sánchez J.A., Fernández J.M., Molina E. (1998) Modelling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures: effects of dilution rate, tube diameter and solar irradiance. *Biotechnology and Bioengineering*, 58: 605-616.
- Benemann J.R. (2003) Biofixation of CO<sub>2</sub> and greenhouse gas abatement with microalgae - Technology roadmap. Report submitted to the U.S. Department of Energy and the National Energy Technology Laboratory, E.E.U.U.
- Benemann J.R., Weisman J.C., Koopman B.L., Oswald W.J. (1979) Energy production by microbial photosynthesis. *Nature*, 268: 19-23.
- Chisti Y. (2008) Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, 26 (3): 126-131.
- Doucha K., František S., Lívanský K. (2005) Utilization of flue gas for cultivation of microalgae *Chlorella sp.* in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, 17(5): 403-412.
- Gambini M. y Vellini M. (2000) CO<sub>2</sub> emission abatement from fossil fuel power plants by exhaust gas treatment. *Proceedings of 2000 International Joint Power Generation Conference Miami Beach, Florida, July 23-26.*
- García J.L., Sánchez M., Berenguel F., Rodríguez J., Fernández M., Brindley C., Ación F.G. (2003) Minimization of carbon losses in pilot-scale outdoor photobioreactors by model-based predictive control. *Biotechnology and Bioengineering*, 84 (5): 533-543.
- Hall D.O. y House J.I. (1993) Reducing atmospheric CO<sub>2</sub> using biomass energy and photobiology. *Energy Conversion and Management*, 34 (9-11): 889-896.
- IPCC (2001) Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. En: *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Houghton J.T., Ding Y., Griggs D.J., Noguer M., van der Linden P.J., Dai X., Maskell K., Johnson C.A. (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.

- IPCC (2007) Summary for Policymakers. En: Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Metz B., Davidson O.R., Bosch P.R., Dave R., Meyer L.A. (eds.). Cambridge University Press, Reino Unido y E.E.U.U.
- Kurano N., Ikemoto H., Miyashita H., Hasegawa T., Hata H., Miyachi S. (1995) Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. *Energy Conversion and Management*, 36 (6-9): 689-692.
- Metz B., Davidson O., de Coninck H., Loos M., Meyer L. (2007) La captación y el almacenamiento de dióxido de carbono. Informe especial del IPCC 2007.
- Molina E., Sánchez J.A., García F., García J.L., Ación F.G., López D. (1994) Outdoor culture of *Isochrysis galbana* ALII-4 in a closed tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 37 (2): 159-166.
- Murakami M. e Ikenouchi M. (1997) The biological CO<sub>2</sub> fixation and utilization project by RITE (2) - Screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO<sub>2</sub>. *Energy Conversion and Management*, 38: S493-S497.
- Nakajima Y. y Ueda R. (2000) The effect of reducing light-harvesting pigment on marine microalgal productivity. *Journal of Applied Phycology*, 12 (3-5): 285-290.
- Nakamura T., Olaizola M., Cushman M., Masutani S. (2001) Capture and sequestration of CO<sub>2</sub> from stationary combustion systems by photosynthesis of microalgae. En: Proceedings of the First National Conference on Carbon Sequestration, Department of Energy, E.E.U.U.
- Oswald W.J. y Golueke C.G. (1960) Biological transformation of solar energy. *Advances in Applied Microbiology*, 11: 223-242.
- Otsuki T. (2001) A study for the biological CO<sub>2</sub> fixation and utilization system. *Science of the Total Environment*, 277 (1-3): 21-25.
- Pedroni P.M., Lamenti G., Prosperi G., Ritorto L., Scolla G., Capuano F., Valdiserri E., (2005) Enitecnologie r&d project on microalgae biofixation of CO<sub>2</sub>: outdoor comparative tests of biomass productivity using flue gas CO<sub>2</sub> from a NGCC power plant. *Greenhouse Gas Control Technologies, Volume II*, 1037-1042.

- Pulz O. (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57 (3): 287-293.
- Sheehan J., Dunahay T., Benemann J.R., Roessler P. (1998) A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from Algae. Close-out Report. National Renewable Energy Laboratory, Colorado, E.E.U.U. Report NREL/TP-580-24190.
- Sierra E., Acién F.G., Fernández J.M., García J.L., González C., Molina E., (2008) Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*, 138 (1-3): 136-147.
- Usui N. e Ikenouchi M. (1996) The biological CO<sub>2</sub> fixation and utilization project by RITE (1) - Highly-effective photobioreactor system. *Energy Conversion and Management*, 38: S487-S492.
- Vargas M.A., Rodríguez H., Moreno J., Olivares H., Campo J.A., Rivas J., Guerrero M. G. (1998) Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria. *Journal of Phycology*, 34: 812-817.
- Vonshak A. (1997) *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology. Avigad Vonshak (eds), Editorial Taylor and Francis, London, UK.
- Zhang C.-W., Zmora O., Kopel R., Richmond A. (2001) An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Aquaculture*, 195: 35-49.



# Funciones de las microalgas en acuicultura

José Pedro Cañavate Hors

IFAPA Centro El Toruño. Apartado 16. 11500 Puerto de Santa María. Cádiz.

Dirección e-mail: josep.canavate@juntadeandalucia.es

## Resumen

Las microalgas representan un importante soporte trófico para la acuicultura, tanto cualitativa como cuantitativamente, en diversos aspectos y especies objeto de cultivo. Factores como la fase de cultivo, disponibilidad de nutrientes, irradiancia y temperatura suelen modificar la composición bioquímica de microalgas y eso permite manejar sus cultivos con la finalidad de conseguir óptimas condiciones nutricionales. El contenido de aminoácidos es muy favorable desde la perspectiva nutricional y la proteína producida por microalgas puede considerarse como de elevado valor biológico. La composición en lípidos totales, así como en clases lipídicas y perfil de ácidos grasos es más variable entre microalgas, tanto a nivel interespecífico, como en función de factores externos. Una aplicación importante de las microalgas marinas es la de su empleo durante la etapa de cultivo larvario en peces marinos, donde contribuyen significativamente en la consecución de alevines de elevada calidad.

## Características generales sobre el uso de microalgas en acuicultura

La acuicultura es una actividad económica que presenta un ritmo de producción mundial con un crecimiento sostenido en el 10-11% anual durante los últimos años, existiendo expectativas de equiparar a la producción por pesca extractiva en el horizonte de 2025 (Tacon, 2003). La diversidad de especies cultivadas es muy elevada, abarcando una gran parte de grupos taxonómicos con representantes acuáticos. Entre estos, a su vez, existe una importante representación de especies que, en al menos algún momento de su ciclo de vida bajo condiciones de cultivo,

necesitan de la participación de microalgas. La implicación de las microalgas como soporte trófico de especies acuícolas es muy variable, dependiendo de las necesidades de estas. Esto significa que, en casos como la producción de moluscos bivalvos, la demanda de microalgas llega a ser máxima y abarca al ciclo completo de vida, mientras que en determinadas actividades de producción de peces marinos, la necesidad en el uso de microalgas se limita a un periodo corto de tiempo, al inicio de la ontogenia de estas especies. Según la cuantía en la demanda de microalgas, estos microorganismos se obtienen a partir de cultivos controlados llevados a cabo por el productor acuícola expresamente para tal fin, o bien se recurre a sistemas naturales con elevada producción fitoplanctónica, cuando la necesidad es muy elevada. En cualquier caso, las microalgas desempeñan un papel esencial (ya sea cuantitativa o cualitativamente) de cara a la consecución de numerosas especies acuícolas.

El desarrollo de los cultivos masivos de microalgas durante la segunda mitad del siglo XX representó un hito clave que facilitó de una manera rápida el subsecuente desarrollo en las técnicas de producción acuícolas de un número importante de especies, particularmente marinas. La evolución de estas técnicas generales ocurrió de una manera aceptablemente acelerada y, dentro de este contexto, la necesidad de microalgas como base alimentaria en acuicultura se consideró pronto como un elemento que contribuía en demasía a los costes económicos de producción. Como consecuencia de ello, se acometió una intensa labor de investigación para lograr dietas alternativas inertes formuladas que permitieran la sustitución del alimento vivo, todavía hoy imprescindible en numerosas prácticas acuícolas. El resultado de ese esfuerzo se ha traducido en una amplia gama de productos inertes envasados que se presentan como alternativa trófica al uso de fitoplancton y zooplancton cultivado. Sin embargo, la necesidad de estas especies de plancton que actúan como “presas vivas” continúa siendo muy importante en la acuicultura de diversas especies, y muy en particular cuando se trata de obtener productos de cultivo de la máxima calidad. La utilización de microalgas en acuicultura se describe de manera general como una actuación que produce mejores resultados de crecimiento y supervivencia en relación a dietas inertes (Ponis et al., 2003). En la actualidad, el interés por el uso de microalgas parece ser que se está recuperando, y no sólo por su acreditada contribución cualitativa en la acuicultura. Es preciso considerar aquí, como el reciente interés por la producción masiva de microalgas con fines energéticos ha generado una especie de fiebre en torno a la investigación de

procesos productivos, cuya consecución, todavía lejana, permita acceder a unos costes de producción compatibles con este fin. Dada la diferencia de valor de mercado para la biomasa algal en los sectores acuícolas y energéticos, es probable que la acuicultura pueda beneficiarse de manera colateral de este posible avance.

La producción anual de biomasa de microalgas no está bien estimada, cifrándose su cuantía mundial entre 5.000 y 10.000 Tm anuales. Sí parece más precisa en cambio, la estimación de la partida de esta producción destinada a su empleo como alimento en acuicultura, la cual se sitúa sobre 1.000 Tm (Muller-Feuga, 2004). Esta cantidad se destina principalmente para el cultivo de moluscos (62%), representando crustáceos (21%) y peces (16%) porcentajes secundarios en términos cuantitativos de consumo (Spolaore et al., 2006). Ante estos datos, es posible deducir que la producción de microalgas a nivel global puede considerarse como una actividad acuícola con entidad propia, parte de la cual sirve como soporte para una buena parte de la acuicultura en su concepto taxonómico más amplio. Los límites de variación entre 10%-20% de producción de microalgas destinadas a la acuicultura son pues una estima, que puede verse afectada por oscilaciones puntuales, como puede ser el caso de la variable pauta de inclusión de biomasa de *Chlorella* (producida con varios fines comerciales) en las cadenas de alimentación acuícolas.

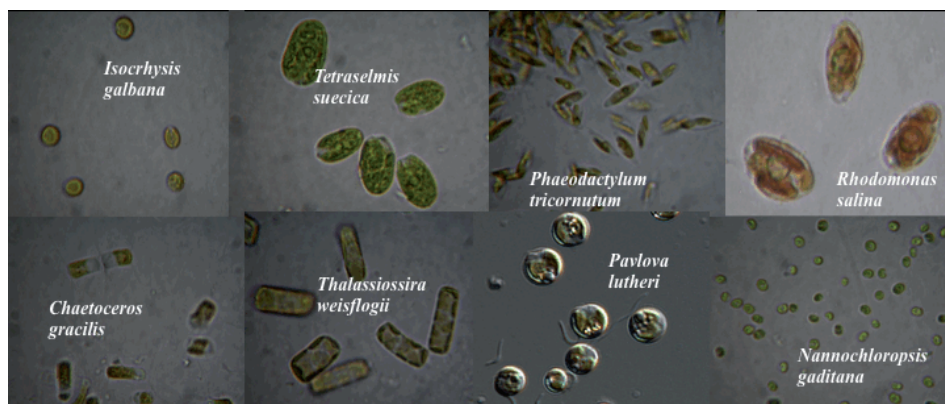


Figura 1. Algunas de las especies de microalgas marinas de uso más extendido como alimento en acuicultura.

Entre las principales microalgas cultivadas como alimento acuícola cabe destacar especies de las Prymnesiofitas *Isochrysis* y *Pavlova*; las Bacillariofitas *Phaeodactylum*, *Chaetoceros* y *Thalassiosira*; la Eustigmatofita *Nannochloropsis*; la Prasinofita *Tetraselmis*

y la Criptofita *Rhodomonas*. El aspecto al microscopio de especies pertenecientes a estos géneros puede apreciarse en la Figura 1. La variedad taxonómica reflejada en esta lista es sólo una muestra de la elevada diversidad de microalgas empleadas en la actualidad, y esta a su vez constituye una mínima parte del conjunto global de especies existentes en la naturaleza, para el cual se ofrecen cifras en el entorno de 30.000 componentes. Esta diversidad se corresponde también con diferencias muy notables en factores determinantes desde el punto de vista de su aplicación como alimento acuícola. Así, las especies empleadas en acuicultura están ya discriminadas del colectivo global de microalgas por la ausencia de compuestos tóxicos en ellas, además de por presentar valores nutricionales considerados como los más adecuados en su composición bioquímica. Otros criterios que sirven también para su selección son los de presentar una buena digestibilidad para el organismo objeto de cultivo y un tamaño/forma celular que facilite su correcta ingestión.

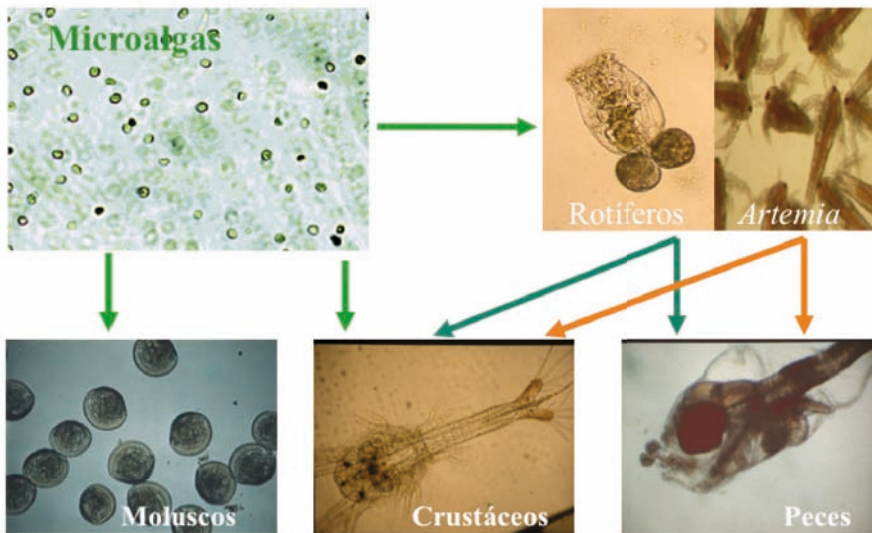


Figura 2. Flujos comunes en el suministro de microalgas como alimento de especies acuícolas.

El consumo de microalgas por parte de los organismos acuícolas se lleva a cabo bien directamente, caso de moluscos bivalvos durante todo su ciclo de vida y en etapas tempranas de langostinos peneidos, o bien indirectamente en peces,



a través de su ingestión previa por especies de zooplancton, caso de larvas de peces marinos. En la Figura 2 se han esquematizado los flujos más comunes de alimentación en acuicultura, partiendo de la base de producción de microalgas. Como se puede observar, rotíferos y *Artemia* constituyen las principales especies de zooplancton, a través de las cuales se vehiculan las microalgas hacia consumidores de niveles tróficos más elevados. En esta ocasión, la calidad nutricional de las microalgas es normal que sea modificada por estos consumidores primarios. Para algunos nutrientes puede producirse una mejora nutricional, mientras que para otros se experimenta una degradación nutricional. El conocimiento preciso de estos parámetros es fundamental para conseguir una óptima nutrición de los consumidores secundarios, objeto de alimentación en acuicultura.

### **Aspectos nutricionales de las microalgas**

Además de las típicas y claras diferencias en el perfil bioquímico de las microalgas, atendiendo a su ubicación taxonómica, se describen también grandes cambios en su composición dependiendo de las condiciones de cultivo en las que se desarrollen. Así, factores como la fase de cultivo, disponibilidad de nutrientes, irradiancia y temperatura se encuentran entre los más comunes que determinan variabilidad en la composición bioquímica de microalgas. Es por lo tanto muy impreciso hablar de valores generales para la composición bioquímica de microalgas en su amplio sentido. No obstante, de manera muy general, y para cultivos al final de su fase exponencial de crecimiento, un resumen de la amplia bibliografía disponible permite considerar porcentajes sobre biomasa seca para proteína total entre 30-45%, carbohidratos entre 10-25%, lípidos entre 10-20% y cenizas entre 5-20%. Especial cuidado ha de tenerse con la posible sobreestima de valores de proteína, ya que muchos análisis realizados sobre la base del contenido total en nitrógeno no contemplan el hecho de que los niveles de nitrógeno no proteico (ADN, ARN, aminos, glucosaminas) puedan llegar a ser del 10%. Los contenidos en proteína suelen disminuir respecto de los valores anteriores cuando los cultivos experimentan déficit de nutrientes, mientras que los porcentajes de lípidos o carbohidratos experimentan un aumento bajo esas mismas condiciones.

El contenido de aminoácidos en microalgas es relativamente poco variable entre especies y se ve también relativamente poco afectado por la modificación en las condiciones de cultivo (Becker, 2007). El perfil de aminoácidos es también

muy favorable desde el punto de vista de su valor nutricional respecto al de otras fuentes de alimento (Becker, 2007) y no suele representar un factor limitante de cara a su uso como alimento en acuicultura. Esta estabilidad nutricional se mantiene también frente a la variación en factores de cultivo. De manera general, la proteína producida a partir de biomasa de microalgas puede considerarse como de elevado valor biológico.

A diferencia de las proteínas, la composición en lípidos totales, así como en clases lipídicas y perfil de ácidos grasos es muy variable entre microalgas, tanto a nivel interespecífico, como en función de las condiciones externas de cultivo para una misma estirpe. La información generada a este respecto es amplia, encontrándose una buena revisión actualizada y de carácter general en el trabajo de Guschina y Harwood (2009). Las microalgas son los organismos vivos que en mayor medida contribuyen en el ecosistema a la síntesis de ácidos grasos altamente insaturados y de cadena larga (comúnmente abreviados en inglés como HUFA). Representan por lo tanto una importante base alimentaria para el resto de la cadena trófica generada a partir de ellas, dado el carácter de esencial que ácidos grasos como eicosapentaenoico (EPA), docosahexaenoico (DHA) o araquidónico (ARA) tienen a partir de los consumidores primarios. En este sentido, es preciso recordar la notable variabilidad ya comentada en la composición de ácidos grasos atendiendo a la posición taxonómica de las microalgas, situación que condiciona la producción de sus consumidores, no sólo en el ecosistema, sino también en los sistemas simplificados que se producen en la acuicultura. De manera general, desde el punto de vista del valor nutricional atribuible a ácidos grasos, las cianobacterias representan el grupo taxonómico de menor valor, dada su práctica carencia de HUFAs, así como en fitosteroles. El grupo de las Clorofitas presenta también una elevada carencia de estos ácidos grasos, pero su valor nutricional es superior gracias a la presencia de fitosteroles en sus representantes. Las especies incluidas en grupos taxonómicos más evolucionados presentan perfiles de ácidos grasos en su composición muchos más favorables para la nutrición de otros organismos. Así, en diatomeas hay que destacar la presencia de abundante EPA, mientras que en Haptofitas y dinoflagelados, la dominancia la ejerce el DHA. Un grupo muy interesante, caracterizado por presentar una composición bien balanceada de ácidos grasos esenciales es el de las Criptofitas. Por último, Eustigmatofitas y Rodofitas suelen aportar las mayores cantidades de ARA.

Las microalgas representan una muy buena fuente de vitaminas, dado su elevado contenido. Sin embargo, estos nutrientes suelen presentar elevadas variaciones intra-específicas, con un ejemplo extremo en la vitamina C cuyo contenido puede variar hasta 16 veces según las condiciones de cultivo (Brown et al., 1999). Otras vitaminas también muestran diferencias notables dependientes de factores externos de cultivo. Tal es el caso de niacina, riboflavina, tiamina, ácido pantoténico, cianocobalamina, piridoxina y biotina, cuyos contenidos pueden oscilar entre dos y cuatro veces dentro de una misma especie (Brown et al., 1999). Se conoce que el contenido promedio de vitaminas en microalgas es suficiente para cubrir los requerimientos nutricionales de fases juveniles de especies acuícolas. Sin embargo, y debido a la dificultad en su estudio, la información existente sobre los requerimientos de vitaminas durante las etapas larvianas es prácticamente inexistente, aunque se espera que sean más elevados. No obstante, a pesar de ello, el perfil de vitaminas de las microalgas en su sentido global es probable que sea suficiente para una correcta nutrición de especies acuícolas. En vitaminas liposolubles, existen diversos trabajos que acreditan la importancia de las microalgas como fuente de pigmentos precursores de vitamina A, tales como betacaroteno, luteína y astaxantina. Por el contrario, la cantaxantina presente en otros compuestos y presas vivas es un inadecuado precursor de la vitamina A.

### **Influencia de las microalgas sobre el desarrollo de especies en cultivo**

Una de las aplicaciones más importantes de las microalgas marinas es la de su empleo durante la etapa de cultivo larvario en peces marinos. Además de la optimización del aspecto meramente nutricional, las microalgas que son añadidas directamente a estos cultivos ejercen una influencia positiva sobre el estado fisiológico de las larvas, que se traduce en la consecución de alevines de peces de elevada calidad. Entre los factores involucrados en ello, se ha descrito la contribución de los cultivos de microalgas en la diversificación de la flora bacteriana, tanto del tanque de cultivo, como del tracto digestivo de las larvas (Olsen et al., 2000). Como se recoge en la Figura 3, la adición de microalgas a los tanques de cultivo mejora las condiciones higiénicas de estos, mediante la reducción de compuestos que polucionan, así como a través de cierta actividad bacteriostática. La actividad antimicrobiana de los cultivos de microalgas puede deberse tanto a la flora bacteriana asociada



Figura 3. Esquema de los principales aspectos funcionales de las microalgas en su empleo en acuicultura.

(Makridis et al., 2006), como a la excreción de ciertas proteínas y ácidos grasos por parte de las propias microalgas. La reducción de estirpes patógenas de *Vibrio* es un hecho comprobado cuando se adicionan microalgas en cultivos larvarios. Se ha contrastado también el efecto estimulador sobre el sistema inmune, además del mejor crecimiento y supervivencia, en larvas de bacalao mediante el uso de beta glucanos procedentes de diatomeas. Por otro lado, se sabe que la capacidad de larvas de peces marinos para percibir el alimento es mayor en un medio de cultivo en el que se adicionan microalgas, gracias al mayor contraste que producen estas en el mismo. Esta circunstancia permite aumentar la tasa de ingestión de alimento, aunque ello es variable según la especie en cultivo (Rocha et al., 2008).

En relación a la utilización de microalgas para el engorde especies acuícolas, el caso más evidente es el de la producción de bivalvos. Un caso muy ilustrativo es el del uso de la diatomea *Haslea ostrearia* en el engorde de ostras, ya que representa una forma tradicional de añadir valor comercial a este tipo de producción acuícola, hasta en un 40% (Gagneux-Moreaux et al., 2007), gracias a la particular y atractiva coloración verde-azulada que esta diatomea confiere a la ostra. La mayor

parte de las operaciones de engorde de bivalvos recurre a poblaciones salvajes de microalgas, aunque también existen metodologías para el manejo de grandes volúmenes de agua, de manera que se pueda estimular preferentemente el crecimiento de aquellas especies de mayor utilidad. Evidentemente, cuanto mayor es la dependencia de especies no cultivadas de microalgas para la producción, mayor es la importancia de la selección de un lugar ambientalmente adecuado y mayor es el riesgo de sufrir episodios de proliferación de estirpes que presenten compuestos tóxicos.

La inclusión de microalgas en piensos para engorde de peces o crustáceos se encuentra todavía en una fase temprana de desarrollo, debido al elevado coste de su biomasa y a la necesidad de conseguir procedimientos que permitan una óptima conservación y vía de inclusión de las mismas en los piensos. Debido a una cuestión obvia, como es el mayor valor comercial de los piensos destinados a etapas juveniles, la aplicación de las microalgas en este sector de la alimentación acuícola ha de comenzar por este nivel. Se han ensayado diversas especies de microalgas en piensos para peces y crustáceos, con una finalidad principal por el momento de buscar el aspecto funcional (fundamentalmente a nivel de la estimulación del sistema inmune) más que el aspecto de alternativa a materias primas convencionales, y de menor sostenibilidad, de origen marino. Dentro del conjunto de especies evaluadas, destacan *Chlorella*, *Dunaliella* y *Arthrospira* por su mayor disponibilidad en el mercado. También comienzan a realizarse ensayos con especies de traustocitridos (*Schizochytrium*) y algunos dinoflagelados (*Cryptocodinium*), cuya creciente producción heterotrófica y elevado nivel de lípidos, los hacen especialmente atractivos para estos fines.

### **Formas de empleo y perspectivas de uso de las microalgas**

A pesar de su acreditado valor nutricional individual, el empleo simultáneo de más de una especie de microalga como alimento suele producir mejores resultados respecto a los derivados del uso de dietas monoespecíficas (Spolaore et al., 2006). Resulta evidente pues la existencia de un efecto sinérgico entre especies, probablemente mediante la inter compensación de algunas posibles carencias nutricionales, aunque estas sean de escasa intensidad. Esta situación, ampliamente comprobada, recomienda por lo tanto el empleo de dietas multiespecíficas a la hora de usar microalgas en la acuicultura.

La forma convencional de utilización de las microalgas es la de adicionar directamente su cultivo a las especies objeto de alimentación. De esta manera, además de la biomasa, también se vierten al cultivo las poblaciones bacterianas asociadas y los productos de excreción que las algas hayan producido durante su cultivo. Técnicas más recientes recurren al empleo de suspensiones concentradas de microalgas, en las que se elimina una gran parte de las bacterias y la casi totalidad de los metabolitos. Esta situación aumenta notablemente su potencial de uso, gracias a la mayor facilidad para el trasiego de biomasa entre puntos alejados tanto espacial como temporalmente. Este avance permite también regular de una manera más eficiente las condiciones de producción en los criaderos, además de permitir el desarrollo de nuevos centros de producción especializados en esta actividad, en los que el proceso de obtención de biomasa resulta más eficiente (Knuckey et al., 2006).

La concentración de los cultivos de microalgas se puede llevar a cabo de diferentes maneras, tal y como se describe en la Figura 4. No obstante, la centrifugación en continuo es la técnica más comúnmente empleada. La disponibilidad de concentrados abre la puerta al desarrollo de métodos para preservar la biomasa de microalgas, facilitando así aún más la gestión de su empleo en acuicultura. La conservación a baja temperatura y la liofilización (Figura 4) son los procedimientos principales para prolongar el periodo de uso de las microalgas. No obstante, hay que tener presente la enorme variabilidad que se detecta en la viabilidad celular, dependiendo de la especie de microalga considerada (Cañavate y Lubián, 2001). Esta variabilidad se refleja a su vez en respuestas diferenciales de los organismos alimentados con microalgas que han sido previamente preservadas. Hay casos, como el empleo de concentrados centrifugados y refrigerados de *Pavlova lutheri* para alimentar larvas de ostra, en los que se describen resultados equivalentes a los obtenidos con microalgas sin concentrar (Ponis et al., 2008). De manera análoga, el empleo de *Nannochloropsis gaditana* liofilizada soportó crecimiento y supervivencia similar al registrado con microalga viva en el cultivo larvario de dorada (Cañavate y Fernández-Díaz, 2001). Sin embargo, existen aplicaciones, especialmente cuando se trata de regenerar suspensiones celulares para alimentar bivalvos, en los que el empleo de microalgas preservadas todavía tiene que ser perfeccionado.

La correcta conservación de biomasa de un buen número de microalgas, entre las que se encuentran las de mayor interés nutricional para la acuicultura, depende



Figura 4. Principales formas de utilización de las microalgas en acuicultura.

de la consecución de protocolos de preservación que permitan mantener la integridad física de las membranas celulares, de manera que se evite la pérdida de nutrientes en las microalgas al ser rehidratadas en el medio de cultivo de las especies a alimentar. Para ello, resulta esencial reducir el estrés mecánico y osmótico que suele ser inherente a los procesos de concentración y conservación de microalgas. Este requisito es de menor relevancia cuando se considera el empleo de microalgas como complemento en dietas compuestas para especies acuícolas, gracias a los métodos de recubrimiento y estabilización a los que pueden ser sometidas antes de su inclusión en los diferentes tipos de alimento granulado. Las microalgas pueden llegar a desempeñar un papel relevante en esta faceta de la alimentación acuícola si se consigue reducir sus costes de producción. Para ello, todavía es necesario llevar a cabo un importante recorrido de investigación y desarrollo tecnológico, no sólo en el ámbito de la producción y cosecha masivas de microalgas, sino también en lo concerniente a los efectos que su inclusión en la dieta tiene sobre las especies cultivadas.

## Referencias bibliográficas

- Becker E.R. (2007) Micro-algae as a source of proteins. *Biotechnology Advances*, 25: 207-210.
- Brown M.R., Mular M., Miller I., Farmer C., Trenerry C. (1999) The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 11: 247–255.
- Cañavate J.P. y Lubián L.M. (2001) Obtención de biomasa concentrada de microalgas marinas para su utilización como alimento larvario de especies marinas. Editado por Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla. 49 páginas.
- Cañavate J.P. y Fernández-Díaz C. (2001) Pilot evaluation of freeze-dried microalgae in the mass rearing of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193: 257–269.
- Gagneux-Moreaux S., Moreau C., Gonzalez J.L., Cosson R.P. (2007) Diatom artificial medium (DAM): a new artificial medium for the diatom *Haslea ostrearia* and other marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 19: 549–556.
- Guschina I.A. y Harwood J.L. (2009) Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry. En: *Lipids in Aquatic Ecosystems* Arts M.T., Brett M.T., Kainz M. (eds.). Springer Science, pp 1-24.
- Knuckey R.M., Brown M.R., Robert R., Frampton D.M.F. (2006) Production of microalgae concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquaculture Engineering*, 35: 300-313.
- Makridis P., Alves Costa R., Dinis M.T. (2006) Microbial conditions and antimicrobial activity in cultures of two microalgae species. *Tetraselmis chuii* and *Chlorella minutissima*, and effect on bacterial load of enriched *Artemia metanauplii*. *Aquaculture*, 255: 76-81.
- Muller-Feuga A. (2004) Microalgae for aquaculture: the current global situation and future trends. En: *Handbook of microalgal culture* Richmond A. (ed). Blackwell Science, pp 352–364.
- Olsen A.I., Olsen Y., Attramadal Y., Christie K., Birkbeck T.H., Skjermo J., Vadstein O. (2000) Effect of short term feeding of microalgae on the bacterial flora associated with juvenile *Artemia franciscana*. *Aquaculture*, 190: 11-25.



- Ponis E., Robert R., Parisi G. (2003) Nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 221: 491-505.
- Ponis E., Parisi G., Chini Zittelli G., Lavista F., Robert R., Tredici M.R. (2008) *Pavlova lutheri*: Production, preservation and use as food for *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture*, 282: 97–103.
- Rocha R., Ribeiro L., Costa R., Dinis M.T. (2008) Does the presence of microalgae influence fish larvae prey capture? *Aquaculture Research*, 39: 362-369.
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. (2006) Commercial applications of microalgae. *Journal of Biosciences and Bioengineering*, 101:87–96.
- Tacon A.J. (2003) Aquaculture production trends analysis. Review of the state of world aquaculture, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, FAO Fisheries Circular No. 886, Rome, pp 5–29.



# Biofiltración de efluentes mediante algas: valorización de la biomasa (alimentos funcionales y biodiesel)

Félix L. Figueroa<sup>1</sup>, Celia Gil Jerez<sup>1</sup>, Rosa M. Rico<sup>1</sup>, Miguel Ángel Moriñigo<sup>2</sup>, Juan Luis Gómez-Pinchetti<sup>3</sup>, Roberto Abdala Díaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ecología. Grupo de Fotobiología y Biotecnología de organismos acuáticos. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga, 29071 Málaga

<sup>2</sup> Departamento de Microbiología. Grupo de Fotobiología y Biotecnología de organismos acuáticos. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga, 29071 Málaga

<sup>3</sup> Centro de Biotecnología Marina. Universidad de Las Palmas de G.C., Muelle de Taliarte s/n 35214 Telde

Dirección e-mail: Felix\_lopez@uma.es

## Resumen

La acuicultura piscícola o la ganadería intensiva producen efluentes con altos contenidos en nitrógeno inorgánico y fósforo. Por otro lado, la producción intensiva de biomasa de algas requiere el aporte de nutrientes inorgánicos y CO<sub>2</sub>, lo cual representa una fracción importante de los costes de producción. Los nutrientes de desecho de la acuicultura y la ganadería pueden ser una fuente alternativa menos costosa para el crecimiento de microalgas de interés comercial, además de rendir beneficios ambientales a través de la biofiltración y depuración de los efluentes. En el presente capítulo se describe el uso de diferentes especies de macroalgas, principalmente del género *Ulva* (Chlorophyta) y *Gracilaria* (Rhodophyta), para la biofiltración de efluentes de piscifactorías, y su posterior aprovechamiento como alimento funcional y, por otro lado, se presenta la depuración de efluentes de granjas porcinas (purines) mediante la producción de microalgas, *Chlorella sp* (Chlorophyta), y el uso de la biomasa producida como fuente para la producción de biocombustibles.

## 1. Biofiltración de efluentes de piscifactorías y uso de la biomasa de algas como alimento para peces

La acuicultura de acuerdo a la FAO está creciendo un 10% por año con una producción en el año 2010 que se estimó en unos 47 millones de toneladas

de productos acuícolas, especialmente peces. La acuicultura intensiva está produciendo impactos ambientales sobre las aguas costeras debido al vertido de efluentes con altos contenidos en nitrógeno, fósforo e incluso materia orgánica. Un alto porcentaje del nitrógeno o fósforo suministrado en los piensos no es ingerido por los peces de acuicultura o se excreta en forma de material particulado o disuelto. Así por ejemplo, en el caso del N contenido en los piensos que es ingerido por el salmón, se producen excreciones del 51% de lo consumido, 70% en el caso de la dorada, 90% en la lubina, 70% en la trucha arcoíris y 77% en la tilapia. La excreción de fósforo en el caso del salmón es del 64%, del 60% en la lubina, del 70% en la trucha y del 84% en la tilapia. Estos valores son elevados y están relacionados con la baja eficiencia de la ingesta o asimilación en algunos casos. El material disuelto puede ser biofiltrado por macroalgas con una eficiencia relativamente importante. Diferentes especies del género *Ulva* (*Chlorophyta*) han sido empleadas en la depuración de aguas residuales de piscifactorías (Jiménez del Río, 1996, Neori et al., 2004) y urbanas (Schramm et al., 1991). La reducción del impacto negativo de la acuicultura es una de las tareas obligadas para el desarrollo sostenible (Neori et al., 2007). El uso de *Ulva lactuca* como biofiltro, redujo los contenidos de N y P en el agua de rechazo (20-27% del N añadido y 39-47% del P), lo que representa menos de la mitad de los nutrientes vertidos de acuerdo a los resultados obtenidos con la tecnología convencional (Krom et al., 1995). En el proyecto de investigación europeo SEAPURA (2001-2004) se investigó sobre el uso de otras especies biofiltradoras buscando aquellas que mostrasen una mayor capacidad depuradora, pero además, que fueran capaces de acumular sustancias de interés para la propia acuicultura como alimento (Valente et al., 2006, Schuenhoff et al., 2006) o para la industria cosmética: fotoprotectores y antioxidantes (Figuerola et al., 2008, de la Coba et al., 2009). Entre las macroalgas usadas para la biofiltración de efluentes de dorada (*Sparus aurata*), destacaron diversas especies del género *Gracilaria* e *Hypnea* (Gómez-Pinchetti et al., 2002; Viera et al., 2005). La eficiencia de biofiltración en *G. cornea* variedad verde y *G. cornea* variedad roja fue del 96,6% y 100%, respectivamente (Tabla 1) en algas cultivadas en tanques semicirculares de 750 l de capacidad y en sistemas abiertos (bajo radiación solar). La biofiltración en el caso de *Hypnea spinella* fue también cercana al 100% (Tabla 1). Matos et al. (2006), en el mismo proyecto, también analizaron la capacidad de biofiltración en los efluentes de lubina (*Dicentrarchus labrax*), que se vio afectada por la estación (efecto de la temperatura) alcanzándose

valores de eficiencia de biofiltración con cultivos de especies de algas rojas del 41% con *Palmaria palmata*, 41,3% con *Chondrus crispus* y del 48% con *Gracilaria bursa pastoris*. Los cultivos en cascada (agua circulante a través de tanques conectados con las distintas especies) aumentaron la eficiencia de biofiltración al 83,5%. *Asparagopsis armata* (*Rhodophyta*) ha resultado ser también un excelente biofiltro de efluentes de acuicultura de dorada con tasa de remoción de nitrógeno de 14,5 g Nitrógeno total m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup> (Schuenhoff et al., 2006). Algunos géneros de macroalgas como *Laminaria*, *Macrocystis* o *Porphyra* han sido empleadas para reducir la carga de nutrientes en el propio medio costero utilizando cuerdas que rodean las jaulas de peces; es el caso del cultivo del salmón en Chile (Buschmann et al., 2001a) y Canadá (Chopin et al., 2001) o en cultivos de lubina en esteros del sur de España (Hernández et al., 2006) obteniéndose resultados prometedores. *Gracilaria lemaneiformis*, una fuente importante de agar, es capaz de reducir un 85,6% y hasta 66,0% los niveles de N y P respectivamente en aguas costeras de China con alta actividad acuícola (Yang et al., 2006). Estos proyectos de biofiltración en medios naturales eutrofizados se están extendiendo destacando el proyecto recién iniciado en la costa este de EEUU denominado “Acuicultura de macroalgas para la bioextracción de nutrientes en la Bahías de Long Island (Connecticut) y el East River (New York)” liderado por el Prof. Charles Yarish. En este proyecto se emplearán dos tipos de organismos como biofiltro (servicio ambiental): el alga roja *Gracilaria tikvahiae* y diversos moluscos bivalvos para la eliminación de materia particulada.

Tabla 1. Biofiltración del nitrógeno de efluentes de una granja de dorada (*Sparus aurata*) por diferentes especies de macroalgas cultivadas de forma intensiva en tanques semicirculares de 750 l y con área de exposición de 1.8 m<sup>2</sup> en sistemas abiertos de las instalaciones del Centro de Biotecnología Marina de la Universidad de Las Palmas de G.C (Taliarte, Gran Canaria).

| Especie                              | µM NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | NUE (%)   | NUR mmol m <sup>2</sup> h <sup>-1</sup> |
|--------------------------------------|---------------------------------|-----------|---|
| <i>Hydropuntia cornea</i> var. roja  | 50-163                          | 31,8-96,6 | 21,0-11,1                               |
| <i>Hydropuntia cornea</i> var. verde | 50,7-163,6                      | 36,0-100  | 3,3-12,2                                |
| <i>Hypnea spinella</i>               | 100-250                         | 35,7-99,5 | 9,8-46,9                                |
| <i>Grateloupia dichotoma</i>         | 60-300                          | 39,4-80,9 | 6,6-20,7                                |
| <i>Ulva rigida</i>                   | 95,6-328,4                      | 14,1-87,1 | 4,3-9,4                                 |

Por otro lado, el contenido en proteína se incrementa en algas crecidas en medios ricos en nitrógeno como es el caso de los efluentes (Gómez Pinchetti et al., 1998). Esto ha atraído la atención de los investigadores para el uso de la harina de algas como fuente de N en la dieta para peces (Rupérez y Saura-Calixto, 2001, Buschmann et al., 2001b, Nagler et al., 2003, Valente et al., 2006, Dantagnan et al., 2009). En este sentido, *G. corneay* *U. rigida* han sido cultivadas con éxito durante los últimos 20 años en tanques del Centro de Biotecnología Marina (Gran Canaria), empleando efluentes de peces como fuente de nutrientes. Los rendimientos medios de la biomasa anual se acercan a 30 g de peso seco m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup> (109 t PS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>) y una media de biofiltración de amonio cercana al 70 % (Gómez-Pinchetti et al., 2002). Posteriormente, la biomasa obtenida ha sido aprovechada en la formulación de piensos para doradas, evaluando el aprovechamiento nutritivo de éstos y el crecimiento de los peces desde diferentes aproximaciones:

1. Efecto sobre el crecimiento e índices de transformación del alimento e índices somáticos.
2. Efecto sobre la composición química del músculo de los peces.
3. Efecto sobre las actividades enzimáticas digestivas, fundamentalmente proteasas intestinales.
4. Efecto sobre la estructura histológica del intestino e hígado.
5. Efecto sobre la composición metabólica a nivel plasmático, hepático y muscular.

El contenido de proteínas de dicha biomasa fue de un 14%, lo que limitó, junto al alto valor de cenizas que en el caso del preparado de *Gracilaria* (GR) supera el 30% en base seca (Tabla 2), su inclusión en la formulación de los piensos experimentales a un 25%. Se evaluó el efecto de dichos preparados algales a tres niveles 5, 15 y 25%. El crecimiento de *S. aurata* (dorada) con el pienso control o con los piensos suplementados con *G. cornea* (5 y 15 %) y *U. rigida* (5 y 15%) fueron similares. Sin embargo, la alimentación con *U. rigida* al 25% incluso incrementó el crecimiento respecto a la dieta control. El índice hepatosomático se redujo sensiblemente con la harina de algas. Los exámenes histológicos no revelaron diferencias susceptibles en los peces alimentados con harina de algas y los de la dieta-control tras 70 días de cultivos.

Tabla 2. Composición proximal (% Peso seco) de la biomasa de dos macroalgas producidas en efluentes de piscifactoría en las instalaciones del Centro de Biotecnología Marina de la Universidad de Las Palmas de G.C (Taliarte, Gran canaria), para su posterior inclusión en piensos funcionales para dorada.

| Macroalga        | Humedad      | Lípidos totales | Proteínas totales | Carbohidratos | Cenizas      |
|------------------|--------------|-----------------|-------------------|---------------|--------------|
| <i>G. cornea</i> | 10,74 ± 0,05 | 1,43 ± 0,01     | 13,50 ± 0,30      | 43,26 ± 0,01  | 32,67 ± 0,95 |
| <i>U. rigida</i> | 14,35 ± 0,2  | 1,88 ± 0,04     | 16,91 ± 0,42      | 52,11 ± 0,01  | 17,45 ± 0,71 |

La ingesta por *Halyothis* (abulón) de *G. cornea* promueve el crecimiento e incrementa la supervivencia (Viera et al., 2005), dietas de 3.3 % de *Ulva clathrata* incrementan el peso y la tasa de conversión de alimento en camarón blanco (Cruz-Suárez et al., 2009) y dietas con *U. rigida* no causan efectos negativos sobre el crecimiento de lubina y calidad alimentaria (*Dicentrarchus labrax*) (Valente et al., 2006).

Además del enriquecimiento en proteínas en las algas crecidas en efluentes, las macroalgas pueden contribuir como fuente complementaria de lípidos (Nakagawa et al., 1987, Nakagawa, 1997). La inclusión de hasta un 6% de *Macrocystis pyrifera* incrementa el nivel de PUFAs en el músculo de la trucha arcoiris (Dantagnan et al., 2009). Las algas son una buena fuente de vitaminas, especialmente de vitamina C y de minerales (García-Casal et al., 2007). El ácido ascórbico además promueve el metabolismo de lípidos, lo cual incrementa a su vez nivel de proteínas (Ergün et al., 2009). Extractos etanólicos de *Hydroguntia cornea* (antes *Gracilaria cornea*) (Díaz-Rosales et al., 2007) y polisacáridos de *Halophithys incurva* e *Hypnea spinella* (Abdala-Díaz et al., 2010) tienen una alta actividad inmunomoduladora lo que las hace buenas candidatas para la fabricación de alimentos funcionales para peces.

## 2. Depuración de purines de granjas de cerdos y uso energético de la biomasa

Los residuos líquidos producidos en granjas porcinas (purines) están produciendo altos niveles de contaminación tanto en aguas superficiales como subterráneas. La generación y composición de purines por unidad de cerdo depende del sistema de manejo y del estado fisiológico del animal, estando compuesto por altos contenidos en nitrógeno, fósforo y materia orgánica (Tabla 3). Se estima que la cantidad diaria de excretas producidas por el número total de cabezas

de cerdo que existen en España supera los 146.000 m<sup>3</sup> diarios, lo que genera un problema real en lo que respecta al manejo de desechos. La cantidad de purines producida en nuestro país asciende a 50 millones de toneladas al año de las que 7 millones son excedentes utilizados como abono. Estos excrementos no sólo emiten un olor muy desagradable, sino que generan metano (una molécula de metano es 30 veces más perjudicial para el cambio climático que una de CO<sub>2</sub>). En 1991 la Unión Europea aprobó una normativa que obliga al control de los residuos ganaderos. Dado el elevado coste que supondría a los ganaderos pagar su tratamiento, la administración decidió incorporar esta actividad al régimen especial de las energías renovables, que reciben una ayuda pública (prima) por ser limpias, pero muy caras. Fue así como aparecieron las plantas de cogeneración, que convierten y reciclan los nutrientes del purín en fertilizantes orgánicos sólidos y depuran la fracción líquida para que se utilice el agua para riego. De acuerdo a la Asociación de Empresas para el Desimpacto Ambiental de Purines (ADAP) las 27 plantas de cogeneración actuales tratan 2,5 millones de toneladas y evitan al año la emisión de 700.000 toneladas de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, la información recientemente publicada en la prensa nacional alerta sobre el cierre de 6 de estas 27 plantas. Estas seis plantas dejarán sin tratar más de 50.000 toneladas de purines hasta finales de año, lo que corresponde a 400 granjas en Cataluña. Ante la ausencia de un sistema de tratamiento de purín que permita su eliminación de forma rápida y eficiente la única alternativa es su acumulación en balsas de decantación tal como regula la normativa vigente (Decreto 141/2004, de 6 de julio), por el que se establecen las normas técnicas, higiénico-sanitarias y medioambientales de las explotaciones ganaderas modificado por los decretos 14/2006 en el que se crea y regula el Registro de Explotaciones Ganaderas de Andalucía y el decreto 248/2007 en el que se regula la adecuación de la profundidad y capacidad de las balsas de almacenado de excrementos y purines).

En la actualidad existen distintos sistemas que se ofrecen en el mercado para el tratamiento del purín, destacando los siguientes: físico, biológico, físico-químico, evaporación a través de calor procedente de cogeneración y digestión anaerobia. En condiciones aeróbicas el purín se puede tratar mediante sistemas de lodos activados; que son sistemas intensivos y muy costosos desde el punto de vista energético con una gran producción de biomasa microbiana pero que requieren el tratamiento y desecho (Tait et al., 2009; Juteau, 2006, Karakashev et al., 2005).



En nuestro país se ha desarrollado el denominado proceso SELCO-Ecopurin (Martínez-Almela y Barrera, 2005) que está basado en el empleo de poliacrilamida para la separación de la fase sólida y líquida del purín siendo la fase sólida la que se procesa mediante digestión anaerobia y posterior producción de biogás. Para poder reutilizar el efluente líquido resultante es necesario transformar el amonio en nitrato mediante nitrificación bacteriana para cumplir la normativa de residuos. Estos autores proponen dos métodos para lograr la concentración de bacterias nitrificantes y aumentar la eficiencia de este proceso:

- Inmovilización de las bacterias nitrificantes en polímeros (Vanotti et al., 2001) alcanzando una eficiencia de nitrificación de 97-99 %.
- Biorreactor de membrana en que los sólidos en suspensión y microorganismos responsables de la biodegradación son separados del agua tratada mediante una unidad de filtración por membrana.

Tabla 3. Composición química de los purines de una granja de cerdos, tras su dilución en agua (1:4) en el tiempo inicial (0h) y tras 24, 48 y 72 h de cultivo de *Chlorella* sp en los fotobiorreactores planos en cascada. Se presenta entre paréntesis el porcentaje de biofiltración a las 72 h de tiempo de residencia. En el periodo nocturno el cultivo permanece en el tanque de 250 l con aireación. Los resultados corresponden a diferentes experimentos realizados en periodo primaveral en las instalaciones del Servicio de Fotobiología de la Universidad de Málaga.

| Composición Química mg l <sup>-1</sup>    | Purines | Tiempo (0h) | Tiempo (24h) | Tiempo (48h) | Tiempo (72h)     | Marco Legal mg l <sup>-1</sup> |
|---|---------|-------------|--------------|--------------|------------------|--------------------------------|
| Amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )    | 1403    | 67          | <10          | <10          | <10<br>(86%)     | 15-50                          |
| Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )   | 38,56   | 9,64        | 6,0          | 0,45         | 0,14<br>(98,55%) | 25                             |
| Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )   | nd      | 1,84        | 2,5          | 3,28         | 1,35<br>(26,6%)  | 0,1                            |
| Fosfatos (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) | 357     | 32          | 18           | 10           | 5<br>(84,38%)    | 5                              |
| Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )  | 227     | 192         | 184          | 177          | 188<br>(2,08%)   | 25                             |
| pH  | 7,3     | 8,24        | 8,35         | 8,68         | 8,81             | 6,5-8,5                        |
| DQO                                       | 5840    | 1510        | 1260         | 1090         | 680<br>(55%)     |                                |

El fósforo disuelto se elimina mediante la precipitación de los ortofosfatos con sales inorgánicas de hierro y aluminio. Por otro lado está el proceso cerrado y energéticamente integrado (CEI) para el tratamiento de purines (Bao Iglesias, 2001). El tratamiento de efluentes ganaderos es en realidad una combinación de varios procesos: tratamiento químico, pasteurización térmica, sedimentación, secado del sólido y evaporación del líquido.

Una alternativa para la depuración de los purines es el uso de microalgas como biofiltro que además son actualmente fuente de biomasa no convencional para la producción de biocombustibles. Las microalgas contienen lípidos y ácidos grasos en sus membranas, productos de almacenamiento, metabolitos y fuentes de energía. Estos ácidos grasos y aceites presentan características similares a las del aceite de pescado y aceites vegetales y pueden, por lo tanto, ser considerados como sustitutos potenciales de los productos obtenidos de aceites fósiles. Algunas especies de algas contienen hasta el 50% de su peso en forma de aceite, lo que supera el de plantas oleaginosas como la soja (Chisti, 2007). Además las microalgas pueden asimilar anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>) como fuente de carbono para su crecimiento con lo que pueden contribuir a resolver tanto la polución causada por el CO<sub>2</sub> como proporcionar biomasa no convencional para la generación de biocombustibles.

Se describen a continuación algunas de las experiencias del uso de microalgas en la depuración de purines:

1. Kim y colaboradores (2007) en Corea del Sur emplean *Scenedesmus sp.* El medio denominado KEP I (3% purín) favorece el crecimiento del alga y modifica la composición bioquímica de sus células (reduce el nivel de ácidos grasos pero aumenta el de clorofila y carotenoides). Los efluentes son sometidos a un proceso de fermentación con el que se reduce el carbono en un 12,9%, el nitrógeno en un 87% y el fósforo en un 83,2%.
2. Mulbry y colaboradores (2008) en EEUU se centran en valorar la productividad y retirada de nutrientes de algas verdes filamentosas cultivadas en exterior en estanques tipo “raceways” usando aguas residuales de actividades ganaderas como medio de cultivo. Las algas cultivadas en este estudio no han sido seleccionadas previamente sino que una vez puesto en funcionamiento el biorreactor se permitió la colonización de especies procedentes del ambiente y/o del propio efluente. Como resultado de este proceso de colonización,

apareció un conjunto de especies dominado por algas verdes filamentosas entre las que se encontraban *Rhizoclonium hieroglyphicum* (C. A. Agardh) (en mayor abundancia), *Microspora willeana* Lagerth, *Ulothrix ozonata* (Weber and Mohr), *Rhizoclonium hieroglyphicum* (C. A. Agardh) y *Oedogonium* sp.

3. González y colaboradores (2008) en España realizaron un estudio profundo de la biodegradación *in vitro* del purín por *Chlorella sorokiniana* en distintas condiciones de aireación y de dilución de purín. El purín sufre un pretratamiento en el que es floculado con 150 mg L<sup>-1</sup> de poliácridamida y luego sufre un proceso de sedimentación y centrifugación. Distintas diluciones de purín se inoculan con cultivo de *C. sorokiniana* y lodos activados a partes iguales. Como resultados más significativos de estos experimentos se pueden destacar:

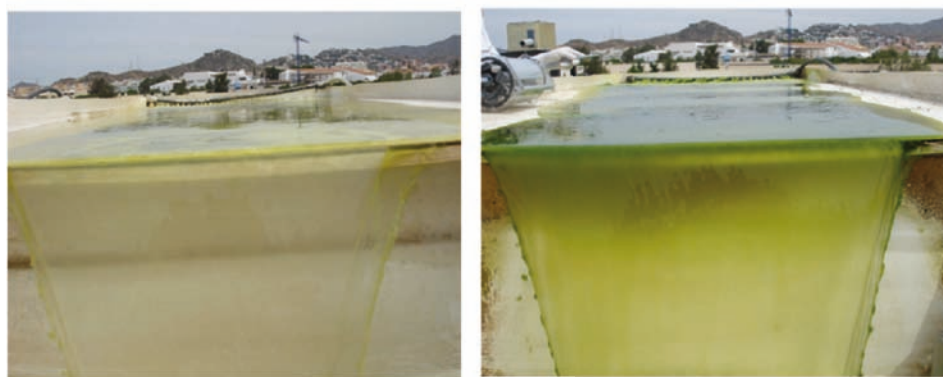
- En medio aireado, el principal mecanismo de retirada de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> del medio fue el paso a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, contribuyendo a la retirada del 65% del NH<sub>4</sub><sup>+</sup> inicial. A pesar de esto, los autores apuntan que estos resultados no pueden ser extrapolados a cultivadores en exterior a gran escala, debido a que en estos casos la alta relación superficie/volumen de estos sistemas favorece la aparición de otros mecanismos como el stripping.
- En medio cerrado se nitrifica en 25-42% del amonio presente, dependiendo de la dilución de purín a la que se trabaje. Esto lo explican debido a que la temperatura de trabajo, fijada a 30°C, favorece la acumulación de nitrito en lugar de nitrato.

4. Jiménez-Pérez y colaboradores (2004) en España emplearon dos especies de algas verdes planctónicas aisladas de las balsas de purines (*Scenedesmus intermedius* y *Nannochloris* sp.) inmovilizadas sobre esferas de alginato cálcico para la retirada de N y P. Uno de los aspectos más destacados de este estudio es que la acumulación de N y P por el alga no se determina mediante medidas de la disminución de la concentración de éstos en el medio, sino por estimación de la concentración de estos nutrientes en las esferas.

5. En la Universidad de Málaga se emplea *Chlorella vulgaris* aislada de charcas próximas a balsas de purines para la depuración de los mismos. El sistema de cultivo consiste en fotobiorreactores planos en cascada de capa fina (Figura 1). La profundidad en la cascada es de 1-2 cm, la inclinación de la plancha de 2% y con flujo turbulento. Se consiguen densidades celulares altas (10 g

L<sup>-1</sup>) que pueden ser mantenidas a altas tasas de crecimiento 24 g PS m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> en el caso de *Chlorella* y 19 g PS m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> en el caso de *Scenedesmus*. Esta alta tasa de producción entre los sistemas de cultivo abiertos se debe a que la relación superficie expuesta/volumen (20 – 100 m<sup>-1</sup>) es mucho más alta que la de los sistemas raceways (3 – 10 m<sup>-1</sup>).

## BIOFILTRACIÓN DE PURINES MEDIANTE MICROALGAS VERDES (CHLORELLA) EN FOTOBIORREACTORES PLANOS



MEDIO CONVENCIONAL  
(CON ADICIÓN DE CO<sub>2</sub>)

AGUA CON PURINES  
(SIN ADICIÓN DE NUTRIENTES NI CO<sub>2</sub>)

Figura 1. Imagen del sistema de cultivo cascada en los fotobiorreactores planos del Servicio de Fotobiología de la Universidad de Málaga. Se observa como el cultivo en medio convencional y con adición de CO<sub>2</sub> presenta un color verde menos intenso que el del cultivo en purines de cerdo (25% aproximadamente) y sin adición de CO<sub>2</sub>. Esta diferente intensidad de color se debe a una mayor densidad celular, contenido en clorofila y proteínas en las algas cultivadas en purines.

Los niveles de amonio, fósforo, DBO y DQO en los purines son muy elevados (Tabla 3). *Chlorella* sp., adaptada previamente a niveles altos de purín en el laboratorio, fue cultivada en los sistemas abiertos en cascada. Unos 50 l de purín fueron añadidos a tanques con 200 l de cultivo de *Chlorella* (densidades celulares por encima de 30-70 millones de células /ml). La capacidad de biofiltración de *Chlorella* sp. en este sistema tras 72h de tiempo de residencia fue alta: 86% (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), 98,5% (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), 94,4% (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) y 55% (DQO).

El proyecto Biopurín “Sistema integral mixotrófico (Microalgas-Bacterias) para la biodegradación de purines, captura de CO<sub>2</sub> y producción de combustible” es un Proyecto integrado ya que, por un lado, el agua filtrada se canaliza para su aprovechamiento en la propia granja como agua de limpieza o como agua de riego (Figura 2). Por otro lado se investiga el uso de la biomasa como pienso para animales o uso energético (fuente de biocombustibles) mientras que el material sólido es tratado en un fermentador anaeróbico para la producción de biogás.

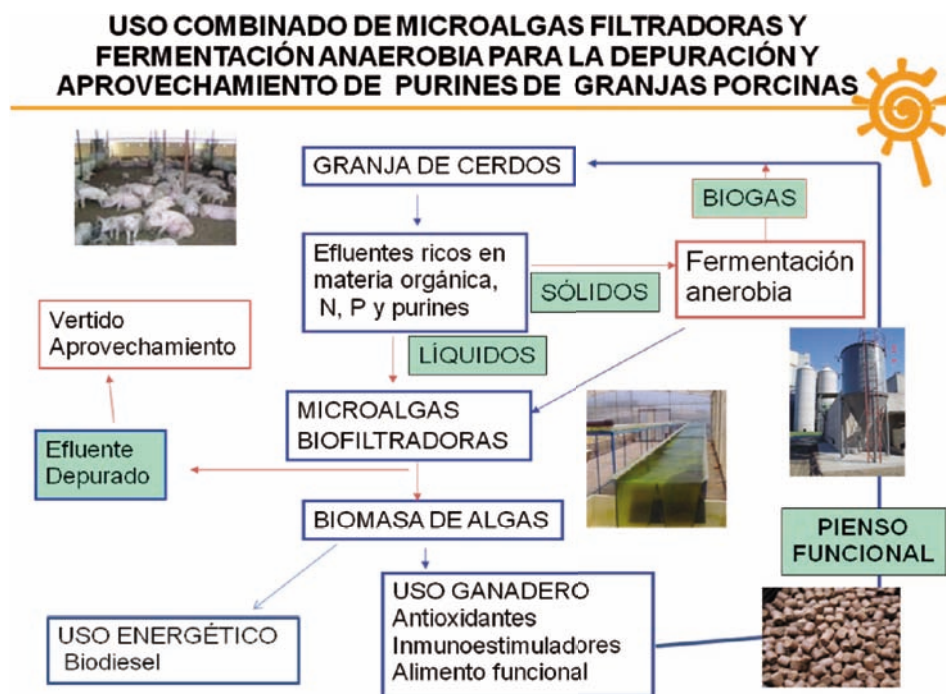


Figura 2. Esquema del uso combinado de microalgas-bacteria para la depuración de purines de cerdos. El efluente depurado se puede emplear en la propia granja o para riego agrícola, la biomasa de algas puede tener un uso ganadero (alimento funcional por su potencial capacidad antioxidante e inmunoestimulante) o uso energético para la producción de biodiesel y por último la fracción sólida se puede emplear mediante digestión anaerobia para la producción de biogás.

## Agradecimientos

La investigación ha sido financiada por los proyectos de Investigación AGR 1842 (financiado por la Junta de Andalucía), AGL 2005-02655/ACU (financiado por el

Las algas como recurso.

Valorización. Aplicaciones industriales y tendencias

Ministerio de Educación y Ciencia) y Biopurín (Proyecto de Excelencia financiado por la Junta de Andalucía). CGL agradece la beca de FPU del Ministerio de Educación y Ciencia y RR la beca de investigación de la Junta de Andalucía.

## Referencias bibliográficas

- Abdala-Díaz R., Chabrellón M., Cabello-Pasini A., Gómez-Pinchetti J.L., Figueroa F.L. (2010) Characterization of polysaccharides from *Hypnea spinella* (Gigartinales) and *Halopithys incurva* (Ceramiales) and their effect on RAW 264.7 macrophage activity. *Journal of Applied Phycology* DOI 10.1007/s10811-010-9622-7.
- Bao Iglesias M. (2001) Closed and energetically integrated process (CEI process) for the treatment of animal wastes (purines). Universidad de Santiago de Compostela. International Patent WO/2001/02604 12-04-2001.
- Buschmann A.H., Correa J.A., Westermeier R., Hernández-González M., Norambuena R. (2001a) Red algal farming in Chile: a review. *Aquaculture*, 194:203–220.
- Buschmann A.H., Troell M., Kautsky N. (2001b) Integrated algal farming: a review. *Cahiers de Biologie Marine*, 42: 83– 90.
- Chisti Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25: 294–306.
- Chopin T., Buschmann A.H., Halling C., Troell M., Kautsky N., Neori A., Kraemer G., Zertuche-Gonzalez J., Yarish C., Neefus C. (2001) Integrating seaweeds into aquaculture systems: a key towards sustainability. *Journal of Phycology*, 37: 975– 986.
- Cruz-Suárez L.E., Tapia-Salazar M., Nieto-López M.G., Guajardo-Barbosa C. y Ricque-Marie D. (2009) Comparison of *Ulva clathrata* and the kelps *Macrocystis pyrifera* and *Ascophyllum nodosum* as ingredients in shrimp feed. *Aquaculture Nutrition*, 165: 421-430.
- Dantagnan P., Hernández A., Borquez A., Mansilla A. (2009) Inclusion of macroalgae meal (*Macrocystispyrifera*) as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*): effect on flash fatty acid composition. *Aquaculture Research*, 41: 87-94.
- De la Coba, F., Aguilera, J. Figueroa, F.L., de Gálvez, M.V., Herrera, E. (2009) Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *Journal of Applied Phycology*, 21: 161-169.
- Díaz-Rosales P., Felices C., Abdala R., Figueroa F.L., Gómez Pinchetti J.L., Moriñigo M.A., Balebona M.C. (2007) In vitro effect of the red alga *Hydropuntia cornea* (J. Agardh) on the respiratory burst of sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) phagocytes. *Aquaculture Research*, 38: 1411-1418.

- Ergün S., Soyuturk M., Guroy B., Guroy D., Merrifield D. (2009) Influence of *Ulva* meal on growth, feed utilization and body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. *Aquaculture International*, 17: 355-361
- Figueroa F.L., Bueno A., Korbee N., Santos R., Mata L., Schuenhoff A. (2008) Accumulation of mycosporine-like amino acids in *Asparagopsis armata* grown in tanks with fishpond effluents of gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39:692-699
- García-Casal M.N., Pereira A.C., Leets I., Ramírez J., Quiroga M.F. (2007) High iron content and bioavailability in humans from four species of marine algae. *Journal of Nutrition*, 137: 2691-2695.
- Gómez-Pinchetti J.L., del Campo Fernández E., Díez Moreno P., García Reina G. (1998) Nitrogen availability influences the biochemical composition and photosynthesis of tank-cultivated *Ulva rigida* (Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology*, 10: 383-389.
- Gómez-Pinchetti J.L., Suárez Álvarez S., Martel Quintana A., Reina G. (2002) Alternative high-value seaweed species as biofilters for the purification of N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> enriched fishpond effluents. En: *Algal Biotechnology: a sea of opportunities* García Guerrero M., Molina Grima E., Acien Fernández F.G., Fernández Sevilla J.M., Sánchez Pérez J.A., Brindley Alias C. (eds) 267. Servicio Publicaciones Universidad de Almería, Almería.
- González C., Marciniak J., Villaverde S., Garcia-Encina P. A., Muñoz R. (2008) Microalgae-based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80: 891-98.
- Hernández I., Pérez-Pastor A., Vergara J.J., Martínez Aragón J.F, Fernández-Engo M.A., Pérez-Lloréns J.L. (2006) Studies on the biofiltration capacity of *Gracilariopsis longissima*: from microscale to macroscale. *Aquaculture*, 252: 43-53.
- Jiménez del Río M., García Reina G., Ramazanov Z. (1996) *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) tank culture as biofilters for dissolved inorganic nitrogen from fishpond effluents. *Hidrobiologia*, 326/327:61-66.
- Jiménez-Pérez M.V., Sánchez-Castillo P., Romera O., Fernández-Moreno D., Pérez-Martínez C. (2004) Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure. *Enzyme and microbial technology* 34: 392-98.



- Juteau P. (2006) Review of the use of aerobic thermophilic bioprocesses for the treatment of swine waste. *Livestock Science*, 102(3): 187-196.
- Karakashev D., Batstone D.J., Angelidaki I. (2005) Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1): 331-338.
- Kim M.K., Park J.W., Park C.S., Kim S.J., Jeune K.H., Chang M.U., Acreman J. (2007) Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. *Bioresource Technology*, 98: 2220-2228.
- Krom M.D., Ellner S., Van Rijn J., Neori A. (1995) Nitrogen and phosphorus cycling and transformation in a prototype “non-polluting” integrated mariculture system, Eilat, Israel. *Marine Ecology Progress Series* 118:25-36.
- Martínez-Almela J. y Barrera J. M. (2005) SELCO-Ecopurin® pig slurry treatment system. *Bioresource Technology*, 96: 223-228.
- Matos J., Costa S., Rodrigues A., Pereira R., Sousa Pinto I. (2006) Experimental integrated aquaculture of fish and red seaweeds in Northern Portugal. *Aquaculture*, 252: 31-42.
- Mulbry W., Kondrad S., Pizarro C., Kebede-Westhead E. (2008) Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Bioresource Technology*, 99: 8137-8142.
- Nagler P.L., Glenn E.P., Nelson S.G., Napoleon S. (2003) Effects of fertilization treatment and stocking density on the growth and production of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in cage culture at Molokai, Hawaii. *Aquaculture*, 219: 379-391.
- Nakagawa H., Kasahara S., Sugiyama T. (1987) Effect of Ulva meal supplementation on lipid metabolism of blackseabream, *Acanthopagrus sclegeli* (Bleeker). *Aquaculture*, 62: 109-121.
- Nakagawa H. (1997) Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 51: 345-348.
- Neori A., Chopin T., Troell M., Buschmann A.H., Kraemer G.P., Halling C., Shopigel M., Yarish C. (2004) Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of art emphasizing seaweed biofiltration in moder mariculture. *Aquaculture*, 231: 361-394.

- Neori A., Troellm M., Chopin T., Yarish C., Critchley A., Buschmann A. (2007) The need for a balanced ecosystem approach to blue revolution aquaculture. *Environment*, 49(3): 37-43
- Rupérez P. y Saura-Calixto F. (2001) Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. *European Food Research and Technology*, 212: 349-354.
- Schramm W. (1991) Seaweed for waste water treatment and recycling of nutrients. En: *Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential* M.D. Guiry y G. Blunden (eds.). John Wiley and Sons, Ltd., England, pp. 149-168.
- Schuenhoff A., Mata L., Santos R. (2006) Tetrasporophyte of *Asparagopsis armata* as a novel seaweed biofilter. *Aquaculture*, 252: 3-11.
- Tait K., Williamson H., Atkinson S., Williams P., Camara M., Joint I. (2009) Turnover of quorum sensing signal molecules modulates cross-kingdom signaling. *Environmental microbiology*, 11: 1792-1802.
- Valente L.M.P., Gouveia A., Rema P., Matos J., Gomes E.F., Pinto I.S. (2006) Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European seabass *Dicentrarchus labrax* juveniles. *Aquaculture*, 252: 85-91.
- Vanotti M.B., Rice J.M., Hunt P. G., Humenik F.J., Ellison A.Q., Baird C.A., Millner P., Szogi A.A. (2001) Evaluation of polymer solids separation, nitrification-denitrification, and soluble phosphorus removal system for treating swine manure. En: *Proceedings of the International Symposium Addressing animal production and environment*, CD-ROM. Research Triangle Park, N.C.: North Carolina State University.
- Viera M.P., Gómez Pinchetti J.L., Courtois de Vicose G., Bilbao A., Suárez S., Haroun R.J., Izquierdo M.S. (2005) Suitability of three red macroalgae as a feed for the abalone *Haliotis tuberculata coccinea*, Reeve. *Aquaculture*, 248: 75-82.
- Yang Y.F., Fei X.G., Song J.M., Hu H.Y., Wang G.C., Chung I.K. (2006) Growth of *Gracilaria lemaneiformis* under different cultivation conditions and its effect on nutrient removal in Chinese coastal waters. *Aquaculture*, 254: 248-255.

# Aplicaciones industriales de las microalgas y descubrimiento de biomoléculas de interés.

Carlos Padilla-Martínez, Antonio Fernández Medarde

Instituto Biomar, Parque Tecnológico de León, 24009 Armunia (León), España

Dirección e-mail: c.padilla@institutobiomar.com

## Resumen

Instituto Biomar S.A. tiene como objetivos la búsqueda de nuevos compuestos con actividad farmacológica y la aplicación biotecnológica de los microorganismos en diferentes sectores industriales. Una de nuestras líneas de trabajo se centra en el aislamiento y cultivo de microalgas. Describimos nuestra línea de trabajo con estos microorganismos así como su potencial interés y su aplicación en diferentes áreas.

## Instituto Biomar

Instituto Biomar S.A. es una empresa cuyos objetivos principales son: a) el descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos a partir de microorganismos marinos. b) El desarrollo de aplicaciones biotecnológicas para los sectores industriales y c) el desarrollo de métodos de producción para compuestos de fermentación y la producción de API's (Active Pharmaceutical Ingredients, compuestos con actividad farmacológica) bajo normas GMPs (Good Manufacturing Practice, buenas prácticas de fabricación).

Instituto Biomar S.A. nace en 1996, como empresa derivada de Pharmamar (grupo Zeltia) para la búsqueda de nuevos compuestos antitumorales a partir del cultivo microorganismos aislados desde macroorganismos de origen marino.

En 2004, Instituto Biomar amplía sus líneas de trabajo interesándose por las aplicaciones industriales de los microorganismos que posee en su colección además de aislar nuevos microorganismos específicos para estas aplicaciones.

Posteriormente se aumenta la capacidad de aislamiento a muestras no sólo marinas, sino también terrestres que provienen de ambientes especiales y con la creación, en 2005, de una nueva línea de microorganismos: las microalgas.

En 2009, Instituto Biomar se traslada a las nuevas instalaciones situadas en el Parque tecnológico de León donde amplía su superficie de laboratorios y desde aquí aumenta su capacidad para desarrollar las distintas líneas de trabajo:

- Ampliación de las dianas para la búsqueda de compuestos antitumorales y compuestos antiangiogénicos.
- Búsqueda y selección de nuevos antibacterianos y antifúngicos para enfermedades infecciosas.
- Búsqueda y selección de agentes contra enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y contra enfermedades raras como la distrofia miotónica.
- Búsqueda de compuestos con actividad anticoagulante o antiinflamatoria.
- Líneas de aplicaciones industriales:
  - Cosmética: búsqueda de antioxidantes.
  - Acuicultura: búsqueda de probióticos.
  - Agricultura: búsqueda de biopesticidas.
  - Alimentación: búsqueda de nuevos conservantes naturales.
  - Biodiesel: catálogos de microalgas productoras de lípidos
  - Enología: búsqueda de cepas para las diferentes etapas del proceso de producción del vino.
  - Análisis: desarrollo de métodos de análisis para diferentes procesos como los análisis de antibióticos en leche.

Todas estas actuaciones son posibles gracias al trabajo integrado de diferentes áreas de conocimiento que en nuestra empresa se dividen en los siguientes departamentos:

- Microbiología: formado a su vez por las unidades de actinobacterias, hongos, microalgas y cultivo de microorganismos a nivel industrial.
- Química: formado por las unidades de química de aislamiento de productos naturales, espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear y química de procesos a escala industrial.

- Ensayos
- Gestión de proyectos de I+D.

## **Desarrollo general del trabajo de Instituto Biomar**

Las diferentes líneas de trabajo se sostienen gracias a la obtención de microorganismos a partir de las muestras de macroorganismos marinos que se realizan mediante campañas de prospecciones.

Las prospecciones de Instituto Biomar son principalmente de origen marino, aunque no en exclusiva puesto que desde hace unos años también aislamos microorganismos a partir de muestras terrestres de ambientes especiales.

La mayoría de nuestra materia prima, más del 80%, son pequeños fragmentos u organismos invertebrados marinos (entre 5 y 10 gramos de peso húmedo): algas, esponjas, tunicados, moluscos, crustáceos, etc. a los que añadimos siempre que es posible sedimentos marinos. Hemos llegado incluso a obtener muestras de entre 400 y 600 metros de profundidad.

Las prospecciones marinas las realizan tanto empresas dedicadas a este trabajo, como la empresa española CPD con la que nosotros trabajamos, como nuestro propio personal.

Primero elegimos diversos lugares repartidos por toda la tierra. Estos son seleccionados en función de la biodiversidad de organismos marinos de dichos lugares y de la cantidad de ambientes distintos y con especiales características que puedan contener. Nuestro interés está en una fauna microbiológica adaptada a multitud de condiciones propias de cada lugar de recogida de muestras. Pensamos que estos microorganismos adaptados a estas condiciones o ambientes podrían poner en marcha diferentes rutas metabólicas que producirían distintos compuestos. Por tanto, creemos que ese diferente metabolismo crearía entidades químicas distintas aumentando la probabilidad de aplicación en nuestras áreas de interés.

Tras esta elección sobre el mapa hay todo un trabajo burocrático, la mayoría de las veces bastante arduo, para la consecución de los permisos necesarios para la recolección, contacto con empresas que puedan asegurarnos la infraestructura neces-

ria y el transporte de las muestras una vez recogidas. Estas tareas son complicadas debido a la distinta forma en que cada país legisla este tipo de trabajos.

Esta capacidad de prospección se pone de manifiesto a través de las más de 100 expediciones, actualmente 120, llevadas a cabo por Instituto Biomar a lo largo de estos años. Algunas de ellas se muestran en la Figura 1.

Cada una de las muestras recogidas es procesada por las diferentes unidades del departamento de microbiología; actinobacterias, hongos y microalgas. En cada unidad hay procesos diferentes y se usan distintos medios de cultivo para el crecimiento de cada tipo específico de microorganismos.

Todas las unidades poseen sistemas que permiten la obtención de microorganismos diferentes, evitando al máximo la repetición de una misma cepa. Estos métodos pueden ser morfológicos (usando microscopios), químicos (usando perfiles de determinados tipos de compuestos) y/o moleculares (usando amplificación de diversas zonas del ADN del microorganismo).

Así, durante todos estos años se ha aislado, cultivado y creado una colección de microorganismos que hoy en día tiene más de 60.000 cepas entre actinobacterias, hongos, y en menor proporción, microalgas.

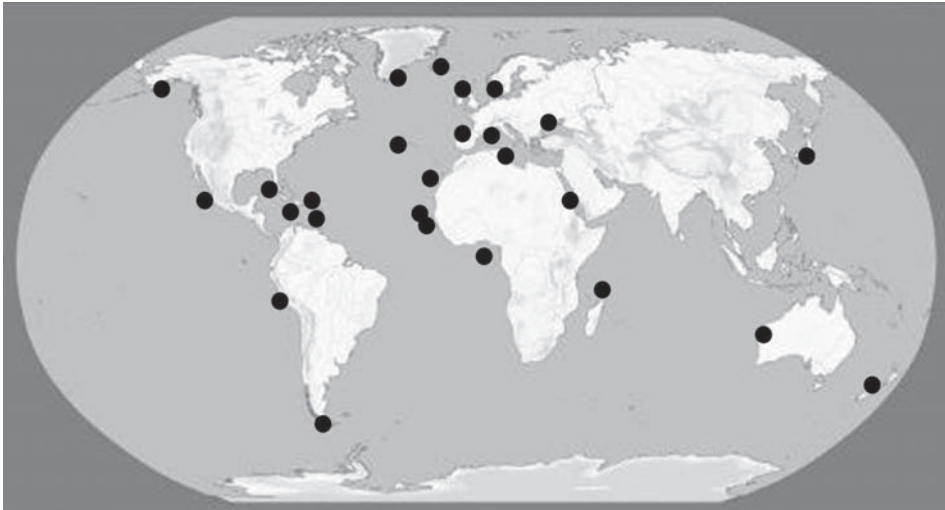


Figura 1. Algunos lugares geográficos donde el Instituto Biomar ha realizado prospecciones.

## Interés de las microalgas

Las microalgas son microorganismos fotoautotróficos y bajo este nombre se incluyen tanto microeucariotas como cianobacterias. Desde hace bastante tiempo se sabe que son capaces de sintetizar diferentes metabolitos secundarios con variadas funciones biológicas (Williams, 2008, Rastogi y Kim, 2009) (Tabla 1).

Si hacemos búsquedas bibliográficas veremos que la mayoría de los artículos que encontraremos describen metabolitos aislados en cianobacterias, y especialmente a determinado tipo de moléculas que presentan toxicidad para otros organismos. Las algas microscópicas parecen estar mucho menos estudiadas desde este punto de vista, si bien existen algunos artículos donde se pone de manifiesto que también pueden tener compuestos de interés (Rastogi et al., 2009, Bhatnagar y Kim, 2010).

De entre todos los compuestos, sólo unos pocos han llegado lejos en el largo recorrido que lleva desde el descubrimiento de nuevos compuestos hasta la comercialización de los mismos como ingredientes farmacéuticos.

Actualmente, ningún compuesto obtenido a partir de microalgas ha llegado a la última fase (fase clínica III) anterior a la aprobación como medicamento tanto en la FDA (Food and Drug Administration), en Estados Unidos, como la EMEA (European Medicines Agency), en la Unión Europea.

Quizá el caso más avanzado es el de los compuestos denominados criptoficinas, que son compuestos obtenidos a partir de cianobacterias con actividad antitumoral (Rohr, 2006). Estos compuestos, aún siendo activos, tienen otra serie de problemas, principalmente de toxicidad, que han hecho que su avance haya sido muy lento en las fases clínicas durante más de 10 años y sin embargo, es evidente que este tipo de moléculas interesa a las empresas farmacéuticas, ya que se intenta crear derivados químicos que eviten los problemas de sus antecesoras y puedan seguir avanzando a través de las diferentes etapas clínicas.

Casi todos los compuestos obtenidos a partir de microalgas presentan hasta ahora varios problemas asociados con la producción de los mismos. Las microalgas y cianobacterias son organismos que crecen muy lentamente comparados con bacterias y hongos, suelen tener una baja producción de los compuestos de interés, y además, muchas veces los compuestos son detectados en poblaciones naturales

Tabla 1. Compuestos aislados de diferentes cianobacterias y la actividad biológica por la que fueron seleccionados. (Fuentes: Williams, 2008, Rastogi y Sinha, 2009, Bhatnagar y Kim, 2010)

| Compuesto activo         | Microorganismo productor       | Actividad biológica detectada  |
|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Bastadin                 | <i>Anabaena basta</i>          | Antibiótica                    |
| Anatoxin-a               | <i>Anabaena</i> sp             | Larvicida                      |
| Calothrixin A, B         | <i>Calothrix</i>               | Antimalaria                    |
| Cylindrospermopsin       | <i>Cylindrospermopsis</i> sp   | Larvicida                      |
| Bauerine A, B C          | <i>Dichotrix baueriana</i>     | Anti HSV-2                     |
| Anhydrohapaloxindole     | <i>Hapalosiphon fontinalis</i> | Antifúngica                    |
| Coibamide A              | <i>Leptolyngbya</i>            | Antitumoral                    |
| Sulfolipid               | <i>Lyngbya lagerheimii</i>     | Anti HIV                       |
| Dragomabin               | <i>Lyngbya majuscula</i>       | Antimalaria                    |
| Dragonamide A,B          | <i>Lyngbya majuscula</i>       | Antimalaria                    |
| Carmabin                 | <i>Lyngbya majuscula</i>       | Antimalaria                    |
| Aplysiatoxin             | <i>Lyngbya majuscula</i>       | Antitumoral                    |
| Pitipeptolide A, B       | <i>Lyngbya majuscula</i>       | Antitumoral                    |
| Majusculamide A, B, C, D | <i>Lyngbya majuscula</i>       | Antifúngica                    |
| Curacin A                | <i>Lyngbya</i> sp              | Antitumoral                    |
| Pahayokolide             | <i>Lyngbya</i> sp              | Antialgal/larvicida            |
| Apratoxin A              | <i>Lyngbya</i> sp              | Antitumoral                    |
| Microcystin              | <i>Microcystis aeruginosa</i>  | Alguicidal/larvicida/herbicida |
| Cyanovirin               | <i>Nostoc ellipsosporum</i>    | Anti HIV                       |
| Borophycin               | <i>Nostoc linckia</i>          | Antitumoral                    |
| Muscoride                | <i>Nostoc muscorum</i>         | Antibiótica                    |
| Cryptophycins            | <i>Nostoc</i> sp               | Antitumoral                    |
| Nostocarboline           | <i>Nostoc</i> sp.              | Antimalaria                    |
| Nostocine A              | <i>Nostoc spongiaeforme</i>    | Antibiótica                    |
| Acutiphycin              | <i>Oscillatoria acutissima</i> | Antitumoral                    |
| Venturamide A,B          | <i>Oscillatoria</i> sp         | Antimalaria                    |
| Fisherellin              | <i>Phormidium ectocarpi</i>    | Antifúngica / Herbicida        |
| Cyanobacterin            | <i>Scytonema hofmanni</i>      | Alguicida                      |
| Calcium spirulan         | <i>Spirulina platensis</i>     | Anti HIV                       |
| Symplocamide A           | <i>Symploca</i> sp             | Antimalaria                    |
| Symplostatin 3           | <i>Symploca</i> sp             | Antitumoral                    |
| Largazole                | <i>Symploca</i> sp             | Antitumoral                    |



pero estos microorganismos una vez aislados y cultivados no presentan los mismos resultados en el laboratorio y sólo en una minoría se puede obtener de nuevo el compuesto detectado en su hábitat natural. Incluso a veces no es posible su cultivo en el laboratorio.

Debemos, por tanto, ser capaces de poner a punto nuevas técnicas de cultivo que nos permitan obtener biomasa de las diferentes cepas, acelerar su crecimiento y aumentar su productividad. Estos puntos forman parte los objetivos del laboratorio de microalgas de Instituto Biomar, de momento a través de técnicas clásicas de mejora, aunque no es descartable que en un futuro próximo sea necesaria la manipulación genética bien por el empleo de mutantes de cianobacterias, bien por la introducción de genes de estos microorganismos en otros más manejables.

### **Unidad de microalgas de Instituto Biomar**

En la unidad de microalgas trabajamos tanto con cianobacterias como con algas microscópicas eucariotas. Tradicionalmente, ambos tipos de organismos son denominados genéricamente “microalgas” aunque está claramente admitida por los científicos la diferenciación entre ambos tipos de microorganismos, (Stanier y Cohen-Bazire, 1977). Las hasta entonces llamadas “algas verde-azuladas” o cianofíceas debían ser claramente diferenciadas del resto de algas microscópicas.

En la unidad de microalgas tenemos diferentes proyectos basados en la capacidad de este tipo de microorganismos para producir diferentes tipos de compuestos con diversas actividades. Nuestro trabajo sigue una serie de pasos que se describen resumidamente, a continuación.

A partir de las muestras recogidas en las prospecciones de las que hemos hablado anteriormente, nuestro grupo hace una siembra del homogeneizado de cada una de ellas en diferentes medios, que en el caso de microalgas están basados en diferencias de composición salina.

Nuestro grupo es capaz de aislar tanto cianobacterias como microalgas eucariotas aunque en nuestros comienzos sólo aislábamos cianobacterias debido a que en aquel momento el interés principal de nuestra empresa residía en el descubrimiento de nuevos compuestos a partir de cianobacterias con interés y aplicaciones en el área terapéutica.

Actualmente seguimos buscando nuevos compuestos con actividad farmacológica en cianobacterias pero además nos hemos centrado en su posible capacidad para producir diferentes tipos biocombustibles, centrándonos en la producción de lípidos. Creemos que en un futuro también será posible estudiar la producción de otros biocombustibles en microalgas, como bioetanol o hidrógeno.

Desde hace unos años, también las microalgas eucariotas han focalizado la atención de científicos y empresas debido fundamentalmente a su capacidad para acumular lípidos que podrían ser usados como biodiesel. Además, también se están usando microalgas como organismos descontaminantes, en plantas de aguas residuales o para tratamiento de residuos de la ganadería porcina, tal como se explica en el capítulo 7 de este segundo bloque.

En la unidad de microalgas conseguimos entre 2.000 y 2.500 aislamientos anuales de las diferentes muestras que procesamos, número que va aumentando año a año a medida que mejoramos, optimizamos y ponemos a punto nuevos procesos de aislamiento. Estos aislamientos se hacen de manera manual con el uso de estereomicroscopios y pinzas, agujas, etc. (Figura 2).

Con este proceso de aislamiento se pretende obtener cada microalga por separado y en forma de monocultivo. Para conseguir este objetivo, una vez que se ha permitido el crecimiento en las placas de aislamiento, tenemos un proceso que denominamos desreplicación, que consiste en tratar de descartar todo aquello que pueda ser igual y dejar sólo aquello que es diferente, según el sistema elegido. Nuestro sistema de desreplicación es visual utilizando estereomicroscopios y microscopios para dilucidar si dos cepas pueden ser iguales o no.

Con este tipo de aproximación elegimos entre 1.000 y 1.500 cepas anuales. Estas cepas pueden pertenecer a la misma especie pero las muestras de las que se obtuvieron pertenecían a hábitats diferentes dentro de una misma expedición o incluso en diferente situación geográfica, de manera que suponemos

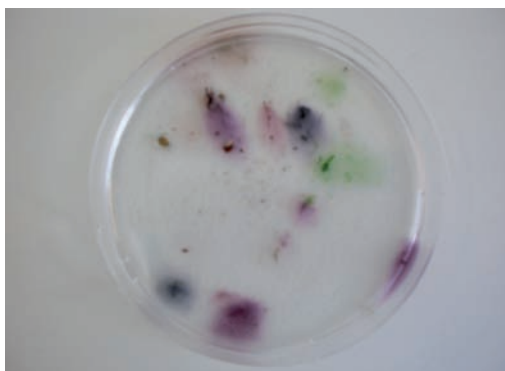


Figura 2. Placa de aislamiento del laboratorio de microalgas

que sus respuestas a su medio natural serán también diferentes y sintetizarán distintas moléculas que puedan ser activas en los ensayos “in vitro” (screening) que tenemos en Instituto Biomar.

Las cepas elegidas, actualmente entre 1.000 y 1.200 anuales, se cultivan en turbidostatos de 200 ml de capacidad en condiciones de fotoperiodo, temperatura, y cantidad de luz controladas (Figura 3).

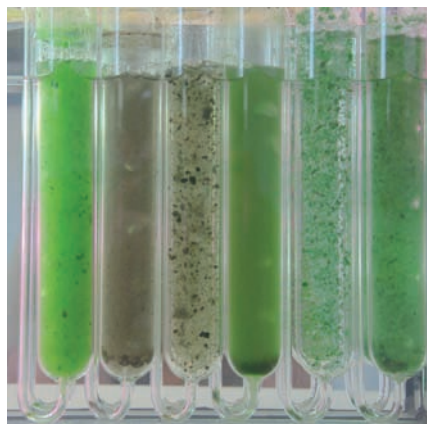


Figura 3. Cultivo de microalgas en turbidostatos de 200 mL

Estos cultivos se monitorizan para observar la evolución del crecimiento, pH, cantidad de acilglicéridos, a lo largo del periodo de cultivo. Además se obtiene un registro fotográfico al microscopio de cada una de las cepas cultivadas.

Al finalizar este periodo, donde las cepas suelen crecer bastante más rápido que en los pasos anteriores, concentramos la biomasa por centrifugación. Liofilizamos dicha biomasa que se reparte en diferentes alícuotas cada una de las cuales se extrae con solventes orgánicos y acuosos, dependiendo del parámetro a medir, ya sea cantidad de acilglicéridos, identificación de ácidos grasos, obtención de extractos para perfiles químicos, medición de cantidad de proteínas y otros.

Utilizando esta aproximación hemos obtenido extractos positivos en bastantes áreas de interés: farmacia (compuestos con diferentes capacidades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes), biocombustibles (acilglicérols), carotenoides, colorantes, conservantes.

En cada una de las áreas ensayadas se produce una selección de las mejores cepas que pasarán a un nuevo proceso de mejora, a modo de ejemplo presentamos la selección de cepas para el proyecto de biocombustibles basándonos en parámetros como su velocidad de crecimiento y la producción de acilglicérols (Figura 4).

Recientemente, para el proyecto de búsqueda de microalgas útiles para biocombustibles, hemos construido invernaderos dentro de los cuales podemos cultivar microalgas hasta un volumen de 400 litros en la modalidad de cultivo al

## Las algas como recurso.

Valorización. Aplicaciones industriales y tendencias

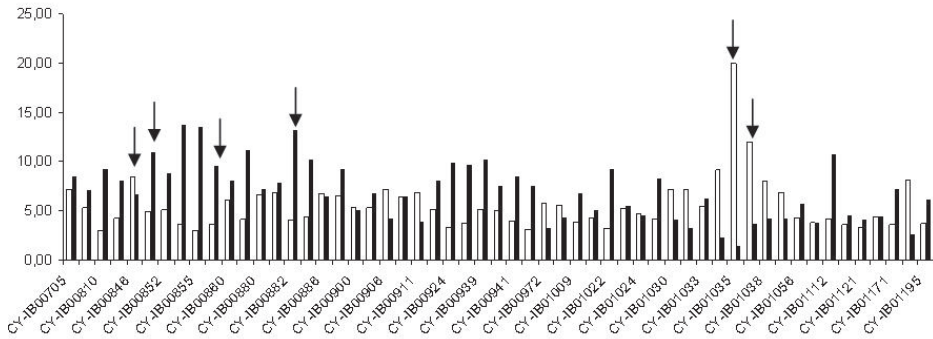


Figura 4. Ejemplo de selección de cepas. Columnas negras: peso seco gr/litro de cultivo (velocidad de crecimiento). Columnas blancas: porcentaje de acilglicéridos por gr de peso seco. Las flechas indican las cepas seleccionadas.

aire libre, para observar como se comportan las cepas optimizadas en laboratorio y como varían las cepas sometidas a condiciones de producción, ambientalmente más cercanas a las plantas de demostración industriales (Figura 5).



Figura 5. Inoculación de los cultivos al aire libre de 400 litros.

Como es evidente, aunque el trabajo sobre el crecimiento de cepas es enteramente ejecutado en nuestra unidad, no podemos dejar de reconocer que el resto de departamentos de nuestra empresa tienen una gran aportación, no sólo en forma de diferentes tipos de tareas (pruebas, nuevos métodos, aplicación de técnicas) sino como soporte de ayuda intelectual inmensurable.

### **Agradecimientos**

A todos los diferentes departamentos que comparten el trabajo en los proyectos donde la unidad de microalgas está involucrada, y dentro de esta unidad agradezco el trabajo de mi equipo que se esfuerza por hacerlo mejor cada día. Gracias a Neyla Alvarez, Iván Broco, Sandra Cabañas, Elvira Fernández, M<sup>a</sup> Gemma García y Marcos García. “Juntos podemos”.

Gracias al CETMAR por habernos invitado a estas jornadas sobre las aplicaciones industriales de microalgas y darnos la oportunidad de presentar los trabajos que llevamos a cabo en Instituto Biomar.

## Referencias bibliográficas

- Bhatnagar I., Kim S-K. (2010) Immense essence of excellence: Marine microbial bioactive compounds. *Marine Drugs*, 8: 2673-2701.
- Rastogi R.P., Sinha R.P. (2009) Biotechnological and industrial of cyanobacterial secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 27: 521-539.
- Rohr J., (2006) Cryptophycin anticancer drugs revisited. *ACS Chemical Biology*, 1(12): 474-475.
- Stanier R.Y., Cohen-Bazire G. (1977) Phototrophic prokaryotes: The cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 31: 225-274.
- Williams P.G. (2008) Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends in Biotechnology*, 27(1): 45-52.









Miembros del consorcio del Proyecto BIOTECMAR:







INVIRTIENDO EN NUESTRO FUTURO COMÚN



Unión Europea

Fondo Europeo de  
Desarrollo Regional

