

Research Article

Producción de compuestos fenólicos por cuatro especies de microalgas marinas sometidas a diferentes condiciones de iluminación

Ana L. Gómez¹, José A. López¹, Armida Rodríguez², Judith Fortiz², Luis R. Martínez¹
Alejandro Apolinar³ & Luis F. Enríquez¹

¹DICTUS, Universidad de Sonora, Colosio s/n, Hermosillo, Sonora, México

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, La Victoria
Hermosillo, Sonora, México

³DIFUS, Universidad de Sonora, Colosio s/n, Hermosillo, Sonora, México

Corresponding author: José Antonio López (jalopez@guayacan.uson.mx)

RESUMEN. Algas y microalgas son productoras de compuestos antioxidantes como respuesta protectora al daño producido por estrés (radiación UV, variación de temperatura, iluminación excesiva, entre otros). En el presente estudio, se evaluó en condiciones de laboratorio el contenido de fenoles totales en cuatro especies de microalgas marinas: *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898), *Thalassiosira weissflogii* (Grunow, 1977), *Dunaliella tertiolecta* (Butcher, 1959) y *Tetraselmis chunii* (Butcher, 1959), sometidas a diferentes condiciones de iluminación por efecto del material de las unidades de cultivo (recipientes de vidrio transparente y de plástico azul). Los fenoles totales fueron extraídos y se cuantificaron mediante espectrofotometría. Independiente de la condición de iluminación, el mayor número de células se encontró en *D. tertiolecta* y *C. muelleri* con 904.000 y 965.000 cél mL⁻¹, respectivamente. La concentración de fenoles totales (mgEAG g⁻¹ peso seco) fue diferente entre especies; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas respecto a la condición de iluminación. Los extractos de *D. tertiolecta* cultivada en vidrio y *T. chunii* cultivada en plástico, mostraron el mayor contenido de fenoles (1,54 y 1,52 mgEAG g⁻¹ peso seco, respectivamente). Se concluye que la producción de compuestos fenólicos fue mayor en los cultivos con microalgas verdes, independientemente de la condición de iluminación.

Palabras clave: microalgas verdes, diatomeas, fenoles, biomasa, acuicultura.

Production of phenolic compounds by four species of marine microalgae under different light conditions

ABSTRACT. Algae and microalgae produce protective antioxidant compounds in response to damage for stress (UV radiation, temperature variation, excessive light and others). In the present study, the total phenol content in four species of marine microalgae *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898), *Thalassiosira weissflogii* (Grunow, 1977), *Dunaliella tertiolecta* (Butcher, 1959) y *Tetraselmis chunii* (Butcher, 1959), grown at different illumination rates due to the materials of the containers (carboy of clear glass and carboy of blue plastic), was evaluated under laboratory conditions. The total phenols were quantified by spectrophotometry. Independently of illumination condition, the greatest number of cells was found in *D. tertiolecta* and *C. muelleri* (904,000 and 965,000 cells mL⁻¹, respectively). The concentration of total phenols (mg EAG g⁻¹) was different among species, but not among illumination condition. Extracts of *D. tertiolecta* grown in glass and *T. chunii* grown in plastic containers, showed the highest content of phenols (1.54 and 1.52 mg EAG g⁻¹, respectively). It was concluded that the production of phenolic compounds were higher in green microalgae, independently of the illumination condition.

Keywords: green microalgae, diatoms, phenols, biomass, aquaculture.

INTRODUCCIÓN

Actualmente las microalgas son comercializadas como alimento natural o suplemento en la alimentación del ser humano; se venden frecuentemente en las presenta-

ciones de tabletas, cápsulas y líquidos. También son incorporadas en pastas, bocadillos, dulces en barra y en bebidas, ya sea como suplemento nutricional o como fuente de colorante natural para estos alimentos (Akpolat, 2008). En los cultivos larvarios de crustáceos

y moluscos se emplean como alimento las microalgas *Chaetoceros muelleri*, *Dunaliella tertiolecta* y *Tetraselmis chuii* (López-Elías *et al.*, 2013a). *Thalassiosira pseudonana* (Cleve, 1873) ha sido aplicada con éxito en la acuicultura de peneidos (García *et al.*, 2012). Los principales sistemas de producción de microalgas son los estáticos secuenciales y se utilizan como unidades de producción recipientes de vidrio y de plástico. Los fotobiorreactores son diseñados indistintamente en cualquiera de estos materiales (Ugwo *et al.*, 2008). Según Gómez *et al.* (1994) y De Oliveira *et al.* (1999) el crecimiento celular es similar en ambos tipos de recipientes. Las microalgas producen gran variedad de compuestos conocidos como metabolitos secundarios. Entre estos últimos se encuentran compuestos bioactivos producidos por vegetales como mecanismos de defensa; su importancia radica en la acción antioxidante y antagonista de radicales libres. Actualmente el estudio de las microalgas se enfoca principalmente en sus compuestos fenólicos (Martínez *et al.*, 2002). Estos compuestos, diversos en estructura y función, son sintetizados por el organismo en cultivo al final de la fase de crecimiento exponencial y en la fase estacionaria (Robbins, 2003).

La producción de los compuestos fenólicos ha sido relacionada al efecto de la iluminación, siendo afectada tanto por exceso de la misma como por la radiación ultravioleta (UV). Según Cobia *et al.* (2012) la radiación UV produce, como una defensa antioxidante, un incremento en la producción de los compuestos fenólicos en *Chlorella* sp. Los resultados de Abdala-Díaz *et al.* (2014) sugieren que el aumento de compuestos fenólicos observados en *Cystoseira tamariscifolia* (Hudson, 1950) estaría asociado a su exposición a alta iluminación y a radiación UV. Los compuestos fenólicos han sido investigados debido a sus diversos beneficios para la salud humana y de otros animales, ya que actúan como antioxidantes, antiinflamatorios, agentes cardiovasculares, y como productos para el tratamiento del cáncer y la diabetes (Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Los compuestos fenólicos son parte del complejo mecanismo de defensa de las microalgas y por lo tanto son acumulados en respuesta al estrés por luz UV (Duval *et al.*, 2000), entre otros factores. A la fecha se ha evaluado la actividad antioxidante de algunas especies de microalgas pertenecientes a los géneros *Botryococcus*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Nostoc*, *Phaeodactylum*, *Polysiphonia*, *Scytosiphon*, *Spirulina* (Hajimamoodi *et al.*, 2010; Medina *et al.*, 2014). A pesar de su actividad antioxidante, los compuestos fenólicos de las microalgas no han recibido suficiente atención debido a sus bajas concentraciones. Solo algunos estudios recientes han

investigado sistemas más eficientes en la producción de compuestos fenólicos para uso farmacéutico (Kepekçi & Saygideger, 2012). Estos estudios se han enfocado en mejorar las técnicas de extracción y en concentrar en las microalgas dichos compuestos fenólicos (Custódio *et al.*, 2012; Saranya *et al.*, 2014).

En este trabajo se evaluó la biomasa y concentración de compuestos fenólicos de cuatro microalgas marinas utilizadas en el cultivo larvario de especies acuícolas: *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira weissflogii*, *Dunaliella tertiolecta* y *Tetraselmis chuii*, sometidas a diferentes condiciones de iluminación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas de las microalgas utilizadas en este trabajo provienen del cepario de microalgas del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior (CICESE) de Ensenada, Baja California, México. En este estudio se utilizó un diseño experimental factorial de 2x4 en un arreglo completamente al azar (dos condiciones de iluminación producto de los materiales de cultivo y cuatro especies de microalgas), por cuadruplicado. Las microalgas se cultivaron en un medio estándar (f/2 de Guillard & Ryther, 1962). Los cultivos se desarrollaron bajo condiciones de laboratorio por seis días. Se utilizó una fuente de luz fría, que emitió $274,2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Como unidades de cultivo se usaron recipientes de vidrio transparente (RVT) y de plástico azul (RPA). La intensidad luminosa al interior de ellos se midió con un fotómetro Light Meter. Para los dos tipos de materiales se midió la absorbancia con un espectrofotómetro a longitudes de onda entre 400 y 700 nm. Los recuentos celulares se realizaron cada 24 h con un hematocitómetro de 0,1 mm de profundidad bajo un microscopio compuesto. La fórmula para realizar el cálculo fue:

$$\text{n}^\circ \text{ cel mL}^{-1} = (\text{n}^\circ \text{ células totales/n}^\circ \text{ de cuadros contados}) \times 10.000$$

Determinación de la biomasa

Al concluir los cultivos se floculó la biomasa, utilizando sulfato de aluminio ($0,15 \text{ g L}^{-1}$); posteriormente la biomasa se congeló a -80°C en un ultracongelador. Las muestras congeladas, debido su alto contenido de humedad, se liofilizaron a -40°C hasta peso constante durante 7 a 10 días. Para homogeneizarlas se molieron en un mortero, se colocaron en frascos de plástico de boca ancha forrados con papel aluminio, se adicionó gas nitrógeno, se cerraron y las tapas se sellaron con papel parafilm; luego se almacenaron en un congelador a -40°C . El peso seco de

la muestra se ajustó para eliminar el equivalente al sulfato de aluminio agregado al momento de la floculación.

Extracción de fenoles

Para la extracción de fenoles, se pesaron por triplicado 2 g de la microalga liofilizada en una balanza analítica (precisión 0,01 mg). Se agregaron 10 mL de etanol al 100% y se homogenizaron a 13.500 rpm por 1 min en un homogenizador de tejidos. A continuación se sonicaron por 1 h, se centrifugaron a 4.500 rpm por 10 min a 10°C en una centrífuga refrigerada. Se filtraron en papel Wathman N°1, se recolectó el filtrado en recipientes de 50 mL y se adicionó gas nitrógeno para crear una atmósfera inerte. Los residuos se extrajeron de acuerdo a la metodología propuesta por Kähkönen *et al.* (1999) y López *et al.* (2011).

Cuantificación de los compuestos fenólicos

La determinación de los compuestos fenólicos se realizó en el Laboratorio de Biología y Bioquímica de Plantas del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD), de acuerdo al método colorimétrico descrito por Singleton *et al.* (1999). Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG g⁻¹ peso seco).

Análisis de datos

Las curvas de crecimiento se trazaron con los datos promedio. Previo al análisis de datos se aplicó la prueba de normalidad y homogeneidad de varianza. Para el análisis del contenido de compuestos fenólicos se realizó un análisis de varianza de dos vías a un nivel de significancia de $P < 0,05$; donde los factores fueron la condición de iluminación (material de los contenedores para los cultivos) y la especie de microalga. Cuando hubo diferencia significativa, se efectuaron comparaciones de medias por la prueba de rangos múltiples de Tukey a un nivel de significancia del 5%. Los datos fueron procesados con el programa estadístico Statistica (StatSoft) para Windows.

RESULTADOS

Absorbancia de las unidades de cultivo

Los valores de absorbancia de las unidades de cultivo (RVT y RPA), presentaron diferencias. Para los RVT se registró una absorbancia entre 0,71 y 0,81 y para RPA de 0,20 a 0,28. Por consiguiente, la intensidad luminosa varió entre 111 y 114 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en los RVT y entre 86 y 87 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en los RPA.

Concentraciones celulares

El crecimiento poblacional no presentó diferencias significativas ($F = 18$, $P > 0.05$) entre los cultivos realizados en RVT y en aquellos realizados en RPA; solo se observó una ligera tendencia a ser mayor en los primeros (Fig. 1). La densidad celular final en *D. tertiolecta* fue de $1,24 \times 10^6$ y $0,74 \times 10^6$ cél mL⁻¹ al ser cultivada en RVT y en RPA, respectivamente. Mientras que para *T. chuii* fue de $1,01 \times 10^6$ y $0,50 \times 10^6$ cél mL⁻¹ para ambos tipos de contenedores, respectivamente. Así mismo, en las diatomeas se observó que la densidad celular final en los cultivos de *T. weissflogii* fue de $2,25 \times 10^6$ cél mL⁻¹ en RVT y $2,02 \times 10^6$ cél mL⁻¹ en RPA. Mientras que para *C. muelleri* fue de 1×10^6 cél mL⁻¹ y $0,93 \times 10^6$ cél mL⁻¹ en los cultivos en RVT y RPA, respectivamente (Fig. 2). El número de células obtenidas al final del cultivo, fue mayor en los RVT que en los RPA ($F = 10$, $P < 0,001$), independiente de la

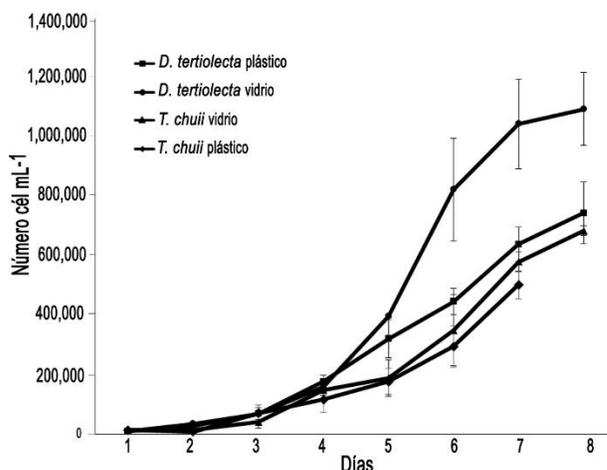


Figura 1. Concentraciones finales diarias de los cultivos de *D. tertiolecta* y *T. chuii* en recipientes de vidrio transparente y de plástico azul.

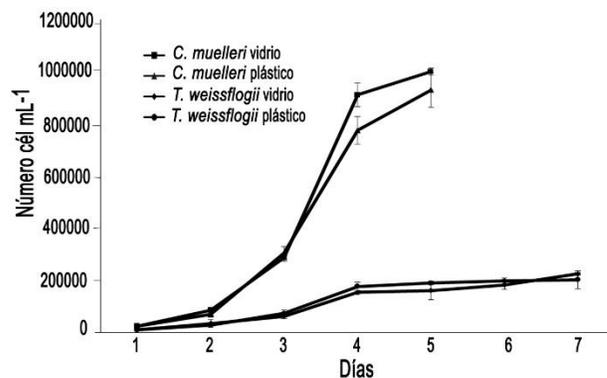


Figura 2. Concentraciones finales diarias de los cultivos de *C. muelleri* y *T. weissflogii* en recipientes de vidrio transparente y de plástico azul.

especie de microalga; aunque fue más evidente en el caso de las microalgas verdes (*D. tertiolecta* y *T. chuii*). El mayor número de células se observó en los RPA y en los RVT en *D. tertiolecta* con 0,75 y $1,06 \times 10^6$ cél mL⁻¹ y en *C. muelleri* con 0,93 y $1,0 \times 10^6$ cél. mL⁻¹, respectivamente ($F = 58$, $P < 0.01$). La biomasa húmeda recuperada de los cultivos fue similar en ambas condiciones de iluminación (RVT y RPA). Sin embargo, al comparar la biomasa producida entre especies de microalga, se encontraron diferencias significativas ($F = 18$, $P < 0,05$). La menor biomasa se logró con las microalgas verdes *D. tertiolecta* y *T. chuii* cuyos promedios fueron 266 y 346 g L⁻¹, respectivamente; mientras que la mayor se obtuvo con las diatomeas *C. muelleri* y *T. weissflogii* con promedios 839 y 865 g L⁻¹, respectivamente (Tabla 1). El contenido de fenoles totales de las diferentes especies de microalgas, en las dos condiciones de cultivo, fluctuó entre 0,32 y 1,54 mg EAG g⁻¹ de peso seco. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las especies de microalgas ($F = 34,46$, $P < 0,001$). Los extractos de *D. tertiolecta* cultivada en RVT y *T. chuii* cultivada en RPA, mostraron el mayor contenido de fenoles, 1,54 y 1,52 mg EAG g⁻¹, respectivamente. El menor contenido se encontró en *C. muelleri* cultivada en RPA con 0,32 mg EAG g⁻¹ y *T. weissflogii* cultivada en RVT con 0,58 mg EAG g⁻¹. Al contrastar las condiciones de iluminación, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de fenoles, aunque se apreció una tendencia a ser ligeramente más alto en los RVT.

DISCUSIÓN

Se ha documentado que la condición de iluminación tiene un efecto directo en el desarrollo de las microalgas, por su incidencia en la actividad fotosintética así como en la producción de componentes celulares específicos. Singh & Singh (2015) encontraron que algunas especies de microalgas verdes, rojas, diatomeas y cianobacterias se desempeñan mejor dentro de un cierto rango de iluminación y que cantidades mayores o menores de estas microalgas, se traducen en una menor tasa de replicación y/o crecimiento celular. En esta investigación no se presentó estrés por iluminación, sin embargo, se encontró que la mayor producción de biomasa y compuestos fenólicos se registró en los recipientes de vidrio, que fue el material que permitió el mayor paso de la irradiancia. Además, se encontró que las clorófitas mantienen la cantidad de biomasa y compuestos fenólicos totales similares en los RVT y en los RPA, lo cual sugiere que su rango óptimo de desarrollo, está comprendida entre las condiciones de iluminación prevalentes en ambos recipientes. En

vegetales se ha encontrado que la cantidad y la calidad de la iluminación inducen al metabolismo de los compuestos secundarios (compuestos fenólicos como el ácido benzoico y el cinámico que son originados de la biosíntesis del aminoácido aromático l-fenil-alanina) por activación de los fotoreceptores (Robbins, 2003). En *Cystoseira tamariscifolia* (Hudson, 1950) la mayor concentración de compuestos fenólicos se encontró en la sección apical, probablemente debido a que estos compuestos fenólicos funcionan como un mecanismo de protección para esta sección que está más expuesta a una mayor intensidad luminosa y de radiación UV (Abdala-Díaz *et al.*, 2014).

En general, la concentración celular fue más alta en condiciones de mayor iluminación (RVT) en comparación a condiciones de menor iluminación (RPA). De Oliveira *et al.* (1999) reportan la misma tendencia en dos especies de *Spirulina*, al comparar cultivos efectuados en recipientes de plástico y de vidrio. Por otro lado Lemus *et al.* (2006) reportaron para *C. muelleri*, cultivada en recipientes de vidrio en sistema semicontinuo, concentraciones celulares de 1,8 a $2,2 \times 10^6$ cél mL⁻¹, estos valores son mayores a los obtenidos en esta investigación. Esta diferencia se puede atribuir al sistema de cultivo estático utilizado en el presente trabajo. Moheimani (2013), cultivó las microalgas verdes *Chlorella* sp. y *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch, 1959, en fotobioreactores al exterior. La concentración celular final promedio de los cultivos de *T. suecica* fue de $1,02 \times 10^6$ cél mL⁻¹ a los 10 días de cultivo, mientras que en los cultivos de *Chlorella* sp. se registraron valores entre 16 y 22×10^6 cél mL⁻¹. Los resultados obtenidos con *T. suecica* fueron similares al obtenido en el presente trabajo para *T. chuii* a los 6 días de cultivo en RVT al interior. Esto indica que en cultivos bajo condiciones de laboratorio, se pueden lograr densidades celulares similares a las obtenidas al exterior, siempre y cuando los recipientes sean de materiales como el vidrio transparente, donde la absorbancia sea baja y permita un mayor paso de luz.

La concentración celular reportada por López-Elías *et al.* (2013b), en un cultivo de *D. tertiolecta* en RVT al interior fue de $1,28 \times 10^6$ cél mL⁻¹, valor similar al registrado en el presente estudio para *Dunaliella* sp. ($1,24 \times 10^6$ cél mL⁻¹). Por otro lado, Rosales-Loaiza *et al.* (2008) cultivaron *Dunaliella viridis* (Teodoresco, 1906) en un sistema semicontinuo al exterior bajo dos condiciones de iluminación (116 ± 8 y 139 ± 22 μ moles m⁻² seg⁻¹), obteniendo a baja iluminación concentraciones entre $1,49 \times 10^9$ y $1,99 \times 10^9$ cél L⁻¹ día⁻¹. Moheimani (2013) cultivó microalgas verdes al exterior, y obtuvo en *T. suecica* una biomasa de 121 hasta 170 mg L⁻¹ día⁻¹. Esta biomasa es menor a la que se logró en *T. chuii* en este trabajo, que como promedio llegó a 345 mg L⁻¹ día⁻¹.

Tabla 1. Biomasa, número de células y fenoles totales producidos por especie cultivada en recipientes de vidrio transparente y de plástico azul. RPA: recipientes de plástico azul, RVT: recipientes de vidrio transparente. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Especie	Número de células (cel mL ⁻¹)		Biomasa (g mL ⁻¹)		Fenoles totales (mg EAG g ⁻¹)	
	RPA	RVT	RPA	RVT	RPA	RVT
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	203,000 ± 68,000 ^a	226,000 ± 11,000 ^a	639 ± 309 ^{abc}	1,091 ± 433 ^c	0.58 ± 0.0571 ^{ab}	0.84 ± 0.0837 ^a
<i>Tetraselmis chuii</i>	504,000 ± 93,000 ^{ab}	686,000 ± 32,000 ^{bc}	352 ± 121 ^{ab}	339 ± 76 ^{ab}	1.52 ± 0.0837 ^c	1.52 ± 0.0837 ^c
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	746,000 ± 208,000 ^{bcd}	1,063,000 ± 160,000 ^d	250 ± 35 ^a	281 ± 59 ^a	1.25 ± 0.1125 ^{bc}	1.54 ± 0.1133 ^c
<i>Chaetoceros muelleri</i>	931,000 ± 132,000 ^{cd}	1,000,000 ± 26,200 ^{cd}	866 ± 243 ^c	812 ± 97 ^{bc}	0.32 ± 0.0296 ^a	0.64 ± 0.0482 ^a

Estas diferencias probablemente se deban a que en este estudio las condiciones fueron controladas y más estables. La cantidad de compuestos fenólicos totales fue dependiente de la especie de microalga. Además, se observó una tendencia a ser mayores en los cultivos efectuados en los RVT, debido a que la iluminación recibida fue más alta (112 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$). Esto concuerda con lo reportado por Kepekçi & Saygideger (2012) quienes encontraron en cultivos de *Spirulina platensis* (Gomont) Geiter, 1925, efectuados en una cámara con fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad con radiación de 40, 60 y 120 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ a 30°C, que a iluminaciones mayores de 120 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, obtuvieron las mayores cantidades de compuestos fenólicos con un promedio de 49,83 mg EAG g⁻¹. Arezki *et al.* (2001) mencionan que la iluminación favorece el incremento en compuestos fenólicos y una disminución de la actividad de la peroxidasa, que causa un decremento del crecimiento y en un posterior aumento de compuestos antioxidantes como los fenoles.

En las plantas se ha encontrado que a mayor iluminación, aumenta en sus vacuolas la cantidad de compuestos fenólicos del tipo de los flavonoides. La producción de fenoles es un mecanismo de defensa contra el exceso de oxígeno producido durante el proceso de fotosíntesis. Estos compuestos son generados cuando los organismos fotosintéticos son expuestos a cantidades altas de irradiancia. Además, el exceso de iluminación provoca un aumento en la formación de radicales libres, por lo que la respuesta de defensa de los organismos fotosintéticos consiste en un aumento de la expresión genética para la biosíntesis de compuestos flavonoides, que a su vez son compuestos antioxidantes (Agati *et al.*, 2013). Por ello, es factible encontrar un aumento de estos compuestos a iluminaciones mayores, como ocurrió en este trabajo en el caso de las irradiancias registradas con los recipientes de vidrio transparentes. En las escasas investigaciones relacionadas al efecto de la irradiancia en la producción de carotenos y compuestos fenólicos en diatomeas, se ha visto que aumentan las cantidades de compuestos antioxidantes, debido a que en su hábitat natural requieren de estos compuestos para protegerse

del exceso de irradiancia y de la radiación UV (Kadono *et al.*, 2015).

Saranya *et al.* (2014) encontraron que *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen), *Isochrysis galbana* (Parke, 1949) y *Chlorella salina* (Butcher, 1952) producen compuestos antioxidantes como carotenos y otros compuestos fenólicos que tienen propiedades antioxidantes. Goiris *et al.* (2012) evaluaron la capacidad antioxidante, contenido de carotenoides y fenoles totales de tres especies de microalgas, encontrando un contenido de fenoles totales de 1,71 mg EAG g⁻¹ en *T. suecica* y 1,84 mg EAG g⁻¹ en *C. calcitrans*. Estos resultados son similares a los obtenidos en esta investigación para las mismas especies. Wang *et al.* (2009) comprobaron que la extracción de los compuestos fenólicos de la biomasa de muchas especies de algas fue mayor con acetona al 70% que solamente con agua, por ello en esta investigación también se hizo una extracción con acetona. Li *et al.* (2007) evaluaron la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en 23 especies de microalgas, encontrando valores de 3,59 a 60,35 mg EAG g⁻¹, lo que concuerda con los valores obtenidos en este estudio. Finalmente, los resultados obtenidos sobre fenoles totales (0,32-1,54 mg EAG g⁻¹), son superiores a los obtenidos por Copia *et al.* (2012) (0,1 y 0,4 mg EAG g⁻¹) en *Chlorella* sp. bajo estrés por radiación UV.

CONCLUSIONES

La mayor concentración de células totales se obtuvo en los cultivos de *D. tertiolecta* y *C. muelleri*, independientemente del tipo de recipiente de cultivo. La concentración más alta de fenoles totales se encontró en los cultivos de las microalgas verdes, independiente de las condiciones de iluminación durante el cultivo.

AGRADECIMIENTOS

A los técnicos del laboratorio del DICTUS, Srs. Álvaro Murguía y Lauro Mercado por su ayuda durante el cultivo de las microalgas.

REFERENCIAS

- Abdala-Díaz, R.T., A. Cabello-Pasini, E. Márquez-Garrido & F.L. Figueroa. 2014. Intra-thallus variation of phenolic compounds, antioxidant activity, and phenolsulphatase activity in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) from southern Spain. *Cienc. Mar.*, 40(1): 1-10.
- Acosta-Estrada, B.A., U.J.A. Gutiérrez & S.S.O. Serna. 2014. Bound phenolic in food, a review. *Food Chem.*, 152: 46-55.
- Agati, G., C. Brunetti, M. Di Ferdinando, F. Ferrini, S. Pollastri & M. Tattini. 2013. Functional roles of flavonoids in photoprotection: new evidence, lessons from the past. *Plant. Physiol. Biochem.*, 72: 35-45.
- Akpolat, O. 2008. Determination of consumer expectations by illustration of *Spirulina* as marketing of biotechnological products. *Trends Agric. Econ.*, 1(1): 27-34.
- Arezki, O., P. Boxus, C. Kevers & T. Gaspar. 2001. Changes in peroxidases activity, and level of phenolic compounds during light-induced plantlet regeneration from *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *Nodes in vitro. Plant Growth Regul.*, 33: 215-219.
- Copia, J., H. Gaete, G. Zúñiga, M. Hidalgo & E. Cabrera. 2012. Efecto de la radiación ultravioleta B en la producción de polifenoles en la microalga marina *Chlorella* sp. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 40(1): 113-123.
- Custódio, L., T. Justo, L. Silvestre, A. Barradas, C. Vizetto-Duarte, H. Pereira, L. Barreira, A.P. Rauter, F. Alberício & J. Varela. 2012. Microalgae of different phyla antioxidant, metal chelating and acetyl cholinesterase inhibitory activities. *Food Chem.*, 131: 134-140.
- De Oliveira, M.A., M.P. Monteiro & D.G. Leite. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquacult. Int.*, 7: 261-275.
- Duval, B., K. Shetty & W.H. Thomas. 2000. Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomona snivalis* after exposure to UV light. *J. Appl. Phycol.*, 11: 559-566.
- García, N., J.A. López-Elías, A. Miranda, M. Martínez-Porchas, N. Huerta & A. García. 2012. Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 40(2): 435-440.
- Goiris, K., K. Muylaert, I. Fraeye, I. Foubert, J. De Brabanter & L. De Cooman. 2012. Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *J. Phycol.*, doi 10.1007/s10811-012-9804-6.
- Gómez, O., A. Gómez & J. Rosas. 1994. Cultivo masivo de las microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Nannochloris oculata* y *Tetraselmis chuii*, utilizando recipientes de distinta transparencia. *Saber*, 6: 28-32.
- Guillard, R.R.L. & J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Clève) Gran. *Can. J. Microbiol.*, 8: 229-239.
- Hajimahmoodi, H., A.F. Mohammad, N. Mohammadi, N. Soltani, R.O. Mohammad & N. Nafissi-Varcheh. 2010. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. *J. Appl. Phycol.*, 22: 43-50.
- Kadono, T., N. Kira, K. Suzuki, O. Iwata, T. Ohama, S. Okada & M. Adachi. 2015. Effect of an introduced phytoene synthase gene expression on carotenoid biosynthesis in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Mar. Drugs*, 13(8): 5334-5357.
- Kähkönen, M.P., A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala & M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agr. Food Chem.*, 47: 3954-3962.
- Kepekçi R.A. & S.D. Saygideger. 2012. Enhancement of phenolic compound production in *Spirulina platensis* by two-step batch mode cultivation. *J. Phycol.*, 24(4): 897-905.
- Lemus, N., T. Urbano, V.B. Arredondo, M. Guevara, A. Vásquez, P.L. Carreón & N. Vallejo. 2006. Crecimiento bioquímico de *Chaetoceros muelleri* cultivada en sistemas discontinuos y semicontinuos. *Cienc. Mar.*, 32(3): 397-603.
- Li, H., K. Cheng, C. Wong, K. Fan, F. Chen & Y. Jiang. 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.*, 102: 771-776.
- López, A., M. Rico, A. Rivero & T.M. Suárez. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparim* algae extracts. *Food Chem.*, 125: 1104-1109.
- López-Elías, J.A., M. de J. Becerra-Dórame, J.E. Valdéz-Holguín & A. Miranda-Baeza. 2013a. El uso de microalgas planctónicas en el cultivo larvario de organismos acuícolas. In: L.R. Martínez-Córdova & M. Martínez-Porchas (eds.). *Alimento natural en acuicultura*. AGT Editor, México, pp. 63-87.
- López-Elías, J.A., D. Fimbres-Olivarria, L.A. Medina-Juárez, A. Miranda-Baeza, L.R. Martínez-Córdova & D.M.A. Molina-Quijada. 2013b. Producción de biomasa y carotenoides de *Dunaliella tertiolecta* en medios limitados en nitrógeno. *Phyton*, 82: 23-30.
- Martínez, F.S., G.J. González, J.M. Culebras & M.J. Tuñón. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.*, 17(6): 271-278.

- Medina, F.D., J.A. López, L.R. Martínez, M.A. López, J. Hernández, M.E. Rivas & C.F. Mendoza. 2014. Evaluation of the productive and physiological responses of *Litopenaeus vannamei* infected with WSSV and fed diets enriched with *Dunaliella* sp. *J. Invertebr. Pathol.*, 117: 9-12.
- Moheimani, N.R. 2013. Long-term outdoor growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* and *Chlorella* sp. (Chlorophyta) in bag photobioreactors. *J. Appl. Phycol.*, 25: 167-176.
- Robbins, R.J. 2003. Phenolic acids in food: an overview of analytical methodology. *J. Agr. Food Chem.*, 51: 2866-2887.
- Rosales-Loaiza, N., D. Avendaño, A. Otero & E. Morales. 2008. Crecimiento, producción de pigmentos y proteínas de la microalga *Dunaliella viridis* (Chlorophyta) en cultivos semicontinuos. *Bol. Centro Invest. Biol.*, 42(3): 323-334.
- Saranya, C., A. Hemalatha, C. Parthiban & P. Anantharaman. 2014. Evaluation of antioxidant properties, total phenolic and carotenoid content of *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella salina* and *Isochrysis galbana*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 3(8): 365-377.
- Singh, S.P. & P. Singh. 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: a review. *Renewable Sust. Energ. Rev.*, 50: 431-444.
- Singleton, V.L., R. Orthofer & R.R.M. Lamuela. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.*, 299: 152-178.
- Ugwo, C.U., H. Aoyagi & H. Uchiyama. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresour. Technol.*, 99: 4021-4028.
- Wang, T., R. Jónsdóttir & G. Ólafsdóttir. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chem.*, 116: 240-248.

Received: 5 November 2014; Accepted: 17 December 2015