



Obtención de compuestos bioactivos y enzimas a partir de la fermentación de algas

A. Pérez-Alva*, M. M. Ramírez-Rodriguez y D. K. Baigts-Allende

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos
Correo electrónico: alexa.perezaa@udlap.mx

RESUMEN

El objetivo de este artículo de revisión es proporcionar información actualizada sobre las diferentes aplicaciones de la fermentación de micro y macroalgas para obtener compuestos bioactivos y enzimas. Los estudios de fermentación de algas se han centrado en analizar la mejora del contenido fenólico, que está relacionado positivamente con la capacidad antioxidante. Además, se ha estudiado la producción de enzimas, carotenoides y polisacáridos, así como la mejora de la digestibilidad y biodisponibilidad de los péptidos. A pesar de que se ha investigado la producción de alimentos fermentados a base de algas y piensos para la acuicultura, este es un nicho que aún se encuentra en desarrollo, puesto que la mayoría de los estudios estudia el uso de algas para la obtención de biocombustibles y tratamiento de aguas residuales.

Palabras clave: fermentación, macroalgas, microalgas.

ABSTRACT

The objective of this review is to provide current information on the different applications of micro and macroalgae fermentation to obtain bioactive compounds and enzymes. The algal fermentation studies have focused on the improvement of the phenolic content, which is positively correlated to the antioxidant capacity. In addition, the production of carotenoids, enzymes and polysaccharides, as well as the improvement of the digestibility and bioavailability of peptides have also been studied. Notwithstanding the investigations regarding fermented algae-based foods and feed for aquaculture, this is a research segment that is still developing, since most studies focus on the use of algae for obtaining biofuels and wastewater treatment.

Keywords: fermentation, macroalgae, microalgae.

ABREVIATURAS

ABTS	Inhibición del 2, 2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico, por sus siglas en inglés
APTT	Tiempo de tromboplastina parcial activado, por sus siglas en inglés
DO	Densidad óptica
DPPH	Inhibición del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, por sus siglas en inglés
FRAP	Capacidad antioxidante para reducir ion férrico, por sus siglas en inglés
GAE	Equivalentes de ácido gálico, por sus siglas en inglés
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno, por sus siglas en inglés
PGE	Equivalentes de floroglucinol dihidrato, por sus siglas en inglés
TE	Equivalentes de trolox, por sus siglas en inglés

INTRODUCCIÓN

Las algas son un grupo heterogéneo de organismos que generalmente se describen como plantas acuáticas. Japón, China y Corea tienen una larga historia consumiéndolas (Takei *et al.*, 2017). De hecho, las microalgas azul-verdes se han empleado como alimento por miles de años, mientras que la literatura más antigua en la que se menciona su uso como tributo y alimento es el *Código Taiho Ritsuryo* promulgado en 701 d. C. en Japón. Sin embargo, fue hasta principios de la década de 1950 que se implementó el cultivo de microalgas como fuente novedosa de proteína (Spolaore *et al.*, 2006; Takuei *et al.*, 2017).

Las algas, al ser organismos fotoautótrofos, producen metabolitos primarios y secundarios, que pueden presentar beneficios nutricionales y actividad biológica por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias, entre otras (Amorim

et al. 2012; Chye *et al.*, 2018; Tanna y Mishra, 2018). Durante los últimos años, los metabolitos primarios, como péptidos y polisacáridos, así como los metabolitos secundarios, entre los que se encuentran polifenoles y pigmentos, han despertado el interés de la población, por lo que se han investigado diversos métodos para su obtención, como la hidrólisis ácida, la digestión enzimática y la extracción con solventes. A pesar de que los métodos estudiados son efectivos, al ser procedimientos complejos y tener costos elevados, pueden tener limitaciones. Debido a esto, se han buscado métodos de producción alternativos de menor costo, que sean amigables con el ambiente y en los que no se generen residuos tóxicos (Shobharani *et al.*, 2013). La fermentación es una buena alternativa, ya que es capaz de generar compuestos de alta calidad y alta actividad, sin el riesgo de la toxicidad asociada a solventes orgánicos (Martins *et al.*, 2011). La fermentación es una de las tecnologías de procesamiento de alimentos más antiguas e importantes, no solo aumenta la vida útil de los alimentos, sino que les confiere propiedades nutricionales y sensoriales únicas (Navarrete-Bolaños, 2012; Erkmen y Bozoglu, 2016; Niccolai *et al.*, 2019). La fermentación de algas inició entre 1970 y 1980, con el objetivo de producir biocombustibles y como fuente de energía. Fue hasta hace pocos años que se comenzó a investigar la posibilidad de utilizar algas como sustrato para la producción de compuestos bioactivos por medio de fermentaciones ácido lácticas o alcohólicas (Uchida y Miyoshi, 2013). El objetivo de este artículo de revisión es proporcionar información actualizada sobre las diferentes aplicaciones de la fermentación de micro y macroalgas para obtener compuestos bioactivos y enzimas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Generalidades de las algas

Las algas son un grupo de organismos muy comunes que habitan la Tierra. Se estima que el número conocido de especies varía entre 30,000 y 1 millón (Ścieszka y Klewicka, 2018). Son organismos fotosintéticos que se pueden desarrollar en hábitats diversos, pero predominantemente crecen en ecosistemas acuáticos, ya

sea en agua dulce o salada. Sin embargo, también pueden encontrarse en rocas, paredes, tierra e incluso en plantas y animales, en simbiosis (Kim, 2011; Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Tebbani *et al.*, 2014; Ścieszka y Klewicka, 2018). Adicionalmente, tienen la capacidad de adaptarse a condiciones extremas, como cambios en la salinidad, temperatura, nutrientes e incluso radiación UV-VIS (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014). Con la finalidad de sobrevivir, durante el proceso de adaptación, producen una gran variedad de metabolitos primarios y secundarios que no pueden ser encontrados en otros organismos (Ścieszka y Klewicka, 2018). Algunos de estos compuestos son polisacáridos y polifenoles, los cuales han sido reconocidos por tener aplicaciones farmacológicas y terapéuticas (Shobharani *et al.*, 2013).

Las algas tienen la capacidad de convertir la energía lumínica y fuentes de carbono —como el dióxido de carbono— en biomasa (Kim, 2011; Tebbani *et al.*, 2014). Su morfología y tamaño son muy variables, por lo que se suelen dividir en dos grupos principales: macroalgas y microalgas (Kim, 2011). Las macroalgas son organismos multicelulares, que pueden medir hasta 70 m de longitud y tener un crecimiento de 50 cm diarios. Por otra parte, las microalgas pueden medir entre 3-10 μm (Tebhani *et al.*, 2014; Ścieszka y Klewicka, 2018).

1.1. Macroalgas

Generalmente, las macroalgas se encuentran en litorales (Kim, 2011). De acuerdo con los tipos de pigmentos que producen, se dividen en tres subgrupos principales: algas pardas (*Phaeophyceae*), algas rojas (*Rhodophyceae*) y algas verdes (*Chlorophyceae*) —algunos autores agregan como cuarto grupo a los pastos marinos (*Magnoliophyceae*)—. En las algas pardas predomina el color café debido a la presencia de fucoxantina, mientras que en las rojas se encuentran pigmentos como la ficoeritrina y ficocianina, y las algas verdes contienen clorofilas del tipo a y b (Kim, 2011; Ścieszka y Klewicka, 2018). Las macroalgas se componen principalmente de carbohidratos (50-70 % b.s.) y contienen, además, vitaminas y minerales (Uchida y Miyoshi, 2013; Chye *et al.*, 2018). Los carbohidratos presentes varían dependiendo del tipo de alga. En las algas pardas predominan los alginatos y fucanos, en las algas rojas se

pueden encontrar galactanos sulfatados, xilanos y almidón floridiano. Mientras que las algas verdes contienen almidón, xilanos, mananos, polisacáridos iónicos que contienen grupos sulfato, ácidos iónicos, ramnosa, xilosa, galactosa y arabinosa. También se ha reportado que todas las algas contienen celulosa (Hamed *et al.*, 2015). Las algas pardas también contienen ácidos grasos, como el ácido 18:3 α -linolénico y el ácido 20:5 eicosapentaenoico (Abidov *et al.*, 2010).

1.2. Microalgas

Las microalgas se consideran los primeros organismos productores de oxígeno y se estima que se han encontrado en los océanos desde hace tres billones de años. Son responsables de haber transformado la composición de la atmósfera, permitiendo así el desarrollo y evolución de plantas y animales (Tebhani *et al.*, 2014). Las microalgas, también conocidas como fitoplancton, tienen una gran capacidad de adaptación y supervivencia que les ha permitido colonizar la mayoría de los ecosistemas. Se pueden encontrar en aguas termales, hielo, agua con elevadas concentraciones de sal o acidez, cuevas, en simbiosis, e incluso como parásitos (Kim, 2011; Tebbani *et al.*, 2014). Las cianobacterias son también conocidas como algas azul-verde y se suelen clasificar con las algas, específicamente con las microalgas, debido a que poseen similitudes fisiológicas y fotosintéticas. Estas pueden crecer como células individuales o asociadas en cadenas o pequeñas colonias (De Freitas Coêlho *et al.*, 2019; Nicoletti, 2016).

De manera tradicional, las microalgas se clasifican de acuerdo a sus características morfológicas y citológicas, tipo de metabolitos de reserva, pigmentos y componentes de su pared celular (Ścieszka y Klewicka, 2018). Dentro de este grupo se encuentran las diatomeas (*Bacillariophyta*), dinoflagelados (*Dinophyta*), flagelados verdes y marrones (*Chlorophyta*, *Prasinophyta*, *Prymnesiophyta*, *Cryptophyta*, *Chrysophyta* y *Rhaphidophyta*), y las algas azul-verde (*Cyanophyta*) (Kim, 2011).

En general, las microalgas, tienen tres principales pigmentos: clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas. En cuanto a su morfología, pueden ser esféricas, en forma de media luna, de espiral, gota e incluso en forma de estrella (Tebhani *et al.*, 2014). Estas

diferencias se pueden ver reflejadas en los metabolitos que producen y su utilización. Algunas especies producen compuestos como carotenoides y ácidos grasos, los cuales son importantes para la salud, mientras que otras especies se utilizan en el tratamiento de aguas residuales o en la agricultura como acondicionadores de suelos (Paul *et al.*, 2013).

Entre las microalgas más conocidas se encuentran *Chlorella* y *Arthrospira*. Mientras que la primera es una microalga unicelular, la segunda es una cianobacteria filamentosa, multicelular. Ambas microalgas viven en agua dulce y poseen compuestos bioactivos. El nombre de *Chlorella* proviene del griego *chloros* y el latín *ella*, que significa verde y pequeño, respectivamente. Por otra parte, el nombre de *Spirulina*, que comúnmente se da a *Arthrospira*, se debe a su forma espiral. Sin embargo, también se han identificado microalgas pertenecientes a este género que presentan una forma lineal. Estas microalgas se denominan comúnmente como algas-cianobacterias de color azul-verdoso (Andrade *et al.*, 2018). Debido a esta denominación, para fines de este trabajo se considerará a *A. platensis* como una microalga y se incluirá en el apartado de fermentación de microalgas.

2. Fermentación de macroalgas para la obtención de compuestos bioactivos

Para abordar los estudios sobre la fermentación de macroalgas, se han dividido de acuerdo a su clasificación en algas pardas, rojas y verdes. En la tabla I se puede observar un resumen de las especies de algas y microorganismos utilizados, así como las condiciones de fermentación y el resultado obtenido en varios estudios.

2.1. Fermentación de algas pardas

Las algas pardas son el grupo de algas más estudiado para llevar a cabo distintos tipos de fermentación. La mayoría de autores han realizado una fermentación ácido-láctica (Mun *et al.*, 2017), utilizando *Lactobacillus plantarum* (Gupta *et al.*, 2011; Nemoto *et al.*, 2017; Takei *et al.*, 2017), *Lactobacillus brevis* (Lee *et al.*, 2010; Cha *et al.*, 2011; Kang, *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2013) o mezclas de 2 o más lactobacilos (Uchida *et al.*, 2007; Shobharani *et al.*, 2013; Eda *et al.*, 2016; Kuda *et al.*,

2016; Mun *et al.*, 2017). Algunos autores las han utilizado para la obtención de ácido butírico (Oh *et al.*, 2019) y carotenoides (Leyton *et al.*, 2019). Mientras que otros han buscado mejorar su capacidad antiinflamatoria (Lin *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2011 y Mun *et al.* 2017).

Algunos autores han demostrado que es posible obtener polisacáridos con diferente bioactividad mediante el proceso de fermentación. Tal es el caso del trabajo realizado por DeZoysa *et al.* (2008), quienes obtuvieron polisacáridos sulfatados con capacidad anticoagulante mediante la fermentación de *Sargassum fulvellum*. Sin embargo, los polisacáridos obtenidos requirieron mayor concentración (180 mg/ml) que la heparina (60 mg/ml) para tener el mismo tiempo de coagulación en el tiempo de tromboplastina parcial activado (ATTP). Por otra parte, Lee *et al.* (2011) reportaron la obtención de polisacáridos con capacidad antiinflamatoria mediante la fermentación de *Ecklonia cava*. Además, observaron un aumento en el contenido de carbohidratos, proteína cruda y lípidos, pero una disminución en el contenido de polifenoles. En otro estudio con la misma alga, se obtuvieron polisacáridos con efecto radio protector, el cual disminuyó la apoptosis de esplenocitos expuestos a radiación ionizante (Lee *et al.*, 2013).

Asimismo, es posible mejorar la capacidad antioxidante de las algas mediante la fermentación. Presentándose solo un resultado contradictorio por parte de Takei *et al.* (2017), quienes no fueron capaces de fermentar las algas *Sargassum fusiforme* y *Eisenia bicyclis*. Los autores mencionan que la elevada concentración de compuestos fenólicos presentes en las algas pardas pudo haber tenido un efecto antimicrobiano, afectando el proceso de fermentación. Dichos autores cuantificaron el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de las algas sin fermentar, obteniendo un contenido de polifenoles de 0.6 y 0.8 mmol PGE/L, respectivamente. Ambas algas tuvieron un porcentaje de inhibición de DPPH del 60-80 %, el cual fue similar a los resultados con el método de FRAP, siendo valores que mostraron una correlación positiva con el contenido de polifenoles. Sin embargo, los resultados con el método ORAC fueron muy bajos en ambas muestras (10-40 %).

Tabla I. Fermentación de macroalgas para la obtención de diversos compuestos

Tipo de algas	Especie	Origen del alga	Microorganismo	Condiciones de fermentación	Resultado obtenido	Referencia
Algas pardas	<i>Chorda filum</i>	Península Noto	<i>Lactobacillus plantarum</i> AN6 y <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Noto-SU1	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Kuda et al., 2016)
	<i>Dictyopteris polypodioides</i>	Karachi, Pakistán	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Aspergillus terreus</i>	Fermentación de sustrato sólido y sumergida 30 °C por 4 d (hongos) 37 °C por 24 h (bacteria)	Enzimas pectinolíticas	(Pervez et al., 2017)
	<i>Ecklonia cava</i>	Isla Jeju, Corea del Sur	<i>Candida utilis</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30 °C, agitación de 1,200 rpm por 24 h	Polisacárido con capacidad anti inflamatoria	(Lee et al., 2011)
		No se menciona	<i>C. utilis</i>	30 °C, agitación de 120 rpm por 4 d	↑ polifenoles ↑ capacidad antioxidante	(Wijesinghe et al., 2012)
	<i>Ecklonia kurome</i>	Península Noto	<i>L. plantarum</i> AN6 y <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Noto-SU1	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Kuda et al., 2016)
	<i>Ecklonia strombifera</i>	Península Noto	<i>L. plantarum</i> AN6 y <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Noto-SU1	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Kuda et al., 2016)
	<i>Fucus vesiculosus</i>	Praia Norte, Viana do Castelo, Portugal	<i>Aspergillus niger</i> PSH y <i>Mucor</i> sp.	Fermentación de sustrato sólido 36 °C por 92 h	Enzimas fucoidanasas	(Rodríguez-Jasso et al., 2013)
	<i>Laminaria digitata</i>	Irlanda	<i>L. plantarum</i> ATCC 8014	37 °C por 14 h	Es posible llevar a cabo su fermentación	(Gupta et al., 2011)
		Busan, Corea del Sur	<i>L. brevis</i> BJ20	37 °C por 5 d	↑ ácido γ -aminobutírico (gaba)	(Lee et al., 2010)
	<i>Laminaria japonica</i>	Costa Yantai, Shandong, China	<i>Yarrowia lipolytica</i>	30 °C por 72 h	Oligosacáridos de alginato	(Li et al., 2019)
	<i>Laminaria saccharina</i>	Quemoy, Taiwán	<i>Bacillus subtilis</i>	37 °C, agitación de 150 rpm por 72 h	↑ capacidad anti inflamatoria	(Lin et al., 2016)
		Irlanda	<i>L. plantarum</i> ATCC 8014	37 °C por 14 h	Es posible llevar a cabo su fermentación	(Gupta et al., 2011)

Tabla I. Fermentación de macroalgas para la obtención de diversos compuestos (continuación)

Tipo de algas	Especie	Origen del alga	Microorganismo	Condiciones de fermentación	Resultado obtenido	Referencia
Algas pardas	<i>Macrocystis pyrifera</i>	Puerto Montt, Chile	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	25 °C, agitación de 150 rpm por 3 d	Carotenoides	(Leyton <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Sargassum fusiforme</i>	Península de Miura	<i>L. plantarum</i> Miura-SU1 y <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Miura-SU2	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Eda <i>et al.</i> , 2016)
	<i>Sargassum fulvellum</i>	Isla Jeju, Corea del Sur	No se menciona	25 °C por 10 semanas, agitación diaria 200 rpm por 5 min	Polisacáridos sulfatados con actividad anticoagulante	(De Zoysa <i>et al.</i> , 2008)
	<i>Sargassum horneri</i>	Península de Miura	<i>L. plantarum</i> Miura-SU1 y <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Miura-SU2	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Eda <i>et al.</i> , 2016)
	<i>Saccharina japonica</i>	Seúl, Corea del Sur	13 cepas de <i>Clostridium tyrobutyricum</i>	50 °C por 48 h	Ácido butírico	(Oh <i>et al.</i> , 2019)
	<i>Sargassum</i> sp.	Costa oeste de India	<i>Pediococcus Acidilactici</i> , <i>Weissella paramesenteroides</i> , <i>Pediococcus Pentosaceus</i> y <i>Enterococcus faecium</i>	Pre-tratamiento enzimático para remover celulosa, incubación a 37 °C por 12 d	↑ polifenoles, ↑ capacidad antioxidante, ↑ anticoagulante	(Shobharani <i>et al.</i> , 2013)
	<i>Sargassum thunbergii</i>	Parajeju, provincia de Jeju, Corea del Sur	<i>Lactobacillus</i> sp. SH-1	30 °C por 2 d	↑ capacidad antiinflamatoria	(Mun <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Sargassum wightii</i>	Karachi, Pakistán	<i>B. licheniformis</i> , <i>A. flavus</i> y <i>A. terreus</i>	Fermentación de sustrato sólido y sumergida 30 °C por 4 d (hongos) 37 °C por 24 h (bacteria)	Enzimas pectinolíticas	(Pervez <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Península de Miura	<i>L. plantarum</i> Miura-SU1 y <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Miura-SU2	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Eda <i>et al.</i> , 2016)
		Península Noto	<i>L. plantarum</i> AN6 y <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Noto-SU1	30 °C por 2 d	↑ capacidad antioxidante	(Kuda <i>et al.</i> , 2016)
		Bahía de Shizugawa, Miyagi, Japón	<i>L. plantarum</i> Sanriku-SU7	30 °C por 3 d	↑ capacidad antioxidante	(Nemoto <i>et al.</i> , 2017)
		Tokio, Japón	<i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> y <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	20 °C por 11 d	Es posible llevar a cabo su fermentación	(Uchida <i>et al.</i> , 2007)

Tabla I. Fermentación de macroalgas para la obtención de diversos compuestos (continuación)

Tipo de algas	Especie	Origen del alga	Microorganismo	Condiciones de fermentación	Resultado obtenido	Referencia
Algas rojas	<i>Chondrus elatus</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	Bacterias ácido lácticas aisladas de la península de Boso, Japón	30 °C por 5 d	↑ ORAC, ↑ polifenoles, FRAP y DPPH se mantuvieron constantes	(Takei et al., 2017)
	<i>Chondrus ocellatus</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	Bacterias ácido lácticas aisladas de la península de Boso, Japón	30 °C por 5 d	↑ ORAC, ↑ polifenoles, FRAP y DPPH se mantuvieron constantes	(Takei et al., 2017)
	<i>Gelidiaser sp</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	Bacterias ácido lácticas aisladas de la península de Boso, Japón	30 °C por 5 d	↑ ORAC, ↑ polifenoles, FRAP y DPPH se mantuvieron constantes	(Takei et al., 2017)
	<i>Gloiopeltis furcata</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	Bacterias ácido lácticas aisladas de la península de Boso, Japón	30 °C por 5 d	↑ ORAC, ↑ polifenoles, FRAP y DPPH se mantuvieron constantes	(Takei et al., 2017)
	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Fermentación de sustrato sólido 30 °C por 2-6 d	↑ polifenoles de 46.93 % para la variedad amarilla, 319.33 % para la variedad verde y 166.29 % la morada.	(Nor et al., 2019)
	<i>Pyropia sp.</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	Bacterias ácido lácticas aisladas de la península de Boso, Japón	30 °C por 5 d	↑ ORAC, ↑ polifenoles, FRAP y DPPH se mantuvieron constantes	(Takei et al., 2017)
	<i>Pyropia yezoensis</i>	Okayama, Japón	<i>Tetragenococcus halophilus</i>	23 °C por 2 años	Salsa de algas fermentadas similar a salsa de soja o salsa de pescado	(Uchida et al., 2017)
Algas verdes	<i>Codium tomentosum</i>	Karachi, Pakistán	<i>B. licheniformis</i> , <i>A. flavus</i> y <i>A. terreus</i>	Fermentación de sustrato sólido y sumergida 30 °C por 4 d (hongos) 37 °C por 24 h (bacteria)	Enzimas pectinolíticas	(Pervez et al., 2017)
	<i>Enteromorpha prolifera</i>	Xiamen, China	<i>L. acidophilus</i> y <i>S. cerevisiae</i>	30 °C por 5 d	↑ proteína en alga fermentada, ↑ tamaño de tilapias alimentadas con alga fermentada	(Yang et al., 2016)
	<i>Monostroma nitidum</i>	Compradas en Suzuki Nori Co., Choshi, Chiba, Japón	Bacterias ácido lácticas aisladas de la península de Boso, Japón	30 °C por 5 d	Polifenoles y capacidad antioxidante se mantuvieron constantes	(Takei et al., 2017)
	<i>Ulva lactuca</i>	Karachi, Pakistán	<i>B. licheniformis</i> , <i>A. flavus</i> y <i>A. terreus</i>	Fermentación de sustrato sólido y sumergida 30 °C por 4 d (hongos) 37 °C por 24 h (bacteria)	Enzimas pectinolíticas	(Pervez et al., 2017)
	<i>Ulva prolifera</i>	Qingdao, China	<i>Catenovulum sp.</i>	28 °C por 24 h, 400 rpm, pH inicial 7, aeración 1.5 vvm	Enzimas «ulvan» liasas	(Qiao et al., 2020)
		Qingdao, China	<i>Alteromonas sp.</i> A321	28 °C por 24 h, 400 rpm, aeración 1.5 vvm	↑ proteína, ↑ polifenoles y ↑ manitol, ↑ tamaño, peso y grado de verde de la concha de abulones alimentados con el alga fermentada	(Chi et al., 2018)
	<i>Ulva reticulata</i> Forsskål	Nha Trang, Khanh Hoa, Vietnam	<i>Halomonas sp.</i> BL6	37 °C por 60 h a 200 rpm	Obtención de piruvato (55.23 g/l)	(Anh et al., 2020)

Por otra parte, el grupo de trabajo de Shobharani *et al.* (2013) sí pudo llevar a cabo la fermentación. Utilizaron el alga *Sargassum* spp, y obtuvieron 30.09 ± 1.23 $\mu\text{g GAE/mg}$ de polifenoles. También el grupo de Eda *et al.* (2016) tuvieron éxito con la fermentación de algas utilizando *Sargassum horneri*, *S. fusiforme* y *Undaria pinnatifida*, reportaron un contenido final de polifenoles de entre 0.9 y 1.2 $\mu\text{mol PGE/ml}$. Por otro lado, Kuda *et al.* (2016) reportaron un contenido de polifenoles <1 $\mu\text{mol PGE/ml}$ para *Chorda filum*, 3 $\mu\text{mol PGE/ml}$ para *U. pinnatifida*, y 8 $\mu\text{mol PGE/ml}$ para *Ecklonia strombifera*, resultados mayores a los obtenidos por Eda *et al.* (2016). Mientras que Wijesinghe *et al.* (2012) analizaron el contenido de polifenoles antes y después de fermentar el alga *Ecklonia cava*, observaron que la fermentación tuvo un aumento significativo en el contenido de polifenoles. Asimismo, Nemoto *et al.* (2017) cuantificaron el contenido de polifenoles de distintas partes del alga *U. pinnatifida* antes de fermentarla, las esporofilas fueron la parte que presentó mayor contenido de polifenoles (21.71 ± 1.05 $\mu\text{mol PGE/ml}$), valores incluso mayores a los obtenidos por Eda *et al.* (2016) y por Kuda *et al.* (2016).

Como ya se ha mencionado, la fermentación incrementa el contenido de polifenoles. Además, se ha observado una relación positiva en el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, cuantificada como porcentaje de inhibición de DPPH, tal como lo han reportado Shobharani *et al.* (2013), Eda *et al.* (2016) y Kuda *et al.* (2016). Mientras que Kuda *et al.* (2016) reportaron 30 y 85 % de inhibición de DPPH para las algas *U. pinnatifida* y *E. strombifera*, respectivamente; Eda *et al.* (2016) reportaron 40 % de inhibición para todas las muestras analizadas (*S. horneri*, *S. fusiforme* y *U. pinnatifida*). Wijesinghe *et al.* (2012) también mencionan que la capacidad antioxidante, cuantificada como porcentaje de inhibición de DPPH, aumentó de manera proporcional al contenido de polifenoles. Sin embargo, Nemoto *et al.* (2017) obtuvieron resultados contradictorios, en tanto que no observaron cambios visibles en la capacidad antioxidante (cuantificada como porcentaje de inhibición de DPPH). Otro resultado opuesto es el reportado por Takei *et al.* (2017), quienes cuantificaron la capacidad antioxidante mediante el método de ORAC. Ellos relacionaron este resultado a que la capacidad para secuestrar radicales de O_2 puede estar más relacionada con el contenido de polisacáridos que con el de polifenoles (Takei *et al.*, 2017).

Tal como reportan Shobharani *et al.* (2013), la fermentación no solo aumenta la capacidad antioxidante cuantificada como porcentaje de inhibición de DPPH, sino que el efecto quelante de iones férricos también se ve incrementado. Este grupo de autores reportaron que el control presentó 58.6 % de efecto quelante, a diferencia de las muestras fermentadas, que presentaron un valor de 80-84 %. Otra manera de cuantificar la capacidad antioxidante es mediante el método de FRAP, utilizado tanto por Eda *et al.* (2016) como Kuda *et al.* (2016). El valor más bajo reportado fue 0.75 DO a 700 nm para el alga *U. pinnatifida* (Kuda *et al.*, 2016), mientras que Eda *et al.* (2016) reportaron una DO a 700 nm para *U. pinnatifida*, *S. horneri* y *S. fusiforme* de 1.0, 1.5 y 1.5, respectivamente, y el mayor valor obtenido fue 2.25 DO para *E. strombifera* (Kuda *et al.*, 2016). A pesar de que ambos grupos de trabajo utilizaron la misma alga parda (*U. pinnatifida*), esta no provino del mismo sitio de origen, por lo que es factible inferir que esta puede ser una causa de las variaciones en los resultados obtenidos. Otra diferencia en sus estudios fueron las cepas de microorganismos utilizadas para la fermentación, mientras que Kuda *et al.* (2016) emplearon *L. plantarum* AN6 y *L. lactis* subsp. *lactis* Noto-SU1, Kuda *et al.* (2016), utilizaron *L. plantarum* Miura-SU1 y *L. lactis* subsp. *lactis* Miura-SU2.

Además de estos métodos de capacidad antioxidante, Shobharani *et al.* (2013) también reportaron el potencial reductor, expresado como $\mu\text{g/mg}$ de ácido ascórbico. Este grupo mencionó que el potencial reductor fue 3.5 veces mayor en las muestras control (8.41 ± 0.29 $\mu\text{g/mg}$ de ácido ascórbico) que en las muestras fermentadas (2.43 ± 0.04). Siendo una de las pocas pruebas en las que la capacidad antioxidante no mejoró con la fermentación. Esto se puede relacionar a que los métodos para capacidad antioxidante tienen distintos mecanismos de acción, y durante la fermentación hay compuestos que pueden ser hidrolizados, disminuyendo su capacidad antioxidante. Tanto Kuda *et al.* (2016) como Eda *et al.* (2016) cuantificaron la capacidad antioxidante como actividad secuestradora del radical anión superóxido (O_2^-) y obtuvieron valores similares, reportando entre 60 y 80 % de inhibición.

2.2. Fermentación de algas rojas

Algunas especies de algas rojas (tabla I) han sido utilizadas para obtener polifenoles con capacidad antioxidante (Takei *et al.*, 2017; Nor *et al.*, 2019) y antiglicante (Eda *et al.*, 2016; Kuda

et al., 2016), así como polisacáridos con actividad anticoagulante (Nikapitiya et al., 2007; Pushpamali et al., 2008) y algunos alimentos, como bebidas fermentadas (Prachyakij et al., 2008), y salsas fermentadas estilo salsa de soya (Uchida et al., 2017) y yogurt (Nuñez y Picon, 2017).

Se ha encontrado que a través de la fermentación es posible mejorar la capacidad antioxidante de distintas algas rojas, tal es el caso de Nor et al. (2019), Eda et al. (2016) y Kuda et al. (2016). A diferencia de estos autores, Takei et al. (2017) reportaron que, a pesar de que la capacidad antioxidante mejoró, en la fermentación de las especies de algas rojas que estudiaron no se observaron mejoras en el contenido de polifenoles, corroborado mediante el método de ORAC.

Para la fermentación de algas rojas se han utilizado diferentes microorganismos. Mientras que Nor et al. (2019) emplearon el hongo *Aspergillus oryzae* para llevar a cabo una fermentación de sustrato sólido, la mayoría de los autores han optado por una fermentación ácido láctica utilizando diferentes especies de bacterias. Tanto Takei et al. (2017), como Eda et al. (2016) y Kuda et al. (2016) utilizaron *L. plantarum*, los dos últimos, también utilizaron *Lactococcus lactis*. A pesar de estas diferencias, todos los estudios reportaron un aumento en el contenido de polifenoles y una mejora en la capacidad antioxidante. Esto demuestra que existe más de una especie de microorganismos capaces de llevar a cabo la fermentación de algas de manera exitosa.

A pesar de que Takei et al. (2017), Eda et al. (2016) y Kuda et al. (2016) realizaron el mismo tipo de fermentación, sus resultados muestran diferencias. Takei et al. (2017) reportaron que las algas *Gelidiaser* sp y *Chondrus elatus* tuvieron una baja concentración de polifenoles (< 0.20 y 0.20 mmol PGE/L, respectivamente), mientras que las algas *C. ocellatus*, *Pyropia* sp. y *Gloiopeltis furcata* tuvieron una concentración de polifenoles de 0.45, 0.70 y 0.80 mmol PGE/L, respectivamente. Kuda et al. (2016) reportaron <1 μmol PGE/ml para las algas *Gelidium elegans* y *Campylaeophora hypnaeoides*, y 1.6 μmol PGE/ml para el alga *Porphyra* sp. Para el alga *G. elegans*, Eda et al. (2016) reportaron <0.4 μmol PGE/ml, y para el alga *Pyropia* sp., 3.5 μmol PGE/ml. Las diferencias observadas en el contenido de polifenoles del alga *G. elegans* pueden deberse a la región donde el alga fue cosechada, Kuda et al. (2016) obtuvieron sus muestras en la región de la península de Noto y Eda et al. (2016) en la región de la península de Miura.

Se puede observar —al igual que en las algas pardas— una relación en el contenido de polifenoles y la capacidad antioxi-

dante, reportada como porcentaje de inhibición de DPPH. Eda et al. (2016) reportaron <20 % de inhibición de DPPH para *G. elegans* y 60 % de inhibición de DPPH, y Takei et al. (2017) reportaron un porcentaje de inhibición de DPPH de las algas que estudiaron de entre 10 y 40 %, obteniendo mayores valores para las algas con mayor contenido de polifenoles (*Pyropia* sp. y *G. furcata*). Sin embargo, en el estudio de Kuda et al. (2016) no se observa esta relación, sino un valor elevado de polifenoles (3.5 μmol PGE/ml) en el alga *Porphyra* sp., pero el porcentaje de inhibición de DPPH fue <20 %. En cuanto a los resultados de la prueba FRAP, Eda et al. (2016) reportaron el valor más elevado (2.5 DO a 700 nm) para *Pyropia* sp., mientras que para *G. elegans* reportaron <0.5 DO a 700 nm, valor similar al observado por Takei et al. (2017) (0.10-0.40 DO a 700 nm). Adicionalmente, Takei et al. (2017) reportaron valores elevados de inhibición de O₂⁻ (50-90 %), cuantificados mediante ORAC, resultado que relacionan con el contenido de polisacáridos y no con el de polifenoles.

Referente a la actividad secuestradora del radical anión superóxido (O₂⁻), Kuda et al. (2016) reportaron una inhibición del 50 % para las algas *G. elegans*, *C. hypnaeoides* y *Porphyra* sp, Eda et al. (2016) reportaron, para la misma prueba, <20 % de inhibición para *G. elegans* y 20 % de inhibición para *Pyropia* sp. Se puede observar que los resultados reportados por Eda et al. (2016) fueron considerablemente más bajos que los reportados por Kuda et al. (2016). Sin embargo, una similitud en los resultados de los tres grupos de autores es que los resultados de ORAC no se relacionan con el contenido de polifenoles, como se ha observado en la inhibición de DPPH, sino que tienen una mayor relación al contenido de otros compuestos solubles en agua —como péptidos y productos obtenidos de reacciones de Maillard generadas durante el secado de las algas— (Takei et al., 2017). Finalmente, Eda et al. (2016) y Kuda et al. (2016) mencionaron que el proceso de fermentación mejora las propiedades antiglicantes de las algas rojas que estudiaron, propiedades que se encuentran relacionadas a la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

El efecto de la fermentación en términos de contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se ve afectado tanto por la especie como por la variedad de alga roja utilizada, tal como se observa en el estudio realizado por Nor et al. (2019). Este grupo de autores utilizó el hongo *Aspergillus oryzae* para fermentar tres variedades del alga roja *Kappaphycus alvarezii*, la

amarilla, verde y morada. Una de las diferencias que se observó es que la variedad amarilla alcanzó su máxima concentración (4.479 mg GAE/g) en el sexto día, mientras que las variedades morada y verde alcanzaron su máxima concentración en el cuarto día (4.037 y 10.022 mg GAE/g, respectivamente). También se puede resaltar que, a pesar de que antes de la fermentación todas las algas presentaron un contenido similar de polifenoles (1.5-2 mg GAE / g), la fermentación favoreció especialmente el aumento en el contenido de polifenoles en la variedad verde. Esta variedad tuvo un aumento del 319.33 %, mientras que las variedades amarilla y morada aumentaron un 46.93 % y 166.29 %, respectivamente. Estas diferencias podrían deberse a los pigmentos de cada variedad de alga y a cómo estos afectan el rendimiento de los microorganismos fermentadores.

A diferencia del contenido de polifenoles, la capacidad antioxidante reportada como porcentaje de inhibición de DPPH mostró una tendencia similar para las tres variedades. La capacidad antioxidante aumentó gradualmente hasta el cuarto día, para después disminuir. Sin embargo, la variedad verde fue la que presentó mayor inhibición del radical DPPH (72.47 %). Tanto en esta variedad como en la morada se observó una fuerte correlación entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, $R_2 = 0.951$ y $R_2 = 0.823$ ($p < 0.01$), a diferencia de la variedad amarilla, que mostró una correlación menor ($R_2 = 0.441$). Otros autores han demostrado que es posible obtener polisacáridos sulfatados con capacidad anticoagulante mediante la fermentación de las algas. Nikapitiya *et al.* (2007) utilizaron el alga roja *Grateloupia filicina*, mientras que Pushpamali *et al.* (2008) utilizaron las algas *Lomentaria catenata*, *Gracilaria verrucosa*, *Gloiopeltis furcata* y *Gracilaria textorii*. En ambos estudios, los autores realizaron una fermentación «natural» por 10 semanas. Para ello, mezclaron alga con sacarosa y agua, e incubaron la mezcla a 25 °C. Nikapitiya *et al.* (2007) encontraron que el tiempo de tromboplastina parcial (APTT) aumentaba de manera significativa ($p < 0.05$) con el tiempo de fermentación hasta la sexta semana y después disminuía. De acuerdo con Pushpamali *et al.* (2008), las algas obtuvieron su mayor tiempo de APTT en menor tiempo (cuarta semana) y no hubo disminución con el transcurso de las semanas, como lo reportaron Nikapitiya

et al. (2007). De igual manera, se pueden observar diferencias en el tiempo de coagulación, siendo menor para *G. verrucosa* con 38.6 segundos (Pushpamali *et al.*, 2008), *G. textorii* con 49.1 (Pushpamali *et al.*, 2008), *G. furcata* con 51.7 (Pushpamali *et al.*, 2008), seguidas de *G. filicina* con 800 segundos (Nikapitiya *et al.*, 2007). El alga que presentó el mayor tiempo de coagulación en la prueba de APTT fue *L. catenata* con >1000 segundos (Pushpamali *et al.*, 2008). Todas las algas presentaron mayor tiempo de coagulación que los controles utilizados (36.8 segundos). Los autores de ambos estudios mencionan que, con la fermentación, el contenido de galactanos sulfatados aumenta, teniendo como consecuencia un incremento en la actividad anticoagulante de las algas (Nikapitiya *et al.*, 2007; Pushpamali *et al.*, 2008).

2.3. Fermentación de algas verdes

Las algas verdes han ganado atención como fuente renovable para la obtención de diversos productos. A pesar del gran potencial de estas algas, su utilización se ha limitado mayormente a la producción de etanol (Anh *et al.*, 2020). Sin embargo, algunos autores han estudiado la posibilidad de obtener diversos compuestos valiosos. Este es el caso de Anh *et al.* (2020), quienes analizaron la obtención de piruvato mediante la fermentación de varias algas (tabla I), entre ellas *Ulva lactuca*. Mientras que Chi *et al.* (2018) usaron el alga *Ulva prolifera* para examinar el efecto de su fermentación en el crecimiento de abulón. La fermentación de algas verdes (*Enteromorpha prolifera*) también ha sido utilizada para mejorar el crecimiento de tilapia, como estudiaron Yang *et al.* (2016).

Vemos que la fermentación de algas verdes no se ha enfocado en la obtención de compuestos bioactivos. Solo un grupo de investigación (Takei *et al.*, 2017) ha estudiado el uso de algas verdes (*Monostroma nitidum* y *Ulva* sp. [tabla I]) para mejorar su capacidad antioxidante. El contenido de polifenoles de ambas algas fue <0.2 mmol PGE/l, el porcentaje de inhibición de DPPH (20 %), y los resultados del FRAP (<0.2 DO a 700 nm), valores que los autores consideraron muy bajos. Sin embargo, presentaron buen porcentaje de inhibición de O₂- (ORAC), 60 y 90 % para *M. nitidum* y *Ulva* sp., respectivamente. Únicamente fue posible realizar la fermentación de *M. nitidum*.

3. Fermentación de microalgas para la obtención de compuestos bioactivos

La mayoría de los estudios observan la fermentación de la microalga *A. platensis*, también conocida como Spirulina. Distintos autores se han enfocado en mejorar su perfil bioactivo mediante el aumento de la capacidad antioxidante (Choi *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; De Marco Castro *et al.*, 2019; Niccolai *et al.*, 2019), así como en disminuir el aroma y los *off-flavors* de la micro-

alga, los cuales dificultan su utilización (Bao *et al.*, 2018). Otra microalga que ha sido estudiada es *Pavlova lutheri*. Esta se ha empleado para obtener péptidos bioactivos, así como para estudiar su capacidad antioxidante en macrófagos de ratón y células humanas. En la tabla II se pueden observar las microalgas más estudiadas, así como los microorganismos utilizados para su fermentación, las condiciones del proceso de la fermentación y el resultado obtenido.

Tabla II. Fermentación de microalgas para la obtención de diversos compuestos

Especie	Microorganismo	Condiciones de fermentación	Resultado obtenido	Referencia
<i>Arthrospira platensis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>	37 °C por 24 h	↑ hidrólisis proteica (30 %), mejora del perfil de aroma y color	(Bao <i>et al.</i> , 2018)
	<i>L. plantarum</i> ATCC 8014	37 °C por 72 h	↑ polifenoles, ↑ capacidad antioxidante	(Niccolai <i>et al.</i> , 2019)
	<i>L. plantarum</i>	37 °C por 72 h	↑ polifenoles, ↑ capacidad antioxidante, ↑ metionina libre	(De Marco Castro <i>et al.</i> , 2019)
	<i>L. plantarum</i> HY-08	37 °C por 96 h	↑ carotenoides, ↑ capacidad antioxidante y perfil neuroprotectivo	(Choi <i>et al.</i> , 2018)
<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Hansenula polymorpha</i>	37 °C por 3, 6 y 12 d	↑ capacidad antioxidante modificación del perfil de aminoácidos	(Qian <i>et al.</i> , 2012)
	<i>Candidia rugopelliculosa</i>	33.57 °C, 236.38 rpm, pH 6.17 y 23.82 h	Péptidos de cadena corta	(Ryu <i>et al.</i> , 2012)

Algunos autores, como Qian *et al.* (2012), Ryu *et al.* (2012) y Bao *et al.* (2018), han reportado cambios en el perfil de aminoácidos. A pesar de que Qian *et al.* (2012) y Ryu *et al.* (2012) utilizaron la misma microalga (*P. lutheri*) para sus estudios, no utilizaron los mismos microorganismos para llevar a cabo su fermentación; *Hansenula polymorpha* en el caso de Qian *et al.* (2012) y *Candidia rugopelliculosa* en el caso de Ryu *et al.* (2012). Esta diferencia puede ser una de las causas de que presenten resultados opuestos en el perfil de aminoácidos del alga fermentada. En ambos casos se reportaron aumentos en el ácido aspártico, arginina, fenilalanina, prolina, histidina y tirosina. Así como disminuciones en el contenido de lisina, isoleucina, treonina

y ácido glutámico. Sin embargo, Qian *et al.* (2012) reportaron un aumento en alanina, valina, leucina y prolina; con una disminución en serina y glicina. Mientras que Ryu *et al.* (2012) reportaron un aumento en serina, glicina, metionina, cisteína y triptófano, y una disminución en alanina, valina y leucina. A pesar de estas diferencias, coincidieron en observar una mejora en la capacidad antioxidante del alga fermentada.

Otro estudio realizado por Bao *et al.* (2018) analizó el cambio en el perfil de aminoácidos en *A. platensis*, reportando que, al realizar una fermentación ácido-láctica, se observó un aumento en el contenido de arginina y una disminución en alanina y ácido glutámico. Estos autores también mencionan que, al

fermentar la microalga, el contenido de lípidos totales disminuyó; sin embargo, el contenido de ácidos grasos aumentó de 6 a 19 %. Adicionalmente, la microalga cambió de verde oscuro a un verde claro y el aroma mejoró.

Bao *et al.* (2018) utilizaron 2 cepas de *L. plantarum*, 2 cepas de *L. acidophilus* y una cepa de *Bacillus subtilis*, obteniendo los mejores resultados al combinar una cepa de *L. plantarum* y *B. subtilis* para la fermentación de *A. platensis*. A diferencia de Bao *et al.* (2018), otros autores que han realizado fermentación ácido-láctica en *A. platensis* únicamente han utilizado *L. plantarum* (Choi *et al.*, 2018; De Marco Castro *et al.*, 2019; Niccolai *et al.*, 2019). Todos ellos registraron resultados similares, con un aumento en el contenido de polifenoles (De Marco Castro *et al.*, 2019; Niccolai *et al.*, 2019) y de carotenoides (Choi *et al.*, 2018), así como una mejora en la capacidad antioxidante.

Niccolai *et al.* (2019) reportaron que el contenido de polifenoles aumentó de 4.5 a 18.9 mg GAE/g después de dos días de fermentación y, después de 72 horas, disminuyó a 10.9 mg GAE/g. Por su parte, De Marco Castro *et al.* (2019) reportaron que el mayor contenido de polifenoles se dio a las 36 horas, con un 17.87 ± 0.77 mg GAE/g, resultado similar al obtenido por Niccolai *et al.* (2019). Además, De Marco Castro *et al.* (2019) observaron el mayor contenido de ficocianina (187.0 ± 3.79 µg de ficocianina/mg) a las 36 horas; mientras que Choi *et al.* (2018) se enfocaron en el contenido de carotenoides y reportaron que este fue mayor cuando el alga fue fermentada (1.62 ± 0.22 mg/g).

En cuanto a la capacidad antioxidante, reportada como inhibición de DPPH, Niccolai *et al.* (2019) reportaron que mejoró, de 20.5 ± 1.7 a 36.6 ± 1.2 % al finalizar las 72 horas. Además, identificaron dos compuestos (ácido láctico L-3-[4-hidroxifenil] y ácido láctico L-indol-3) producidos por *L. plantarum*, que presentaron propiedades antioxidantes, concluyendo que sea una de las posibles causas de la mejora en la capacidad an-

tioxidante de la microalga fermentada. Por su parte, De Marco Castro *et al.* (2019) obtuvieron la mayor inhibición de DPPH (21.00 ± 0.8 %) a las 24 horas. Además, cuantificaron la capacidad antioxidante mediante FRAP y ORAC, registrando los valores más elevados de FRAP y ORAC a las 36 horas, 482.00 ± 6.02 µg TE/g (b.s.) y 66.14 ± 1.09 µmol TE/g (b.s.), respectivamente. Mientras que Choi *et al.* (2018) observaron un 49.01 % de inhibición de DPPH, el cual es considerablemente mayor al reportado por los otros autores (De Marco Castro *et al.*, 2019; Niccolai *et al.*, 2019).

4. Fermentación de macroalgas para la obtención de enzimas

Se ha observado la obtención de enzimas mediante fermentación en algas pardas (Pervez *et al.*, 2017), rojas (Nor *et al.*, 2019) y verdes (Rodríguez-Jasso *et al.*, 2013; Pervez *et al.*, 2017; Qiao *et al.*, 2020). Para ello, las algas funcionan como sustrato. Las enzimas obtenidas pueden tener diversos fines; las proteasas alcalinas son empleadas como detergente (Abidi *et al.*, 2008), para la obtención de etanol para biocombustibles (Zhang *et al.*, 2018) o para desarrollar fertilizantes agroquímicos (Wang *et al.*, 2016).

Todos los grupos de autores concuerdan en la importancia de controlar las condiciones de fermentación, como el pH inicial, la temperatura y el tiempo. Adicionalmente, algunos han estudiado la agitación, concentración inicial de sustrato y pretratamiento del alga. Sin embargo, la mayoría reporta diferencias en cuanto a las condiciones óptimas para la producción de enzimas. Los valores reportados del pH inicial en los diferentes sistemas de fermentación se encuentran en un rango de 5-7 (Pervez *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019; Qiao *et al.*, 2020). Estas diferencias de pH pueden estar relacionadas con el microorganismo empleado para la fermentación, ya que las bacterias (*Catenovolum* sp. LP y *Bacillus licheniformis* K1BGE-1B4) por lo general tienen un mejor desarrollo en ambientes neutros y alcalinos, a diferencia

de los hongos y levaduras (*Meyerozyma guilliermondii*) que prefieren un ambiente ligeramente ácido (tabla I).

Otro factor importante es la temperatura de fermentación, la cual puede estar relacionada con el tipo de microorganismo empleado, así como la enzima objetivo de cada investigación. Pervez *et al.* (2017) determinaron que la temperatura óptima en su estudio fue 37 °C, mientras que Qiao *et al.* (2020) obtuvieron mejores resultados al iniciar la fermentación a 32 °C y después disminuirla a 28 °C.

Para la obtención de las enzimas celulasa, xilanasas y β -glucosidasa, así como diferentes compuestos bioactivos, Nor *et al.* (2019) estudiaron tres variedades del alga roja *K. alvarezii*. Todas mostraron una tendencia similar en la producción de enzimas, sin embargo, a diferencia del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, donde la variedad amarilla presentó los valores más bajos, esta variedad presentó el mayor contenido de celulasa (270 U/ml) y de xilanasas (75 U/ml). La variedad verde presentó el mayor contenido de polifenoles y porcentaje de inhibición de DPPH, así como los valores más bajos de xilanasas y celulasa (50 y 150 U/ml, respectivamente). La β -glucosidasa fue la única enzima en la que no se observó esta tendencia, con 14 U/ml, a diferencia de la variedad amarilla, que presentó 11 U/ml, y la variedad morada, 8 U/ml. Estas diferencias se atribuyen a que la β -glucosidasa puede estar relacionada con la liberación de compuestos fenólicos.

La fermentación para la obtención de enzimas puede llevarse a cabo mediante sustrato sólido (SSF, por sus siglas en inglés), es decir en una matriz sólida con bajo contenido de agua libre, o sumergida (SMF, por siglas en inglés) (tabla I). Si bien varios autores han obtenido resultados exitosos con la fermentación SSF, Pervez *et al.* (2017) compararon ambos (SSF y SMF), y observaron un mayor contenido de pectinasa al utilizar fermentación sumergida (2500 U/mg) en comparación con la fermentación de sustrato sólido (1500 U/mg). Encontraron que el microorga-

nismo (*Bacillus licheniformis* K1BGE-1B4) se desarrollaba con mayor velocidad en un medio líquido en comparación de un medio sólido, lo que favorecía la producción de enzimas.

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

Las macro y microalgas son organismos mediante los cuales se pueden obtener diversos compuestos. La mayoría de los estudios han demostrado que la fermentación ácido-láctica puede ser muy útil, ya que puede ser utilizada para casi todas las algas, tanto micro como macroalgas. También vemos que es posible utilizar distintos hongos o levaduras. El microorganismo a utilizar dependerá del objetivo de la fermentación y las características del alga. Mientras que la mayoría de los autores se han enfocado en el contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante, también se ha demostrado que es posible obtener polisacáridos, los cuales también pueden presentar actividad bioactiva. De igual manera, se han utilizado las algas como sustrato para la obtención de enzimas. Sin embargo, se puede observar que es un área en la que hay un gran potencial para mayores investigaciones, ya que la mayoría de los estudios hasta el momento se han enfocado en la utilización de las algas pardas y de la microalga *A. platensis*.

AGRADECIMIENTOS

La autora A. Pérez-Alva agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) — hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)—, por el financiamiento para sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Abidi, F., Limam, F. y Nejb, M. M. (2008). «Production of alkaline proteases by *Botrytis cinerea* using economic raw materials: Assay as biode detergent». *Process Biochemistry*, 43(11), 1202-1208. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.06.018>
- Abidov, M., Ramazanov, Z., Seifulla, R. y Grachev, S. (2010). «The effects of Xanthigen™ in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic fatty liver disease and normal liver fat». *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 12(1), 72-81. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01132.x>
- Amorim, K., Lage-Yusty, M.-A. y López-Hernández, J. (2012). «Changes in bioactive compounds content and antioxidant activity of seaweed after cooking processing». *CyTA - Journal of Food*, 10(4), 321-324. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.658871>
- Amorim-Carrilho, K., Lage-Yusty, M. A. y López-Hernández, J. (2014). «Variation of bioactive compounds in dried seaweed *Himantalia elongata* subjected to different culinary processes». *CyTA - Journal of Food*, 12(4), 336-339. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.877082>
- Andrade, L., De Andrade, C. J., Dias, M., Nascimento, C. y Mendes, M. (2018). «*Chlorella* and *Spirulina Microalgae* as sources of functional foods, nutraceuticals, and food supplements; an overview». *MOJ Food Processing & Technology*, 6(1), 00144.
- Anh, H. T. L., Kawata, Y., Tam, L. T., Thom, L. T., Ha, N. C., Hien, H. T. M., Thu, N. T. H., Huy, P. Q. y Hong, D. D. (2020). «Production of pyruvate from *Ulva reticulata* using the alkaliphilic, halophilic bacterium *Halomonas* sp. BL6». *Journal of Applied Phycology*, 32, 2283-2293. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02035-1>
- Bao, J., Zhang, X., Zheng, J.-H., Ren, D.-F. y Lu, J. (2018). «Mixed fermentation of *Spirulina platensis* with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* by random-centroid optimization». *Food Chemistry*, 264, 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.027>
- Cha, J.-Y., Lee, B.-J., Je, J.-Y., Kang, Y.-M., Kim, Y.-M. y Cho, Y.-S. (2011). «GABA-enriched fermented *Laminaria japonica* protects against alcoholic hepatotoxicity in sprague-dawley rats». *Fisheries and aquatic sciences*, 14(2), 79-88. <https://doi.org/10.5657/FAS.2011.0079>
- Chi, Y., Qiao, L., Zuo, S., Yan, H., Du, C., Hwang, H. y Wang, P. (2018). «Submerged liquid fermentation of *Ulva prolifera* Müller tissue and applications for improving growth performance in juvenile abalone (*Haliotis discus hannai* Ino)». *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2639-2647. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1413-6>
- Choi, W. Y., Kang, D. H., Heo, S.-J. y Lee, H. Y. (2018). «Enhancement of the neuroprotective effect of fermented *Spirulina maxima* associated with antioxidant activities by ultrasonic extraction». *Applied Sciences*, 8(12), 2469. <https://doi.org/10.3390/app8122469>
- Chye, F. Y., Ooi, P. W., Ng, S. Y. y Sulaiman, M. R. (2018). «Fermentation-derived bioactive components from seaweeds: functional properties and potential applications». *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(2), 144-164. <https://doi.org/10.1080/10498850.2017.1412375>
- De Freitas Coêlho, D., Lacalendola Tundisi, L., Santos Cerqueira, K., Da Silva Rodrigues, J. R., Gava Mazzola, P., Basile Tambourgi, E. y Rodrigues de Souza, R. (2019). «Microalgae: cultivation aspects and bioactive compounds». *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62, e19180343. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180343>
- De Marco Castro, E. de M., Shannon, E. y Abu-Ghannam, N. (2019). «Effect of fermentation on enhancing the nutraceutical properties of *Arthrospira platensis* (spirulina)». *Fermentation-Basel*, 5(1), 28. <https://doi.org/10.3390/fermentation5010028>
- De Zoysa, M., Nikapitiya, C., Jeon, Y.-J., Jee, Y. y Lee, J. (2008). «Anticoagulant activity of sulfated polysaccharide isolated from fermented brown seaweed *Sargassum fulvellum*». *Journal of Applied Phycology*, 20(1), 67-74. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9182-7>
- Eda, M., Kuda, T., Kataoka, M., Takahashi, H. y Kimura, B. (2016). «Anti-glycation properties of the aqueous extract solutions of dried algae products harvested and made in the Miura Peninsula, Japan, and effect of lactic acid fermentation on the properties». *Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3617-3624. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0891-7>
- Erkmen, O. y Bozoglu, T. F. (2016). «Basic principles of food fermentation». En Erkmen, O. y Bozoglu, T. F., *Food Microbiology: Principles into Practice* (pp. 228-252). India Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119237860.ch39>
- Gupta, S., Abu-Ghannam, N. y Scannell, A. G. M. (2011). «Growth and kinetics of *Lactobacillus plantarum* in the fermentation of edible Irish brown seaweeds». *Food and Bioprocess Processing*, 89(4), 346-355. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.10.001>

- Hamed, I., Özogul, F., Özogul, Y. y Regenstein, J. M. (2015). «Marine bioactive compounds and their health benefits: a review». *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), 446-465. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12136>
- Kang, Y. M., Lee, B.-J., Kim, J. I., Nam, B.-H., Cha, J.-Y., Kim, Y.-M., Ahn, C.-B., Choi, J.-S., Choi, I. S. y Je, J.-Y. (2012). «Antioxidant effects of fermented sea tangle (*Laminaria japonica*) by *Lactobacillus brevis* BJ20 in individuals with high level of γ -GT: a randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical study». *Food and Chemical Toxicology*, 50(3-4), 1166-1169. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.026>
- Kang, Y.-M., Qian, Z.-J., Lee, B.-J. y Kim, Y.-M. (2011). «Protective effect of GABA-enriched fermented sea tangle against ethanol-induced cytotoxicity in HepG2 Cells». *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16(5), 966-970. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0154-z>
- Kim, S. K. (Ed.). (2011). *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*. India: John Wiley & Sons.
- Kuda, T., Eda, M., Kataoka, M., Nemoto, M., Kawahara, M., Oshio, S., Takahashi, H., y Kimura, B. (2016). «Anti-glycation properties of the aqueous extract solutions of dried algae products and effect of lactic acid fermentation on the properties». *Food Chemistry*, 192, 1109-1115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.073>
- Lee, B.-J., Kim, J.-S., Kang, Y. M., Lim, J.-H., Kim, Y.-M., Lee, M.-S., Jeong, M.-H., Ahn, C.-B. y Je, J.-Y. (2010). «Antioxidant activity and γ -aminobutyric acid (GABA) content in sea tangle fermented by *Lactobacillus brevis* BJ20 isolated from traditional fermented foods». *Food Chemistry*, 122(1), 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.071>
- Lee, W., Ahn, G., Lee, B.-J., Wijesinghe, W. A. J. P., Kim, D., Yang, H., Kim, Y. M., Park, S. J., Jee, Y. y Jeon, Y.-J. (2013). «Radio-protective effect of polysaccharides isolated from *Lactobacillus brevis*-fermented *Ecklonia cava*». *International Journal of Biological Macromolecules*, 52, 260-266. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.10.004>
- Lee, W.-W., Ahn, G., Wijesinghe, W. A. J. P., Yang, X., Ko, C.-I., Kang, M.-C., Lee, B.-J. y Jeon, Y.-J. (2011). «Enzyme-assisted extraction of *Ecklonia cava* fermented with *Lactobacillus brevis* and isolation of an anti-inflammatory polysaccharide». *Algae*, 26(4), 343-350. <https://doi.org/10.4490/algae.2011.26.4.343>
- Leyton, A., Flores, L., Mäki-Arvela, P., Lienqueo, M. E. y Shene, C. (2019). «*Macrocystis pyrifera* source of nutrients for the production of carotenoids by a marine yeast *Rhodotorula mucilaginosa*». *Journal of Applied Microbiology*, 127(4), 1069-1079. <https://doi.org/10.1111/jam.14362>
- Li, S.-Y., Wang, Z.-P., Wang, L.-N., Peng, J.-X., Wang, Y.-N., Han, Y.-T. y Zhao, S.-F. (2019). «Combined enzymatic hydrolysis and selective fermentation for green production of alginate oligosaccharides from *Laminaria japonica*». *Bioresource Technology*, 281, 84-89. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.056>
- Lin, H.-T. V., Lu, W.-J., Tsai, G.-J., Chou, C.-T., Hsiao, H.-I. y Hwang, P.-A. (2016). «Enhanced anti-inflammatory activity of brown seaweed *Laminaria japonica* by fermentation using *Bacillus subtilis*». *Process Biochemistry*, 51(12), 1945-1953. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.08.024>
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N. y Teixeira, J. A. (2011). «Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review». *Biotechnology Advances*, 29(3), 365-373. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>
- Mun, O.-J., Kwon, M. S., Karadeniz, F., Kim, M., Lee, S.-H., Kim, Y.-Y., Seo, Y., Jang, M.-S., Nam, K.-H. y Kong, C.-S. (2017). «Fermentation of *Sargassum thunbergii* by kimchi-derived *Lactobacillus* sp. SH-1 attenuates LPS-stimulated inflammatory response via downregulation of JNK». *Journal of Food Biochemistry*, 41(2), e12306. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12306>
- Navarrete-Bolaños, J. L. (2012). «Improving traditional fermented beverages: how to evolve from spontaneous to directed fermentation». *Engineering in Life Sciences*, 12(4), 410-418. <https://doi.org/10.1002/elsc.201100128>
- Nemoto, M., Kuda, T., Eda, M., Yamakawa, H., Takahashi, H. y Kimura, B. (2017). «Protective Effects of *Mekabu* aqueous solution fermented by *Lactobacillus plantarum* sanriku-su7 on human enterocyte-like HT-29-luc cells and DSS-induced murine IBD model». *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(1), 48-55. <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9226-x>
- Niccolai, A., Shannon, E., Abu-Ghannam, N., Biondi, N., Rodolfi, L. y Tredici, M. R. (2019). «Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (spirulina) biomass for probiotic-based products». *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1077-1083. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1602-3>
- Nicoletti, M. (2016). «Microalgae nutraceuticals». *Foods*, 5(3), 54. <https://doi.org/10.3390/foods5030054>
- Nikapitiya, C., Zoysa, M. D., Jeon, Y.-J., Lee, J. y Jee, Y. (2007). «Isolation of sulfated anticoagulant compound from fermented red seaweed *Grateloupia filicina*». *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(3), 407-417. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00112.x>

- Nor, N. M., Haiyee, Z. A., Razak, W. R. W. A. y Muhammad, S. K. S. (2019). «Enhancement and bioavailability of phenolic content in *Kappaphycus alvarezii* through solid substrate fermentation». *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 15(6), 867-871. <https://doi.org/10.11113/mjfas.v15n6.1455>
- Núñez, M. y Picon, A. (2017). «Seaweeds in yogurt and quark supplementation: influence of five dehydrated edible seaweeds on sensory characteristics». *International Journal of Food Science & Technology*, 52(2), 431-438. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13298>
- Oh, H. J., Kim, K.-Y., Lee, K. M., Lee, S.-M., Gong, G., Oh, M.-K. y Um, Y. (2019). «Enhanced butyric acid production using mixed biomass of brown algae and rice straw by *Clostridium tyrobutyricum* ATCC25755». *Bioresource Technology*, 273, 446-453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.037>
- Paul, S. N. A., Tseng, C. K. y Borowitzka, M. M. (2013). «Seaweed and microalgae». En J. S. Lucas y P. C. Southgate, *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants* (pp. 268-293). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/97811188687932.ch13>
- Pervez, S., Shahid, F., Aman, A. y Qader, S. A. U. (2017). «Algal biomass: a sustainable, economical and renewable approach for microbial production of pectinolytic enzymes using submerged and solid state fermentation techniques». *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(6), 442-449. <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1364731>
- Prachyakij, P., Charernjiratrakul, W. y Kantachote, D. (2008). «Improvement in the quality of a fermented seaweed beverage using an antiyeast starter of *Lactobacillus plantarum* DW3 and partial sterilization». *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1713-1720. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9662-1>
- Pushpamali, W. A., Nikapitiya, C., Zoysa, M. D., Whang, I., Kim, S. J. y Lee, J. (2008). «Isolation and purification of an anticoagulant from fermented red seaweed *Lomentaria catenata*». *Carbohydrate Polymers*, 73(2), 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.11.029>
- Qian, Z.-J., Jung, W.-K., Kang, K.-H., Ryu, B., Kim, S.-K., Je, J.-Y., Heo, S.-J., Oh, C., Kang, D.-H., Park, W. S. y Choi, I.-W. (2012). «In vitro antioxidant activities of the fermented marine microalga *Pavlova lutheri* (haptophyta) with the yeast *Hansenula polymorpha*». *Journal of Phycology*, 48(2), 475-482. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01117.x>
- Qiao, L., Yang, X., Xie, R., Du, C., Chi, Y., Zhang, J. y Wang, P. (2020). «Efficient production of ulvan lyase from *Ulva prolifera* by *Catenovulum* sp. LP based on stage-controlled fermentation strategy». *Algal Research*, 46, 101812. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101812>
- Rodríguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Sepúlveda, L., Agrasar, A. T., Pastrana, L., Aguilar, C. N. y Teixeira, J. A. (2013). «Fungal fucooidanase production by solid-state fermentation in a rotating drum bioreactor using algal biomass as substrate». *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 587-594. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.02.004>
- Ryu, B., Kang, K.-H., Ngo, D.-H., Qian, Z.-J. y Kim, S.-K. (2012). «Statistical optimization of microalgae *Pavlova lutheri* cultivation conditions and its fermentation conditions by yeast, *Candida rugopelliculosa*». *Bioresource Technology*, 107, 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.014>
- Ścieszka, S. y Klewicka, E. (2018). «Algae in food: a general review». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(21), 1-10. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1496319>
- Shobharani, P., Halami, P. M. y Sachindra, N. M. (2013). «Potential of marine lactic acid bacteria to ferment *Sargassum* sp. For enhanced anticoagulant and antioxidant properties». *Journal of Applied Microbiology*, 114(1), 96-107. <https://doi.org/10.1111/jam.12023>
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. y Isambert, A. (2006). «Commercial applications of microalgae». *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87-96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>
- Takei, M., Kuda, T., Eda, M., Shikano, A., Takahashi, H. y Kimura, B. (2017). «Antioxidant and fermentation properties of aqueous solutions of dried algal products from the Boso Peninsula, Japan». *Food Bioscience*, 19, 85-91. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.06.006>
- Tanna, B. y Mishra, A. (2018). «Metabolites unravel nutraceutical potential of edible seaweeds: an emerging source of functional food». *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1613-1624. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12396>
- Tebbani, S., Lopes, F., Filali, R., Dumur, D. y Pareau, D. (2014). «Microalgae». En S. Tebbani et al., *CO₂ Biofixation by Microalgae* (pp. 1-22). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118984475.ch1>
- Uchida, M., Kurushima, H., Ishihara, K., Murata, Y., Touhata, K., Ishida, N., Niwa, K. y

- Araki, T. (2017). «Characterization of fermented seaweed sauce prepared from nori (*Pyropia yezoensis*)». *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 123(3), 327-332. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.10.003>
- Uchida, M. y Miyoshi, T. (2013). Algal fermentation—The seed for a new fermentation industry of foods and related products. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 47(1), 53-63. <https://doi.org/10.6090/jarq.47.53>
- Uchida, M., Murata, M. y Ishikawa, F. (2007). «Lactic acid bacteria effective for regulating the growth of contaminant bacteria during the fermentation of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta)». *Fisheries Science*, 73(3), 694-704. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2007.01383.x>
- Wang, M., Chen, L., Liu, Z., Zhang, Z., Qin, S. y Yan, P. (2016). «Isolation of a novel alginate lyase-producing *Bacillus litoralis* strain and its potential to ferment *Sargassum horneri* for biofertilizer». *MicrobiologyOpen*, 5(6), 1038-1049. <https://doi.org/10.1002/mbo3.387>
- Wang, S., Yang, R., Li, H., Jiang, J., Zhang, L., Zhang, Q. y Li, P. (2018). «Evaluation and comparison of in vitro antioxidant activities of unsaponifiable fraction of 11 kinds of edible vegetable oils». *Food Science & Nutrition*, 6(8), 2355-2362. <https://doi.org/10.1002/fsn3.823>
- Wijesinghe, W. A. J. P., Won-Woo, L., Young-Mog, K., Young-Tae, K., Se-Kwon, K., Byong-Tae, J., Jin-Soo, K., Min-Soo, H., Won-Kyo, J., Ahn, G., Lee, K.-W. y Jeon, Y.-J. (2012). «Value-added fermentation of *Ecklonia cava* processing by-product and its antioxidant effect». *Journal of Applied Phycology*, 24(2), 201-209. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9668-1>
- Yang, H., Li, Z.-B., Chen, Q., Li, W.-J., Sun, Y.-Z. y Lu, J. (2016). «Effect of fermented *Enteromopha prolifera* on the growth performance, digestive enzyme activities and serum non-specific immunity of red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*)». *Aquaculture Research*, 47(12), 4024-4031. <https://doi.org/10.1111/are.12856>
- Zhang, W., Xia, X. y Zhang, Z. (2019). «Alginate lyase of a novel algae fermentation strain». *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 33, 125-131. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2018.1291>
- Zhang, W., Zhang, Z., Bao, L., Zang, X. y Cui, H. (2018). «Alcohol dehydrogenase of a novel algae fermentation strain *Meyerozyma guilliermondii*». *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 32(1), 117-123. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2016.836>