



Investigación e Innovación en Nutrición Acuícola

**Editores: Lucía Elizabeth Cruz Suárez,
Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe
Nieto López, David A. Villarreal Cavazos,
Julián Gamboa Delgado, y Carlos A.
Martínez Palacios**

Investigación e Innovación en Nutrición Acuícola

2022, Monterrey, Nuevo León, México

Editores: Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe Nieto López, David Alonso Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado y Carlos A. Martínez Palacios.

Programa Maricultura
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León 2022

Copias disponibles en:
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Ciencias Biológicas
Programa Maricultura
Cd. Universitaria
San Nicolás de los Garza, Nuevo León
C.P. 66455
Tel.+Fax. 818352 6380
E-mail: lucia.cruzsr@uanl.edu.mx

Para citar alguna parte de ésta obra siga el siguiente estilo:

- Autores del escrito. 2022. Nombre del artículo. Editores: Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe Nieto López, David Alonso Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado y Carlos A. Martínez Palacios. Investigación e innovación en nutrición acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp.473 ISBN: 978-607-27-1732-9. El cuidado de la presente edición, así como su realización estuvo a cargo de los editores.

La reproducción total o parcial de ésta obra requiere la autorización escrita por los titulares del derecho de autor.

Los editores hacemos extensivo nuestro profundo agradecimiento:

- A las personas que colaboraron en la edición técnica de estas memorias

Directorio

Dr. Santos Guzmán López
Rector

Dr. Juan Paura García
Secretario. General

Dr. Celso José Garza Acuña
Secretario extensión y cultura

Lic. Antonio Ramos Revillas
Director de Editorial Universitaria

Dr. José Ignacio González Rojas
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas

Editores

Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe Nieto López, David Alonso Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado, y Carlos A. Martínez Palacios.

Dirección de edición: Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Dra. Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Av. Universidad S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66455
Email: elicruz@hotmail.com, lucia.cruzsr@uanl.edu.mx
Teléfonos: 52 8183526380

Primera edición 2022. ©Universidad Autónoma de Nuevo León. ©L. Elizabeth Cruz Suárez, ©Mireya Tapia Salazar, ©Martha Guadalupe Nieto López, ©David Alonso Villarreal Cavazos, ©Julián Gamboa Delgado, ©Carlos A. Martínez Palacios.

ISBN:978-607-27-1732-9. El cuidado y edición estuvo a cargo de los editores. El contenido es responsabilidad de los autores.

Párrafo legal: Reservado todos los derechos conforme a la ley. Prohibida la reproducción total o parcial de la obra sin previa autorización por escrito del titular propietario y editor de la obra.

Valorización de Macroalgas para su Uso como Alimento Acuícola

Alberto Peña-Rodríguez^{1*}, Alexia Omont², Regina Elizondo-González¹

¹Investigador CONACYT-Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, B.C.S., 23096, México.

²Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, B.C.S., 23096, México.

*Autor de correspondencia: Tel: (52) 612 123 8484 ext: 3922, E-mail: apena@cibnor.mx

Resumen

Las macroalgas representan una fuente barata y renovable de nutrientes valiosos para la alimentación de especies acuícolas. Aun cuando el uso de macroalgas en los alimentos acuícolas ha demostrado tener beneficios importantes en el cultivo de diversas especies, el nivel de inclusión de las mismas es limitado principalmente asociado a los altos niveles de fibra insoluble que reduce la digestibilidad del alimento. Los procesos de valorización que permiten eliminar o transformar esta fibra insoluble en las macroalgas, se presentan como potenciales alternativas para un mejor aprovechamiento de estos recursos que resultan en beneficios para el rendimiento de los cultivos acuícolas. En el presente trabajo se revisan los avances en procesos de valorización basados en tres estrategias: fermentación, producción de detritos unicelulares y los concentrados y extractos altos en proteína a partir de macroalgas marinas. A pesar de tener avances significativos en la investigación sobre la valorización de macroalgas marinas y su beneficio en la nutrición de especies de importancia acuícola, aún queda un gran trabajo por desarrollar en el estudio de la gran diversidad de especies de macroalgas disponibles de forma silvestre y producidas por acuicultura.

Palabras clave: *biotecnología acuícola, ingredientes alternativos, macroalgas, nutrición.*

1. Introducción

De acuerdo con la FAO (2021) para el 2019, la producción mundial de macroalgas se situó en 34 millones de toneladas, siendo más del 95% generada por acuicultura, la cual presenta un crecimiento sostenido en las últimas décadas, mientras que la captura de macroalgas del medio natural se ha estancado (Nayar y Bott, 2014). La producción se ha expandido desde el sur-este de Asia al norte de Europa, Canadá, este de África y Latino América (Alemañ *et al.*, 2019). Los principales productos obtenidos de las macroalgas son la carragenina, alginatos y agar, y en menor medida fertilizantes, harinas integrales y compuestos biológicos con aplicación farmacológica, cosmetológica, nutracéutica, entre otras (Nayar y Bott, 2014). En la industria de alimentos para consumo humano, han comenzado una expansión de su uso a nivel mundial debido a sus características culinarias (Figueroa *et al.*, 2021) y su inclusión en la categoría de súper alimentos saludables (Nehal, 2014; Rajauria y Yuan, 2021).

Por otro lado, el rápido crecimiento de la acuicultura en los últimos años, es el resultado de la intensificación de los sistemas de producción y el uso de alimentos balanceados de buena calidad. Sin embargo, el alimento balanceado representa el costo operacional más alto en la industria acuícola, principalmente debido al uso de harina de pescado (Ogello *et al.*, 2014), la cual es utilizada en las formulaciones principalmente por su composición nutricional alta en proteína y excelente perfil de aminoácidos y ácidos grasos (Watanabe 2002). En este contexto, las macroalgas representan una potencial fuente de nutrientes de bajo costo, con un gran interés de investigación como alternativa a ingredientes de origen animal. En general, las macroalgas frescas o en harina, no pueden ser empleadas como única fuente de alimento para peces (An y Anh, 2020; Soler-Vila *et al.*, 2009; Valente *et al.*, 2006), crustáceos (Gamboa-Delgado *et al.*, 2011; Marinho-Soriano *et al.*, 2007) o moluscos (Omont *et al.*, 2021a, b), principalmente por los bajos niveles de lípidos que presentan. Sin embargo, pueden ser incluidas de forma parcial en la dieta, con resultados variables dependiendo de la inclusión y la especie de macroalga, y del organismo que se quiere alimentar. Cuando se utiliza el alga fresca en combinación con alimento balanceado peletizado, se ha observado una mejora en la tasa de crecimiento y la eficiencia de utilización de alimento; por ejemplo, en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Cruz-Suarez *et al.*, 2010), camarón café *Farfantepenaeus californiensis* (Peña-Rodríguez *et al.*, 2017; Portillo-Clark *et al.*, 2012) y en la tilapia *Oreochromis niloticus* (An y Anh, 2020).

Sin embargo, aun cuando el cultivo acuícola integrado con macroalgas presenta beneficios en el crecimiento y en el uso eficiente del alimento para algunos peces y crustáceos, la implementación del cultivo de la macroalga conlleva varios retos que incluyen: la disponibilidad de especies, la tecnología y capacitación en su cultivo, y la compatibilidad entre condiciones cultivo de las especies seleccionadas (p. ej. la temperatura). Es por ello que el uso de harina de macroalga parece más viable para su inclusión en la dieta de los organismos cultivados. Por ejemplo, el uso de *Sargassum polycystum* incluido en niveles de entre 1.5 y 4.5% en el alimento mejoró el crecimiento del barramundi *Lates calcarifer* comparado con un alimento control (Nazarudin *et al.*, 2020). En camarón blanco *L. vannamei*, la inclusión de 3% de *Ulva lactuca* en el alimento, permitió un aumento significativo del crecimiento respecto a camarones alimentados sin macroalga (Elizondo-González *et al.*, 2018).

Por otro lado, la utilización de harinas integrales de macroalgas no siempre resulta en un mejor rendimiento para los organismos acuícolas en términos de crecimiento, sin embargo, se han visto diferentes efectos benéficos a nivel fisiológico. Las macroalgas contienen diversos metabolitos biológicamente activos con una gran variedad de propiedades como antivirales, antimicrobianos, antioxidantes e inmunoestimulantes (Dubey y Sivaraman, 2021; Michalak y Chojnacka, 2015; Teles *et al.*, 2021), a partir de compuestos como polisacáridos sulfatados, polifenoles, carotenoides, esteroides, entre otros (Kumar, 2008; Pal *et al.*, 2014). Por ejemplo, la inclusión de 0.5% de harina de *Sargassum filipéndula*, aumentó la superficie del epitelio intestinal en el camarón *L. vannamei* (Schleder *et al.*, 2018), y permitió reducir sustancialmente la mortalidad a 96 h de ser infectados con el virus del síndrome de la mancha blanca en la misma especie de camarón (Schleder *et al.*, 2020). En el ostión japonés *Crassostrea gigas*, se puede reemplazar hasta un 25% de microalga con harina de *Ulva rigida*, sin alterar el proceso de maduración gonadal (Rato *et al.*, 2018). También se ha visto que la inclusión de 3.5% de la macroalga roja *Pyropia columbina* en el alimento, resultó en una menor peroxidación lipídica y actividad superóxido dismutasa en el intestino de juveniles de Pacú *Piaractus mesopotamicus* (Cian *et al.*, 2019).

De acuerdo a los resultados obtenidos en diversos estudios sobre el uso de harinas integrales de macroalgas en los alimentos, particularmente en peces y crustáceos, se sugiere que el límite de inclusión en los alimentos se sitúa entre el 5 y el 10%, conservando beneficios a nivel fisiológico sin afectar el crecimiento de los organismos. Esta limitante es atribuido en parte al alto contenido de fibra insoluble presente en las macroalgas, que pueden afectar a la digestibilidad del alimento

(Evans and Critchley 2014; Katayama *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2012; Rodríguez-González *et al.*, 2014; Santizo *et al.* 2014; Valente *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2009).

2. Procesos de valorización de macroalgas para su uso acuícola

Actualmente, se ha intensificado la investigación sobre el desarrollo de procesos de valorización que permitan mejorar la calidad nutricional y eliminar los compuestos antinutricionales de las macroalgas, con la finalidad de aumentar su nivel de inclusión en las dietas, con miras a sustituir ingredientes de origen animal como la harina de pescado para el caso de peces y crustáceos, así como para sustituir microalga en la alimentación de moluscos. Los principales procesos de valorización de macroalgas son la fermentación, la producción de detritos unicelulares, y la extracción o concentración de compuestos de alto valor nutricional (Figura 1).

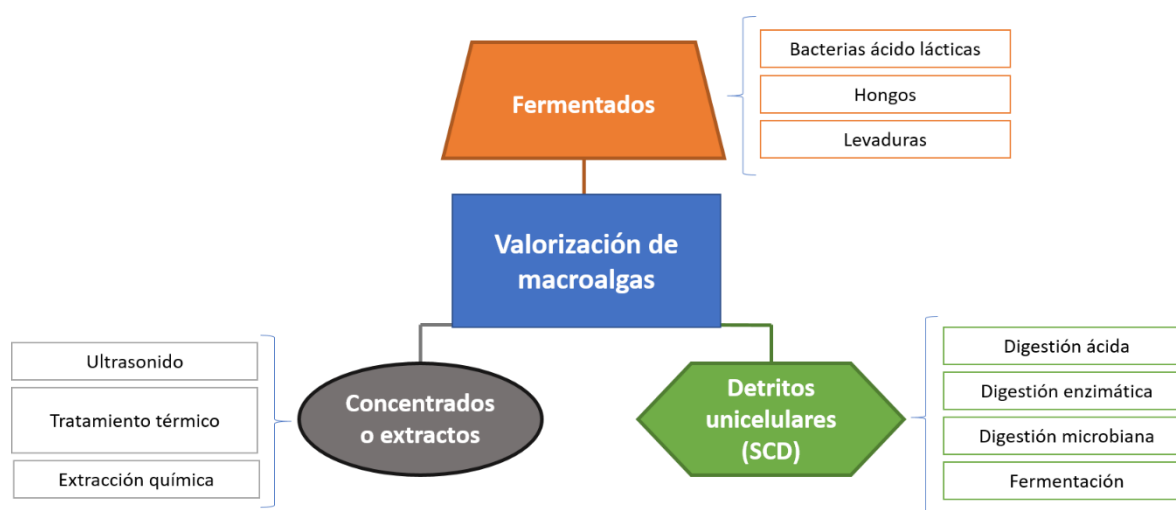


Figura 7. Procesos de valorización de macroalgas para su uso acuícola.

2.1. Fermentados de macroalgas

La fermentación de macroalgas es empleada en la industria de alimentos para consumo humano, principalmente en la preparación de salsas (Uchida *et al.*, 2017;2018) y bebidas (Prachyakij *et al.*, 2008; Ratanaburee *et al.*, 2011). De forma emergente, se comienza a emplear también como alimento en producción animal (Choi *et al.*, 2014; Hui *et al.*, 2021; Santoso *et al.*, 2016) incluyendo a la industria acuícola (Tabla 1). Se ha visto que la fermentación permite aumentar la biodisponibilidad de compuestos activos, además de biotransformar algunos de sus compuestos para obtener un mayor valor nutricional (Reboleira *et al.*, 2021). Para estandarizar la

fermentación, se suele incluir fuentes adicionales de nitrógeno como harina de soya y de carbono como glucosa, dextrosa, harina de papa y melaza (Felix y Brindo, 2014a,b; Felix y Pradeepa, 2011, 2012)

Se ha reportado por distintos autores, que el proceso de fermentación en las macroalgas resulta en un incremento remarcable en el contenido de proteína (hasta 70% más proteína) y lípidos (hasta 200% más lípidos), atribuido a la biomasa microbiana producida durante el proceso (Felix y Brindo, 2014; Hardjani *et al.*, 2017; Ilias *et al.*, 2015). En contraste, los niveles de fibra cruda disminuyen, facilitando una mayor digestibilidad de los nutrientes respecto al empleo de harinas de macroalgas integrales. De acuerdo con Felix y Brindo (2014a), en el langostino gigante de río *Macrobrachium rosenbergii*, la inclusión de 10, 20 o 30% de *Kappaphycus alvarezii* fermentada en el alimento, resultó en un incremento significativo en la digestibilidad aparente de material seca, proteína y lípidos, respecto al uso de la macroalga sin fermentar a los mismos niveles de inclusión y un alimento control sin inclusión de macroalga. Así mismo, el uso de *K. alvarezii* fermentada en el alimento resultó en un aumento significativo en el crecimiento de *M. rosenbergii* respecto al alimento sin macroalgas. De acuerdo con Yang *et al.* (2016), en la tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*), la inclusión del 3, 4 y 5% de un fermentado de *Enteromorpha prolifera* en el alimento, permitió un peso final y tasas de crecimiento significativamente mayores que en organismos alimentados con un alimento control sin macroalga. La inclusión de 10% y 20% de *U. lactuca* fermentada como sustituto parcial de la harina de pescado en el alimento, no afectó la supervivencia, tasa de crecimiento, ni el factor de conversión alimenticia de *L. vannamei* después de 30 días de alimentación (Omont *et al.*, 2021a).

Por otro lado, el origen y calidad nutricional de los ingredientes dietarios pueden afectar la digestibilidad de los alimentos balanceados, y en el caso de las macroalgas, una pre-digestión o degradación de las paredes celulares pueden beneficiar su aprovechamiento. El uso de enzimas digestivas como la celulosa, permite incrementar la eficiencia de fermentación de las macroalgas por levaduras ácido lácticas (Felix y Pradeepa, 2012), con la que se eliminan carbohidratos indigestibles y potenciales compuestos antinutricionales (Refstie *et al.*, 2005). De acuerdo con Omont *et al.*, (2021a), la inclusión en el alimento de 10 y 20% de *U. lactuca* o *Eisenia sp.*, previamente pre-digeridas con celulosa, y fermentadas con *Lactobacillus sp.* y *Saccharomyces cerevisiae*, mejoró la actividad enzimática digestiva de tripsina y amilasa, y en el caso de *U. lactuca* además aumentó la actividad lipasa en el hepatopáncreas de *L. vannamei* (Omont *et al.*, 2021a). La

tripsina es una de las principales proteasas digestiva en crustáceos, y cuya actividad está fuertemente relacionada a la calidad y cantidad de la proteína (Hernández y Murueta, 2009). Un incremento en la actividad enzimática digestiva de amilasa y lipasa de *L. vannamei* también se ha reportado con la inclusión de 4% de *Undaria pinnatifida* en el alimento (Schleder *et al.*, 2018). En la tilapia roja (*O. mossambicus* x *O. niloticus*), la inclusión de entre 2 y 4% de fermentado de *E. proliferans* en el alimento aumentó significativamente la actividad digestiva gástrica e intestinal de amilasa y lipasa respecto a un tratamiento control sin alga, después de 7 semanas de alimentación (Yang *et al.*, 2016). El aumento en la actividad de enzimas digestivas indica que el proceso de pre-digestión permite mejorar la calidad o biodisponibilidad de los nutrientes presentes en la macroalga.

Independientemente del uso de celulosa para la pre-digestión de las macroalgas, los microorganismos utilizados para la fermentación usualmente presentan buena actividad enzimática digestiva extracelular. En el caso de los hongos como *Rhizopus sp.*, presentan buena actividad enzimática extracelular amilolítica (glucoamilasa) que puede hidrolizar en enlaces α -1,4 and α -1,6 de la amilosa y amilopectina (Nahar *et al.*, 2008) que ayudan a romper las paredes celulares de las macroalgas para convertirlos en ácidos orgánicos (Aslamyiah y Karim, 2017). El uso de otros hongos marinos como *Paradendryphiella salina*, permite incrementar la concentración de proteína (>100%) y reduce los carbohidratos incluyendo la celulosa, además de aumentar los compuestos fenólicos y actividad antioxidante de *Macrocystis pryrifera*, respecto al uso de la macroalga sin fermentar (Salgado *et al.*, 2021).

La combinación o cocteles de microorganismos también es una práctica empleada para eficientar el proceso de fermentación. El uso de *Bacillus sp.*, *Rhizopus sp.* y *Lactobacillus sp.* para fermentar diversas macroalgas, se ha reportado que aumentan su digestibilidad de la materia seca y de la materia orgánica (Aslamyiah y Karim, 2017). La fermentación en estado sólido también es una opción para el procesamiento de la macroalgas. De acuerdo con Ilias *et al.* (2015), la fermentación en estado sólido de *Sargassum fulvellum*, empleando el hongo *Phanerochaete chrysosporium* y la levadura *Candida utilis*, a una humedad de 70% adicionada con una pre-mezcla mineral, permitió un incremento de 39% en el contenido de proteína. También se ha observado que la inclusión de macroalgas fermentadas en el alimento, puede beneficiar un mayor consumo del alimento (Felix y Brindo, 2014a). La fermentación de las algas es un método sencillo y económico,

y su inclusión en el alimento actúa como promotor del crecimiento, potenciador inmunológico y probióticos en organismos cultivables (Felix y Brindo, 2014b).

En la parte de la microbiota digestiva, Omont *et al.* (2021a) mencionan que el consumo de *U. lactuca* pre-digerida y fermentada, se relaciona positivamente con cambios en las comunidades bacterianas en el intestino del camarón *L. vannamei*, resultando en un incremento significativo en la abundancia relativa de las bacterias del grupo *Bacteroidetes*, órdenes *Actinomycetales*, *Sphingomonadales*, *Bacillales* y *Clostridia*, especialmente el género *Clostridium*, en los cuales se encuentran una variedad de bacterias celulolíticas (Omont *et al.*, 2021a). Por otro lado, en ese mismo estudio se observó que disminuye la abundancia en géneros bacterianos potencialmente patógenos como *Tenacibaculum*, que se ha reportado enriquecido en el intestino del camarón infectado con la enfermedad "camarón de algodón" (Zhou *et al.*, 2019); del género *Lutimonas* abundantes en el esqueleto de langostas enfermas (Feinman *et al.*, 2017); de la familia *Vibrionaceae*, particularmente las bacterias de los géneros *Lucibacterium* asociados con vibriosis luminosa y el síndrome Bolitas nigricans (Austin y Zhang, 2006); y *Allomonas* asociados al síndrome de las heces blancas en los camarones (Kumara y Hettiarachchi, 2017).

Tabla 1: Estudios sobre el uso de fermentados de macroalgas como ingredientes en la dieta de organismos de importancia acuícola.

Macroalga	Microorganismos	Organismo alimentado	Condiciones de fermentación	Resultados	Referencia
<i>Ulva lactuca</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	pH 4, 72h, dextrosa 5%	Hasta 30% de reemplazo de la harina de pescado y otros ingredientes	Felix y Brindo, 2014a
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	60°C / 48 h, pH 4.	Hasta 30% de inclusión mejora el crecimiento. Mayor digestibilidad del alimento y crecimiento respecto al control	Felix y Brindo, 2014b
<i>Ulva lactuca</i> y <i>Eisenia</i> sp.	<i>Lactobacillus plantarum</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	35°C /48 h, 1% azúcar, harina de soya y almidón.	10 o 20% de inclusión sin afectar el crecimiento en remplazo de h. de pescado, mejora actividad digestiva	Omont <i>et al.</i> , 2021a
<i>Kappaphycus alvarezii</i> , <i>Gracilari gigas</i> , <i>Sargassum</i> sp. y <i>Cauleroa</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp. y <i>Saccharomyces</i> sp.	Sugerido para peces	72 h, 20% v/p de melaza, inactivación con agua hirviendo 1-2 min.	Aumento en la digestibilidad de materia seca y de materia orgánica. Incremento de porcentaje de proteína del alga.	Aslamyah y Karim, 2017
<i>Caulerpa lentillifera</i> , <i>Eucheuma cottonii</i> y <i>Sargassum fulvellum</i>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> y <i>Candida utilis</i>	Sugerido para peces	70% de humedad, 32°C/6 días, fermentación en estado seco.	Incremento en contenido de proteína del alga.	Ilias <i>et al.</i> , 2015
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	26-28°C/72 h, 125 rpm.	Incremento en concentración de proteína y lípidos del alga.	Hardjani <i>et al.</i> , 2017
<i>Enteromorpha prolifera</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>	30°C/5 días, 1 g kg ⁻¹ de celulasa.	La inclusión de 3, 4 y 5% de fermento mejoró el crecimiento, eficiencia de utilización de alimento, la actividad enzimática digestiva y la respuesta inmune no específica de la tilapia.	Yang <i>et al.</i> , 2016

2.2. Producción de detritos unicelulares o SCD (*single cell detritus*)

Dentro de los procesos de valorización de macroalgas para su uso como alimento acuícola, se encuentra la producción de detritos unicelulares (SCD, por sus siglas en inglés) (Tabla 2). Este término acuñado así por Uchida (1996), surgió a partir de su trabajo con la degradación de *Laminaria japónica* con una cepa de *Alteromonas* sp. con las que obtuvo partículas de entre 4-10

µm. Reducir las algas a nivel celular mejora su digestibilidad a través de la degradación de la fibra, proporciona partículas ricas en proteínas y elimina los efectos nocivos de los antinutrientes de la macroalga integral (Cruz-Suárez *et al.*, 2008; Felix y Pradeepa, 2012; Francis *et al.*, 2001).

El uso de SCD se ha propuesto como una potencial fuente de alimento para organismos suspensívoros (Felix y Pradeepa, 2011; Omont *et al.*, 2021b; Peña Rodríguez *et al.*, 2020; Pérez Camacho *et al.*, 2007; Rato *et al.*, 2018; Tanyaros y Chuseingjaw, 2016; Uchida y Murata, 2002). Su costo relativamente bajo y la menor necesidad de mano de obra para su producción, abren el camino para agregar valor a este recurso marino subdesarrollado (Uchida y Numaguchi, 1998). Más allá de su uso directo como alimento, los SCD han demostrado ser un ingrediente prometedor para su uso en alimentos formulados, como fuente superior de proteínas y lípidos (Harel *et al.*, 2007), los cuales se han probado en organismos detritívoros (Felix y Pradeepa, 2011).

La producción de SCD puede variar en su proceso, pudiendo emplearse ósmosis inversa, digestión química y/o enzimática, además del uso de microorganismos (fermentación o digestión aeróbica). El uso de ósmosis inversa para la producción de SCD descrito por Tanyaros y Chuseingjaw (2016), se basa en la hidratación con agua dulce de harina de macroalga puesta en agitación, para posteriormente filtrar a un tamaño de partícula de 20 µm, obteniendo un 20% de partículas con un diámetro inferior a 10 µm. Con este método encontraron que con SCD de *Porphyra haitanensis* es posible reemplazar hasta un 50% de microalga en maternidades del ostión tropical *Crassostrea belcheri*. Otro trabajo empleando osmosis inversa para la producción de SCD a partir de *Gracillaria tenuistipitata* y *Enteromorpha sp.*, demostró que un reemplazo de hasta 50% de alimento para larvas de camarón, mejoraba la supervivencia y características reproductivas de *Artemia franciscana* a los 21 días de cultivo.

Para el caso del proceso de digestión química o enzimática, el protocolo inicia con la rehidratación de harinas de macroalgas. En la mayoría de los casos, la rehidratación se realiza con agua destilada o desionizada a una proporción de 10% peso/volumen (Carboni *et al.*, 2016; Felix y Pradeepa, 2011, 2012; Pérez Camacho *et al.*, 2004). El tratamiento químico consiste en la reducción del pH con la utilización de ácido clorhídrico (Pérez Camacho *et al.*, 2004). La digestión química permite hidratar las estructuras orgánicas de las partículas secas de macroalga, transformar las sales insolubles en solubles e hidrolizar los polisacáridos complejos, preparando las partículas para su posterior tratamiento (Pérez Camacho *et al.*, 2004). Pérez Camacho *et al.* (2004) demostraron que la aplicación de un tratamiento ácido antes de la digestión enzimática para

producir detritos de *Laminaria saccharina* ayudó en aumentar un 24.8% las proporciones en partículas de diámetro inferior a 10 μm . Cuando se realiza una digestión enzimática sin tratamiento ácido previo, es posible utilizar agua con secuestrantes de iones de calcio para facilitar la acción de las enzimas digestivas (Pérez Camacho *et al.*, 2007). Las principales enzimas que se emplean durante este proceso son celulasas (Felix y Pradeepa, 2011, 2012; Uchida y Murata, 2002) y endoglucanasas (Pérez Camacho *et al.*, 2004, 2007), que ayudan a degradar la fibra dietética insoluble presente en las paredes celulares de las macroalgas. De acuerdo con Omont *et al.* (2021b), la digestión ácida y enzimática de *U. lactuca*, permitió reducir el tamaño de las partículas hasta alcanzar más del 87% con un rango de tamaño entre 1 y 10 μm . Con este método encontraron que el uso de SCD de *U. lactuca*, permite hasta un 50% de reemplazo de *Chaetoceros calcitrans* sin afectar el crecimiento ni el índice de condición del ostión Japonés *C. gigas*.

A estos procesos, se puede combinar el uso de microorganismos para la producción de SCD. En un proceso de digestión bacteriana aeróbica, se emplean microorganismos con actividad enzimática digestiva alginolítica, celulítica y/o proteolítica, los cuales se incorporan en un biorreactor durante 12 a 48 horas (Uchida *et al.*, 1997; Pérez Camacho *et al.*, 2004, 2007). De acuerdo con Pérez Camacho *et al.* (2004, 2007), el proceso de fermentación demostró una alta eficiencia de degradación de las fibras de celulosa y polisacáridos de las paredes celulares de *L. saccharina*, conservando los fosfolípidos en la membrana celular y dejando intactas las células del tejido de la macroalga. Las partículas producidas resultaron en un tamaño del 85% entre 2 y 20 μm , facilitando su ingestión en la almeja *Ruditapes decussatus* (Pérez Camacho *et al.*, 2004). Los SCD de *L. saccharina* pueden reemplazar entre el 80% y el 90% del contenido de fitoplancton vivo en la alimentación de *R. decussatus*, con tasas de crecimiento iguales, e incluso superiores, a las resultantes de dietas de fitoplancton vivo (Pérez Camacho *et al.*, 2007).

En el caso del proceso de fermentación para la producción de SCD, se usan principalmente bacterias ácido lácticas y levaduras (Uchida y Murata, 2002; Felix y Pradeepa, 2011). Estos organismos pueden aislarse de las algas fermentadas naturalmente o de otras fuentes (Uchida *et al.*, 2004). En efecto, se ha observado que las partículas de algas están asociadas con muchas células bacterianas (Uchida *et al.*, 1997). La combinación de bacterias ácido lácticas y levadura tiene un efecto sinérgico: la producción de ácido láctico ayuda a preservar el SCD por largos periodos y reduce la prevalencia de microbios patógenos en el proceso de producción (Felix y Pradeepa, 2012; Uchida *et al.*, 2004). No obstante, para el uso de SCD como fuente alimenticia en el cultivo de

ostiones, es preferible la ausencia de actividad bacteriana para la preparación de detritos (Omont *et al.*, 2021b; Pérez Camacho *et al.*, 2004; Uchida y Murata, 2002). En el caso de otros organismos, las bacterias ácido lácticas también actúan como probióticos y, por lo tanto, ayudan a aumentar la supervivencia de los organismos y a mantener la calidad del agua. La levadura actúa predominantemente como un agente biorremediador, lo que permite que los sistemas de cultivo se ejecuten con poco o ningún intercambio de agua (Felix y Pradeepa, 2012). Anteriormente se abordó que la fermentación de las macroalgas produce un aumento en el contenido de proteína, y en el caso de no emplearse para la elaboración de SCD, este efecto se ve reducido. Como lo reportado por Omont *et al.* (2021b), donde la ausencia del proceso de fermentación reduce el incremento en el contenido de proteínas del SCD a solo 20% más comparado con la harina cruda de *U. lactuca*.

En el caso de moluscos, el reemplazo de microalgas con SCD para los procesos en el laboratorio ha dado resultados positivos. La sustitución del 100% de microalgas por SCD de *U. lactuca* resultó en un alto porcentaje de supervivencia en ostiones *C. gigas* después de 17 días del inicio del experimento (Peña-Rodríguez *et al.*, 2020). De acuerdo con Omont *et al.* (2021b), los ostiones alimentados con una sustitución parcial o total de microalgas con detritos de *U. lactuca*, presentaron un 100% de supervivencia después de 35 días del experimento, sin diferencias significativas en comparación con el tratamiento de control. Teniendo en cuenta los parámetros de crecimiento, la sustitución de hasta el 50% de las microalgas con SCD de *U. lactuca* resultó en una longitud de concha, pesos vivo y seco, y una tasa de crecimiento específica similares a los ostiones con un régimen de alimentación al 100% de microalgas. Las mismas observaciones sobre el crecimiento se han realizado con juveniles de *Callionymus belcheri* alimentados con SCD de *Porphyra haitanensis* como sustituto al 50% de las microalgas (Tanyaros y Chuseingjaw, 2016). Pérez Camacho *et al.* (2007) demostraron que existe un efecto aditivo cuando los SCD se suplementan con un 10% de fitoplancton vivo, obteniendo tasas de crecimiento similares a las logradas con el 100% de fitoplancton vivo. Por otro lado, la alimentación total o parcial con SCD de *U. lactuca* han demostrado modificar las actividades enzimáticas digestivas de los organismos; en ostiones *C. gigas* (Omont *et al.*, 2021b; Peña Rodríguez *et al.*, 2020) se ha observado un incremento en la actividad de las proteasas y lipasas en el aparato digestivo de los organismos.

En el caso de peces, existen trabajos que sugieren el uso de SCD para alimentación principalmente en etapas larvarias (Mann, 1988; Uchida *et al.*, 2002) sin embargo es limitado el conocimiento sobre su aplicación en este grupo de organismos. En las etapas larvarias de los peces

se requieren grandes cantidades de microalgas, ya sea para alimentar directamente a las larvas, o para enriquecer zooplancton. De acuerdo con Yin et al. (2013), el uso de SCD a partir de *Ulva pertusa* mejoró el contenido de aminoácidos libres, ácidos grasos poliinsaturados el rotífero *Brachionus plicatilis*, el cual es ampliamente utilizado en alimentación larvaria de peces.

Tabla 2. Estudios sobre el uso de detritos unicelulares o SCD producidos a partir de macroalgas como alimento acuícola.

Macroalga	Organismo alimentado	Condiciones de producción	Resultados	Referencia
<i>Ulva lactuca</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	Digestión ácida (HCl, pH 1.5, 40°C, 4 h) Digestión enzimática (5%, pH 5, 55°C, 24h, 120 rpm)	Hasta 50% de reemplazo de <i>Chaetoceros calcitrans</i>	Omont <i>et al.</i> , 2021b
<i>Ulva lactuca</i> , <i>Ulva clathrata</i> y <i>Porphyra sp.</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	Digestión enzimática (55°C, 1h, 50 rpm) Fermentación (<i>L. plantarum</i> + <i>S. cerevisiae</i> , 37°C, 48h, 40 rpm, 1% azúcar, harina de soya y almidón de maíz)	Reemplazo total de <i>Isochrysis galbana</i> o <i>C. calcitrans</i>	Peña Rodríguez <i>et al.</i> , 2020
<i>Saccharina latissima</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	Digestión ácida (HCl, pH 5.2, 121°C, 15 min) Digestión enzimática (10%, 45°C, 48h, 200 rpm)	Hasta 50% de reemplazo de microalga	Carboni <i>et al.</i> , 2016
<i>Porphyra haitanensis</i>	<i>Crassostrea belcheri</i>	Agitación a 100 rpm, 2h, filtrado a 20 µm, Ósmosis inversa a 30 ups	Hasta 50% de reemplazo de <i>C. calcitrans</i> and <i>Tetraselmis suecica</i> en maternidades	Tanyaros y Chuseingjaw, 2016
<i>Gracillaria tenuistipitata</i> y <i>Enteromorpha sp.</i>	<i>Artemia franciscana</i>	Ósmosis inversa, fermentación con levaduras (70 mg/L glucosa, 48h).	Reemplazo de 50% de alimento para larvas de camarón, con mejora en supervivencia.	Ngo, 2019
<i>Laminaria saccharina</i>	<i>Ruditapes decussatus</i>	Digestión ácida (HCl, pH 1.5, 40°C, 24h) Digestión enzimática (36°C, 24h, pH 5.4) Digestión bacteriana (27°C, 24-48h, pH 8)	Remplazo de entre 80-90% de <i>I. galbana</i>	Pérez Camacho <i>et al.</i> , 2007
<i>Laminaria saccharina</i>	<i>Ruditapes decussatus</i>	Digestión enzimática (37°C, 24h, pH 5.4) Digestión bacteriana (27°C, 24-48h, pH 7.8, 100 rpm)	Hasta 6% de reemplazo de <i>I. galbana</i>	Pérez Camacho <i>et al.</i> , 2004
<i>Laminaria japonica</i>	<i>Anemia nauplii</i>	Digestión bacteriana (20°C, 24h, 360 rpm)	Reemplazo de <i>Nannochloropsis sp.</i>	Uchida <i>et al.</i> , 1997
<i>Ulva pertusa</i>	<i>Brachionus plicatilis</i>	Pre-tratamiento (100°C, 1 min), pulverización (agua marina 15 ups), filtrado (30 µm)	Reemplazo del 50% de <i>Nannochloropsis sp.</i>	Yin <i>et al.</i> , 2013

2.3. Concentrados y extractos proteicos de macroalgas

El incremento del uso de harina de pescado en la acuicultura y su limitada disponibilidad genera un panorama complicado para esta industria, por lo que es esencial contar con alternativas que permitan sustituir esta fuente de proteína de las formulaciones de alimento balanceado. Uno de los grandes atractivos de las macroalgas son sus propiedades funcionales, sin embargo, debe considerarse también su calidad nutricional y valor proteico (Fleurence *et al.*, 1999). El nivel de proteína de las macroalgas marinas varía entre el 8 y 20 %, dependiendo de la especie de macroalga, y en el caso del perfil de aminoácidos es mejor que otras proteínas de origen vegetal. Por ejemplo, en el caso de la metionina, proporcionalmente a los aminoácidos totales, en las macroalgas es 50 % mayor que en la harina de soya (Angell *et al.*, 2017). Es por ello, que se han demostrado excelentes resultados en el uso de diferentes especies de macroalgas ya sea de colecta o de cultivo como fuente de alimento para consumo animal (Elizondo-González *et al.*, 2018; Jerez-Timaure *et al.*, 2021; Matshogo *et al.*, 2021; Peña-Rodríguez *et al.*, 2016).

Los concentrados de proteínas a partir de material vegetal han ganado interés en los últimos años, se realizan a través de la extracción directa o indirecta que permita el incremento del contenido proteico. Sin embargo, el aislamiento y concentración a partir de macroalgas es un tema poco estudiado (Angell *et al.*, 2017; Tan *et al.*, 2011), por lo que no es comúnmente utilizado en la actualidad (Fleurence *et al.*, 2018). Se ha visto que componentes presentes en las macroalgas, como los compuestos fenólicos y componentes de la pared celular como celulosa, pueden interferir o dificultar el proceso de extracción proteica (Fleurence *et al.*, 1995; Ragan y Glombitza, 1986). Wong *et al.* (2001) evaluaron el contenido nutricional de concentrados proteicos obtenidos a partir de las macroalgas *Hypnea charoides*, *Hypnea japonica* y *Ulva lactuca*, demostrando que a mayor contenido de compuestos fenólicos presentes en las muestras de macroalga, menor es el porcentaje de recuperación de los concentrados de proteína.

Diversos autores han propuesto el uso de diferentes enzimas proteolíticas que permitan la digestión de las proteínas presentes en las macroalgas, entre las cuales destacan el uso de pepsina, tripsina, quimotripsina (Fleurence *et al.*, 1999); así como la degradación de la matriz extracelular de las macroalgas que permita la liberación de proteínas por medio de enzimas como celulasas, amilasas y glucanasas (Kadam *et al.*, 2015). En este sentido, la eliminación de los polisacáridos presentes en la harina de las macroalgas ayuda a incrementar la eficiencia de la concentración proteica. Sin embargo, debido a las diferencias en la composición de los polisacáridos dependiendo

de la especie de macroalga (celulosa, galactanos sulfatados, polisacáridos sulfatados, carragenanos, entre otros), esto deriva en que pudieran ser necesarios diferentes métodos de extracción.

Se ha visto que los métodos convencionales de obtención de proteínas (en las cuales se utilizan enzimas proteolíticas) requieren procesos largos, uso de volúmenes grandes de solventes y además la eficiencia obtenida es baja. Por esta razón, se han evaluado nuevos protocolos que permitan mejorar la obtención de concentrados proteicos mediante alternativas que incluyen el uso combinado de técnicas convencionales con tratamientos térmicos, ultrasonido o microondas (Kadam *et al.*, 2017; Lian y Fan 2013; Omont *et al.*, 2019).

En el caso del trabajo reportado por Kadam *et al.*, (2017), se observó una recuperación de hasta el 59% de proteínas totales durante la extracción proteica de la macroalga parda *Ascophyllum nodosum*, utilizando ultrasonido en combinación con ácido clorhídrico lo cual permitió la eliminación de complejos de polisacáridos e hidróxido de sodio que ayudó en la solubilización de proteínas. Omont *et al.* (2019) evaluaron la extracción de *Ulva lactuca*, *Eisenia sp* y *Porphyra sp* utilizando ácido clorhídrico en combinación con temperatura alta (60°C) durante 24 horas, y posteriormente fue incluido en la dieta de *L. vannamei* al 5, 10 y 15%, resultando en un mayor crecimiento de los camarones alimentados con los extractos de macroalgas comparados con el control. Por otra parte, se logró incrementar el contenido de proteína en los extractos comparado con la harina de macroalga, pasando de 15% a 33.2% para *Ulva lactuca*, de 15% a 30% con *Porphyra sp* y de 9% a 28% para *Eisenia sp*.

De igual manera, se han evaluado concentrados de proteína proveniente de *U. lactuca* obtenida por medio de una acidificación con ácido clorhídrico, con tratamiento térmico a 80-90°C durante 10 minutos y separado por filtración, demostrando que el extracto de macroalgas puede reemplazar hasta en un 30% la harina de soya de las formulaciones del camarón *Penaeus monodon* (Serrano y Santizo, 2015) y del 15% en tilapia *Oreochromis niloticus* (Serrano y Aquino, 2014).

No obstante, a pesar de los diferentes estudios que se han realizado para la optimización en la obtención de concentrados proteicos de macroalgas, su uso ha sido poco evaluado en alimentos acuícolas. Los concentrados de proteína de macroalgas tienen buen potencial para sustituir la harina de pescado en los alimentos, sin embargo, es necesario mejorar los procesos a escalas mayores, y combinarse con la obtención de otros compuestos de alto valor nutracéutico (Emblemsvåg *et al.*, 2020).

3. Conclusiones

Las macroalgas representan una fuente abundante y valiosa de nutrientes. Los procesos de valorización de las macroalgas como la fermentación y la producción de detritos unicelulares, mejora el valor nutricional y aumenta considerablemente la capacidad de inclusión en los alimentos balanceados de peces y crustáceos (>10%), además de permitir un reemplazo parcial importante de microalgas en la dieta de diversos bivalvos (<50%). Por otro lado, los concentrados proteicos o extractos altos en proteína de macroalgas permiten un reemplazo parcial de harina de pescado en alimentos acuícolas, sin embargo, es necesario continuar con el desarrollo de procesos más eficientes que conlleven a una reducción en el costo de los mismos. Aunque se han demostrado avances significativos en la investigación sobre la valorización de macroalgas marinas como fuente de nutrientes para la industria acuícola, es necesario continuar con el estudio de estos recursos que coadyuven al desarrollo de la acuicultura sostenible.

Agradecimientos

Al equipo de trabajo del laboratorio de genómica y bioinformática del programa de acuicultura del CIBNOR. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) por el financiamiento del proyecto PDCPN 2015-887.

4. Referencias bibliográficas

- An, B. N. T., & Anh, N. T. N. (2020). Co-culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red seaweed (*Gracilaria tenuistipitata*) under different feeding rates: effects on water quality, fish growth and feed efficiency. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 2031-2040.
- Angell, A. R., Paul, N. A., & de Nys, R. (2017). A comparison of protocols for isolating and concentrating protein from the green seaweed *Ulva ohnoi*. *Journal of Applied Phycology*, 29(2), 1011-1026.
- Alemañ, A. E., Robledo, D., & Hayashi, L. (2019). Development of seaweed cultivation in Latin America: current trends and future prospects. *Phycologia*, 58(5), 462-471.
- Aslamyah, S., & Karim, M. Y. (2017). Fermentation of seaweed flour with various fermenters to improve the quality of fish feed ingredients. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 16(1), 8-14.
- Austin, B. & Zhang, X. H. (2006). *Vibrio harveyi*: A significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2): 119-124.
- Carboni, S., Clegg, S. H. & Hughes, A. D. (2016). The use of biorefinery by-products and natural detritus as feed sources for oysters (*Crassostrea gigas*) juveniles. *Aquaculture*, 464: 392-398.
- Choi, Y. J., Lee, S. R., & Oh, J. W. (2014). Effects of dietary fermented seaweed and seaweed fusiforme on growth performance, carcass parameters and immunoglobulin concentration in broiler chicks. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(6), 862.
- Cian, R. E., Bacchetta, C., Rossi, A., Cazenave, J., & Drago, S. R. (2019). Red seaweed *Pyropia columbina* as antioxidant supplement in feed for cultured juvenile Pacú (*Piaractus mesopotamicus*). *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1455-1465.
- Cruz-Suárez, L. E., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M. G. y Ricque-Marie, D. (2008). A Review of the Effects of Macroalgae in Shrimp Feeds and in Co-Culture. En: Cruz Suárez L. E, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Nieto-López M. G., Villarreal-Cavazos D. A., Lazo J. P., Viana M. T. (eds) Avances en Nutrición Acuícola IX. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola Nuevo León, México, pp 304-333
- Cruz-Suárez, L. E., León, A., Peña-Rodríguez, A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., & Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/Ulva co-culture: a sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, 301(1), 64-68.
- Dubey, A., & Sivaraman, J. (2021). Unravelling the antioxidant and anti-cancerous properties of the chemical constituents present in methanol extract of green algae *Chaetomorpha antennina*. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*. Assiut.
- Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Magallón-Servín, P., & Peña-Rodríguez, A. (2018). Use of seaweed *Ulva lactuca* for water bioremediation and as feed additive for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *PeerJ*, 6, e4459.
- Emblemsvåg, J., Kvaldheim, N. P., Halfdanarson, J., Koesling, M., Nystrand, B. T., Sunde, J., & Rebours, C. (2020). Strategic considerations for establishing a large-scale seaweed industry based on fish feed application: a Norwegian case study. *Journal of Applied Phycology*, 32(6), 4159-4169.
- Evans, F. D., & Critchley, A. T. (2014). Seaweeds for animal production use. *Journal of applied phycology*, 26(2),

891-899.

- FAO. 2021. Estadísticas de pesca y acuicultura. Producción mundial por origen de producción 1950-2019 (FishstatJ). In: FAO División de Pesca. Roma. Actualización 2021. www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/es
- Feinman, S. G., Martínez, A. U., Bowen, J. L. & Tlusty, M. F. (2017). Fine-scale transition to lower bacterial diversity and altered community composition precedes shell disease in laboratory-reared juvenile American lobster. *Diseases of Aquatic Organisms*, 124(1): 41-54.
- Felix, N., & Brindo, R. A. (2008). Fermented feed ingredients as fish meal replacer in aquafeed production. *Aquaculture Asia*, 13(2), 33-34.
- Felix, N. & Brindo, R. A. (2014a). Evaluation of raw and fermented seaweed, *Ulva lactuca* as feed ingredient in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1(3): 199-204.
- Felix, N. & Brindo, R. A. (2014b). Substituting fish meal with fermented seaweed, *Kappaphycus alvarezii* in diets of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies IJFAS*, 1(15): 261-265.
- Felix, S., & Pradeepa, P. (2012). Lactic acid fermentation of seaweed (*Ulva reticulata*) for preparing marine single cell detritus (MSCD). *Tamilnadu J. Veterinary and Animal Sciences*, 8(2), 76-81.
- Felix, S. & Pradeepa, P. (2011). Seaweed (*Ulva reticulata*) Based Fermented Marine Silage Feed Preparation under Controlled Conditions for *Penaeus monodon* Larval Development. *Journal of Marine Science: Research & Development*, 01(01): 1-3.
- Figuerola, V., Farfán, M., & Aguilera, J. M. (2021). Seaweeds as Novel Foods and Source of Culinary Flavors. *Food Reviews International*, 1-26.
- Fleurence, J., Chenard, E., & Luçon, M. (1999). Determination of the nutritional value of proteins obtained from *Ulva armoricana*. *Journal of Applied Phycology*, 11(3), 231-239.
- Fleurence, J. (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in food science & technology*, 10(1), 25-28.
- Fleurence, J., Le Coeur, C., Mabeau, S., Maurice, M., & Landrein, A. (1995). Comparison of different extractive procedures for proteins from the edible seaweeds *Ulva rigida* and *Ulva rotundata*. *Journal of Applied Phycology*, 7(6), 577-582.
- Fleurence, J., Morançais, M., & Dumay, J. (2018). Seaweed proteins. In *Proteins in food processing* (pp. 245-262). Woodhead Publishing.
- Francis, G., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3-4): 197-227.
- Gamboa-Delgado, J., Peña-Rodríguez, A., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2011). Assessment of nutrient allocation and metabolic turnover rate in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* co-fed live macroalgae *Ulva clathrata* and inert feed: dual stable isotope analysis. *Journal of Shellfish Research*, 30(3), 969-978.
- Hardjani, D. K., Suantika, G., & Aditiawati, P. (2017). Nutritional profile of red seaweed *Kappaphycus alvarezii* after fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* as a feed supplement for white shrimp *Litopenaeus vannamei*

- nutritional profile of fermented red seaweed. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(4), 1637-45.
- Harel, M., Clayton, D. & Bullis, R. A. (2007). Feed formulation for terrestrial and aquatic animals. US20070082008A1
- Hernández, J. C. S., & Murueta, J. H. C. (2009). Activity of trypsin from *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 290(3-4), 190-195.
- Hui, Y., Tamez-Hidalgo, P., Cieplak, T., Satessa, G. D., Kot, W., Kjærulff, S., ... & Krych, L. (2021). Supplementation of a lacto-fermented rapeseed-seaweed blend promotes gut microbial-and gut immune-modulation in weaner piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 1-14.
- Ilias, N. N., Jamal, P., Jaswir, I., Sulaiman, S., Zainuddin, Z., & Azmi, A. S. (2015, January). Potentiality of selected seaweed for the production of nutritious fish feed using solid state fermentation. In *Journal of Engineering Science and Technology. Special issue on SOMCHE 2014 & RSCE 2014 Conference* (pp. 30-40).
- Jerez-Timaure, N., Sánchez-Hidalgo, M., Pulido, R., & Mendoza, J. (2021). Effect of Dietary Brown Seaweed (*Macrocystis pyrifera*) Additive on Meat Quality and Nutrient Composition of Fattening Pigs. *Foods*, 10(8), 1720.
- Kadam, S. U., Álvarez, C., Tiwari, B. K., & O'Donnell, C. P. (2015). Extraction of biomolecules from seaweeds. In *Seaweed sustainability* (pp. 243-269). Academic Press.
- Kadam, S. U., Álvarez, C., Tiwari, B. K., & O'Donnell, C. P. (2017). Extraction and characterization of protein from Irish brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Food Research International*, 99, 1021-1027.
- Katayama, M., Fukuda, T., Okamura, T., Suzuki, E., Tamura, K., Shimizu, Y., ... & Suzuki, K. (2011). Effect of dietary addition of seaweed and licorice on the immune performance of pigs. *Animal science journal*, 82(2), 274-281.
- Kumar, C. S., Ganesan, P., Suresh, P. V., & Bhaskar, N. (2008). Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds-a review. *Journal of Food Science and Technology*, 45(1), 1.
- Kumara, K. R. P. S. & Hettiarachchi, M. (2017). White faeces syndrome caused by *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fluvialis* in shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius 1798)-multimodal strategy to control the syndrome in Sri Lankan grow-out ponds. *Asian Fisheries Science*, 30(4): 245-261.
- Mann, K. H. (1988). Production and use of detritus in various freshwater, estuarine, and coastal marine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 33, 910-930.
- Matshogo, T. B., Mnisi, C. M., & Mlambo, V. (2021). Effect of Pre-Treating Dietary Green Seaweed with Proteolytic and Fibrolytic Enzymes on Physiological and Meat Quality Parameters of Broiler Chickens. *Foods*, 10(8), 1862.
- Marinho-Soriano, E., Camara, M. R., Cabral, T. D. M., & Carneiro, M. A. D. A. (2007). Preliminary evaluation of the seaweed *Gracilaria cervicornis* (Rhodophyta) as a partial substitute for the industrial feeds used in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming. *Aquaculture Research*, 38(2), 182-187.
- Michalak, I., & Chojnacka, K. (2015). Production of seaweed extracts by biological and chemical methods. *Marine algae extracts: processes, products, and applications*, 121-144.
- Nayar, S., & Bott, K. (2014). Current status of global cultivated seaweed production and markets. *World Aquaculture*, 45(2), 32-37.
- Nahar, S., Hossain, F., Feroza, B., & Halim, M. A. (2008). Production of glucoamylase by *Rhizopus sp.* in liquid culture. *Pak. J. Bot*, 40(4), 1693-1698.

- Nazarudin, M. F., Yusoff, F., Idrus, E. S., & Aliyu-Paiko, M. (2020). Brown seaweed *Sargassum polycystum* as dietary supplement exhibits prebiotic potentials in Asian sea bass *Lates calcarifer* fingerlings. *Aquaculture Reports*, 18, 100488.
- Nehal, N. (2014). Seaweed: a potential “superfood” unexplored and untapped. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 5(6), 631-642.
- Ngo, T. T. T. (2019). Evaluating the effects of single cell detritus from red seaweed (*Gracillaria tenuistipitata*) and gutweed (*Enteromorpha sp.*) on growth of *Artemia franciscana*. *Can Tho University Journal of Science*, 11(1), 78-86.
- Ogello, E. O., Munguti, J. M., Sakakura, Y., & Hagiwara, A. (2014). Complete replacement of fish meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) grow-out with alternative protein sources. A review. <https://repository.maseno.ac.ke/handle/123456789/2280>.
- Omont, A., Quiroz-Guzman, E., Tovar-Ramirez, D., & Peña-Rodríguez, A. (2019). Effect of diets supplemented with different seaweed extracts on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1433-1442.
- Omont, A., Elizondo-González, R., Escobedo-Fregoso, C., Tovar-Ramírez, D., Hinojosa-Baltazar, P., & Peña-Rodríguez, A. (2021a). Bacterial communities and digestive enzymatic activities of *Litopenaeus vannamei* shrimp fed pre-digested seaweeds as a functional ingredient. *Journal of Applied Phycology*, 33(2), 1239-1251.
- Omont, A., Py, C., Gamboa-Delgado, J., Nolasco-Soria, H., Spanopoulos-Zarco, M., & Peña-Rodríguez, A. (2021b). Nutritional contribution of seaweed *Ulva lactuca* single-cell detritus and microalgae *Chaetoceros calcitrans* to the growth of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 541, 736835.
- Pal, A., Kamthania, M. C., & Kumar, A. (2014). Bioactive compounds and properties of seaweeds—a review. *Open Access Library Journal*, 1(4), 1-17.
- Peña-Rodríguez, A., Elizondo-González, R., Nieto-López, M. G., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2017). Practical diets for the sustainable production of brown shrimp, *Farfantepenaeus californiensis*, juveniles in presence of the green macroalga *Ulva clathrata* as natural food. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 413-421.
- Peña-Rodríguez, A., Morales-Alvarado, G., Elizondo-González, R., Mendoza-Carrión, G., Tovar-Ramírez, D., Escobedo-Fregoso, C. (2020). Seaweed single cell detritus effects on the digestive enzymes activity and microbiota of the oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Applied Phycology*, 32(5), 3481-3493.
- Pereira, R., Valente, L. M., Sousa-Pinto, I., & Rema, P. (2012). Apparent nutrient digestibility of seaweeds by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Algal Research*, 1(1), 77-82.
- Pérez Camacho, A., Salinas, JM., Delgado, M. & Fuertes, C. (2007). Use of single cell detritus (SCD) produced from *Laminaria saccharina* in the feeding of the clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 266(1-4): 211-218.
- Pérez Camacho, A., Salinas, JM., Fuertes, C. & Delgado, M. (2004). Preparation of single cell detritus from *Laminaria saccharina* as a hatchery diet for bivalve mollusks. *Marine Biotechnology*, 6(6): 642-649.
- Portillo-Clark, G., Casillas-Hernández, R., Servín-Villegas, R., & Magallón-Barajas, F. J. (2012). Growth and survival of the juvenile yellowleg shrimp *Farfantepenaeus californiensis* cohabiting with the green feather alga *Caulerpa*

- sertularioides* at different temperatures. *Aquaculture Research*, 44(1), 22-30.
- Prachyakij, P., Charernjiratrakul, W., & 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.
- Ragan M. A., & Glombitza, K. W. (1986). Phlorotannins, brown algal polyphenols. In F. E. Round, & D. J. Chapman, Progress in phycological research (Vol. 4, pp. 130±230). Bristol: Biopress Ltd.
- Rajauria, G., & Yuan, Y. V. (2021). Algae: A Functional Food with a Rich History and Future Superfood. *Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing: Food and Health Perspectives*, 1-13.
- Ratanaburee, A., Kantachote, D., Charernjiratrakul, W., Penjamras, P., & Chaiyasut, C. (2011). Enhancement of γ -aminobutyric acid in a fermented red seaweed beverage by starter culture *Lactobacillus plantarum* DW12. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14(3), 1-1.
- Rato, A., Joaquim, S., Tavares, T. G., Martins, Z. E., Guedes, A. C., Pereira, L. F., ... & Matias, D. (2018). Viability of dietary substitution of live microalgae with dry *Ulva rigida* in broodstock conditioning of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Biology open*, 7(9), bio035923.
- Reboleira, J., Silva, S., Chatzifragkou, A., Niranjana, K., & Lemos, M. F. (2021). Seaweed fermentation within the fields of food and natural products. *Trends in Food Science & Technology*.
- Refstie, S., Sahlström, S., Bråthen, E., Baeverfjord, G., & Krogedal, P. (2005). Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 246(1-4), 331-345.
- Rodríguez-González, H., Orduña-Rojas, J., Villalobos-Medina, J. P., García-Ulloa, M., Polanco-Torres, A., López-Álvarez, E. S., ... & Hernández-Llamas, A. (2014). Partial inclusion of *Ulva lactuca* and *Gracilaria parvispora* meal in balanced diets for white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of applied phycology*, 26(6), 2453-2459.
- Santizo, R. B., Serrano Jr, A. E., & Corre, V. L. (2014). Proximate composition and dry matter digestibility of *Ulva lactuca* in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *ABAH Bioflux*, 6(1), 75-83.
- Santoso, S. I., Suprijatna, E., Setiadi, A., & Susanti, S. (2016). Effect of duck diet supplemented with fermented seaweed wastes on carcass characteristics and production efficiency of indigenous Indonesian ducks. *Indian Journal of Animal Research*, 50(5), 699-704.
- Salgado, C. L., Muñoz, R., Blanco, A., & Lienqueo, M. E. (2021). Valorization and upgrading of the nutritional value of seaweed and seaweed waste using the marine fungi *Paradendryphiella salina* to produce mycoprotein. *Algal Research*, 53, 102135.
- Schleder, D. D., Blank, M., Peruch, L. G. B., Poli, M. A., Goncalves, P., Rosa, K. V., ... & Hayashi, L. (2020). Impact of combinations of brown seaweeds on shrimp gut microbiota and response to thermal shock and white spot disease. *Aquaculture*, 519, 734779.
- Schleder, D. D., Peruch, L. G. B., Poli, M. A., Ferreira, T. H., Silva, C. P., Andreatta, E. R., ... & do Nascimento Vieira, F. (2018). Effect of brown seaweeds on Pacific white shrimp growth performance, gut morphology, digestive enzymes activity and resistance to white spot virus. *Aquaculture*, 495, 359-365.

- Serrano Jr, A. E., & Aquino, J. I. (2014). Protein concentrate of *Ulva intestinalis* (Chlorophyta, Ulvaceae) could replace soybean meal in the diet of *Oreochromis niloticus* fry. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 7(4), 255-262.
- Serrano Jr, A. E., Santizo, R. B., & Tumbokon, B. L. M. (2015). Potential use of the sea lettuce *Ulva lactuca* replacing soybean meal in the diet of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* juvenile. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation-International Journal of the Bioflux Society (AAFL Bioflux)*, 8(3).
- Soler-Vila, A., Coughlan, S., Guiry, M. D., & Kraan, S. (2009). The red alga *Porphyra dioica* as a fish-feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, feed efficiency, and carcass composition. *Journal of Applied Phycology*, 21(5), 617-624.
- Tan, S. H., Mailer, R. J., Blanchard, C. L., & Agboola, S. O. (2011). Canola proteins for human consumption: extraction, profile, and functional properties. *Journal of food science*, 76(1), R16-R28.
- Tanyaros, S., & Chuseingjaw, S. (2016). A partial substitution of microalgae with single cell detritus produced from seaweed (*Porphyra haitanensis*) for the nursery culture of tropical oyster (*Crassostrea belcheri*). *Aquaculture Research*, 47(7), 2080-2088.
- Teles, F. B., Assef, A. N. B., Andrade, R. M., Soares, V. V. M., AWdS, A., Lima-Junior, R. C. P., ... & Wilke, D. V. (2021). Sulfated polysaccharides from red seaweed *Gracilaria cornea* induce macrophages polarization to an antitumor M1 phenotype.
- Uchida, M. (1996). Formation of single cell detritus densely covered with bacteria during experimental degradation of *Laminaria japonica* thalli. *Fisheries science*, 62(5), 731-736.
- Uchida, M., Nakata, K. & Maeda, M. (1997). Introduction of detrital food webs into an aquaculture system by supplying single cell algal detritus produced from *Laminaria japonica* as a hatchery diet for *Anemia nauplii*. *Aquaculture*, 154(2): 125-137.
- Uchida, M. & Numaguchi, K. (1998). Method for preparing algal detritus. US005801050A
- Uchida, M., Amakasu, H., Satoh, Y. & Murata, M. (2004). Combinations of lactic acid bacteria and yeast suitable for preparation of marine silage. *Fisheries Science*, 70(3): 507-517.
- Uchida, M., & Murata, M. (2002). Fermentative preparation of single cell detritus from seaweed, *Undaria pinnatifida*, suitable as a replacement hatchery diet for unicellular algae. *Aquaculture*, 207(3-4), 345-357.
- Uchida, M., Kurushima, H., Ishihara, K., Murata, Y., Touhata, K., Ishida, N., ... & Araki, T. (2017). Characterization of fermented seaweed sauce prepared from nori (*Pyropia yezoensis*). *Journal of bioscience and bioengineering*, 123(3), 327-332.
- Uchida, M., Kurushima, H., Hideshima, N., Araki, T., Ishihara, K., Murata, Y., ... & Ishida, N. (2018). Preparation and characterization of fermented seaweed sauce manufactured from low-quality nori (dried and fresh fronds of *Pyropia yezoensis*). *Fisheries science*, 84(3), 589-596.
- Valente, L. M. P., Gouveia, A., Rema, P., Matos, J., Gomes, E. F., & Pinto, I. S. (2006). Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 252(1), 85-91.
- Watanabe, T. (2002). Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, 68(2), 242-252.

- Wong, K. H., & Cheung, P. C. (2001). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. *Food chemistry*, 72(1), 11-17.
- Yang, H., Li, Z. B., Chen, Q., Li, W. J., Sun, Y. Z., & 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.
- Yang, Q., Zhou, X., Zhou, Q., Tan, B., Chi, S., & Dong, X. (2009). Apparent digestibility of selected feed ingredients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture Research*, 41(1), 78-86.
- Yin, X. W., Min, W. W., Lin, H. J., & Chen, W. (2013). Population dynamics, protein content, and lipid composition of *Brachionus plicatilis* fed artificial macroalgal detritus and *Nannochloropsis sp.* diets. *Aquaculture*, 380, 62-69.
- Zhou, L., Chen, C., Xie, J., Xu, C., Zhao, Q., Qin, JG., Chen, L. & Li, E. (2019). Intestinal bacterial signatures of the “cotton shrimp-like” disease explain the change of growth performance and immune responses in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish and Shellfish Immunology*, 92(May): 629-636.