



PROYECTO
IMMUNO&ALGAE

Jornada Final Proyecto IMMUNO&ALGAE: Las algas como fuente de compuestos con actividad inmunoestimulante en peces

Potencial de las microalgas como ingredientes nutricionales y funcionales en piensos de acuicultura

Francisco Javier Alarcón López

falarcon@ual.es



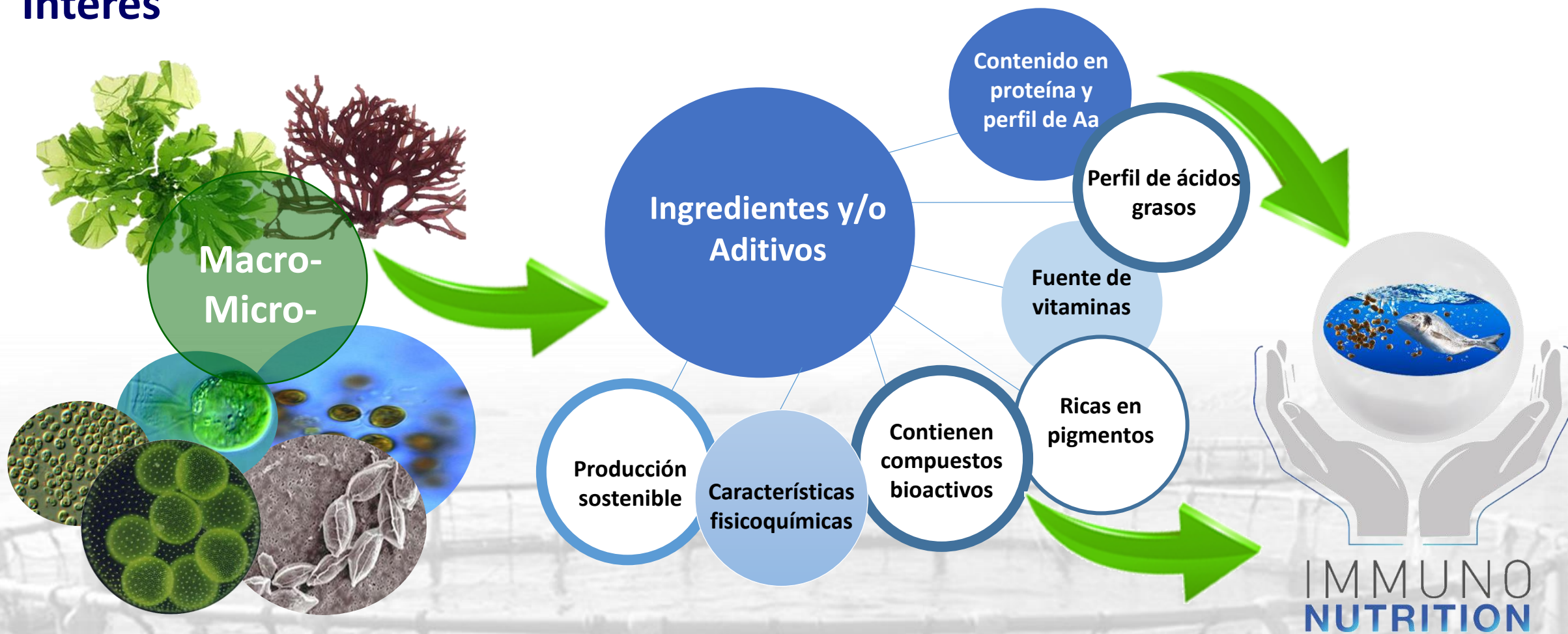
UNIVERSIDAD
DE ALMERÍA



El Puerto de Santa María, 21 de abril de 2022



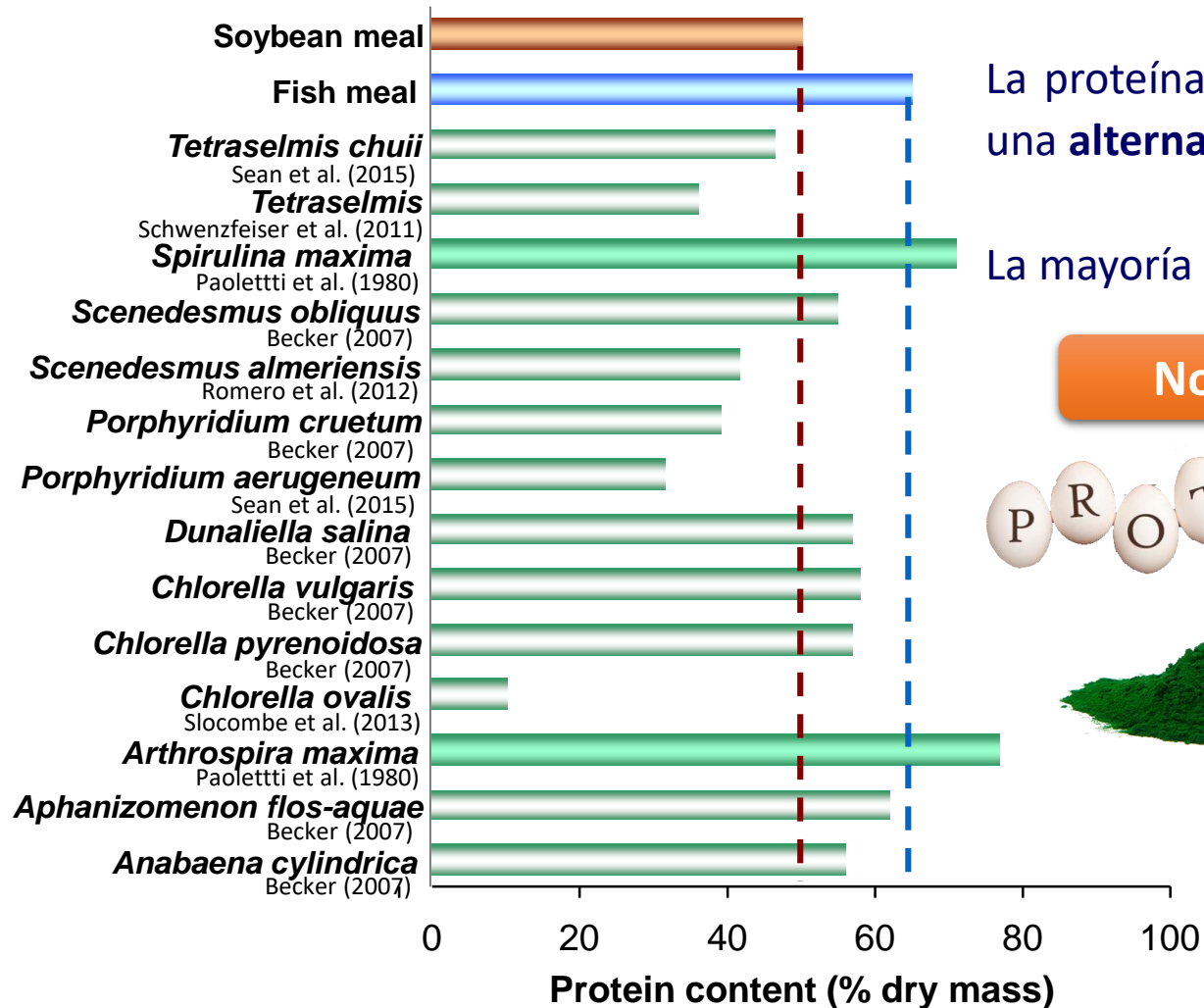
Interés



La industria acuícola demanda nuevas estrategias y herramientas que garanticen tanto el buen **crecimiento** como la **salud** de los peces



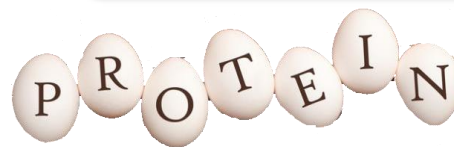
Interés



La proteína de las algas, en particular de las microalgas, puede ser una **alternativa** a la proteína de la harina de pescado

La mayoría de las microalgas presentan un **alto** contenido proteico

Notable variabilidad en el contenido proteico



- La especie o estirpe utilizada
- El medio de cultivo
- El periodo de cosecha
- El método de cultivo



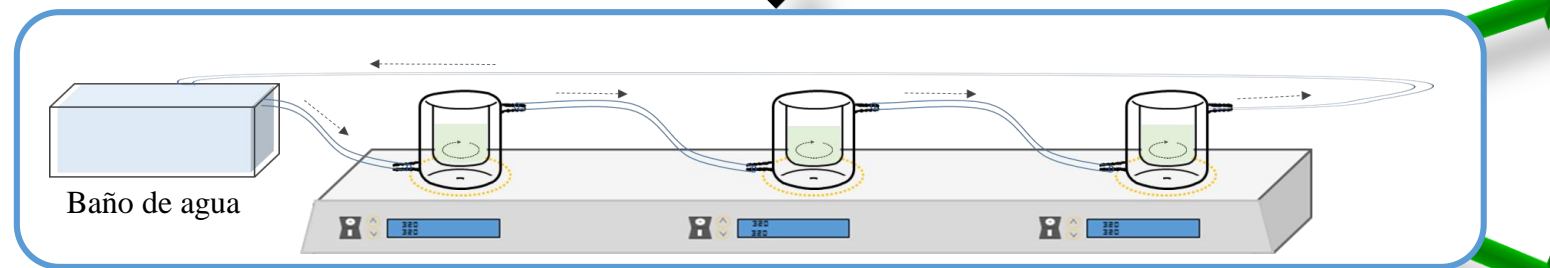
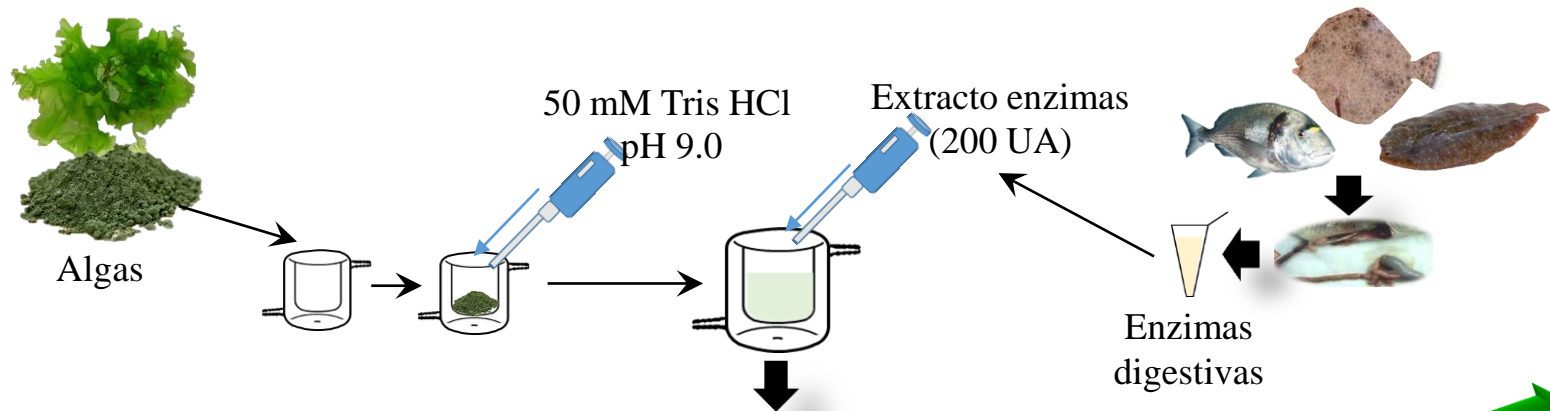
Microalgas: ingredientes nutricionales y funcionales

Retos y Limitaciones

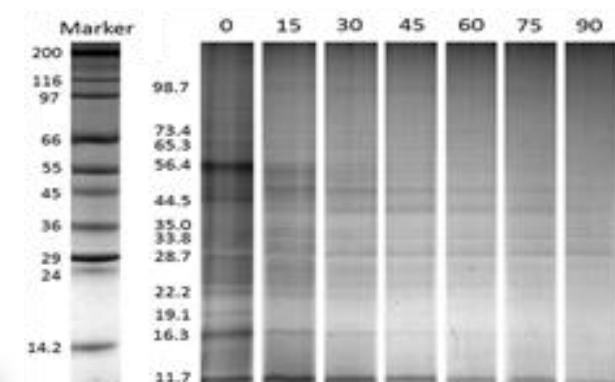
Jornada Final Proyecto IMMUNO&ALGAE



¿LAS ENZIMAS DE LOS PECES PUEDEN DIGERIRLAS?

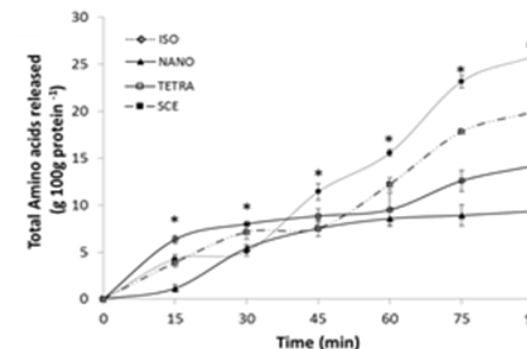


SIMULACIÓN DIGESTIVA *in vitro*



Visualizar la hidrólisis de la proteína

Cuantificar liberación de aminoácidos



Interés

Retos y Limitaciones

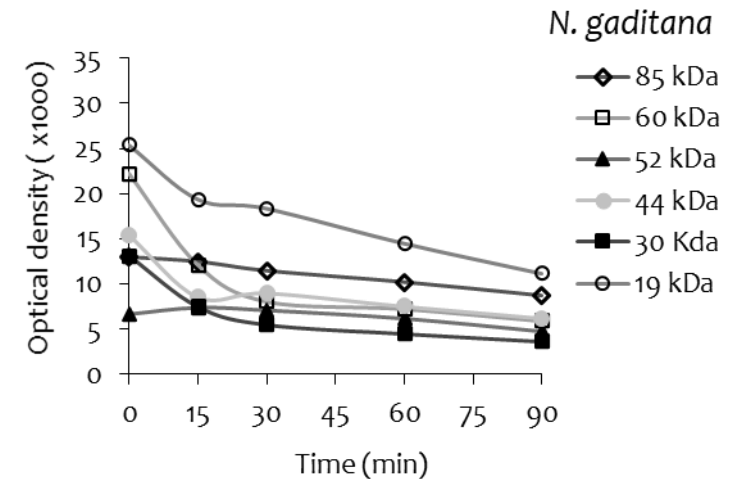
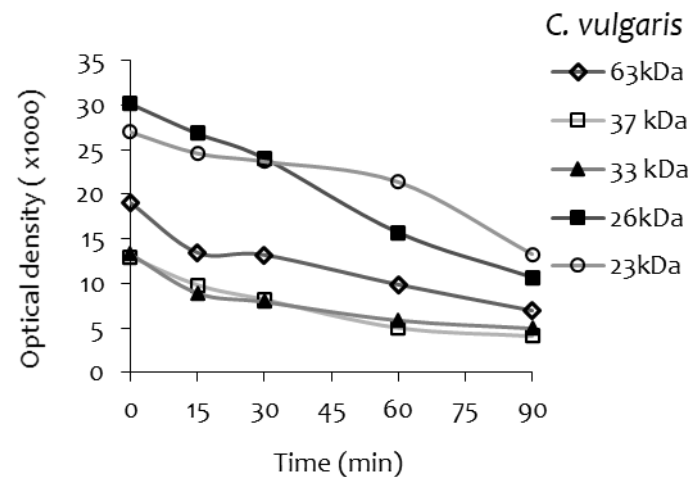
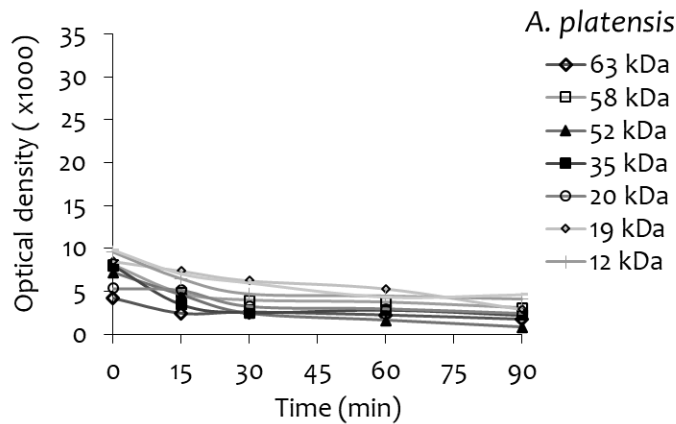
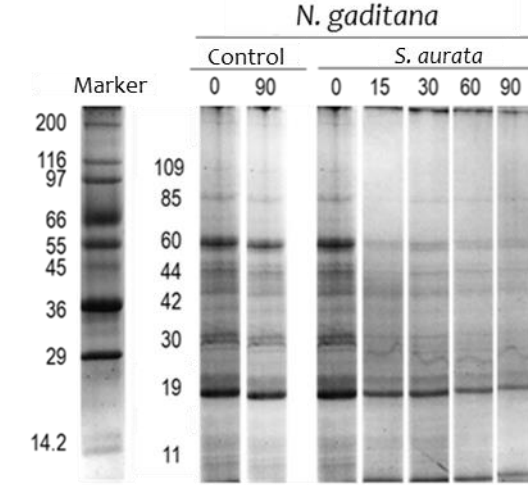
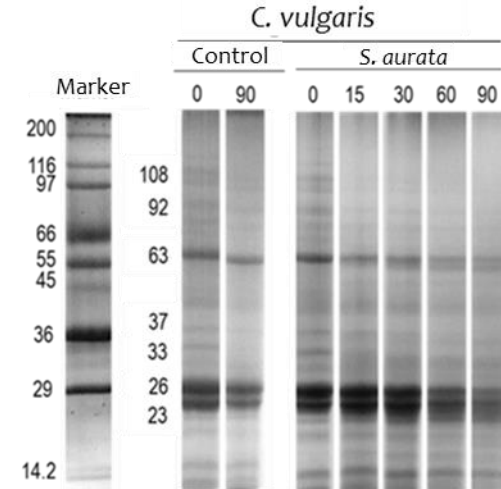
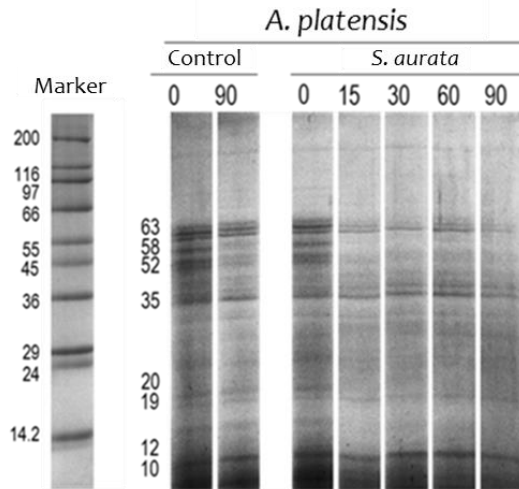
Aplicación práctica



Retos y Limitaciones



Los ensayos *in vitro* de **confirman** que las enzimas de los peces son capaces de digerir las proteínas de las microalgas.





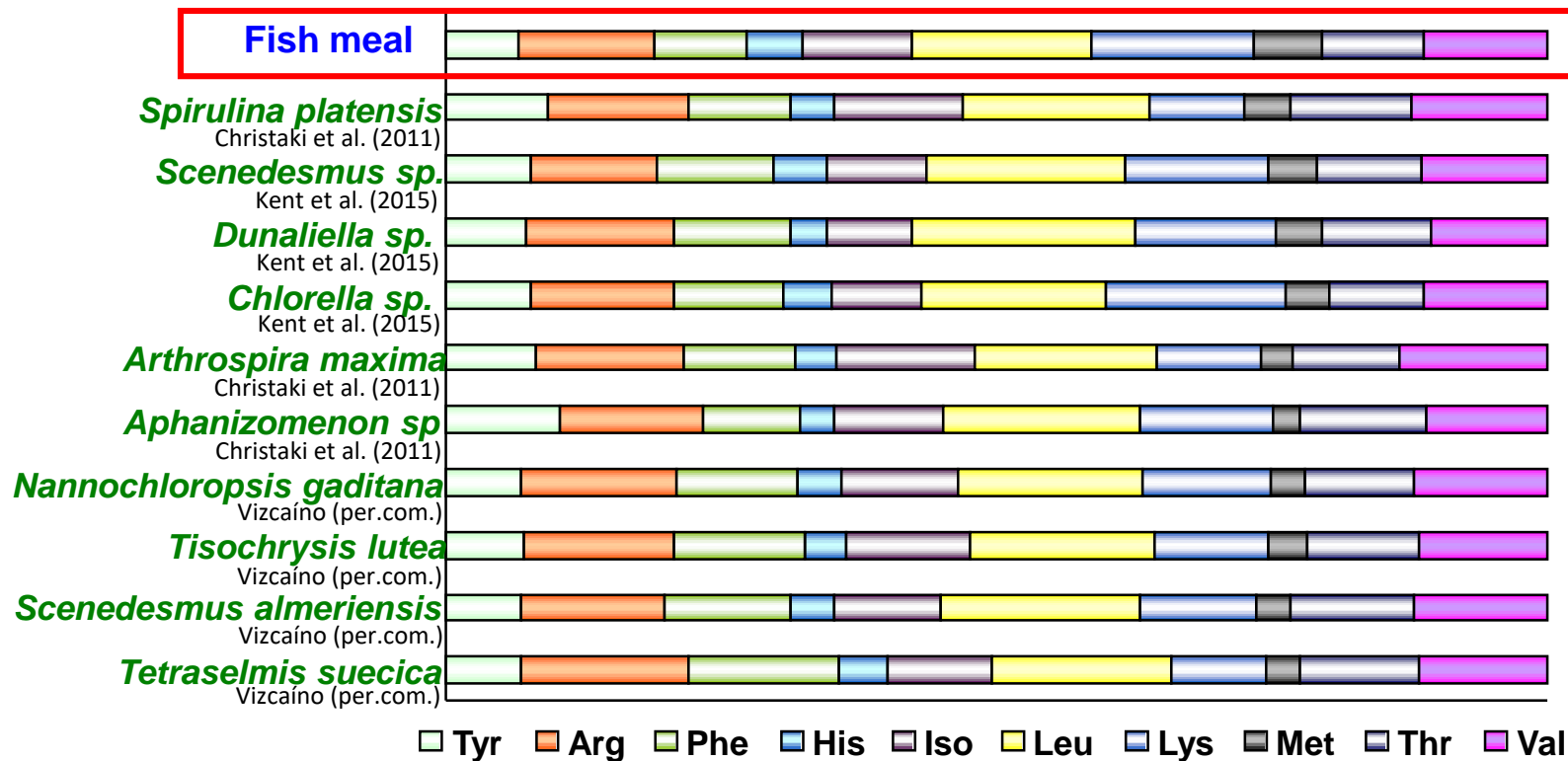
Interés

PERFIL AMINOACÍDICO

La proteínas de las microalgas tienen un **perfil similar** en aminoácidos esenciales



AMINOÁCIDOS ESENCIALES



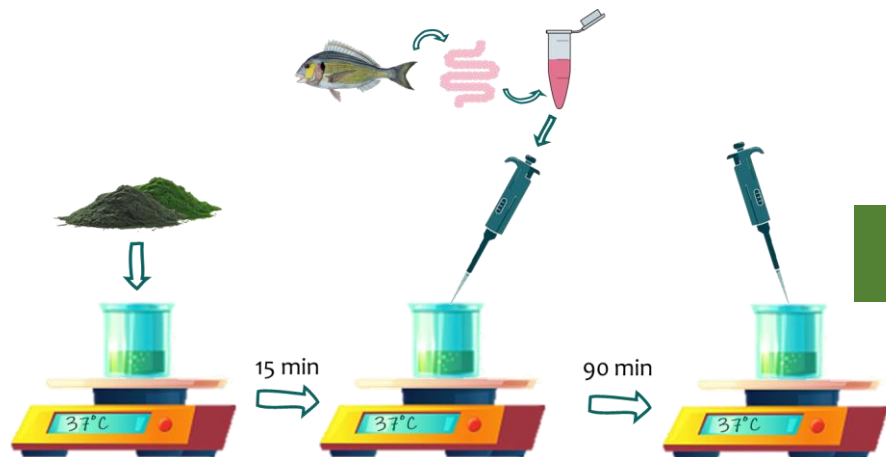
Algunas microalgas presentan un alto **contenido** en aminoácidos esenciales





Retos y Limitaciones

¿LAS ENZIMAS DE LOS PECES PUEDEN DIGERIRLAS?



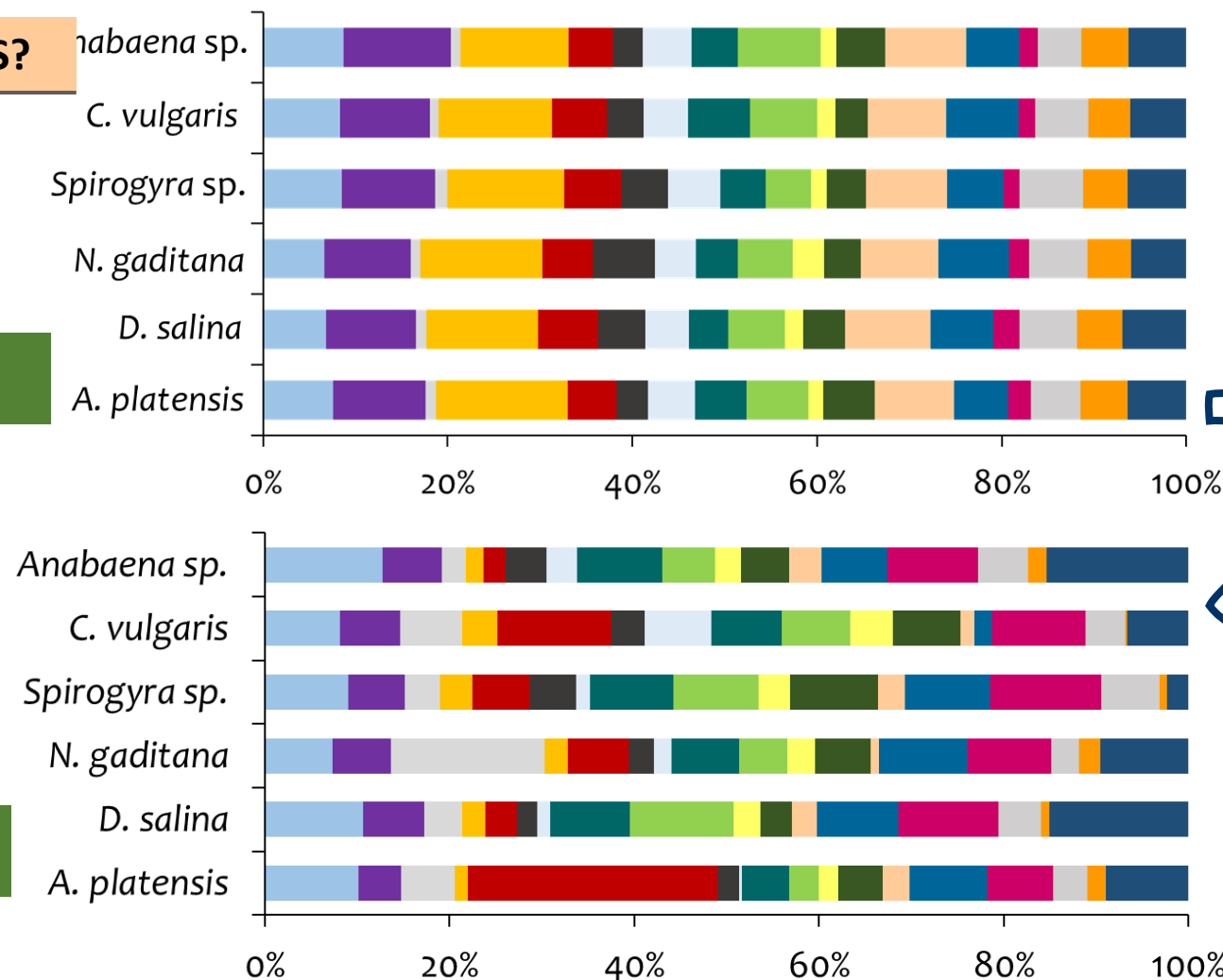
Digestión simulada in vitro

Galafat et al. (2022) enviado

Antes

Después

PERFIL AMINOACÍDICO





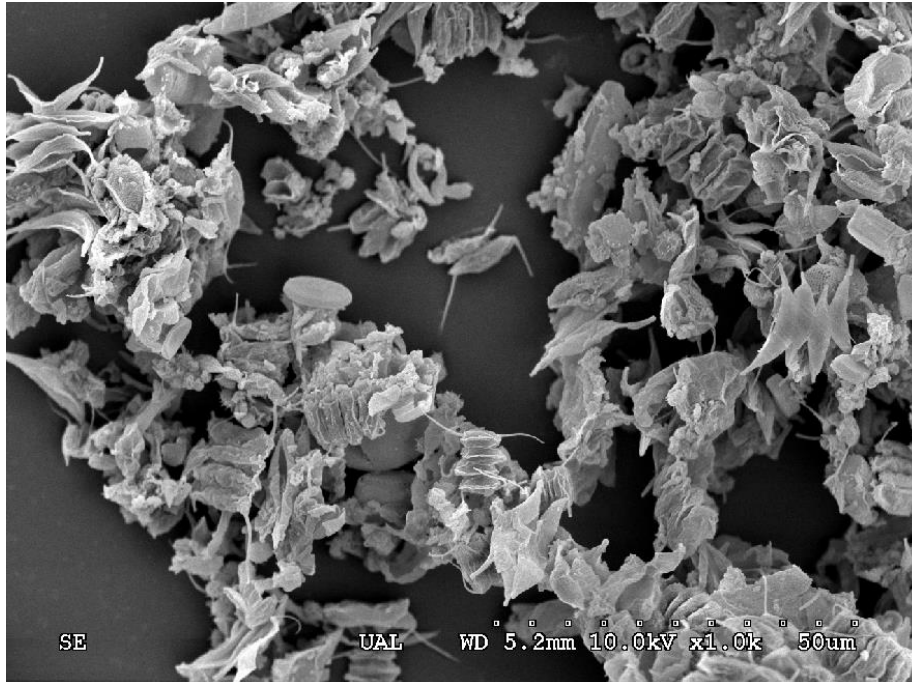
Retos y Limitaciones

¿LAS ENZIMAS DE LOS PECES PUEDEN DIGERIRLAS?

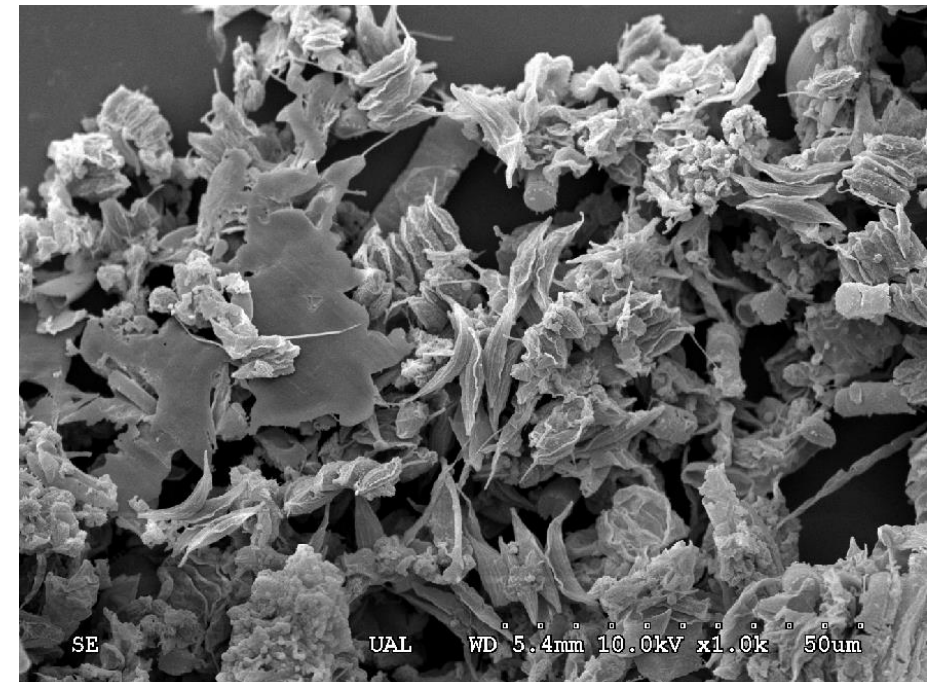
¿Un tratamiento previo a la biomasa sería una **ESTRATEGIA INTERESANTE** para solventar esta limitación?

Scenedesmus almeriensis

0 min



90 min



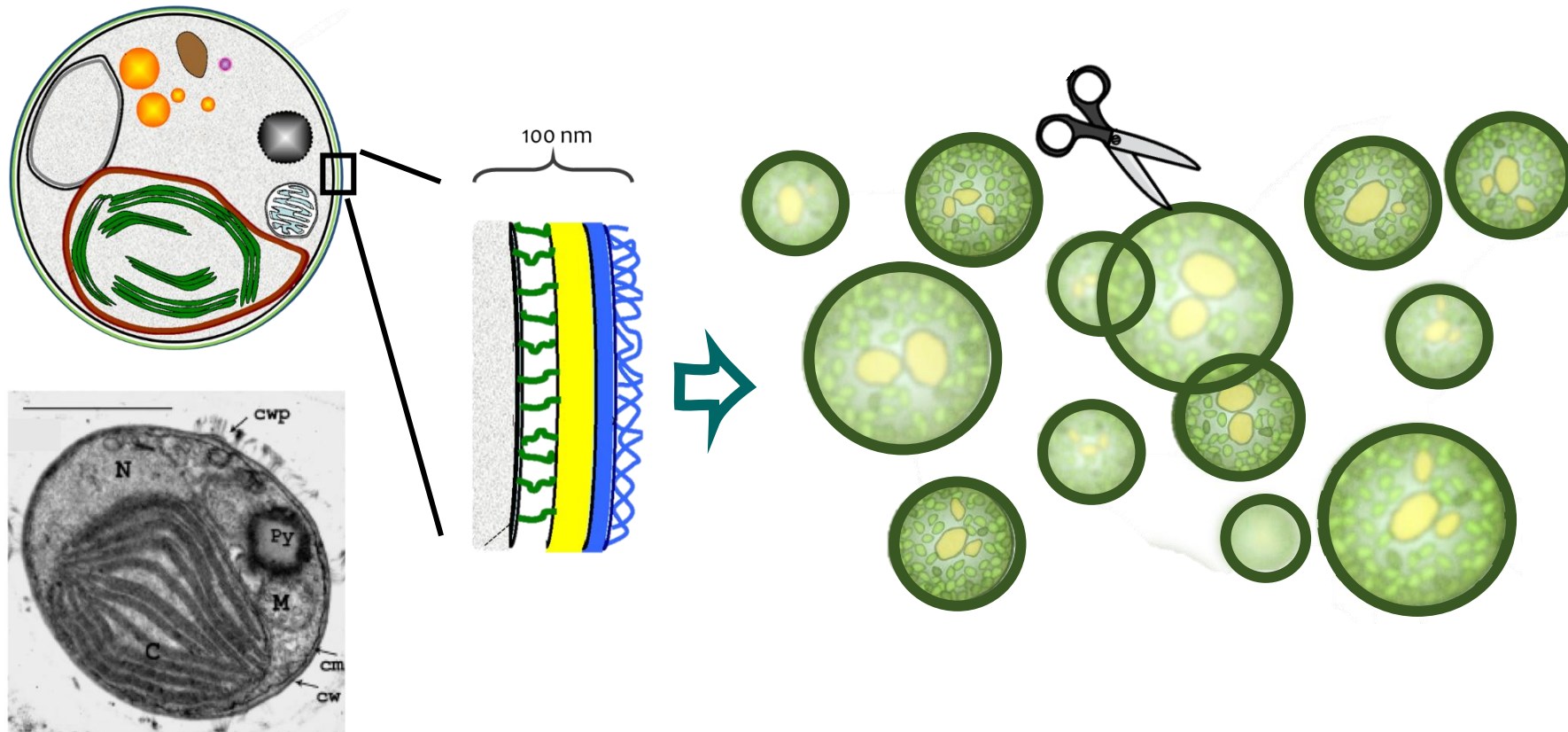
En los ensayos *in vitro* se evidencia que las enzimas digestivas de dorada **no producen** una rotura marcada de la pared celular en las microalgas crudas



Retos y Limitaciones

¿LAS ENZIMAS DE LOS PECES PUEDEN DIGERIRLAS?

¿Un tratamiento previo a la biomasa sería una **ESTRATEGIA INTERESANTE** para solventar esta limitación?





Retos y Limitaciones

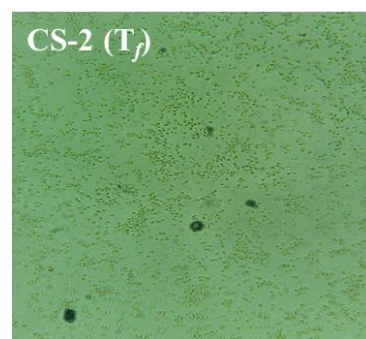
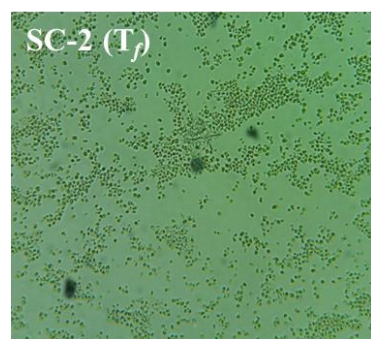
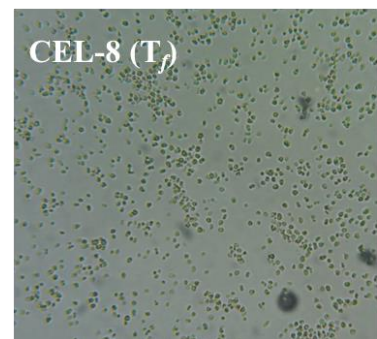
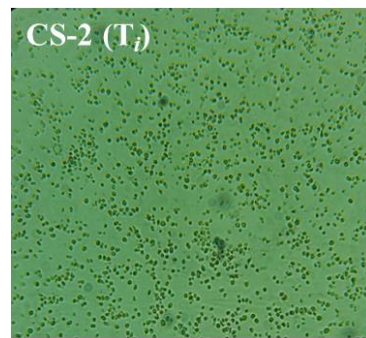
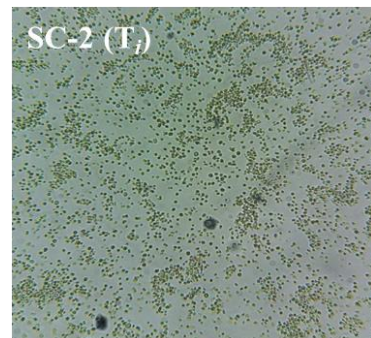
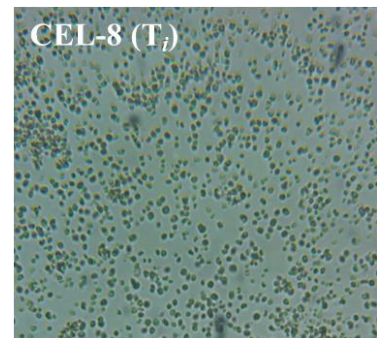
¿LAS ENZIMAS DE LOS PECES PUEDEN DIGERIRLAS?

Un **tratamiento previo** a la biomasa **incrementa** la biodisponibilidad de nutrientes.

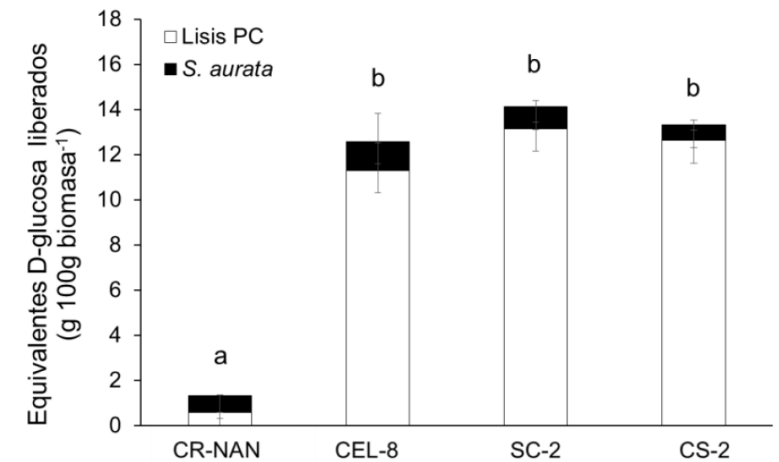
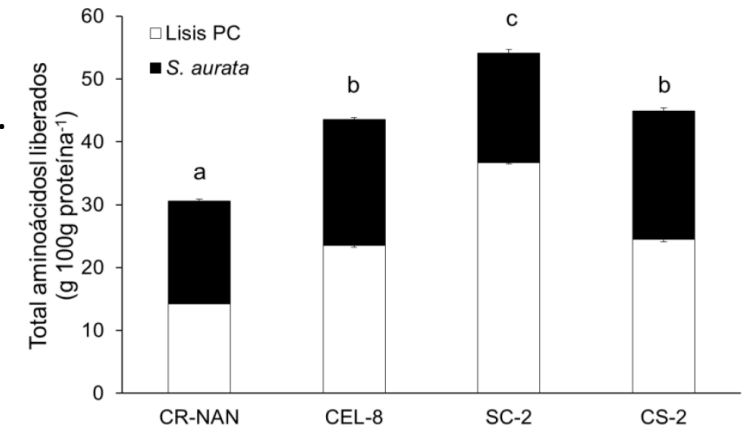
Tto. enzimas

Tto. físico + Tto. enzimas

Tto. enzimas + Tto. físico



0 min
↓
90 min





Aplicación práctica

Wet biomass



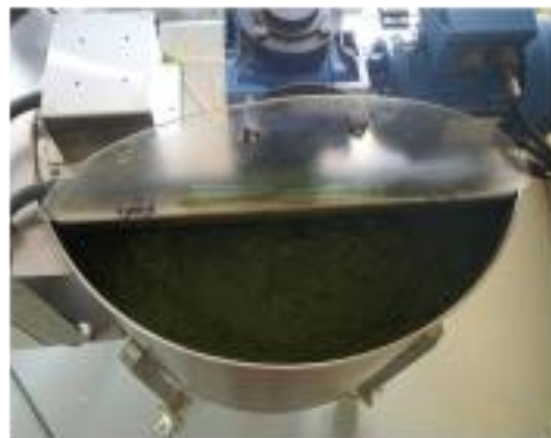
High pressure homogenization



Transfer into the reactor



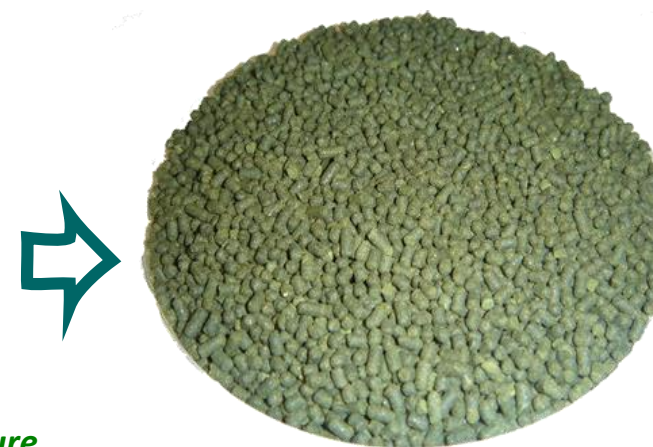
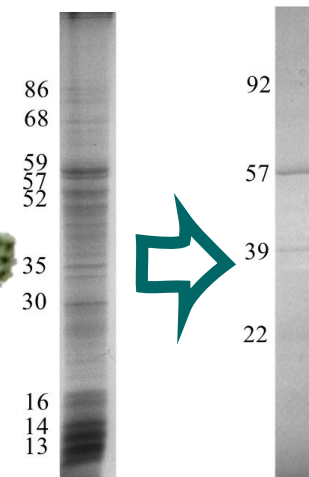
(45°C, pH:5)



Addition of the commercial enzymatic mixture



200L reactor

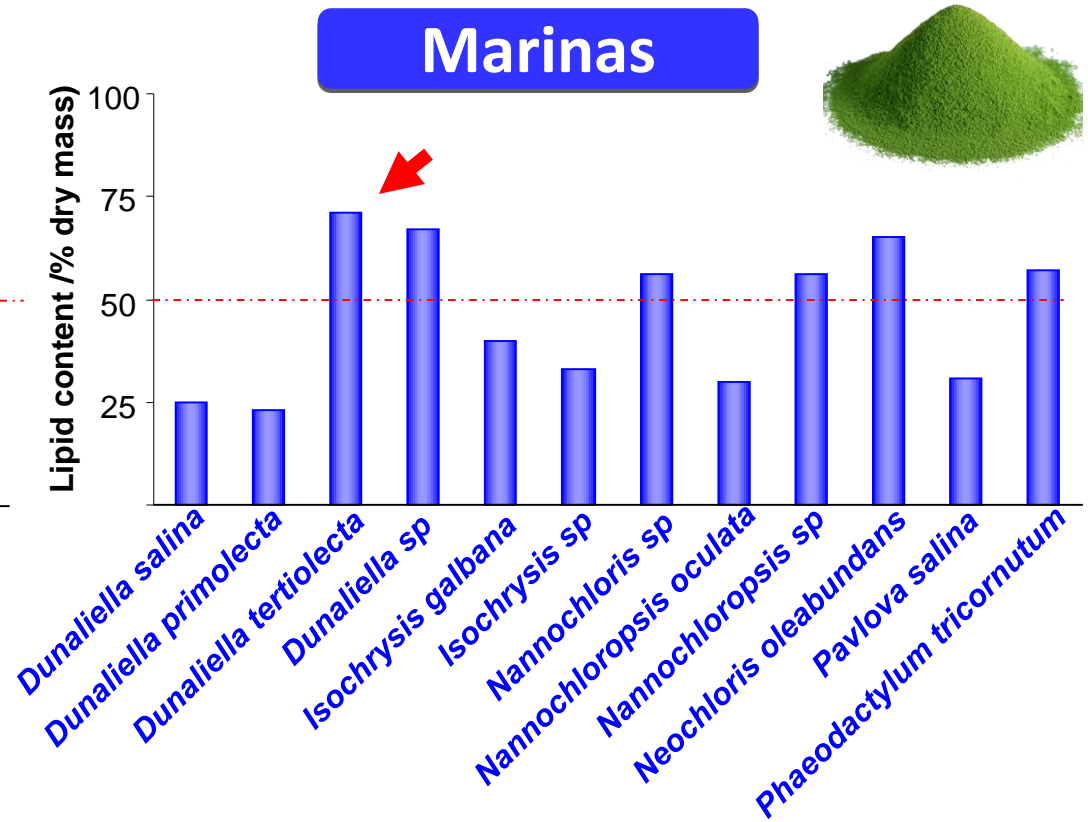
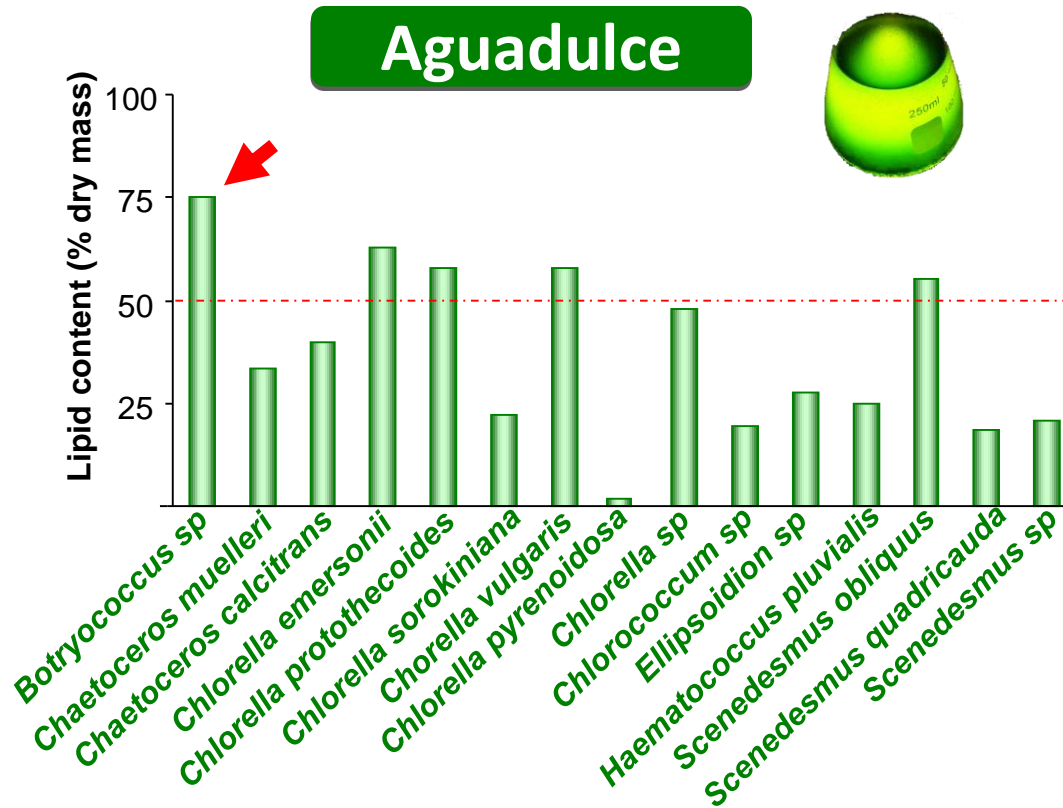




CONTENIDO LIPÍDICO

Interés

El contenido lipídico oscila entre el 2 y el 50% del peso seco de la biomasa algal



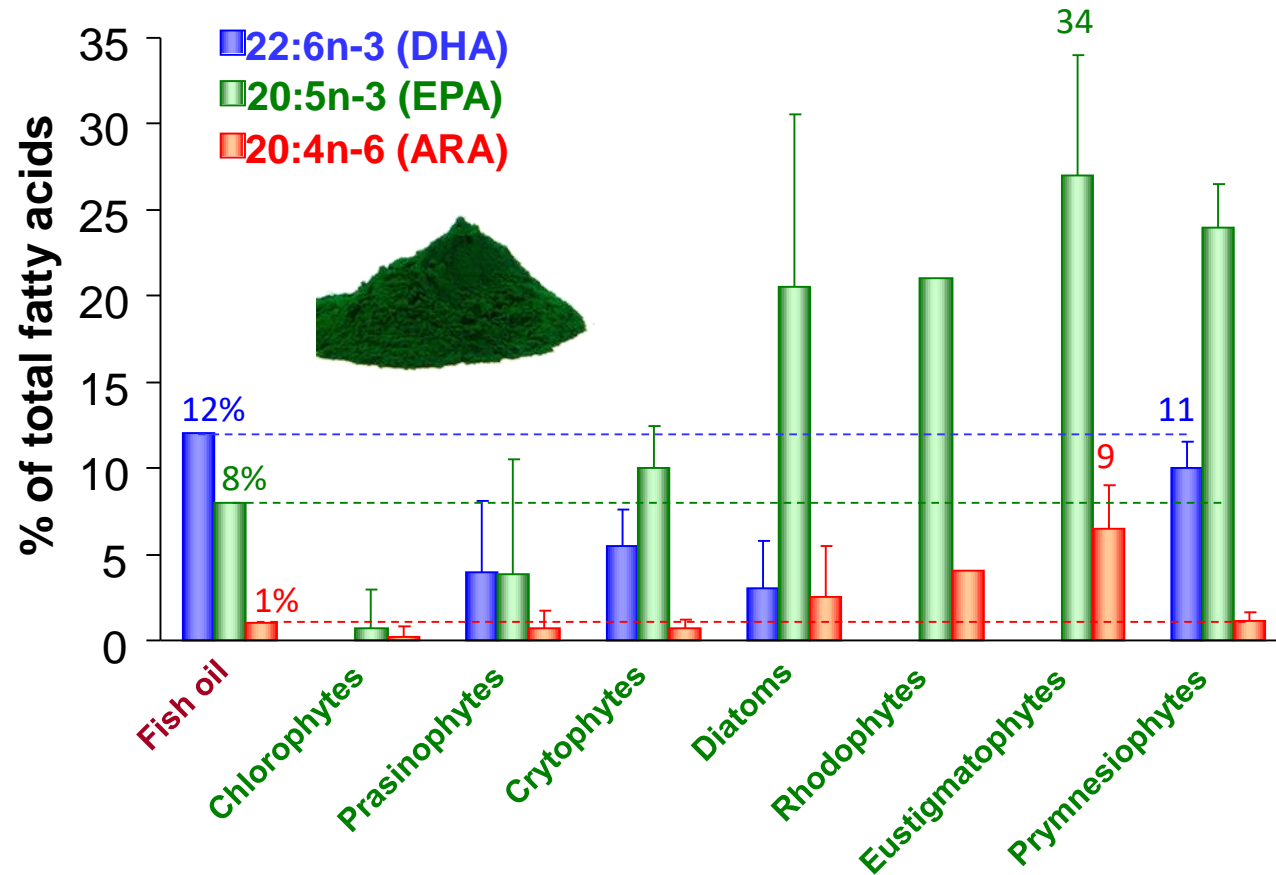
Valores más altos descritos en distintas especies de algas (Amaro *et al.*, 2010)



PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

Interés

Los lípidos de las algas son ricos en n-3, y pueden utilizarse como alternativa al aceite de pescado



Aceite de pescado

- 12% DHA,
- 8% EPA, y
- 1% ARA



Microalgas

- EPA hasta 34%,
- DHA, hasta 11%,
- ARA hasta 9%, y
- Linoleico y linolénico



Presencia de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en las especies de origen marino

El uso de una sola cepa es insuficiente para obtener un "aceite alternativo" libre de derivados de pesquerías



Aplicación práctica

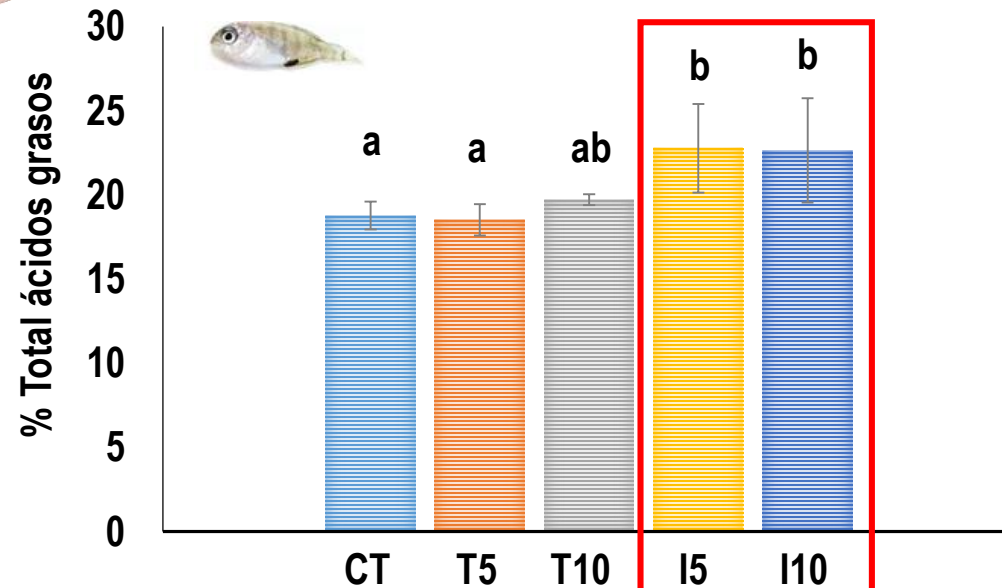
¿SE MODIFICA LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MÚSCULO?

CAMBIOS CUANTITATIVOS

	Proteína	Lípidos	Cenizas
Control	73,67 ± 4,15	17,20 ± 4,47	8,93 ± 0,23
SC25	72,82 ± 3,64	17,74 ± 4,16	9,09 ± 0,43
SC37	74,96 ± 1,11	15,52 ± 1,28	9,37 ± 0,49
SC50	72,94 ± 5,22	17,60 ± 5,90	9,11 ± 0,68
SC75	74,42 ± 5,39	15,90 ± 5,84	9,36 ± 0,50



CAMBIOS CUALITATIVOS



Si que se ha observado en otros experimentos una **reducción en el contenido de lípidos a nivel hepático y muscular** que apunta a que el uso de las algas favorece un mejor aprovechamiento metabólico de la fracción lipídica del pienso.

Vizcaíno et al. (2014)

La inclusión *I. galbana* **incrementa** el contenido en **DHA** en los tejidos del pez.

Vizcaíno et al. (2016)



CONTENIDO GLUCÍDICO

Interés

El contenido en carbohidratos oscila entre un 5 y un 35%

La composición de los polisacáridos varía notablemente entre especies

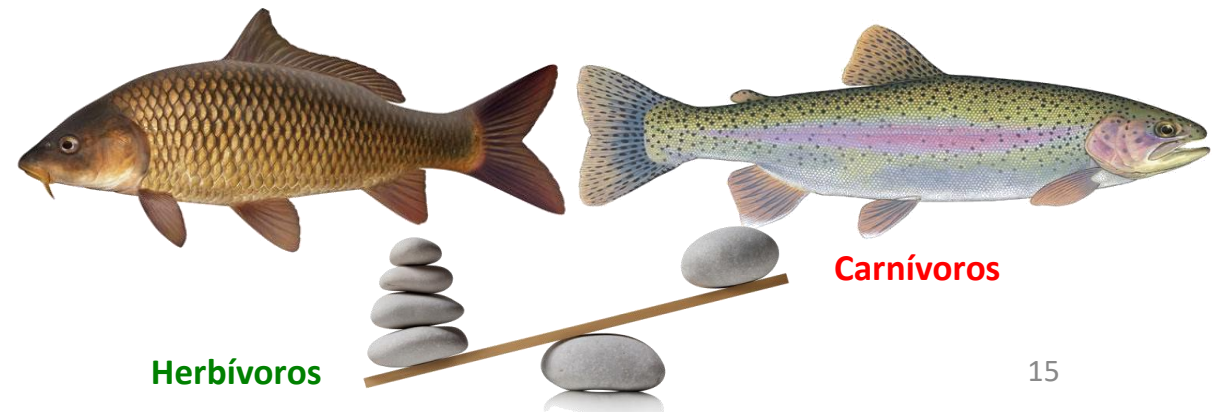
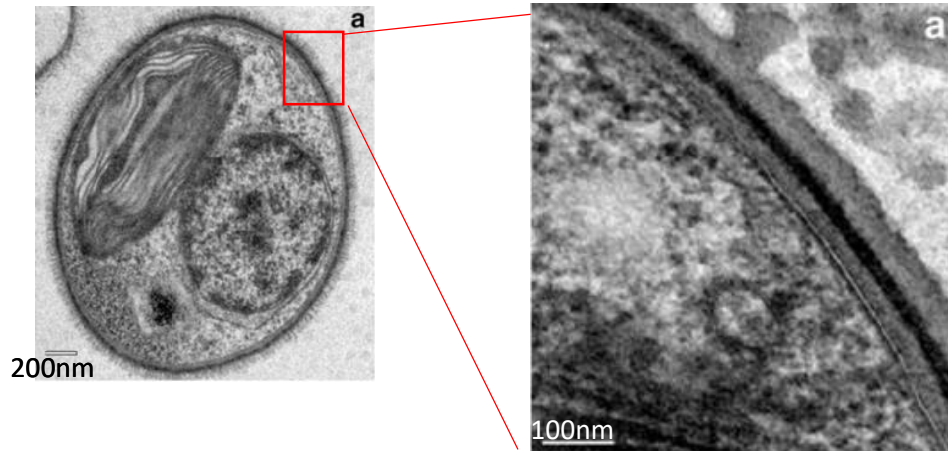
Glucosa, galactosa, manosa, fucosa, xilosa, ácido glucurónico, además de otros, y en diferentes proporciones

PARED CELULAR

La eficiencia de los peces para digerir la pared celular depende:

Es una **barrera protectora** que reduce la biodisponibilidad de los nutrientes intracelulares

- Composición de monosacáridos
- Como se unen entre sí los distintos monosacáridos
- Si el pez posee, o no las enzimas adecuadas para hidrolizarlos





Aplicación práctica

PIGMENTOS

EXTRACTO DE CAROTENOIDES DE *N. gaditana*

Carotenoide	mg kg ⁻¹
Neoxanthin	754.97
Violaxanthin	2137.29
Anteroxanthin	417.51
Vaucheroxanthin	78.81
Zeaxanthin	58.32
Vaucheroxanthin ester	13.47
Cantaxanthin	14.09
β-carotene	925.51
Total	4399.97

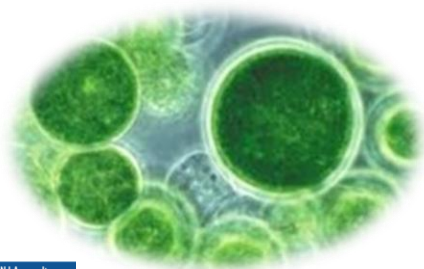


2% de inclusión del extracto de carotenoides en el pienso

Carotenoide	mg kg ⁻¹		mg kg ⁻¹
Neoxanthin	0.22	→	66.76
Violaxanthin	0.17	→	257.59
Anteroxanthin	0.04	→	40.36
Vaucheroxanthin	0.00	→	8.25
Zeaxanthin	0.81	→	9.39
Vaucheroxanthin ester	0.12	→	0.66
Cantaxanthin	0.00	→	2.07
β-carotene	0.21	→	277.63
Total	1.57	→	662.72

Sales et al. (2021)

Aprox. 400 X



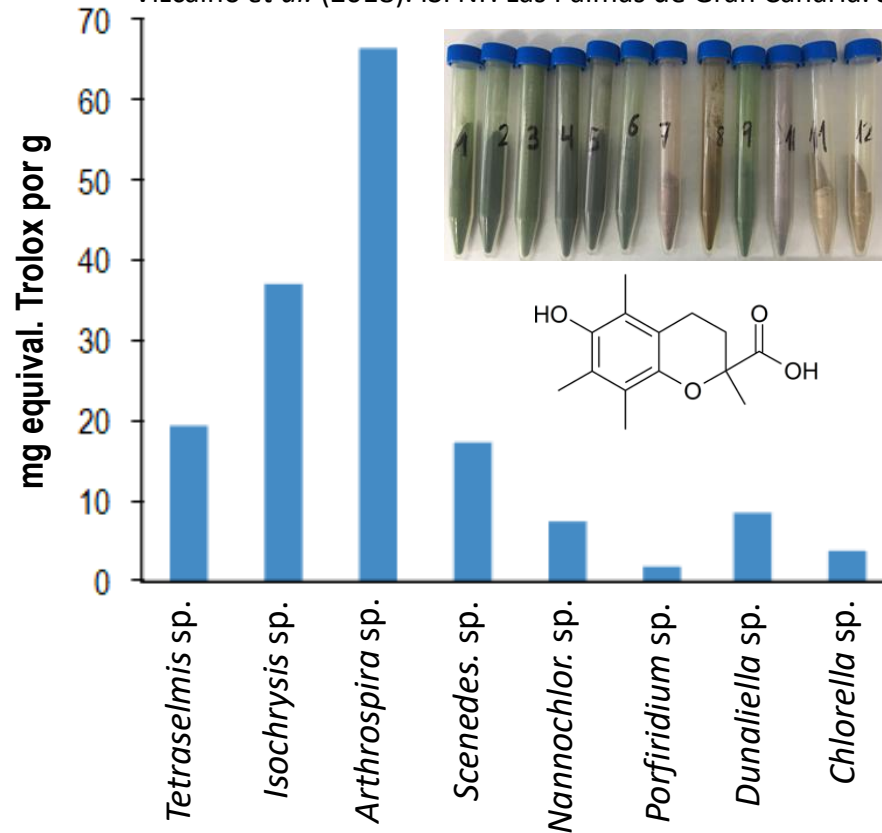


Interés

Capacidad antioxidante

Antioxidant Inhibition of Oxygen Radicals (AIOR) methods

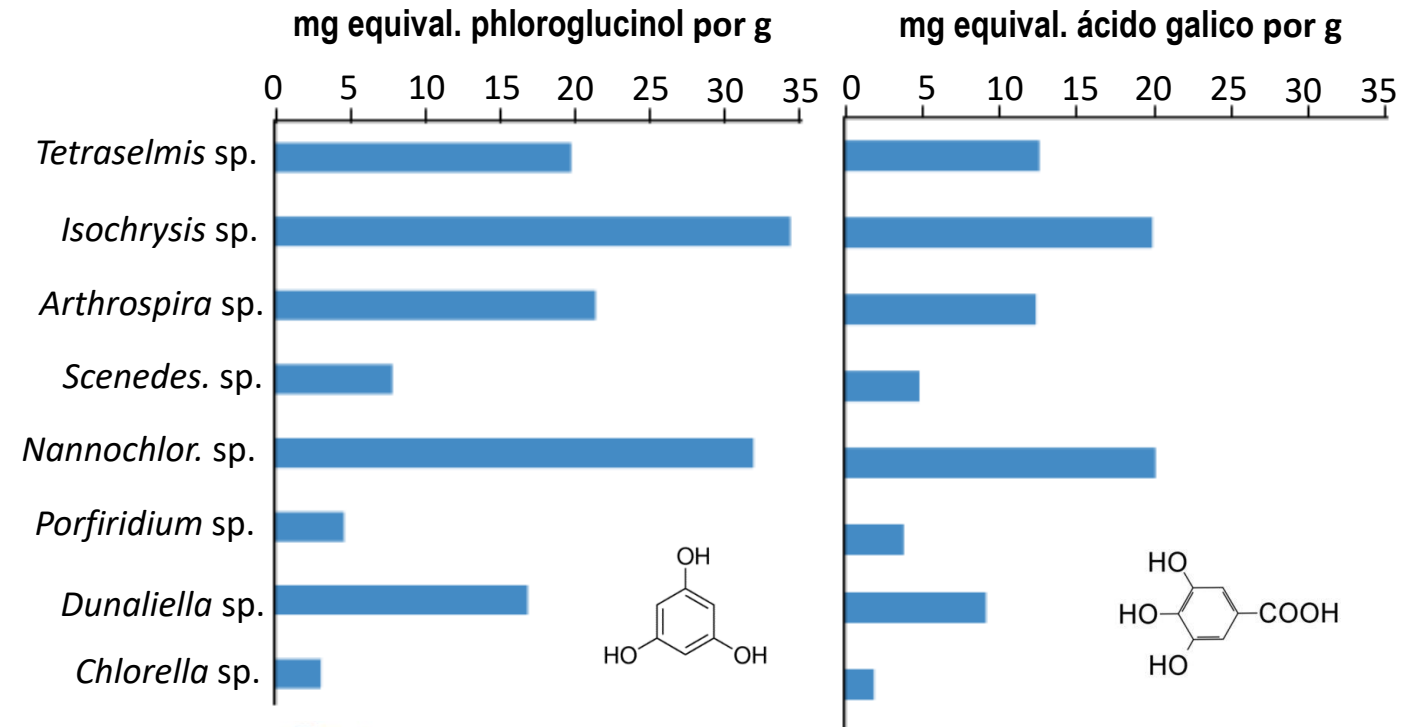
Vizcaíno *et al.* (2018). ISFNF. Las Palmas de Gran Canaria. Spain



OTROS COMPUESTOS BIOACTIVOS

Compuestos polifenólicos

Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols



23 mg equivalent Trolox per 100 g fresh fruit
18 mg equivalent gallic acid per g fresh fruit

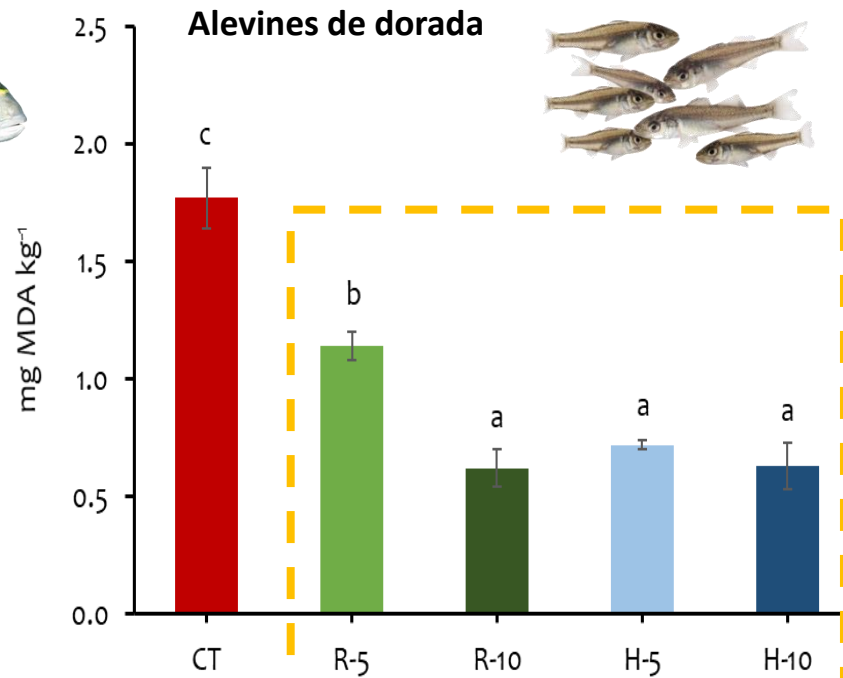
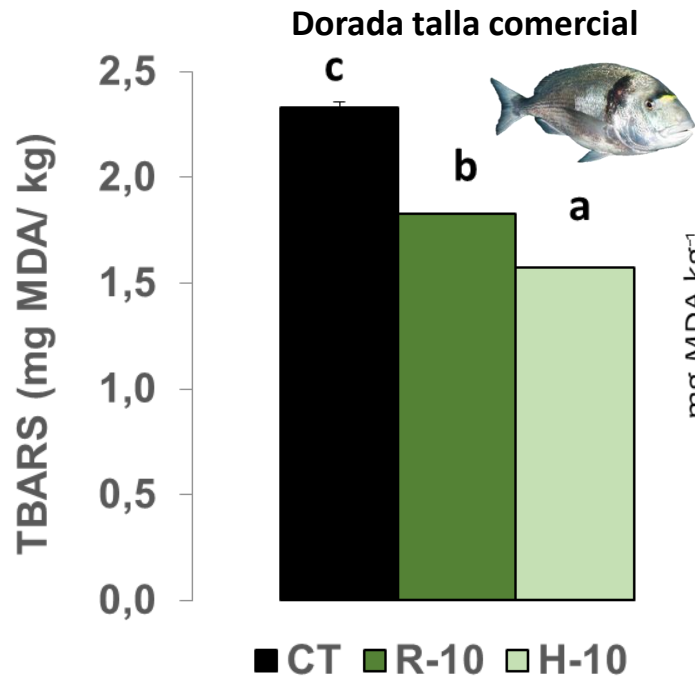
Aldaba *et al.* (2016) Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos 423-428



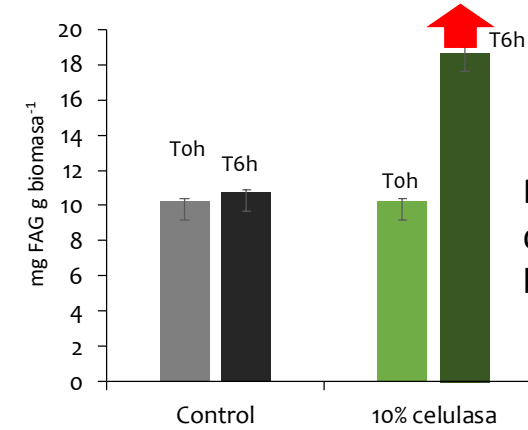
Aplicación práctica

¿EJERCEN EFECTOS FUNCIONALES SOBRE LOS ANIMALES?

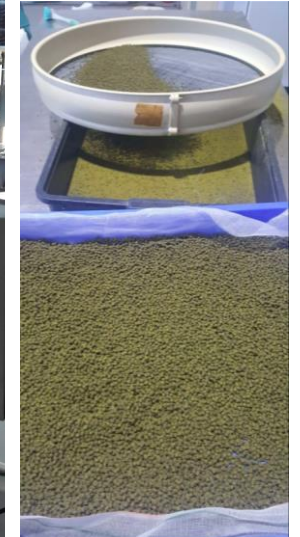
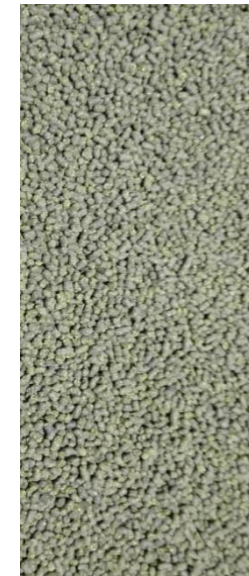
ESTADO OXIDATIVO DE LOS LÍPIDOS TISULARES



Martínez *et al.* (2022)



Mayor biodisponibilidad de antioxidantes en la biomasa hidrolizada.



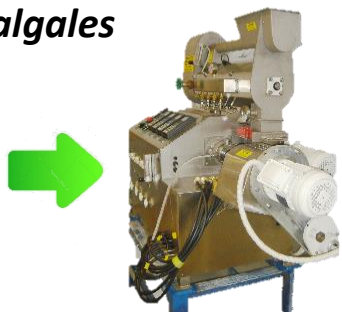


Aplicación práctica

- Crecimiento y utilización de nutrientes
- Composición química de los peces
- Funcionalidad digestiva
- Calidad del pescado

RESPUESTA BIOLÓGICA DE LOS PECES

Algas y productos algales

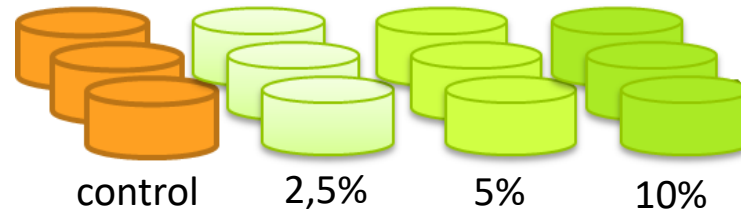


Piensos experimentales



Control diet (CT)

Microalgal diets



Piensos de primera edad y preengorde

Fase de engorde



dorada



lenguado



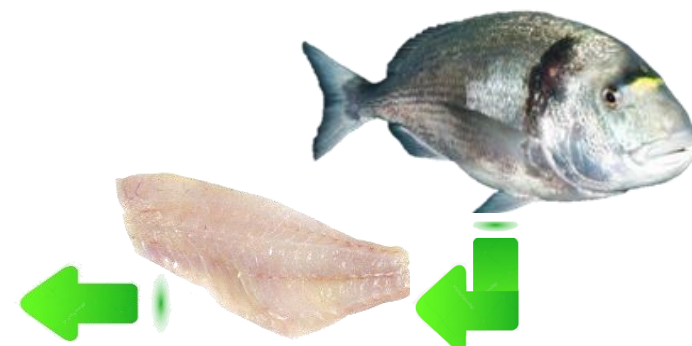
rodaballo



esturión



CALIDAD DEL PESCADO PARA CONSUMO HUMANO



Almacenamiento de los filetes en refrigeración



Microalgas: ingredientes nutricionales y funcionales

Aplicación práctica

Fish Physiol Biochem (2018) 44:661–677
<https://doi.org/10.1007/s10954-018-0462-8>



J. Appl. Physiol. (2011) 112:2028–2035
[DOI: 10.1152/jap.00464.2011](https://doi.org/10.1152/jap.00464.2011)



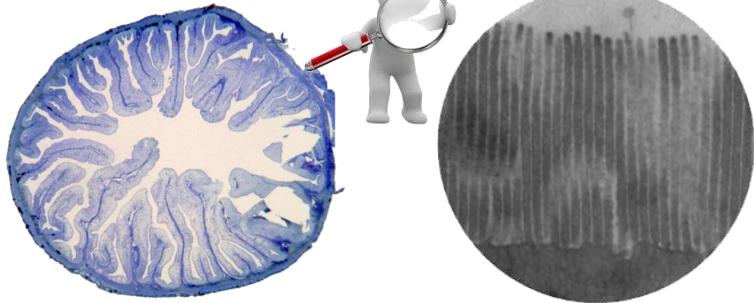
Growth performance, body composition, and digestive functionality of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles fed diets including microalgae freeze-dried biomass

A. J. Vizcaino · A. Rodiles · G. López · M. I. Sáez · M. Herrera · I. Hachero · T. F. Martínez · M. C. Cerón-García · F. Javier Alarcón



Effects of the microalga *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles

A.J. Vizcaino¹, G. López², M.I. Sáez¹, J.A. Jiménez², A. Barros¹, L. Hidalgo¹, J. Camacho-Rodríguez³, T.F. Martínez¹, M.C. Cerón-García³, F.J. Alarcón^{1,4*}



Tetraselmis suecica and *Tisoehrysis lutea* meal as dietary ingredients for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fry

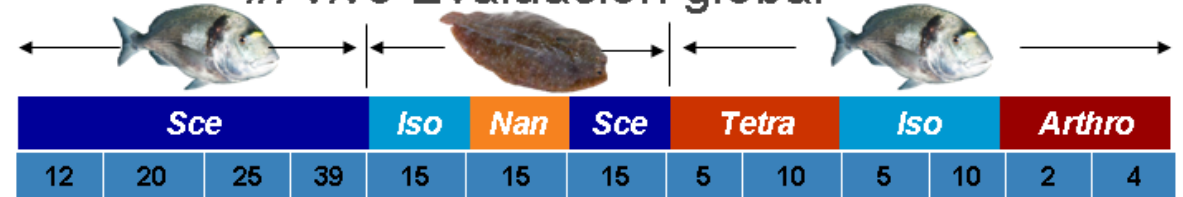
A. J. Vizcaino¹, M. I. Sáez¹, G. López², M. A. Ramos², E. Abellán², T. F. Martínez¹, M. C. Cerón-García³, F. J. Alarcón¹

Positive effect
 Neutral effect
 Negative effect

Jornada Final Proyecto IMMUNO&ALGAE



in vivo Evaluación global



Parameter	Treatments												
	Scce				Iso	Nan	Scce	Tetra		Iso		Arthro	
	12	20	25	39	15	15	15	5	10	5	10	2	4
FISH GROWTH	Final fish weight												
	SGR												
	FCR												
	PER												
COMPOSITION	Protein												
	Lipids												
	PUFA												
DIGESTIVE ENZYMES	Alkaline protease												
	Trypsin												
	Chymotrypsin												
	Amylase												
	L-aminopeptidase												
	Alkaline phosphatase												
INTESTINAL MUCOSE	Villi length												
	Microvilli length												
	Microvilli diameter												
	Enterocyte apical area												
	Total absorptive area												

Interés

Retos y Limitaciones

Aplicación práctica



Aplicación práctica

¿INFLUYEN EN LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL?

Pigmentación del pescado

Solea senegalensis
5% *Ulva ohnoi*



El uso de algas **modula** la pigmentación de la piel del pescado.

Saéz et al. (2019)



Ideas para retener de la charla



Sustituir harina de pescado

Sustituir aceite de pescado

Aditivo

Los efectos son:

- Dosis-dependientes
- Especie-específicos
- No se puede generalizar
- Investigar cada caso particular

Potencial interés de las algas para piensos acuícolas

- Mejorar** el crecimiento, la utilización del alimento, y la supervivencia
- Incrementar** el metabolismo lipídico
- Proporcionar** compuestos antioxidantes
- Mejorar** la composición química y la calidad del filete
- Modular** la pigmentación del filete y de la piel del pescado
- Mejorar** la integridad de la mucosa intestinal
- Incrementar** los niveles de actividad de algunas enzimas digestivas
- Actuar** como moduladores de la respuesta inmune,
- Mejorar** la resistencia al estrés, y la resistencia frente a patógenos

Colaboradores

Grupo de Biotecnología de Microalgas Marinas de la Universidad de Almería

Grupo de Fotobiología y Biotecnología de Organismos Acuáticos de la Universidad de Málaga

Grupo de Fisiología y Patología en Acuicultura de la Universidad de Cádiz

Instituto Español de Oceanografía (Centros de Mazarrón, Santander y Gijón)

Institutos IFAPA el Toruño y Agua del Pino (Cádiz y Huelva)

Servicio de Dietas Experimentales de la Universidad de Almería

LifeBioencapsulation SL Spin-off de la Universidad de Almería



Unidad de Dietas Experimentales
Servicios Centrales de Investigación



Proyectos



AGR-5334 y AGR-1842

RTA2014-00023-C02

GRACIAS POR SU ATENCIÓN





PROYECTO
IMMUNO&ALGAE

Jornada Final Proyecto IMMUNO&ALGAE: Las algas como fuente de compuestos con actividad inmunoestimulante en peces

Potencial de las microalgas como ingredientes nutricionales y funcionales en piensos de acuicultura

Francisco Javier Alarcón López

falarcon@ual.es



UNIVERSIDAD
DE ALMERÍA



Puerto de Santa María, 21 de abril de 2022

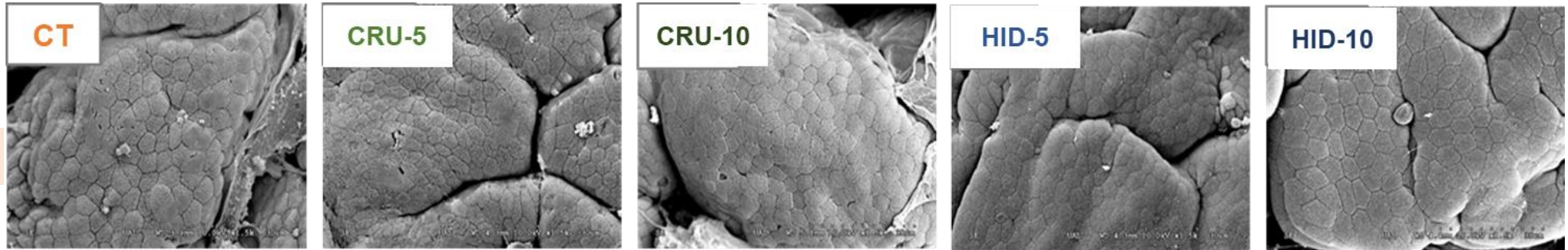


Aplicación práctica

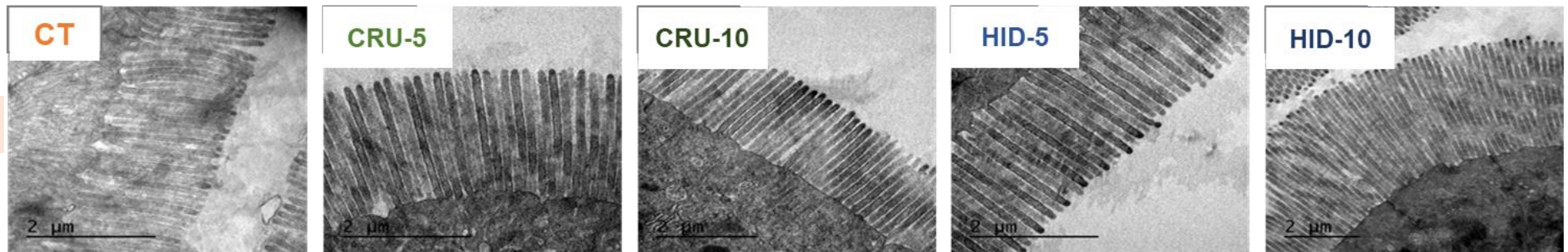
¿INFLUYEN EN LA SALUD Y FUNCIONALIDAD INTESTINAL?

2. ANÁLISIS ULTRAESTRUCTURAL

SEM



TEM





Aplicación práctica

¿INFLUYEN EN LA SALUD Y FUNCIONALIDAD INTESTINAL?



2. ANÁLISIS ULTRAESTRUCTURAL

	CT	CRU-5	CRU-10	HID-5	HID-10	p
ML (µm)	1,84 ± 0,16 ^a	2,06 ± 0,13 ^b	1,88 ± 0,19 ^a	2,09 ± 0,13 ^b	2,89 ± 0,43 ^c	<0,0001
MD (µm)	0.12 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,01 ^c	0,14 ± 0,01 ^c	0,15 ± 0,01 ^d	0,13 ± 0,01 ^b	<0,0001
EA (µm ²)	27,04 ± 3,21 ^b	22,56 ± 3,70 ^a	22,65 ± 3,64 ^a	22,92 ± 3,39 ^a	29,84 ± 2,94 ^c	<0,0001
TAS (µm ²)	1012,01 ± 157,51 ^a	1089,77 ± 194,24 ^a	1021,84 ± 148,08 ^a	1079,58 ± 158,57 ^a	1930,06 ± 311,07 ^b	<0,0001

ML: longitud microvellosidades; MD: diámetro microvellosidades; EA: área apical de los enterocitos; TAS: superficie total de absorción del enterocito.

Incremento significativo de la longitud y el diámetro de las microvellosidades respecto al grupo CT.

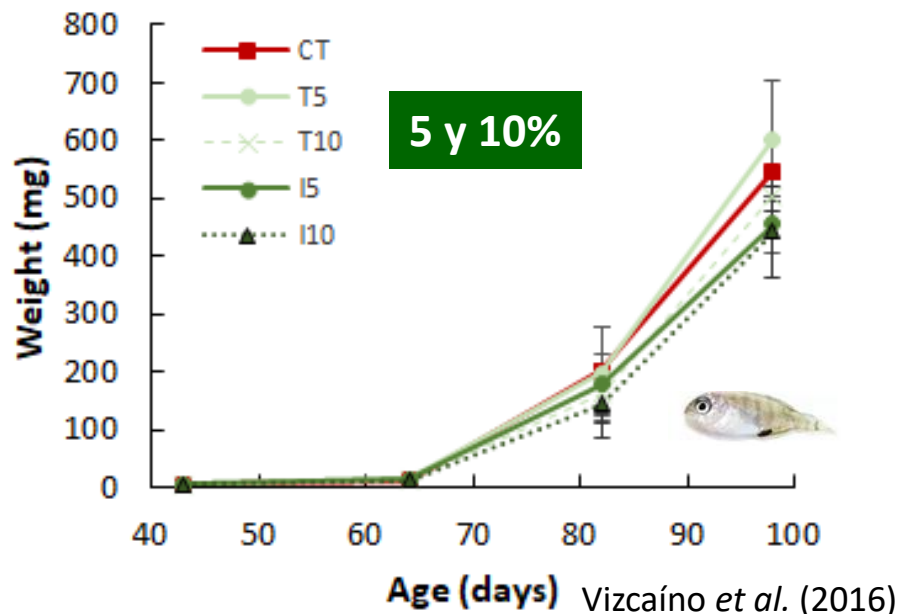
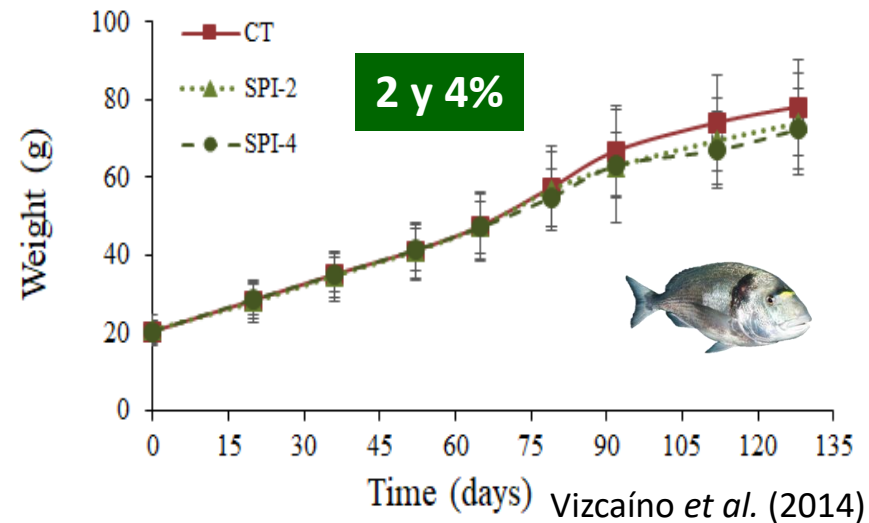
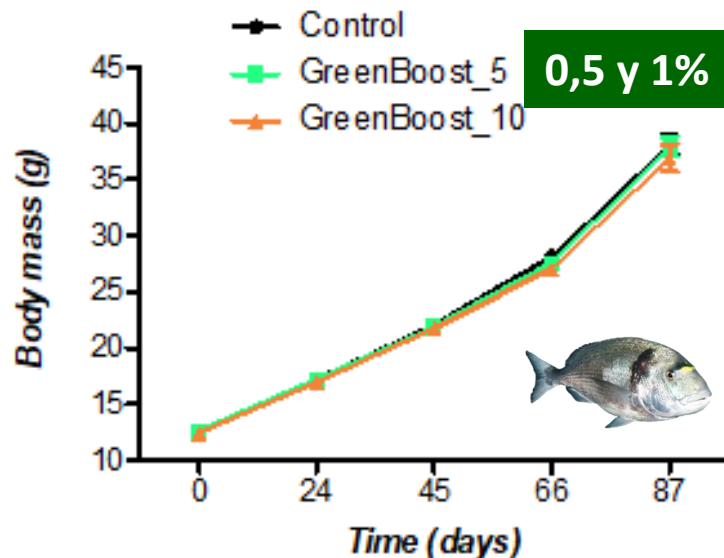
Incremento significativo del área apical de los enterocitos y de la superficie de absorción intestinal en peces alimentados con microalgas hidrolizadas



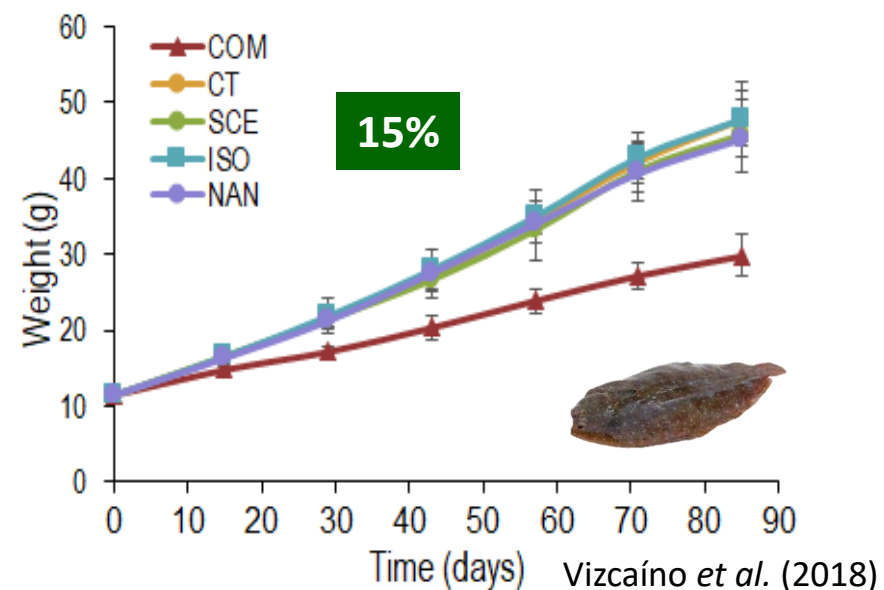
Aplicación práctica

¿CÓMO CRECEN?

Crecimientos similares o ligeramente más bajos con niveles de inclusión comprendidos entre 0,5 y 15%.



Perera et al. (2020)

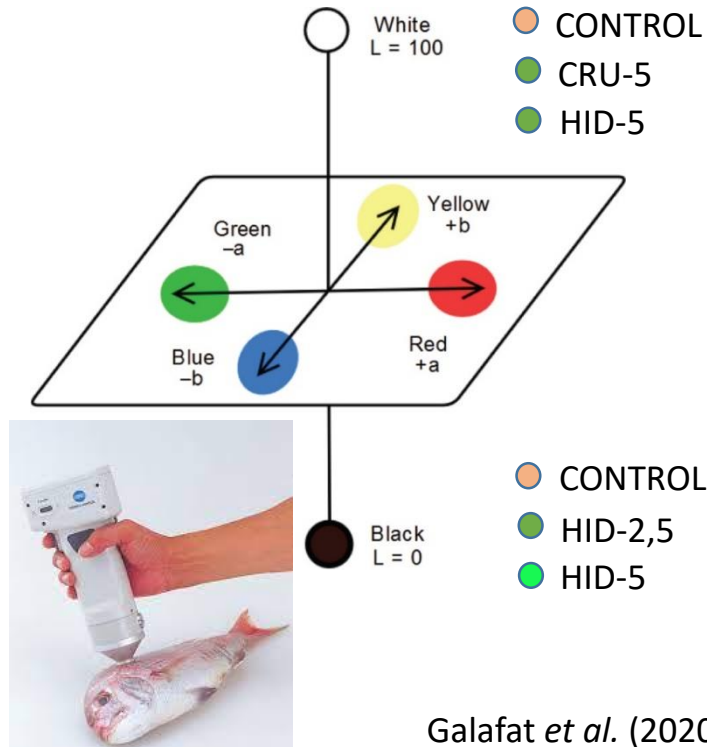




Aplicación práctica

¿INFLUYEN EN LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL?

Pigmentación del pescado



El uso de algas **modula** la pigmentación de la piel del pescado.

