

## Contenido de carotenoides en *Ulva lactuca* cultivada bajo condiciones de acuicultura y recolectada de lechos intermareales en el sureste de Brasil: implicaciones biotecnológicas para el uso y almacenamiento de biomasa

Alejandra Irina Eismann<sup>1</sup>, Renata Perpetuo Reis<sup>2</sup>, Johana Marcela Concha Obando<sup>1,3\*</sup>, Thalísia Cunha dos Santos<sup>3</sup>, Diana Negrão Cavalcanti<sup>1,3</sup>

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historial del artículo:

Recibido 31 de enero de 2024

Aceptado 01 de julio de 2024

Publicado 13 de agosto de 2024

#### READ IN ENGLISH:

<https://doi.org/10.7773/cm.v2024.3461>

#### AUTOR DE CORRESPONDENCIA

\* E-mail: mc1226@gmail.com

<sup>1</sup> Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, 24210-201 Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>2</sup> Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico de Rio de Janeiro, 22460-030 Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>3</sup> Laboratório de Produtos Naturais de Algas Marinhas (ALGAMAR), Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, 24210-201 Rio de Janeiro, Brasil.

**RESUMEN.** *Ulva lactuca* es una macroalga verde comestible (Chlorophyta) que puede ser producida en sistemas de cultivo, la cual es una fuente natural de moléculas de gran valor. *Ulva lactuca* produce metabolitos, incluyendo carotenoides, que son pigmentos con propiedades antioxidantes muy demandados en las industrias de salud y nutracéuticas, que mejoran la calidad nutricional de *U. lactuca*. Estudiamos el contenido de carotenoides y clorofilas en talos de *U. lactuca* recolectados en 3 ambientes del estado de Río de Janeiro, Brasil: en lechos intermareales de las playas urbanas Arpoador y Boa Viagem y en una instalación continental de acuicultura multitrofica integrada (AMTI). La conservación de los carotenoides se evaluó durante 1, 2 y 4 semanas de almacenamiento. Comparamos pigmentos de *U. lactuca* fresca recolectada en la temporada seca (julio de 2018) y en la de lluvias (febrero de 2019). Los contenidos de carotenoides, como  $\beta$ -caroteno + zeaxantina, luteína + anteraxantina, violaxantina, neoxantina y sus derivados (aurocromo y auroxantina), fueron analizados en extractos de acetona 100% mediante espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/vis) y monitoreados mediante cromatografía en capa fina (CCF) y resonancia magnética nuclear de protón (RMN-<sup>1</sup>H). Los extractos de *U. lactuca* seca proveniente del AMTI presentaron mayores rendimientos de pigmentos que la biomasa seca de los lechos intermareales. Durante las 4 semanas de almacenamiento, los carotenoides fueron conservados en la *U. lactuca* proveniente del AMTI; la biomasa de *U. lactuca* de lechos intermareales mostró pérdidas de carotenoides. Observamos diferencias en el contenido de carotenoides entre la temporada seca y la de lluvias en la *U. lactuca* de la playa de Boa Viagem. Sin embargo, la *U. lactuca* de la playa de Arpoador o la instalación AMTI exhibió diferencias significativas solo en el contenido de clorofila. Concluimos que la *U. lactuca* proveniente del AMTI constituye una fuente potencial de pigmentos como  $\beta$ -caroteno, luteína y violaxantina.

**Palabras clave:** acuicultura, alga verde, alga *Ulva*, antioxidante, aplicación comercial, carotenoides, conservación a corto plazo.

## INTRODUCCIÓN

Las macroalgas marinas tienen una notable importancia económica, sirviendo como alimentos básicos en la dieta humana, sustratos en la producción de biocombustibles, bioestimulantes en la agricultura y reservorios de metabolitos de alto valor (Santos et al. 2023a, 2023b, 2024). Las macroalgas verdes del género *Ulva* (Chlorophyta), descritas formalmente por Linneo en 1753, abarcan una variedad de algas

comestibles pertenecientes a la familia Ulvaceae. Entre las especies más reconocidas se encuentran las lechugas de mar, que están ampliamente distribuidas a lo largo de las costas y se observan comúnmente en las costas rocosas intermareales de áreas urbanas. Las especies de *Ulva* exhiben ciclos de vida cortos caracterizados por una alta biomasa seguida de pérdidas en la densidad de la biomasa (Calheiros et al. 2021).

Las especies de *Ulva* muestran altas tasas de crecimiento y una amplia tolerancia a factores abióticos (Osuna-Ruiz et

Acceso abierto

En línea ISSN: 2395-9053

Verificado con Similarity Check impulsado por iThenticate

<https://doi.org/10.7773/cm.v2024.3461>



Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), que permite compartir y adaptar el trabajo, siempre y cuando se dé el crédito apropiado a los autores originales y la fuente, proporcione un enlace a la licencia Creative Commons e indique si se realizaron cambios. Las figuras, tablas y otros elementos del artículo están incluidos en la licencia CC BY 4.0 del artículo, a menos que se indique lo contrario. Debe solicitar permiso al titular de los derechos de autor para utilizar material no cubierto por esta licencia. El título de la revista está protegido por derechos de autor propiedad de la Universidad Autónoma de Baja California, y el título y el logotipo de la revista no están sujetos a esta licencia.

al. 2019), lo que les permite desempeñarse de manera óptima en monocultivos, cultivos *in vitro* y acuicultura multitrófica integrada (AMTI) (Obando et al. 2022, Pitta et al. 2022). En el AMTI, las especies de *Ulva* son utilizadas como biofiltros para asimilar los nutrientes disueltos (C, N y P) de los efluentes de peces y mariscos, reduciendo en consecuencia los costos de tratamiento del agua y asegurando la producción de productos de alto valor (Silva et al. 2015, Nardelli et al. 2019, Oliveira Soares et al. 2022).

Considerando el potencial para la producción acuícola de biomasa de *Ulva* y la búsqueda del desarrollo de aplicaciones biotecnológicas innovadoras para potenciar el valor económico de estas especies, varios estudios han enfatizado que las especies de *Ulva* son fuentes naturales de metabolitos de alto valor, incluyendo a los carotenoides (El-Baky et al. 2008, 2009; Chakraborty y Paulraj 2010; Eismann et al. 2020). Las especies más abundantes observadas en el estado de Río de Janeiro, Brasil, son las foliáceas *Ulva fasciata* Delile, *Ulva lactuca* Linnaeus (lechuga de mar) y la tubular *Ulva flexuosa* Wulfen (Calheiros et al. 2021, Carneiro et al. 2022). Recientemente, *U. fasciata* fue reconocida como una variante de *U. lactuca* (Guiry y Guiry 2024). Cabe destacar que, en la ciudad capital de Río de Janeiro, estas especies de *Ulva* se han cultivado en la instalación de AMTI y vendido como alimentos gastronómicos y funcionales (Reis et al. 2017, Derner 2018, Pitta et al. 2022). Recientemente, se ha analizado la calidad nutricional de las especies de *Ulva* producidas a través de sistemas de cultivo comercial, confirmando el potencial de estos sistemas para ser ambientalmente sostenibles y fuentes de ingresos rentables (Calheiros et al. 2021, Roleda et al. 2021, Pitta et al. 2022). Aunque la investigación sobre el contenido de carotenoides de las especies de *Ulva* ha avanzado en Brasil, destacando el potencial biotecnológico de estas macroalgas (Raymundo et al. 2004, Sousa et al. 2008, Melo et al. 2021), estudios adicionales son necesarios.

Los carotenoides son terpenoides con C40 y dobles enlaces conjugados que se utilizan comúnmente en alimentos como colorantes naturales, antioxidantes y suplementos nutricionales. En las industrias cosmética y farmacéutica, los carotenoides se han utilizado como nutracéuticos y antioxidantes (Irwandi et al. 2011, Gateau et al. 2017, Maoka 2020). Los carotenoides tienen propiedades fotosintéticas y fotoprotectoras, y su composición en las membranas tilacoides está vinculada a las clorofilas y otros factores que afectan la fotosíntesis (Demmig-Adams y Adams 1996, Demmig-Adams 1998, Esteban et al. 2015). Los carotenoides identificados en las especies de *Ulva* se sintetizan mediante la vía del metiletritol fosfato (MEP) a partir de unidades de isoprenilo en los cloroplastos (He et al. 2018). Cabe destacar que los siguientes son carotenoides comunes reportados en especies de *Ulva*:  $\beta$ -caroteno, luteína, violaxantina, anteraxantina, zeaxantina y neoxantina (El-Baky et al. 2009, Eismann et al. 2020).

La degradación de pigmentos, incluidos los carotenoides, se debe a reacciones de oxidación causadas por la exposición a factores oxidantes, como calor, luz, ácidos y oxígeno.

Las pérdidas de carotenoides en la biomasa almacenada seca han dificultado la comercialización de las especies de *Ulva* (Goldman et al. 1983, Woodall et al. 1997, Pérez-Gálvez y Mínguez-Mosquera 2001). La conservación de los carotenoides en la biomasa de macroalgas depende de diferentes factores y varía entre organismos; las microalgas y los vegetales pueden conservar carotenoides por periodos de tiempo que van de 10 días a 3 meses (Sugumaran et al. 2022). Por ejemplo, *Nannochloropsis salina* fue almacenada con éxito a 3 temperaturas (5 °C, 20 °C o 40 °C) hasta por 8 semanas (Safar et al. 2017), mientras que muestras de *Spinacia oleracea* L. fueron almacenadas en bolsas de polipropileno a 2 °C o 10 °C (Bergquist et al. 2006). Además, se han analizado los efectos del tiempo de almacenamiento (14 días o 35 días), las condiciones de almacenamiento (envasado al vacío o no envasado al vacío), la temperatura de almacenamiento (-20 °C, 4 °C o 20 °C) y el método de preservación (secado por aspersión o liofilización) en la estabilidad de los lípidos y carotenoides en la pasta fresca de la microalga *Phaeodactylum tricorutum* (Ryckebosch et al. 2011). Aunque los diferentes métodos de secado afectan los perfiles químicos de las especies de *Ulva* (Uribe et al. 2018), no se sabe cómo estos métodos afectan la conservación de los carotenoides.

Los estudios previos sobre las especies de *Ulva* han evaluado varios factores, como la sostenibilidad de las fuentes de biomasa, el almacenamiento y el rendimiento de carotenoides, y se han centrado en la demanda comercial en los sectores alimentario y farmacéutico. En este estudio, analizamos y comparamos los perfiles de carotenoides y clorofila de *U. lactuca* recolectada de sitios intermareales y cultivada en una instalación de AMTI. Nuestro trabajo mejora nuestra comprensión sobre los pigmentos y carotenoides de *U. lactuca* cultivada en condiciones de acuicultura controladas y recolectada de lechos intermareales naturales y sus respuestas a las condiciones de almacenamiento. *Ulva lactuca* cultivada en sistemas AMTI exhibió mayor contenido de carotenoides y mejor conservación de pigmentos que *U. lactuca* recolectada de los lechos intermareales, lo que respalda la conveniencia del uso de *U. lactuca* cultivada en AMTI en aplicaciones biotecnológicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de muestras

Los sitios de muestreo se localizaron en Río de Janeiro, sureste de Brasil. *Ulva lactuca* fue recolectada de lechos naturales en el sitio rocoso intermareal de la playa de Arpoador (22°59'23.399" S, 43°11'17.3024" W) y en las aguas estuarinas de la playa de Boa Viagem (22°54'33.79" S, 43°7'50.4288" W). Adicionalmente, *U. lactuca* fue recolectada del emprendimiento de AMTI *D'Alga Urban Aquaculture*. Las muestras de *U. lactuca* fueron recolectadas en estos lugares en el invierno austral seco (julio de 2018) y en el verano austral lluvioso (febrero de 2019).

Se recolectaron réplicas de muestras una vez por temporada. La recolección fue realizada en los días con mareas inferiores a 0.4. Todas las recolecciones se llevaron a cabo temprano en la mañana para evitar la degradación directa de los carotenoides por alta radiación lumínica (Cruces et al. 2019). *Ulva lactuca* producida en el AMTI fue cultivada con tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) en un sistema cerrado de recirculación de agua de mar (volumen total de 40,000 L) utilizando una mezcla de agua de mar artificial (80%) y natural (20%) de Cabo Frío, Río de Janeiro (22°52'20" S, 42°0'20" W).

Cultivamos los especímenes de algas en tanques interiores para algas (0.5 m<sup>2</sup> y 80 L) cubiertos con filtros ultravioleta (UV). La densidad inicial de algas fue ~3 g·L<sup>-1</sup>. Para monitorear la temperatura del agua cada hora, fueron utilizados registradores de datos (UA-002-08, HOBO Pendant, Onset, Bourne, EE. UU.). Para identificar la presencia de las especies de *Ulva*, fueron examinados 10 ejemplares de cada sitio de muestreo. Los ejemplares de cada especie fueron depositados en el Herbario del Jardín Botánico de Río de Janeiro. Para determinar la nomenclatura taxonómica e identificar especies, utilizamos la información de Guiry y Guiry (2024).

Después de la recolección, la biomasa de algas fue transportada al laboratorio en una caja de poliestireno con hielo para garantizar su adecuada preservación. Posteriormente las muestras fueron almacenadas a 4 °C hasta el día siguiente. Las muestras fueron enjuagadas cuidadosamente con agua del grifo para eliminar sedimentos adheridos y otras sustancias. El exceso de agua en los talos fue eliminado usando un secador de lechuga y, seguidamente, secada al aire ambiente con luz tenue durante 20 minutos. Luego, se pesaron 5 ± 0.01 g de talos en una balanza analítica y se almacenaron para análisis posteriores de conservación de carotenoides o se sometieron inmediatamente a la extracción de pigmentos.

### Experimentos de almacenamiento a corto plazo

Los talos de *U. lactuca* de la temporada seca fueron utilizados para analizar la conservación de carotenoides. Para este experimento, almacenamos 5 ± 0.01 g de talos frescos en sobres de papel (por triplicado) durante 1 semana, 2 semanas o 4 semanas. Los sobres con el contenido de biomasa de algas fueron almacenados en un lugar oscuro y ventilado del laboratorio a temperatura ambiente. Después de cada periodo de almacenamiento, toda la muestra dentro del sobre de papel se sometió a la extracción de pigmento.

### Extractos crudos de *Ulva lactuca* para la extracción de pigmentos

En su trabajo, Thayer y Björkman (1990) utilizaron 5 g de acetona en 5 mL para la extracción de material seco y fresco. El tiempo final de extracción fue de 0-24 h a 4 °C (Thayer y Björkman 1990). El extracto fue filtrado y evaporado en un rotavapor utilizando un baño térmico a 40 °C. Finalmente, las

muestras se llenaron con N<sub>2</sub> y se almacenaron a -20 °C, como se recomienda en Lashbroke et al. (2010) para la conservación de carotenoides en extractos vegetales.

### Espectrofotometría UV/vis

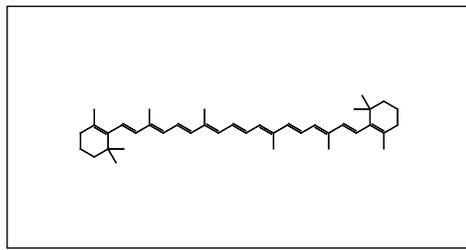
El método *Gauss-Peak Spectra* (GPS) (Kupper et al. 2007) fue utilizado para calcular el contenido de carotenoides y clorofilas en los extractos crudos. En términos específicos, fueron preparadas soluciones de extractos crudos en acetona en una proporción 1:1 (peso:volumen). Posteriormente, fueron adquiridos los espectros de absorción UV/vis entre 350 y 700 nm de las soluciones (intervalos de 1 nm) utilizando un espectrofotómetro digital UV/vis (Spectramax, Molecular Devices, San José, EE. UU.) integrado a un software de adquisición de datos. Las curvas de absorbancia se ajustaron entre 0.5 y 1 mL mediante dilución en acetona al 100%. Para obtener la concentración de carotenoides, clorofilas y sus productos de degradación en las soluciones, utilizamos las ecuaciones GPS programadas en Sigma Plot por Kupper et al. (2007). Cuantificamos el rendimiento de β-caroteno + zeaxantina, luteína + anteraxantina, violaxantina, neoxantina, el producto de isomerización del β-caroteno aurocromo, clorofila (Cl) *a*, Cl *b*, feofitina derivada (Phe) *a* y Phe *b* en soluciones al 100% de acetona (Kupper et al. 2007) (Fig. 1). Cabe destacar que las concentraciones individuales de pares de carotenoides no fueron separadas porque tenían espectros de absorción idénticos entre 350 y 700 nm. Finalmente, la concentración de carotenoides en el extracto ( $C_{extracto}$ ) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$C_{extracto} = C_{IGPS} \times dil \times P_{extracto}^{-1} ,$$

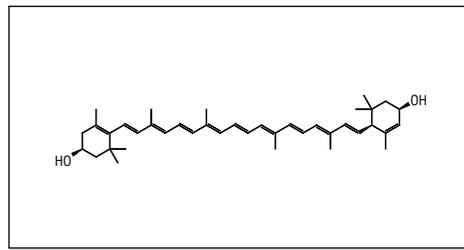
donde *dil* es el factor de dilución,  $P_{extracto}^{-1}$  es el peso del extracto y  $C_{IGPS}$  es la concentración de pigmento en el solvente calculada por el método GPS.

### Análisis químicos

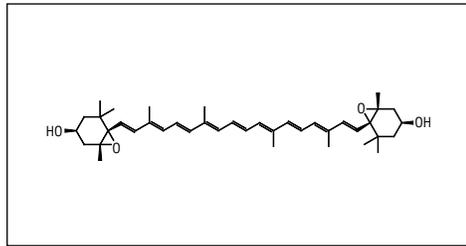
Se realizaron análisis de cromatografía en capa fina (CCF) para evaluar la conservación de carotenoides utilizando placas de gel de sílice (60 GF254, Merck, Rahway, EE.UU.) y un solvente de elución de n-hexano:acetona:alcohol isopropílico (69:30:1) (Wright et al. 1997). Cada extracto de *U. lactuca* (0.5 mg) se aplicó en una placa de CCF para asegurar resultados precisos. La identificación tentativa de carotenoides fue lograda comparando los perfiles cromáticos y factores de retención con el patrón de pigmento del extracto de espinaca fresca en acetona al 100% e información de la literatura (Perucka y Oleszek 2000, Rodriguez-Amaya 2001, El-Baky et al. 2008, Mikami y Hosokawa 2013). Además, se realizó una adaptación de la placa CCF para cromatografía preparativa. Cada extracto fue cromatografiado utilizando 2 sistemas eluyentes diferentes (éter de petróleo:acetona [7:3] y diclorometano:acetato de



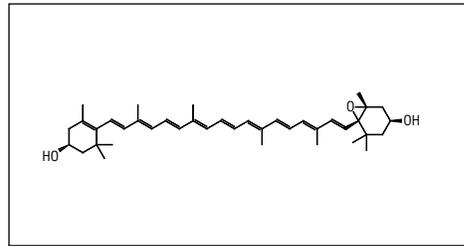
$\beta$ -caroteno



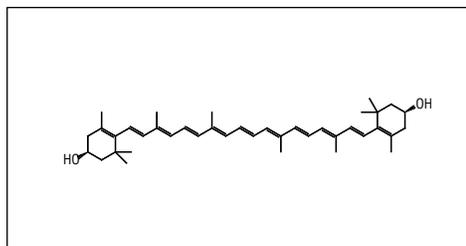
Luteína



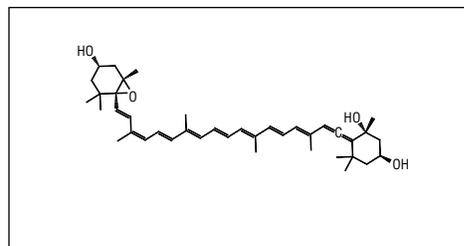
Violaxantina



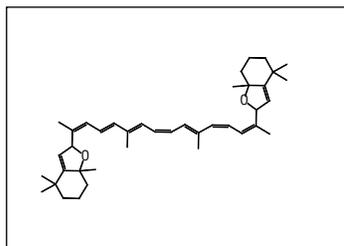
Antheraxantina



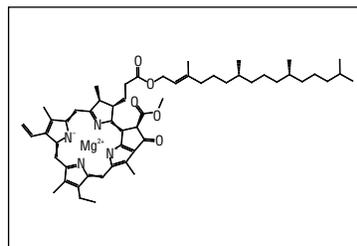
Zeaxantina



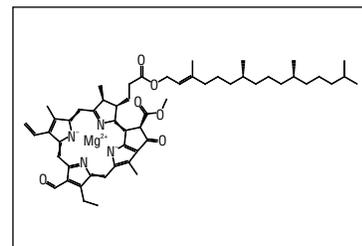
Neoxantina



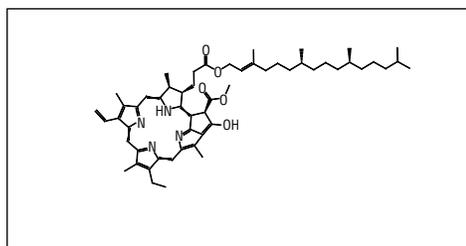
Aurocromo



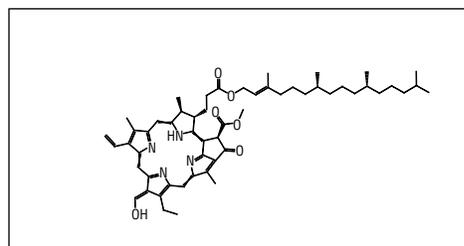
Clorofila *a*



Clorofila *b*



Feofitina *a*



Feofitina *b*

**Figura 1.** Pigmentos cuantificados por espectrofotometría ultravioleta visible (UV/vis).

etilo [4:1]). Posteriormente, las bandas coloreadas fueron raspadas para aislar compuestos con mayor pureza espectral, los cuales fueron confirmados posteriormente mediante espectroscopia de absorción (350-700 nm) en acetona al 100% (Wright et al. 1997). Los epóxidos fueron revelados con vapores de HCl; estas estructuras cambian de color de amarillo o naranja a azul o verde después de la exposición (Rodríguez-Amaya 2001, Sherma y Fried 2003).

La resonancia magnética nuclear de protones (RMN-<sup>1</sup>H) se utilizó para evaluar la conservación de carotenoides en los extractos de AMTI comparando la región olefinica de los espectros de RMN-<sup>1</sup>H (6-7 ppm) de acuerdo con los métodos de cuantificación desarrollados por Valverde y This (2007) y Guadagno et al. (2013). La identificación de carotenoides fue realizada utilizando sus desplazamientos químicos reportados en CDCl<sub>3</sub>, debidamente referenciados en Putzbach et al. (2005), Sobolev et al. (2005), Valverde y This (2008) y Sivathanu y Palaniswamy (2012). El área debajo de los desplazamientos químicos de los carotenoides fue normalizada por el área de tetrametilsilano (TMS), según el método de Guadagno et al. (2013). Los desplazamientos químicos de los disolventes, impurezas, clorofilas y moléculas derivadas (feofitinas y feofórbido) fueron descartados de los análisis (Sobolev et al. 2005, Fulmer et al. 2010).

### Análisis de datos

Fueron realizadas pruebas de homogeneidad de varianza de Cochran en los datos. Los datos paramétricos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y pruebas *t* de Student. Los datos no paramétricos fueron evaluados con las pruebas de Kruskal-Wallis o Mann-Whitney. Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas en Statistica 7 (StatSoft Inc., Tulsa, EE. UU.). Fueron utilizadas 3 réplicas y el intervalo de confianza para las pruebas de significancia fue del 95% ( $P = 0.05$ ).

## RESULTADOS

### Contenido de pigmentos en la biomasa fresca de *Ulva lactuca*

Los resultados de UV/vis revelaron una mayor concentración de carotenoides en los extractos frescos de talos de *U. lactuca* durante la temporada seca en comparación con la temporada de lluvias en la playa de Arpoador (Fig. 2a). Fueron encontradas diferencias significativas en el contenido de  $\beta$ -caroteno + zeaxantina entre el periodo seco y lluvioso en esta playa, mientras que los niveles de violaxantina fueron mayores durante el periodo lluvioso. No fueron observadas diferencias significativas en el contenido de carotenoides entre los 2 periodos en la *U. lactuca* cultivada en la instalación de AMTI; sin embargo, los niveles de Cl *a* + Phe *a* y Cl *b* + Phe *b* fueron significativamente más altos durante la temporada seca (Fig. 2b). *Ulva lactuca* recolectada en la

playa de Boa Viagem exhibió un contenido de carotenoides significativamente mayor durante la temporada seca. Específicamente,  $\beta$ -caroteno + zeaxantina y luteína + anteraxantina fueron los carotenoides que mostraron estas diferencias (Fig. 2c). El contenido de clorofila fue significativamente mayor en la biomasa fresca recolectada en la playa de Boa Viagem y en el sistema de AMTI durante la temporada seca (Material Suplementario Tabla S1).

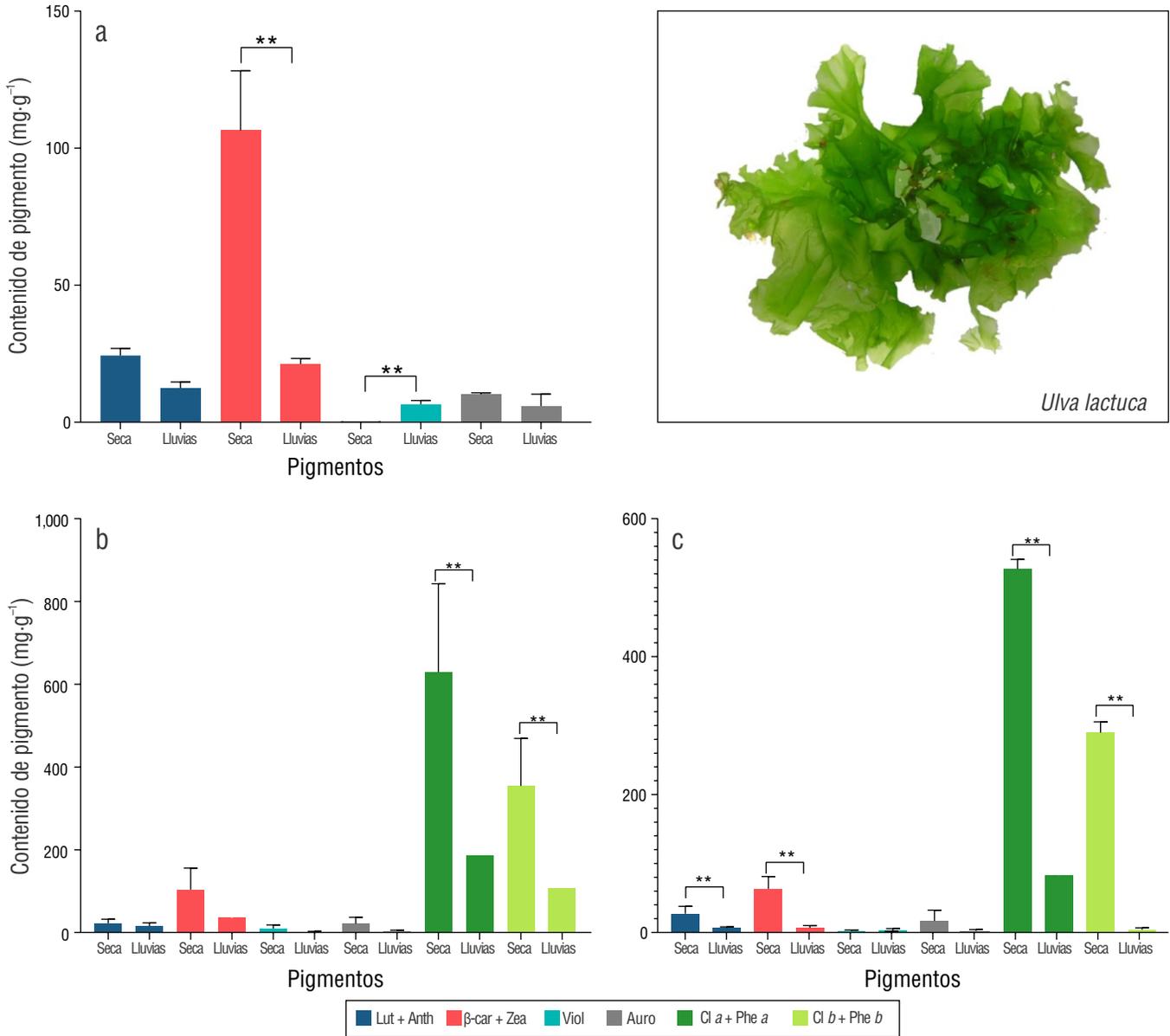
### Conservación de pigmentos durante el almacenamiento

Los extractos de los talos de *U. lactuca* cultivados en la instalación de AMTI exhibieron los niveles más altos de carotenoides, clorofilas y sus productos de degradación. Es importante resaltar que los datos utilizados para la comparación fueron de Boa Viagem y del sistema de AMTI, ya que estos valores fueron superiores a los de la playa de Arpoador.

La conservación de pigmentos fue analizada en la biomasa de *U. lactuca* recolectada en los diferentes sitios y almacenada durante 1 semana, 2 semanas o 4 semanas. Los resultados de espectrofotometría UV/vis mostraron que el contenido de carotenoides en *U. lactuca* de la instalación de AMTI se conservó bien después de 4 semanas de almacenamiento. Sin embargo, *U. lactuca* recolectada en la playa de Arpoador perdió el contenido de  $\beta$ -caroteno + zeaxantina durante la primera semana de almacenamiento y luego perdió el contenido de violaxantina en la cuarta semana de almacenamiento (Material Suplementario Tabla S2). Adicionalmente, las clorofilas y feofitinas derivadas se conservaron bien en la biomasa almacenada recolectada en la instalación de AMTI y en la playa de Arpoador.

### Análisis químicos para monitorear los pigmentos durante el almacenamiento

Los perfiles de cromatografía en capa fina fueron empleados para complementar los resultados UV/vis. Se observó una notable tendencia hacia la pérdida de color en la banda de  $\beta$ -caroteno en extractos de la playa de Arpoador y la playa de Boa Viagem después de 4 semanas de almacenamiento, en comparación con lo que se observó después de 1 semana o 2 semanas de almacenamiento. Por el contrario, fue mantenida la intensidad de la banda de  $\beta$ -caroteno en *U. lactuca* de la instalación de AMTI. En comparación, el perfil de CCF del extracto fresco de AMTI mostró bandas más intensas y una banda amarilla adicional. Las bandas amarillas y naranjas en estos extractos fueron tentativamente identificadas como  $\beta$ -caroteno, luteína + zeaxantina y neoxantina. La banda adicional observada en el extracto de AMTI fue identificada tentativamente como violaxantina. Las muestras secas almacenadas fueron analizadas mediante RMN-<sup>1</sup>H; la región olefinica (6-7 ppm) del espectro fue elegida porque acumula las señales de hidrógeno de los carotenoides (Sobolev et al. 2005). Las señales de carotenoides se resaltaron en esta región para ayudar en los análisis.



**Figura 2.** Contenido de pigmentos (media ± desviación estándar) en *Ulva lactuca* recolectada en (a) playa de Arpoador, (b) una instalación de acuicultura multitrofica integrada (AMTI) y (c) playa de Boa Viagem. Pigmentos: Aurocromo (Auro), Luteína (Lut) + Anteraxantina (Anth), β-caroteno (β-car) + Zeaxantina (Zea), Violaxantina (Viol), clorofila (Cl) a + feofitina (Phe) a y Cl b + Phe b. \*Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

El perfil de carotenoides fue monitoreado durante el almacenamiento través de los patrones de señal olefinica observados en espectros de RMN-<sup>1</sup>H, específicamente en la región de desplazamiento químico por debajo de 6.60-6.64 ppm, que es común a todos los carotenoides (Sobolev et al. 2005). Los espectros de las algas recolectados en la playa de Boa Viagem y en la instalación de AMTI mostraron una preservación efectiva de los carotenoides durante las 2 semanas iniciales de almacenamiento, con una degradación notable solo después de 4 semanas. En contraste, los espectros de las muestras recolectadas de la playa de Arpoador mostraron una

disminución significativa en la intensidad de la señal entre las algas frescas y las secas almacenadas, indicando una disminución en el contenido de carotenoides del estado fresco al seco, lo cual probablemente se debió a la degradación o isomerización durante la primera semana de almacenamiento.

**DISCUSIÓN**

*Ulva lactuca* recolectada del sistema de AMTI presentó rendimientos de carotenoides y clorofila significativamente más altos en los extractos de biomasa en comparación con las

muestras recolectadas en los lechos intermareales, indicando que los pigmentos fotosintéticos fueron promovidos. La instalación de AMTI, a diferencia de los lechos naturales, no estuvo expuesta a precipitaciones, desecación, vientos, herbívoros, ni radiación UV; en la instalación de AMTI fueron controladas las variables como la salinidad y el pH. Por lo tanto, el enriquecimiento con nutrientes y un ambiente controlado pueden haber mejorado la fisiología y el crecimiento de *U. lactuca*, previniendo las reacciones de oxidación que degradan los carotenoides e inducen la síntesis de pigmentos (Eismann et al. 2020).

Además, *U. lactuca* cultivada en la instalación de AMTI conservó su contenido de carotenoides durante 4 semanas de almacenamiento, mientras que fueron observadas algunas pérdidas de carotenoides en la biomasa almacenada de *U. lactuca* recolectada en los lechos intermareales. Los análisis de CCF y RMN-<sup>1</sup>H indicaron que los perfiles de los pigmentos de la *U. lactuca* cultivada en la instalación de AMTI y la recolectada de los lechos intermareales fueron conservados en los extractos almacenados durante 1 semana. Sin embargo, fue observada una pérdida de carotenoides después de 2 semanas y 4 semanas de almacenamiento en la *U. lactuca* recolectada en los lechos intermareales. Esta conservación de pigmentos puede estar relacionada con la presencia de otros compuestos con propiedades antioxidantes reportados en *U. lactuca* como tocoferoles y tocotrienoles (Ortiz et al. 2006), olefinas (Ratnayake et al. 2013), sesquiterpenoides (Chakraborty y Paulraj 2010) y ulvana (Alves et al. 2013). La producción de pigmentos y la coproducción de carotenoides son temas interesantes a profundizar en futuras investigaciones debido al potencial biotecnológico de estas moléculas, que han despertado interés en varios sectores industriales, incluidos los sectores alimentario, farmacéutico, cosmético y nutracéuticos.

En general, los extractos de *U. lactuca* fueron ricos en clorofilas, β-caroteno + zeaxantina y luteína + anteraxantina. El contenido de violaxantina en los extractos de la instalación de AMTI podría estar asociado con un menor estado de oxidación de las membranas tilacoides (Zhang et al. 2015), así como con una mayor síntesis de pigmentos en general. El mercado actual de carotenoides está liderado predominantemente por β-caroteno y luteína, ya que estos pigmentos esenciales se utilizan en alimentos para animales y suplementos dietéticos. Por lo tanto, la presencia abundante de violaxantina en *U. lactuca* recolectada en la instalación de AMTI es particularmente prometedora. Este compuesto se transforma rápidamente en zeaxantina a través del ciclo de las xantofilas (Zhang et al. 2015), y las propiedades antioxidantes de la zeaxantina han sido bien documentadas (Sajilata et al. 2008, Esteban et al. 2014, Meléndez-Martínez et al. 2022). Así, los sistemas AMTI podrían emerger como fuentes novedosas y sostenibles de zeaxantina.

Las diferencias significativas en los rendimientos de los carotenoides y las clorofilas en la biomasa fresca de *U. lactuca* recolectada durante la temporada de lluvias y la seca pueden

estar asociadas con el hecho de que las macroalgas se ven afectadas por una amplia gama de condiciones bióticas y abióticas (e.g., temperatura, hidrodinámica, desecación e interacciones biológicas), las cuales influyen directamente en el crecimiento y el contenido de pigmentos (Fort et al. 2019, Jiang et al. 2019, Calheiros et al. 2021). Por otro lado, los rendimientos de la *U. lactuca* recolectada en la instalación de AMTI reflejaron una menor variación en las condiciones de crecimiento; las pocas diferencias registradas entre las temporadas se asociaron con la radiación fotosintéticamente activa (RFA) y la temperatura del agua.

Tanto la RFA como la temperatura fueron más altas durante la temporada de lluvias, coincidiendo con la menor producción de carotenoides y clorofilas que observamos en este trabajo (Narain et al. 2023). Algunos estudios han identificado una correlación negativa entre los pigmentos fotosintéticos y la radiación solar en *Ulva rotundata* (Henley et al. 1989) y en especies de *Ulva* recolectadas en lechos naturales (Figuroa et al. 2003). Es importante destacar que una alta aclimatación a la RFA implica una disminución de los pigmentos fotosintéticos como respuesta a la reubicación de las membranas tilacoidales y los complejos antena (Esteban et al. 2015).

Nuestros resultados indican que la *U. lactuca* cultivada en la instalación de AMTI presentó niveles más altos de carotenoides y una mejor conservación en comparación con la *U. lactuca* recolectada en los lechos intermareales. Las algas recolectadas en los lechos naturales mostraron mayor variabilidad y complejidad, lo que puede atribuirse a la influencia de varios factores ambientales, como las variaciones de mareas, la RFA y periodos de desecación. Se requieren mayores esfuerzos de muestreo y análisis ambientales para proporcionar evidencia concluyente sobre la producción y el almacenamiento de los metabolitos en *U. lactuca* recolectada de ambientes naturales.

## CONCLUSIONES

Los análisis realizados en este estudio han revelado que los sistemas de cultivo, como el de AMTI, representan una excelente opción para controlar los factores ambientales, lo que permite producir biomasa de macroalgas y pigmentos con las cualidades específicas requeridas para sus aplicaciones biotecnológicas. Es notable que la *U. lactuca* cultivada en el sistema de AMTI demostró un mayor contenido de carotenoides y una conservación superior de los pigmentos durante 4 semanas de almacenamiento en comparación con la biomasa recolectada en sitios intermareales. Además, los extractos de biomasa fresca exhibieron un menor contenido de pigmentos durante la temporada de lluvias, lo que se correlacionó con una mayor RFA y temperatura del agua. Los sistemas de cultivo de *U. lactuca* representan una fuente prometedora y sostenible de carotenoides, incluyendo β-caroteno, luteína y violaxantina. Estos sistemas también pueden optimizarse para producir zeaxantina, que exhibe un alto valor nutricional y capacidad antioxidante, para aplicaciones biotecnológicas e industriales.

Traducido al español por las autoras.

## DECLARACIONES FINALES

### Material suplementario

El material suplementario de este trabajo se puede descargar del siguiente enlace: <https://www.cienciasmarinas.com.mx/index.php/cmarias/article/view/3461/420421099>.

### Agradecimientos

Las autoras agradecen a la Dra. Elisabete Barbarino y al Laboratorio de Cultivo de Microalgas de la Universidad Federal Fluminense por el apoyo técnico y las observaciones con respecto a la conservación de los extractos, al Dr. Roberto Martins de la Universidad Federal de Río de Janeiro por el apoyo técnico en los análisis de carotenoides y las valiosas observaciones en la química de los carotenoides, al personal del Laboratorio de Usuarios Múltiples (LabReMN) de la Universidad Federal Fluminense por los análisis de espectroscopia de RMN-<sup>1</sup>H, al Instituto del Jardín Botánico de Río de Janeiro por el apoyo logístico y al personal del herbario y la red de laboratorios por brindar apoyo técnico. También agradecemos a *D'Alga Urban Aquiculture* por proporcionar especímenes para análisis de carotenoides y datos abióticos AMTI.

### Fondos

Este estudio fue financiado por la Fundação de Amparo à Pesquisa Carlos Chagas Filho do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) (E-26/211.069/2019, E-26/211.651/2021 y E-26/205.005/2022 [DNC]). Este estudio también fue financiado por el Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico [310828/2017-1] y por la Coordinación de Perfeccionamiento del Personal de Nivel Superior (código de financiamiento 001).

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Contribuciones de autor

Conceptualización: AIE; Curación de datos: AIE; Análisis formal: RBR y DNC; Adquisición de fondos: DNC; Investigación: AIE; Metodología: AIE, RBR y DNC; Administración del proyecto: RBR y DNC; Recursos: DNC; Supervisión: RBR y DNC; Validación: AIE, RBR y DNC; Visualización: AIE; Redacción del borrador original: AIE, JMCO y TCS; Redacción, revisión y edición: AIE, JMCO, TCS, RBR y DNC. Todos los autores contribuyeron al artículo y aprobaron la versión enviada.

### Disponibilidad de datos

Los datos para este estudio no están disponibles.

### Uso de herramientas de IA

Los autores declaran el uso de herramientas de Inteligencia Artificial para ayudar en la realización de revisiones ortográficas y gramaticales.

## REFERENCIAS

- Alves A, Sousa RA, Reis RL. 2013. A practical perspective on ulvan extracted from green algae. *J Appl Phycol.* 25:407-424. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9875-4>
- Bergquist SÅ, Gertsson UE, Olsson UE. 2006. Influence of growth stage and postharvest storage on ascorbic acid and carotenoid content and visual quality of baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *J Sci Food Agric.* 86:346-355. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2373>
- Calheiros AC, Sales LPM, Pereira Netto AD, Cavalcanti DN, Castelar B, Reis RP. 2021. Commercial raw materials from algaculture and natural stocks of *Ulva* spp. *J Appl Phycol.* 33:1805-1818. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02413-3>
- Carneiro MER, Marques AN, Pereira RC, Cabral MM, Teixeira VL. 2022. Estudos populacionais de *Ulva fasciata* Delile, indicadora de poluição na Baía da Guanabara. *Rev Nerítica.* 2:201-211.
- Chakraborty K, Paulraj R. 2010. Sesquiterpenoids with free-radical-scavenging properties from marine macroalgae *Ulva fasciata* Delile. *Food Chem.* 122:31-41. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.012>
- Cruces E, Rautenberger R, Cubillos VM, Ramírez-Kushel E, Rojas-Lillo Y, Lara C, Montory JA, Gómez I. 2019. Interaction of photoprotective and acclimation mechanisms in *Ulva rigida* (Chlorophyta) in response to diurnal changes in solar radiation in southern Chile. *J Phycol.* 55:1011-1027. <https://doi.org/10.1111/jpy.12894>
- Demmig-Adams B. 1998. Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant Cell Physiol.* 39:474-482. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029394>
- Demmig-Adams B, Adams WW. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci.* 1:21-26. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(96\)80019-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(96)80019-7)
- Derner RB. 2018. Cultivo de macroalgas no Brasil: Potencial desperdiçado. *Aquacult Brasil.* 12:54-55.
- Eismann AI, Reis RP, da Silva AF, Cavalcanti DN. 2020. *Ulva* spp. carotenoids: Responses to environmental conditions. *Algal Res.* 48:101916. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101916>
- El-Baky HHA, El Baz FK, El-Baroty GS. 2008. Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *Am Eurasian J Agric Environ Sci.* 3(3):434-444. [https://idosi.org/aejaes/jaes3\(3\)/21.pdf](https://idosi.org/aejaes/jaes3(3)/21.pdf)
- El-Baky HHA, El Baz FK, El-Baroty GS. 2009. Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. *Int J Food Sci Technol.* 44:1688-1695. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01926.x>
- Esteban R, Barrutia O, Artetxe U, Fernández-Marín B, Hernández A, García-Plazaola JI. 2015. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical

- approach. *New Phytol.* 206:268-280.  
<https://doi.org/10.1111/nph.13186>
- Esteban R, Fleta-Soriano E, Buezo J, Míguez F, Becerril JC, García-Plazaola JI. 2014. Enhancement of zeaxanthin in two-steps by environmental stress induction in rocket and spinach. *Food Res Int.* 65:207-214.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.044>
- Figuerola FL, Nygård C, Ekelund N, Gómez I. 2003. Photobiological characteristics and photosynthetic UV responses in two *Ulva* species (Chlorophyta) from southern Spain. *J Photochem Photobiol Biol.* 72:35-44.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2003.09.002>
- Fort A, Lebrault M, Allaire M, Esteves-Ferreira AA, McHale M, Lopez F, Fariñas-Franco JM, Alseekh S, Fernie AR, Sulpice R. 2019. Extensive variations in diurnal growth patterns and metabolism among *Ulva* spp. strains. *Plant Physiol.* 180:109-123.  
<https://doi.org/10.1104/pp.18.01513>
- Fulmer GR, Miller AJ, Sherden NH, Gottlieb HE, Nudelman A, Stoltz BM, Goldberg KI. 2010. NMR chemical shifts of trace impurities: common laboratory solvents, organics, and gasses in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. *Organometallics.* 29:2176-2179.  
<https://doi.org/10.1021/om100106e>
- Gateau H, Solymosi K, Marchan J, Schoefs B. 2017. Carotenoids of microalgae used in food industry and medicine. *Mini-Rev Med Chem.* 17:1140-1172.  
<https://doi.org/10.2174/1389557516666160808123841>
- Goldman M, Horev B, Saguy I. 1983. Decolorization of  $\beta$ -carotene in model systems simulating dehydrated foods: Mechanism and kinetic principles. *J Food Sci.* 48:751-754.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb14890.x>
- Guadagno CR, Della Greca M, de Santo AV, Ambrosio ND. 2013. NMR ( $^1\text{H}$ ) analyses of crude extracts detects light stress in *Beta vulgaris* and *Spinacia oleracea* leaves. *Photosyn Res.* 115:115-122.  
<https://doi.org/10.1007/s11120-013-9833-2>
- Guiry MD, Guiry GM. 2024. *AlgaeBase World-Wide Electronic Publication: National University of Ireland*; [accessed 2024 May 24]. <http://www.algaebase.org>.
- He Y, Ma Y, Du Y, Shen S. 2018. Differential gene expression for carotenoid biosynthesis in a green alga *Ulva prolifera* based on transcriptome analyses. *BMC Genomics.* 19(1):1-14.  
<https://doi.org/10.1186/s12864-018-5337-y>
- Henley WJ, Ramus R. 1989. Optimization of pigment content and the limits of photoacclimation for *Ulva rotundata* (Chlorophyta). *Mar Biol.* 103:267-274.  
<https://doi.org/10.1007/BF00543357>
- Irwandi J, Noviendri D, Hasrini RS, Octavianti F. 2011. Carotenoids: sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *J Med Plants Res.* 5:7119-7131.  
<http://doi.org/10.5897/JMPRx11.011>
- Jiang H, Gong J, Lou W, Zou D. 2019. Photosynthetic behaviors in response to intertidal zone and algal mat density in *Ulva lactuca* (Chlorophyta) along the coast of Nan'ao island, Shantou, China. *Environ Sci Pollut Res.* 26:13346-13353.  
<http://doi.org/10.1007/s11356-019-04775-1>
- Küpper H, Seibert S, Parameswaran A. 2007. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra. *Anal Chem.* 79:7611-7627.  
<https://doi.org/10.1021/ac070236m>
- Lashbroke JG, Young PR, Strever AE, Stander C, Vivier MA. 2010. The development of a method for the extraction of carotenoids and chlorophylls from grapevine leaves and berries for HPLC profiling. *Aust J Grape Wine Res.* 16:349-360.  
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2010.00097.x>
- Maoka T. 2020. Carotenoids as natural functional pigments. *J Nat Med.* 74(1):1-16.  
<https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- Meléndez-Martínez AJ, Mandić AI, Bantis F, Böhm V, Borge GIA, Brnčić M, Pilar M, Cano DMG, Elgersma A, Fikselová M, et al. 2022. A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: Status quo, applications, patents, and research needs. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 62:1999-2049.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867959>
- Melo NSM, Cardoso LG, de Nunes JM, Brito GB, Caires TA, de Souza CO, Druzian JI. 2021. Effects of dry and rainy seasons on the chemical composition of *Ulva fasciata*, *Crassiphycus corneus*, and *Sargassum vulgare* seaweeds in tropical environment. *Braz J Bot.* 44:331-344.  
<https://doi.org/10.1007/s40415-021-00700-4>
- Mikami K, Hosokawa M. 2013. Biosynthetic pathway and health benefits of fucoxanthin, an algae-specific xanthophyll in brown seaweeds. *Int J Mol Sci.* 14.7:13763-1378.  
<https://doi.org/10.3390/ijms140713763>
- Nardelli AE, Chiozzini VG, Braga ES, Chow F. 2019. Integrated multi-trophic farming system between the green seaweed *Ulva lactuca*, mussel, and fish: a production and bioremediation solution. *J Appl Phycol.* 31:847-856.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-018-1581-4>
- Narrain D, Baulroop J, Bhagooli R, Bahorun T. 2023. Differential photosynthetic, phytochemical and antioxidative responses of three macroalgae *Ulva lactuca*, *Gracilaria salicornia* and *Turbinaria ornata* exposed to thermal and irradiance conditions. *Indo Pac J Ocean Life.* 7(1): 1-15.  
<https://doi.org/10.13057/oceanlife/o070101>
- Obando JMC, dos Santos TC, Martins RCC, Teixeira VL, Barbarino E, Cavalcanti DN. 2022. Current and promising applications of seaweed culture in laboratory conditions. *Aquaculture.* 560(15):738596.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738596>
- Oliveira Soares R, Castelar B, Pontes MD. 2022. Effect of biofilter storage density on the nutrient filtration capacity of *Ulva lactuca* = Efeito da densidade de estocagem do biofiltro na capacidade de filtração de nutrientes da *Ulva lactuca*. *Res Soc Dev.* 11(3):e14111326173.  
<https://doi.org/10.33448/rsd-v11i3.26173>
- Ortiz J, Romero N, Robert P, Araya J, Lopez- Hernández J, Bozzo C, Navarrete E, Osorio A, Rios A. 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chem.* 99(1):98-104.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.027>
- Osuna-Ruiz I, Nieves-Soto M, Manzano-Sarabia MM, Hernández-Garibay E, Lizardi-Mendoza J, Burgos-Hernández A, Hurtado-Oliva MA. 2019. Gross chemical composition, fatty acids, sterols, and pigments in tropical seaweed species off Sinaloa, Mexico = Composición proximal, ácidos grasos, esteroides y pigmentos en especies tropicales de algas marinas frente a Sinaloa, México. *Cienc Mar.* 45(3):101-120.  
<https://doi.org/10.7773/cm.v45i3.2974>
- Pérez-Gálvez A, Mínguez-Mosquera MI. 2001. Structure-reactivity relationship in the oxidation of carotenoid pigments of the pepper (*Capsicum annum* L.). *J Agric Food Chem.* 49:4864-4869.  
<https://doi.org/10.1021/jf010547c>
- Perucka I, Oleszek W. 2000. Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. *Food Chem.* 71:287-291.  
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00153-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00153-9)
- Pitta JP, Pontes MD, Castelar B, Hamacher C. 2022. Desempenho de curto prazo de *Ulva fasciata* produzida em diferentes densidades em Aquicultura multitrófica integrada. *Conjecturas.*

- 22(9):1-17.  
<https://doi.org/10.53660/CONJ-1385-AG05>
- Putzbach K, Krucker M, Albert K, Grusak MA, Tang G, Dolnikowski GG. 2005. Structure determination of partially deuterated carotenoids from intrinsically labeled vegetables by HPLC-MS and <sup>1</sup>H-NMR. *J Agric Food Chem.* 53:671-677.  
<https://doi.org/10.1021/jf0487506>
- Ratnayake R, Liu Y, Paul VJ, Luesch H. 2013. Cultivated sea lettuce is a multiorgan protector from oxidative and inflammatory stress by enhancing the endogenous antioxidant defense system. *Cancer Prev Res.* 6:989-999.  
<https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0014>
- Raymundo MDS, Horta P, Fett R. 2004. Atividade antioxidante *in vitro* de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). *Rev Bras Cie. Farm.* 40:495-503.  
<https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000400007>
- Reis RP, Castelar B, dos Santos AA. 2017. Why is algaculture still incipient in Brazil? *J Appl Phycol.* 29:673-682.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-016-0890-8>
- Rodriguez-Amaya DB. 2001. *A Guide to Carotenoid Analyses in Foods.* Washington D.C. (USA): ILSI Press. 60 p.
- Roleda MY, Lage S, Aluwini DF, Rebours C, Brurberg MB, Nitschke U, Gentili FG. 2021. Chemical profiling of the Arctic sea lettuce *Ulva lactuca* (Chlorophyta) mass-cultivated on land under controlled conditions for food applications. *Food Chem.* 341:127999.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127999>
- Ryckebosch E, Muylaert K, Eeckhout M, Ruysen T, Foubert I. 2011. Influence of drying and storage on lipid and carotenoid stability of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *J Agric Food Chem.* 59(20):11063-11069.  
<https://doi.org/10.1021/jf2025456>
- Safar H, Langvad S, Møller P, Jacobsen C. 2017. Storage conditions affect oxidative stability and nutritional composition of freeze-dried *Nannochloropsis salina*. *Eur J Lipid Sci Tech.* 119(12):1600477.  
<https://doi.org/10.1002/ejlt.201600477>
- Sajilata MG, Singhal RS, Kamat MY. 2008. The carotenoid pigment zeaxanthin: a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 7(1):29-49.  
<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00028.x>
- Santos TC, Vale TM, Cavalcanti DN, Machado LP, Barbarino E, Martins RC, Obando JM. 2023a. Metabólitos Bioativos e Aplicações Biotecnológicas de Macroalgas do Gênero *Sargassum*: Uma Revisão. *Rev Virtual Quim.* 15(4):741-758.  
<http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220125>
- Santos TC, Obando JMC, Cavalcanti DN, Martins RCC. 2023b. Produtos naturais de algas marinhas pertencentes à família Dictyotaceae: potenciais bioativos antifúngico e antioxidante. *Biodiversidade.* 22(3):55-78.  
<https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/16386>
- Santos TC, Obando JMC, Martins RCC, Alves MA, Villaça RC, Machado LP, Gasparoto MCG, Cavalcanti DN. 2024. Chemical Profile by UPLC-HRMS and Antifungal and Antioxidant Activity of Marine Macroalgae *Dictyota menstrualis*. *Rev Virtual Quim.* 16(1):1-12.  
<http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20230044>
- Sherma J, Fried B. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography.* New York (USA): CRC Press. 1048 p.
- Silva DM, Valente LMP, Sousa-Pinto I, Pereira R, Pires MA, Seixas F, Rema P. 2015. Evaluation of IMTA-produced seaweeds (*Gracilaria*, *Porphyra*, and *Ulva*) as dietary ingredients in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., juveniles. Effects on growth performance and gut histology. *J Appl Phycol.* 27:1671-1680.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-014-0453-9>
- Sivathanu B, Palaniswamy S. 2012. Purification and characterization of carotenoids from green algae *Chlorococcum humicola* by HPLC-NMR and LC-MS-APCI. *Biomed Prev Nutr.* 2(4):276-282.  
<https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.04.006>
- Sobolev AP, Brosio E, Gianferri R, Segre AL. 2005. Metabolic profile of lettuce leaves by high field NMR spectra. *Magn Reson Chem.* 43(8):625-638.  
<https://doi.org/10.1002/mrc.1618>
- Sousa MBD, Pires KMDS, Alencar DBD, Sampaio AH, Saker-Sampaio S. 2008.  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol in fresh seaweed. *Food Sci Tech.* 28(4):953-958.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400030>
- Sugumaran R, Padam BS, Yong WTL, Saallah S, Ahmed K, Yusof NA. 2022. A Retrospective Review of Global Commercial Seaweed Production-Current Challenges, Biosecurity and Mitigation Measures and Prospects. *Int J Environ Res Public Health.* 19(12):7087.  
<http://doi.org/10.3390/ijerph19127087>
- Thayer SS, Björkman O. 1990. Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. *Photosynth Res.* 23:331-343.  
<https://doi.org/10.1007/BF00034864>
- Uribe E, Vega-Gálvez A, García A, Pastén A, López J, Goñi G. 2018. Effect of different drying methods on phytochemical content and amino acid and fatty acid profiles of the green seaweed *Ulva* spp. *J Appl Phycol.* 31:1967-1979.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-018-1686-9>
- Valverde J, This H. 2007. <sup>1</sup>H-NMR quantitative determination of photosynthetic pigments from green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem.* 56(1):314-320.  
<https://doi.org/10.1021/jf070277j>
- Woodall AA, Lee SWM, Weesie RJ, Jackson MJ, Britton G. 1997. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 1336:33-42.  
[https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(97\)00006-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(97)00006-8)
- Wright SW, Jeffrey SW, Mantoura RFC. 1997. Evaluation of methods and solvents for pigment extraction. In: Jeffrey SW, Mantoura RFC, Wright SW. (eds.), *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods.* Paris (France): UNESCO Publishing. p. 261-283.  
<https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000105485>
- Zhang X, Mou S, Cao S, Fan X, Yu D, Ye N. 2015. Roles of the transthylakoid proton gradient and xanthophyll cycle in the non-photochemical quenching of the green alga *Ulva linza*. *Estuar Coast Shelf Sci.* 163:69-74.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.09.006>