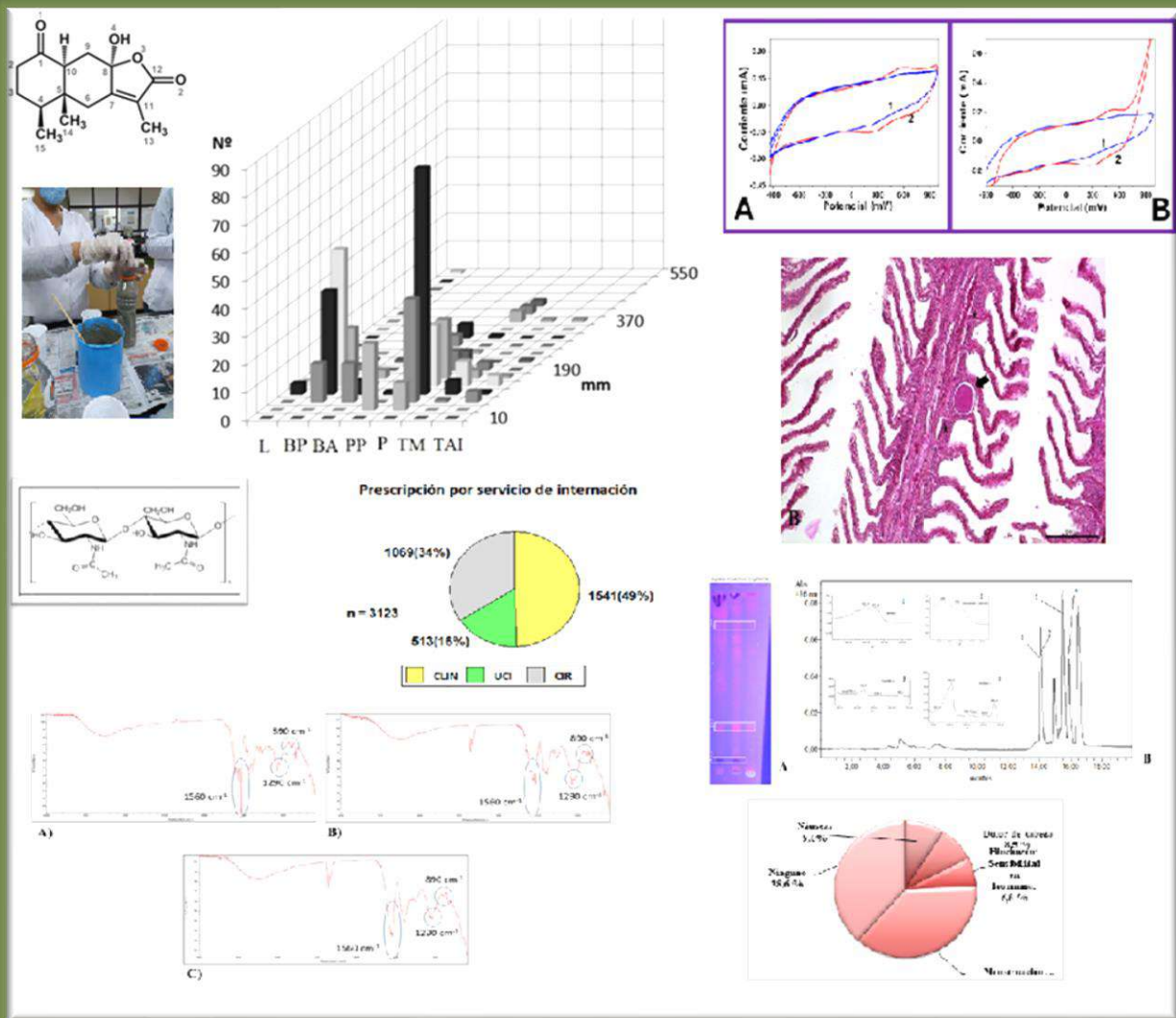


Naturalia

Patagónica

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y CIENCIAS DE LA SALUD
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PATAGONIA SAN JUAN BOSCO

VOLUMEN 16 (2020)



NATURALIA PATAGONICA

Volumen 16 – 2020

**Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud
Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco**

Director

Dr. Osvaldo León Córdoba

Secretaria de Redacción

Dra. María Luján Flores

Tesorera

Dra. Mabel Sandra Feijóo

Editor

Dr. Osvaldo León Córdoba

Comité Editor

Dra. Graciela Pinto Vitorino

Dra. Nerina Iantanos

Dra. Mónica Casarosa

Dra. Ofelia Iris María Katusich

Lic. Judith Garrido

Evaluadores

Dra. Estela Lopretto

Dra. Marta Collantes

Dr. Gabriel Oliva

Dr. Juan Manuel Sayago

Ing. Agr. Antonio D. Dalmasso

Dra. Mirta E. Valencia

Dra. Martha Gattuso

Dr. Carlos Arturo Stortz

Dr. Diego Pol

Dra. Susana Gorzalczany

Dra. María Luján Flores

Dra. Nora M. Andrea Ponce

Dra. María Elena Arce

Dra. Nadia Arias

Dr. Osvaldo León Córdoba

Dra. Alicia Boraso

Dra. María Cristina Matulewicz

Dra. Isabel Moreno Castillo

Dra. Adriana Broussalis

Editorial:

Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco

Ciudad Universitaria Km 4, 9005, Comodoro Rivadavia, Chubut

Perfil metabólico y actividad biológica de *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Alariaceae) colectada en invierno en el Golfo San Jorge, Argentina

Metabolic profile and biological activity of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Alariaceae) collected at winter in the Golfo San Jorge, Argentina

Diana Paula Quezada^{1,3,4}, María Luján Flores^{1,3}, Osvaldo León Córdoba^{2,3*}

¹Farmacognosia FCNyCS-UNPSJB, ²Química Biológica II FCNyCS-UNPSJB, ³GQBMRNP y AAI - CRIDECIT, FCNyCS-UNPSJB. Km 4, s/N°, Comodoro Rivadavia, 9000, Chubut, Argentina. ⁴CONICET, Argentina. *okylola@gmail.com

RESUMEN

Las algas constituyen materias primas para importantes aplicaciones en diferentes procesos, destacándose la industria alimentaria y la producción de compuestos activos aplicables en Salud. *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Alariaceae) es un alga parda alóctona y fuertemente invasora, originaria de Oriente, que habita nuestra región. Ha sido descripta como fuente de metabolitos interesantes con diferentes actividades biológicas. En base a los antecedentes existentes, se planteó la evaluación del perfil metabólico del alga, la determinación de los pigmentos constituyentes, y el análisis de la actividad antioxidante por medio del DPPH y de la citotoxicidad por medio de la *Artemia salina*, a partir de extractos obtenidos de la especie colectada en invierno en la región central del Golfo San Jorge. El perfil químico evidenció la presencia de flavonoides, taninos, esteroides y triterpenos. En el análisis de pigmentos se destacaron cryptoxantina, zeaxantina, capsantina, fucoxantina, caroteno, clorofila a y feofitina a. La actividad antioxidante del extracto de metanol se correlaciona con los fenoles contenidos en dicho extracto; la citotoxicidad fue importante en los extractos de hexano (rico en esteroides) y de cloroformo (rico en pigmentos). Los resultados evidencian la potencialidad del recurso para su aplicación en el desarrollo de productos de interés farmacéutico, alimenticio y textil.

PALABRAS CLAVE: *Undaria pinnatifida*, actividad biológica, metabolitos bioactivos, Golfo San Jorge, recursos renovables.

ABSTRACT

Seaweeds constitute raw materials for important applications in different process, standing out the alimentary industry and the production of active compounds applicable in Health. *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Alariaceae) is a brown seaweed, foreign, with strong invasive characteristics, original from the East, that inhabits our region. It has been described as a source of interesting metabolites with different biological activities. Because of the antecedents existing, it was proposed to evaluate the metabolic profile of the seaweed, determinate the constitutive pigments and the analysis of the antioxidant activity by the DPPH method and the cytotoxicity by the *Artemia salina* method, in extracts obtained from the individuals collected in winter, at the central region of the Golfo San Jorge. The chemical profile showed the presence flavonoids, tannins, steroids and triterpenes. The pigment analysis showed the presence of cryptoxanthin, zeaxanthin, capsanthin, fucoxanthin, carotene, chlorophyll a and pheophytin a. The antioxidant activity in the methanol extract is correlated with the phenols contained in it, the cytotoxicity was important at the hexane extract (rich on steroids) and the chloroform extract (rich in pigments). The results evidence the potentiality of the resource for it application in the development of products of interest in pharmaceutical, alimentary and textile fields.

KEY WORDS: *Undaria pinnatifida*, biological activity, bioactive metabolites, Golfo San Jorge, renewable resources.

INTRODUCCION

Los océanos son considerados una de las principales reservas de biodiversidad. En ellos habitan aproximadamente la mitad de las especies que componen la biodiversidad global, compartiendo un ambiente competitivo muchas veces agresivo no solo por sus propias características sino por efectos externos, fundamentalmente contaminaciones de diversa índole. Como parte de las estrategias de supervivencia que desarrollan para afrontar estas condiciones, incluyen la síntesis de

moléculas bioactivas, las que pueden ser aprovechadas por el hombre (Kim y Ta, 2016). Las algas son especialmente interesantes desde este punto de vista; existen numerosos antecedentes en los cuales se describe su aplicación en distintos campos, entre ellos el campo farmacéutico, mediante la producción de metabolitos con actividades biológicas tales como antiproliferativa, antibacteriana, antiviral, antioxidante y antiinflamatoria (García-Galaz *et al*, 2013). También son importantes desde el punto de vista alimenticio al aportar a la

dieta ácidos grasos insaturados, y más recientemente, como materia prima para el desarrollo de biodiesel, bioetanol y biopolímeros, como plásticos reciclables (Suhaila *et al*, 2012; Rasul *et al*, 2017).

Una de las especies que habita el Golfo San Jorge, es *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Alariaceae), un alga parda alóctona interesante fundamentalmente desde dos puntos de vista. En primer lugar, es una especie fuertemente invasora que en pocos años se arraigó en la región Patagónica tal como ocurrió en otras zonas del mundo mostrando una gran adaptación metabólica; por otro lado, existe gran cantidad de antecedentes del uso de la misma que se remontan a la Medicina Tradicional China. Es de origen asiático, y se cree que fue introducida accidentalmente en nuestra región por medio del agua de lastre de los buques, documentándose por primera vez en cercanías de la ciudad de Puerto Madryn, en 1992 (Dellatorre *et al*, 2014).

Se ha descrito que *U. pinnatifida* biosintetiza diversos metabolitos, entre ellos polisacáridos, lípidos, péptidos, fenoles diversos, esteroides, terpenos (Wang *et al*, 2018). Estudios previos realizados en nuestro grupo de investigación con ejemplares colectados en primavera en la costa de Comodoro Rivadavia, evidenciaron un patrón

semejante incluyendo una importante proporción de alginatos con destacada bioactividad (Escobar Daza *et al*, 2016, 2019).

En este contexto, continuamos el estudio de la especie que habita el Golfo San Jorge a fin de profundizar el conocimiento de su metabolismo y potenciales aplicaciones, para posicionarla como un recurso natural renovable de la región. Para ello en este trabajo describimos los resultados obtenidos a partir de extractos exhaustivos obtenidos de ejemplares de invierno.

MATERIALES Y METODOS

Los ejemplares de *Undaria pinnatifida* fueron colectados en la región central del Golfo San Jorge (-45,987688; -67,588525), en Playa Bonita a 20 km al sur de Comodoro Rivadavia, en forma estacional. Un ejemplar de cada colecta fue herborizado y depositado en el Herbario Regional Patagónico, bajo los N° HRP 7649, 7651, 7648, 7652, para invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente. El resto del material constituido por las frondas fue secado a temperatura ambiente y al abrigo de la luz solar, y reducido a polvo en un molinillo de paletas provisto de un tamiz de malla 20. En el presente trabajo describiremos lo correspondiente a la estación invierno.

La extracción fue exhaustiva y secuencial con hexano, cloroformo y metanol; con

agitación por 9 días y recambio de solvente cada 3 días. Se trabajó con una proporción de 1 kg de material molido / 2 l de solvente. Los productos extraídos se recuperaron mediante centrifugación refrigerada, se concentraron a presión reducida en un evaporador rotatorio y se secaron en estufa de vacío. Se obtuvieron así tres extractos de diferente polaridad. Los extractos fueron analizados mediante reacciones cualitativas usuales a fin de determinar el perfil químico.

Por otra parte, se analizaron los pigmentos en todos los extractos mediante la determinación de perfiles cromatográficos planares e instrumentales. En el primer caso el sistema se realizó sobre Sílicagel

G60_{F254} como fase estacionaria, empleando como fase móvil acetato de etilo-diclorometano (1:4); se trabajó en condiciones normales de temperatura, presión y humedad. El revelado fue con luz visible y luz UV a 365 nm. Para la cromatografía instrumental se empleó un equipo HPLC-DAD (Waters Co), con una columna de fase reversa C18 y un gradiente con solvente A: MeOH-acetato de amonio 0,5 M (80:20), solvente B: acetonitrilo 90 % y solvente C: acetato de etilo (Tabla I). Se identificaron los pigmentos por medio de la comparación de los espectros de absorción de fuentes bibliográficas (Wright y Jeffrey, 1997).

Tabla I. condiciones del sistema cromatográfico instrumental para el análisis de pigmentos.
Table I. conditions of the instrumental chromatographic system for pigment analysis.

Tiempo (min)	Flujo (ml min ⁻¹)	% A	% B	% C
0	1	100	0	0
4	1	0	100	0
18	1	0	20	80
21	1	0	100	0
24	1	100	0	0
29	1	100	0	0

La actividad antioxidante se evaluó en los tres extractos por el método del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo),

determinado el % de inhibición y la SC₅₀ (capacidad de atrapamiento de radicales libres 50%) cuando el porcentaje de

inhibición fue mayor a 50 (Choi *et al*, 2002). También se determinó la citotoxicidad por el test de la *Artemia salina* y se calculó la DL₅₀ mediante el programa de Finney (Nunes *et al*, 2006).

RESULTADOS

La colecta fue realizada en Playa Bonita, en donde se evidenció una importante cantidad de ejemplares del alga en estudio (Figura 1).



Figura 1. Ubicación geográfica e imagen del sitio de colecta (Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina); secado de ejemplares de *U. pinnatifida* (Alariaceae) y detalle del ejemplar de herbario correspondiente a invierno.

Figure 1. Geographic location and image of the collection site (Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina); drying of *U. pinnatifida* (Alariaceae) individuals and detail of the herbarium specimen corresponding to winter season.

El screening químico de los extractos obtenidos a partir de las frondas correspondientes a la estación invierno, evidenció la presencia marcada de flavonoides, taninos, esteroides y

triterpenos. En el extracto de hexano se destacaron los lípidos y los esteroides. La Tabla II muestra todos los resultados obtenidos.

Tabla II. Perfil químico determinado mediante reacciones cualitativas, de los extractos exhaustivos obtenidos a partir de las frondas de *U. pinnatifida* colectada en invierno (EUpI-), en Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina.

Table II. Chemical profile determined by qualitative reactions, from exhaustive extracts obtained from the fronds of *U. pinnatifida* collected in winter (EUpI-), in Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina.

Reacción / Grupo químico	EUpIHex	EUpIClorof	EUpIMeOH
Molisch / carbohidratos	-	-	-
Shinoda / flavonoides	++	+++	-
Vapores de I ₂ / lípidos	+++ (mantiene en t)	++ (mantiene en t)	+ (mantiene en t)
K ₂ Cr ₂ O ₇ / taninos	+++	++	+
FeCl ₃ al 2 % / OH fenólicos	+ amarillo verdoso (1 y 2 OH adyacentes)	+ verde grisáceo (2 OH adyacentes)	+ amarillo (OH aislado)
Bornträger / quinonas	-	-	-
Liebermann – Burchard / esteroides y triterpenos	+++ verde azulado (esteroide)	++ verde y + pardo (esteroide y triterpeno)	+ verde y + pardo (esteroide y triterpeno)
Kedde / cardenólidos	-	-	-
Dragendorff / alcaloides	-	-	-
Rosenheim / leucoantocianos	-	-	-

El análisis de los pigmentos efectuado mediante cromatografía planar (Figura 2 A) permitió determinar la presencia de cryptoxantina, zeaxantina, capsantina y fucoxantina, los que han sido descriptos por su capacidad antioxidante; además, desde el punto de vista industrial, pueden ser aprovechados por su capacidad tintórea. En el extracto metanólico no se observó fucoxantina ni capsantina (este

último fue observado en los otros extractos). Mediante el sistema de HPLC-DAD utilizado se pudieron identificar: caroteno, fucoxantina con restos de xantofila, clorofila a y feofitina a. Otras señales observadas correspondían a derivados de las clorofilas. La Figura 2 B muestra el cromatograma y los espectros de los compuestos identificados.

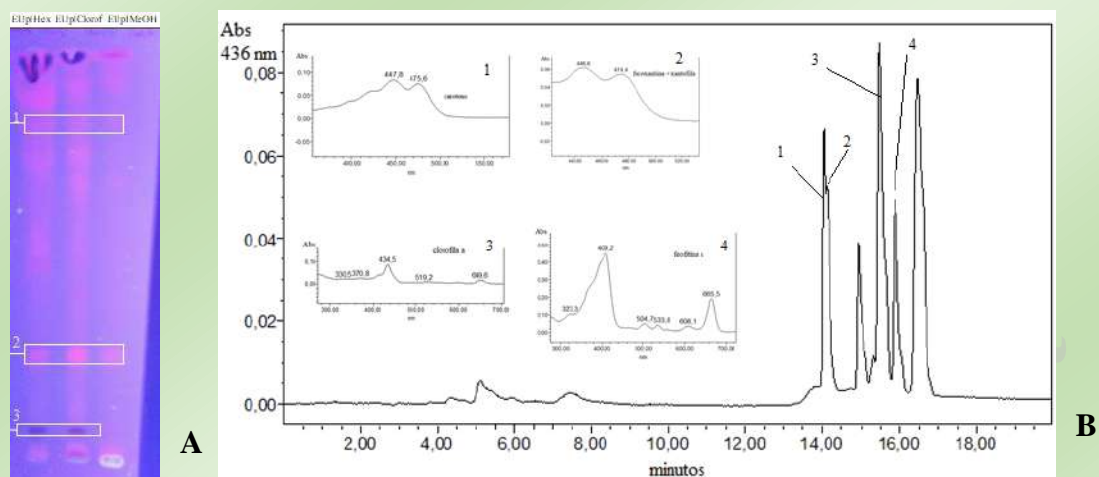


Figura 2. Perfiles cromatográficos de los pigmentos de *U. pinnatifida* colectada en invierno (EUpI-), en Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina. **A**, perfil obtenido mediante cromatografía planar; **B**, perfil obtenido mediante HPLC-DAD mostrando los espectros de absorción de los principales pigmentos identificados.

Figure 2. Chromatographic profiles of *U. pinnatifida* pigments collected in winter (EUpI-), in Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina. **A**, profile obtained by planar chromatography; **B**, profile obtained by HPLC-DAD showing the absorption spectra of the main identified pigments.

La actividad antioxidante resultó interesante para el extracto de metanol, EUpIMeOH, con una inhibición del 58,43 % y una SC_{50} de 651 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla III).

Tabla III. Actividad antioxidante determinada mediante el ensayo del DPPH, de los extractos exhaustivos obtenidos a partir de las frondas de *U. pinnatifida* colectada en invierno (EUpI-), en Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina.

Table III. Antioxidant activity determined by DPPH test, of the exhaustive extracts obtained from the fronds of *U. pinnatifida* collected in winter (EUpI-), in Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina.

Extracto	% de inhibición	SC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
EUpHex	38,55	-
EUpClorof	35,50	-
EUpIMeOH	58,43	651

En cuanto a la evaluación de la citotoxicidad por el test de la *Artemia salina*, los extractos EUpHex y EUpIClorof fueron los más potentes, con

una DL₅₀ de 97,8 y 144,4 µg/ml, respectivamente (Tabla IV).

Tabla IV. Citotoxicidad determinada mediante el test de la *Artemia salina*. de los extractos exhaustivos obtenidos a partir de las frondas de *U. pinnatifida* colectada en invierno (EUpI-), en Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina.

Table IV. Cytotoxicity determined by the *Artemia salina* test from exhaustive extracts obtained from the fronds of *U. pinnatifida* collected in winter (EUpI-), in Playa Bonita, Golfo San Jorge, Argentina.

Extracto	% de organismos muertos a las 24 h					DL ₅₀ (µg/ml)	Intervalo de Confianza del 95 %
	d1 (10 µg/ml)	d2 (100 µg/ml)	d3 (250 µg/ml)	d4 (500 µg/ml)	d5 (1000 µg/ml)		
EUpIHex	19,3	8,3	-	93,5	100	97,8	57,9 - 154,7
EUpIClorof	6,7	51,7	-	-	66,7	144,4	77,9 - 275,8
EUpIMeOH	3,3	6,5	82,8	72,4	74,2	597,3	352,9 - 1156,2

DISCUSION

La actividad antioxidante resulto interesante para el extracto de metanol, EUpIMeOH, y este resultado guarda relación con la presencia de fenoles observada en el extracto mediante el screening químico realizado (Tabla II), considerando que los fenoles poseen capacidad atrapadora de radicales libres (Chew *et al*, 2008). Por otro lado, si bien algunos pigmentos también evidenciados en el alga, como la fucoxantina, presentan actividad antioxidante (Fung *et al*, 2013), en este extracto no se encontraba presente, lo cual permite suponer que en este caso la actividad está relacionada con los fenoles. También han sido descritos algunos esteroides, como el fucoesterol, con

propiedades semejantes (Hamid *et al*, 2015).

Los radicales libres y otros derivados reactivos del oxígeno se producen en algunas reacciones biológicas y juegan un rol fisiológico importante. Sin embargo, estas especies reactivas constituyen factores que participan directamente en mecanismos fisiopatológicos como la aterosclerosis, diabetes, cáncer, entre otros; ello permite indicar que los antioxidantes podrían resultar beneficiosos frente a estas complicaciones. Las algas marinas son una fuente importante de sustancias antioxidantes, las cuales constituyen sistemas de defensa frente a las condiciones ambientales a las que se

hallan expuestas, sobre todo variaciones en la intensidad lumínica y en las concentraciones de O₂ y CO₂ a lo largo de la columna de agua que desencadenan un estrés oxidativo. Por ello, estos organismos constituyen una fuente importante de antioxidantes para las industrias alimentaria y farmacéutica (Matsukawa et al., 1997).

En cuanto a la evaluación de la citotoxicidad por el test de la *Artemia salina*, los extractos EUpIHex y EUpIClorof fueron los más potentes, y existe evidencia, que algunas moléculas de naturaleza esteroideal poseen actividad antiproliferativa (Kim et al., 2012; Garcia-Galaz et al., 2012); en nuestro caso, si bien los esteroides fueron determinados en todos los extractos, se destacaron en el de hexano (Tabla II).

Existen amplios antecedentes de *U. pinnatifida* dada su distribución global, en los que se describe el perfil metabólico de esta especie, en los cuales se destacan los hidratos de carbono, lípidos, proteínas, vitaminas, aminoácidos, minerales, polifenoles, flavonoides, alcaloides y esteroides, los cuales le otorgan una importante variedad de actividades biológicas, fundamentalmente antioxidante, antiinflamatoria, antiproliferativa y antidiabética (Wang et al., 2018).

Ha sido demostrada la actividad antitumoral, antioxidante, antimutagénica, antiproliferativa y antiangiogénica de pigmentos tales como la fucoxantina proveniente de *Undaria pinnatifida*, la clorofila a del alga parda *Fucus vesiculosus* y la feofitina a presente también en algas verdes como *Enteromorpha prolifera* (Pangestuti y Kim, 2011). También se ha encontrado que algunos lípidos derivados de ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido eicosapentaenoico y el ácido araquidónico, algunos esteroides como el fucosterol y algunos terpenoides, poseen actividad antitumoral, antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa (Li et al., 2015).

En el presente trabajo resulta evidente que los fenoles son al menos en su mayor parte, responsables de la capacidad antioxidante; mientras que los pigmentos (fundamentalmente fucoxantina, feofitina y carotenoides) y los esteroides, todos descritos por su actividad anticáncer comprobada, guardan relación con la citotoxicidad demostrada.

CONCLUSIONES

Los resultados observados para la especie alóctona que habita la región patagónica, colectada en invierno, sugieren una potencialidad importante como fuente de metabolitos de interés para la salud y la

alimentación, posicionándola como un recurso natural renovable para el desarrollo de productos de mayor valor agregado con un esperado impacto en la producción, el trabajo y la economía regional, considerando la relación cotidiana de nuestra región con el mar. A la vez, un aprovechamiento integral del alga podrá contribuir al control de su expansión. Los estudios continúan a fin de

profundizar en el conocimiento de los principales metabolitos y su aplicación en la generación de productos innovadores.

BIBLIOGRAFIA

Chew Y.; Lima, Y. Omara M. y Khoob K. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT-Food Sci. Technol.*, **41**: 1067–1072.

Choi C., Kim S., Hwang S., Choi B., Ahn H., Lee M., Park S. y Kim S. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, **163**: 1161-1168.

Dellatorre F., Amoroso R., Saravia J. y Orensanz J. 2014. Rapid expansion and potential range of the invasive kelp *Undaria pinnatifida* in the Southwest Atlantic. *Aquat. Invasions.*, **9** (4): 467–478.

Escobar Daza M.D., Flores M.L. y Córdoba O.L. 2019. Evaluación de cito y genotoxicidad de extractos etanólicos y del alginato de sodio obtenidos de las frondas de *Undaria pinnatifida* (Alariaceae) colectada estacionalmente en el Golfo San Jorge. *Nat. pat.*, **14**: 118-119.

Escobar Daza M.D., Quezada D.P., Braidot E., Flores M.L. y Córdoba O.L. 2016. Estudio fitoquímico y actividad biológica *in vitro* de *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Alariaceae) colectada en el norte y centro del Golfo San Jorge. *Nat. pat.*, **2016**, **9**: 60-75.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de la UNPSJB y el FONCYT de Argentina, y las becas de apoyo a la investigación del CIN y de doctorado del CONICET.

Fung A., Hamid N. y Lu J. 2013. Fucoxanthin content and antioxidant properties of *Undaria pinnatifida*. *Food Chem.*, **136**: 1055–1062.

García-Galaz A., Gutiérrez-Millán L., Acedo-Félix E., Burgos-Hernández A., López-Torres M., Valdés-Covarrubias M. y Burboa-Zazueta M. 2013. Las algas y otros organismos marinos como fuente de moléculas bioactivas. *Rev. cienc. biol. tecnol. Salud*, **15** (1): 25-32.

Hamid N., Ma Q., Boulom S., Liu T., Zheng Z., Balbas J. y Robertson J. 2015. Seaweed minor constituents, en Tiwari B. K. y Troy D. J. (eds), *Seaweed Sustainability*. Elsevier, Amsterdam: 193-242.

Kim S. y Ta Q. 2012. Bioactive Sterols from Marine Resources and Their Potential Benefits for Human Health, en Kim S. K. (ed), *Marine Medicinal Foods Implications and Applications - Animals and Microbes*. Elsevier, Amsterdam: 261-268.

Li Y.X., Li Y., Kim S.K. 2015. Anticancer Compounds from Marine Algae, en Kim S.K., Chojnacka F. (Eds.), *Marine Algae Extracts: Processes, Products, and Applications*. Wiley-VCH, Weinheim: 267-274

Matsukawa R., Dubinsky Z., Kishimoto E., Masaki K., Masuda Y., Takeuchi T., Chihaara M.,

Yamamoto Y., Niki E. y Karube I. 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *J Appl Phycol*, **9**: 29-35.

Nunes B., Carvalho F., Guilhermino L. y Van Stappen G. 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environ Pollut.*, **144**: 453-462.

Pangestuti R. y Kim S.K. 2011. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *J. Funct. Foods*, **3**: 255-266.

Rasul I., Azeem F., Siddique M., Muzammil S., Rasul A., Munawar A., Afzal M., Ali M. y Nadeem H. 2017. Algae Biotechnology: A Green Light for Engineered Algae. En Zia K. M., Zuber M., Ali M. (eds), *Algae Based Polymers, Blends, and Composites*. Elsevier: Amsterdam: 301-334.

Suhaila M., Siti N. y Hafeedza A. 2012. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends Food Sci Technol.*, **23**: 83-96.

Wang L., Park Y., Jeona J. y Ryua B. 2018. Bioactivities of the edible brown seaweed, *Undaria pinnatifida*: A review. *Aquaculture*, **495**: 873-880.

Wright S. W. y Jeffrey S. W. 1997. High-resolution HPLC system for chlorophylls and carotenoids of marine phytoplankton. En Jeffrey S. W., Mantoura R. F. C., Wright S. W. (eds), *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods*. UNESCO Publishings, Paris: 327-341.