



Perfil nutricional de cepas de microalgas peruanas de los géneros *Chaetoceros* y *Skeletonema* de la costa central del Perú como ingrediente potencial para acuicultura

Nutritional profile of native strains of the genera *Chaetoceros* and *Skeletonema* from the central coast of Peru as a potential ingredient for aquaculture

Hanna Elizabeth Hernández-Acevedo^{1*}, Leenin Flores-Ramos², Alberto Oscanoa-Huaynate²,
 0000-0002-2706-0834  0000-0002-6099-4321  0000-0001-6048-5167

Anthony Ruiz-Soto² y Carla Aguilar-Samanamud¹
 0000-0003-3865-3632  0000-0002-6244-143X

1. Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos, AFIA-DGIA, Instituto del Mar del Perú, Callao. hhernandez@imarpe.gob.pe*, caguilar@imarpe.gob.pe
 2. Laboratorio de Análisis Instrumental, AFIA-DGIA, Instituto del Mar del Perú. Callao. lflores@imarpe.gob.pe, aoscano@imarpe.gob.pe, aruiz@imarpe.gob.pe
- * Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

Las diatomeas marinas forman parte importante de la dieta de moluscos, crustáceos y peces debido a su perfil nutricional. El objetivo de esta investigación fue evaluar el perfil nutricional de ocho cepas de microalgas de los géneros *Chaetoceros* y *Skeletonema*, dominantes en la costa central del Perú, y valorar su potencial como ingrediente para acuicultura. Se realizaron cultivos de 7 L a pH de 7.5-8.5, a 17 °C, iluminación de 35 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ y fotoperiodo 12:12 horas. Luego de 15 días de cultivo, se obtuvo la biomasa seca mediante liofilización y se realizaron los análisis de perfil nutricional. Los resultados indican valores de humedad de 5 a 14 %, cenizas de 19 a 57 %, carbohidratos de 2 a 23 %, lípidos de 3 a 9 % y proteínas de 12 a 30 %. La cepa con mayor porcentaje de estos dos últimos compuestos fue la correspondiente a la especie *S. costatum* (IMP-BG-466). Así mismo, todas las cepas presentaron altos porcentajes relativos del ácido graso esencial, ácido eicopentaenoico (EPA), de 13 a 30 % y el aminoácido esencial leucina de 1 a 3 % (% p/p). Sin embargo, al presentar bajas concentraciones del ácido docosahexaenoico (DHA), arginina, histidina y lisina, es necesario complementar su utilización con otras fuentes para la formulación de dietas equilibradas.

PALABRAS CLAVE: diatomeas, perfil nutricional, cepas nativas, proteínas, lípidos.

ABSTRACT

Marine diatoms are important part of the diet of mollusks, crustaceans and fish because of their nutritional profile. The objective of this study was to evaluate the nutritional profile of eight strains of microalgae of the genera *Chaetoceros* and *Skeletonema*, dominant in the central coast of Peru, in order to rate their potential as an ingredient for aquaculture. For this, 7 L cultures were carried out at a pH of 7.5-8.5, at 17 °C, illumination of 35 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ and a photoperiod of 12:12 hours. After 15 days of culture, the dry biomass was obtained by lyophilization and the nutritional profile analyzes were performed. The results show values of moisture from 5 to 14 %, ash from 19 to 57 %, carbohydrates from 2 to 23 %, lipids from 3 to 9 %, and proteins from 12 to 30 %. The strain with the highest percentage of the last two compounds was that corresponding to *S. costatum* (IMP-BG-466). Likewise, all the strains presented high relative percentages of the essential fatty acid, eicopentaenoic acid (EPA), from 13 to 30 % and the essential amino acid leucine from 1 to 3 % (% w/w). However, as this strain presents low concentrations of docosahexaenoic acid (DHA), arginine, histidine and lysine, it is necessary to supplement it with other sources for the formulation of balanced diets.

KEYWORDS: diatoms, nutritional profile, native strains, proteins, lipids.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son una fuente importante de alimento para diversos organismos acuáticos, esto ocurre debido a una serie de características claves, incluidos el tamaño celular, la facilidad de reproducción, la concentración y la calidad de sus biocompuestos (Díaz *et al.*, 2006; Martínez-Fernández *et al.*, 2006). Dentro del ecosistema microscópico marino podemos encontrar a las diatomeas (phylum Bacillariophyta), un grupo de microalgas que componen entre el 20 a 25 % de abundancia de especies en el fitoplancton. Además, este grupo aporta 30 a 60 % de proteínas y entre 5 a 20 % de lípidos en la dieta trófica, siendo alimento importante para diferentes etapas de crecimiento en larvas, peces, crustáceos y moluscos (Granum *et al.*, 2002).

Asimismo, la mayoría de diatomeas marinas producen compuestos bioactivos naturales importantes para diferentes industrias como la alimentaria, farmacéutica, nutracéutica y cosmética. También producen ácidos grasos poliinsaturados de cadena media y larga como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) (Baldisserotto *et al.*, 2019).

Por otro lado, al presentar una alta tasa de crecimiento, eficiencia fotosintética y contenido lipídico, son utilizados principalmente como suplementos nutricionales en acuicultura y como aditivos en la nutrición humana (Bozart *et al.*, 2009; Maeda, 2015). Estos metabolitos derivados poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antidiabéticas, antiangiogénicas y antimicrobianas (Bhattacharjya *et al.*, 2020).

La costa central del Perú registra una alta producción fitoplanctónica importante para la actividad pesquera al presentarse como principal fuente de nutrición en el primer eslabón de la cadena alimentaria (Ochoa y Tarazona, 2003). Dentro de las especies ampliamente distribuidas en la costa del Perú se encuentran las diatomeas del género *Skeletonema* y *Chaetoceros* (Delgado *et al.*, 2019). *Skeletonema costatum* es una especie dominante en las costas del Perú representando el 96 % del total de fitoplancton sobre todo en épocas de invierno, seguida de varias especies del género *Chaetoceros* (Arellana *et al.*, 2006). Estos géneros son reportados durante todo el año y son asociados a floraciones algales nocivas en bahías principales y zonas pesqueras (Orozco *et al.*, 2017; Baylón *et al.*, 2019).

Muchas investigaciones en acuicultura catalogan a las diatomeas como alimento adecuado para el cultivo de

INTRODUCTION

Microalgae are an important source of food for various aquatic organisms, which is due to a series of key features, including cell size, ease of reproduction, and the concentration and quality of their bio-compounds (Díaz *et al.*, 2006; Martínez-Fernández *et al.*, 2006). Within the microscopic marine ecosystem, there are diatoms (phylum Bacillariophyta), a group of microalgae that make up between 20 and 25 % of species abundance in phytoplankton. Moreover, this group contributes with 30 to 60 % of the proteins and between 5 and 20 % of the lipids in the trophic diet, serving as an important food source for different growth stages in larvae, fish, crustaceans, and mollusks (Granum *et al.*, 2002).

Likewise, most marine diatoms produce important natural bioactive compounds for different industries, such as the food, pharmaceutical, nutraceutical, and cosmetic sectors. They also produce medium- and long-chain polyunsaturated fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) (Baldisserotto *et al.*, 2019).

On the other hand, due to their high growth rate, photosynthetic efficiency, and lipid content, they are primarily used as nutritional supplements in aquaculture and as additives in human nutrition (Bozart *et al.*, 2009; Maeda, 2015). These derived metabolites possess antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antidiabetic, antiangiogenic, and antimicrobial properties (Bhattacharjya *et al.*, 2020).

The central coast of Peru has a high phytoplankton production, which is important for fishing activities, as it constitutes the main source of nutrition in the first link of the food chain (Ochoa and Tarazona, 2003). Among the species widely distributed along the coast of Peru are the diatoms of the genus *Skeletonema* and *Chaetoceros* (Delgado *et al.*, 2019). *Skeletonema costatum* is a dominant species on the coasts of Peru, which represents 96 % of the total phytoplankton, especially during winter, followed by several species of the genus *Chaetoceros* (Arellana *et al.*, 2006). These genera are reported throughout the year and are associated with harmful algal blooms in major bays and fishing areas (Orozco *et al.*, 2017; Baylón *et al.*, 2019).

Many research studies on aquaculture catalogue diatoms as suitable food for the cultivation of organisms of commercial interest, *e.g.*, in bivalves, for the early larval stages of crustaceans, and in some fish species, given their

organismos de interés comercial, por ejemplo, en bivalvos, para los primeros estadios larvales de crustáceos y algunas especies de peces, debido a su alto contenido proteico y EPA. Entre los géneros más destacados se encuentran *Skeletonema*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros* y *Thalassiosira* (Hernández y Labbé, 2014; Velasco *et al.*, 2016; Araújo *et al.*, 2020).

La bioprospección de diatomeas es importante porque nos permite obtener cepas nativas que se encuentren adaptadas al medio ambiente y no generen un impacto ecológico sobre este (Elyakoubi *et al.*, 2020). Así mismo estas nuevas cepas tienen el potencial de presentar el perfil nutricional requerido para acuicultura y destacar sobre las cepas comerciales. Actualmente existen pocos estudios en cepas nativas potenciales para nutrición acuícola en el Perú. Debido a lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el perfil nutricional de dos géneros de diatomeas recolectadas en la costa central del Perú (Ica y Callao), cepas nativas del Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (BGOA) del Instituto del Mar del Perú (Imarpe), con el fin de evaluar su potencial como ingrediente para acuicultura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las muestras fueron recolectadas en las bahías de Callao (12°02'34" S, 77°10'13" W) e Ica (13°52'0.01" S, 76°16'0.01" W), costa central del Perú. Las cepas seleccionadas fueron obtenidas, identificadas y codificadas por el Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (BGOA) presentando las siguientes características (Tabla 1):

Tabla 1. Cepas de microalgas utilizadas para análisis bioquímico

Código / Code	Especie / Specie	Procedencia / Origin	Año de colecta / Collection year
IMP-BG-056	<i>Chaetoceros debilis</i>	Isla Frontón / Frontón Island, Callao	2013
IMP-BG-057	<i>Chaetoceros socialis</i>	Isla Frontón / Frontón Island, Callao	2013
IMP-BG-058	<i>Chaetoceros compressus</i>	Isla Frontón / Frontón Island, Callao	2013
IMP-BG-363	<i>Skeletonema costatum</i>	Isla San Lorenzo, Callao	2016
IMP-BG-364	<i>Skeletonema costatum var. mariori</i>	Isla San Lorenzo / San Lorenzo Island, Callao	2016
IMP-BG-429	<i>Skeletonema costatum</i>	Carpayo, Callao	2017
IMP-BG-465	<i>Skeletonema costatum</i>	Paracas, Ica	2017
IMP-BG-466	<i>Skeletonema costatum</i>	Carpayo, Callao	2017

high protein content and EPA. Among the most prominent genera are *Skeletonema*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, and *Thalassiosira* (Hernández and Labbé, 2014; Velasco *et al.*, 2016; Araújo *et al.*, 2020).

Diatoms bioprospecting is important because it allows obtaining native strains that are adapted to the environment and have no ecological impact on it (Elyakoubi *et al.*, 2020). Likewise, these new strains potentially have the nutritional profile required for aquaculture and for standing out over commercial strains. Currently, there are few studies on potential native strains for aquaculture nutrition in Peru.

Given the above, this study aimed at evaluating the nutritional profile of two diatom genera collected from the central coast of Peru (Ica and Callao), which corresponded to native strains from the Germplasm Bank of Aquatic Organisms (BGOA) of the Peruvian Sea Institute (Imarpe), in order to assess their potential as an ingredient for aquaculture.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The samples were collected from the bays of Callao (12°02'34" S, 77°10'13" W) and Ica (13°52'0.01" S, 76°16'0.01" W) on the central coast of Peru. The selected strains were obtained, identified, and coded by the Germplasm Bank of Aquatic Organisms (BGOA), showing the following characteristics (Table 1):

Table 1. Microalgae strains used for biochemical analysis.

Producción de biomasa microalgal

Se realizó un cultivo tipo “batch” desde 50 hasta 125 mL y fueron mantenidos en una cámara climática Binder (KBW 400, Alemania) a las siguientes condiciones: medio de cultivo f/2 (Guillard, 1975), pH 7.5 a 8.5, a 17 °C, iluminación de 35 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ y fotoperiodo 12:12 horas. Pasado los 12 días, se realizó el escalamiento a uno y siete litros por triplicado, bajo las condiciones anteriores y con un sistema de aireación por medio de una bomba de acuario. Luego de 15 días de cultivo, se concentró la biomasa mediante una centrífuga refrigerada Hettich (Rotina, Alemania) a 4500 rpm por 20 minutos a 10 °C. La biomasa húmeda obtenida fue conservada a -20 °C. Luego, fue secada con el liofilizador Labconco (18 L, USA) según los parámetros descritos en el manual de Imarpe (2020).

Perfil nutricional

Los ensayos de humedad y cenizas se realizaron de acuerdo con la metodología de Kolar (1992), los ensayos de lípidos de acuerdo con la metodología de Folch con modificaciones (Flores-Ramos *et al.* 2020), las proteínas fueron cuantificadas por el método modificado de Lowry *et al.* (1951) y los carbohidratos de acuerdo al método fenol-ácido sulfúrico de Dubois *et al.* (1956). Los resultados fueron expresados como porcentaje en peso (% p/p).

Los lípidos extraídos fueron derivatizados según la metodología de Ichihara y Fukubayashi (2010). Posteriormente los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron analizados por cromatografía gaseosa en el equipo Varian (CP-3800, EE. UU.), usando una columna Restek, Stabilwax® WCOT fused silica de 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm , método de inyección *splitless* (0.50 minuto), volumen de inyección de 1 μL , temperatura del inyector de 250 °C, el gas de arrastre fue helio a un flujo de 1 mL/min, la rampa de temperatura de 120 °C por un minuto, 30 °C/min hasta 160 °C, 160 °C por un minuto, 4 °C/min hasta 240 °C, 240 °C por 7 minutos. El tiempo total del programa de temperatura fue de 30.33 min y la temperatura programada del detector de 260 °C. Los resultados fueron expresados en porcentaje relativo.

El ensayo de aminoácidos se realizó de acuerdo con las instrucciones del kit de reactivos AccQ-Fluor (Waters Corporation, Milford, MA, EE. UU.). Se inyectaron los aminoácidos derivatizados en el HPLC Elite LaChrom (Hitachi High Technologies, Japón). Las condiciones del equipo fueron: Columna Hypersil GOLD C18 de 5 μm \times 4.6 mm \times 150 mm, temperatura de la columna 37 °C, volumen de inyección 5 μL , flujo de fase móvil 1 mL/min,

Microalgal biomass production

A batch-type culture was carried out from 50 mL to 125 mL and maintained in a Binder climatic chamber (KBW 400, Germany) under the following conditions: f/2 culture medium (Guillard, 1975); pH: 7.5 to 8.5; temperature: 17 °C; lighting: 35 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$; 12:12 hour photoperiod. After 12 days, scaling to 1 L and 7 L was carried out in triplicate, under the previous conditions, and with an aeration system using an aquarium pump. After 15 days of cultivation, the biomass was concentrated using a Hettich refrigerated centrifuge (Rotina, Germany) at 4500 rpm for 20 minutes at 10 °C. The wet biomass obtained was preserved at -20 °C. It was then dried using a Labconco lyophilizer (18 L, USA), according to the parameters described in the Imarpe manual (2020).

Nutritional profile

Moisture and ash tests were carried out according to Kolar’s methodology (1992), and lipid assays according to Folch’s methodology, with some modifications (Flores-Ramos *et al.* 2020). Proteins were quantified via the modified method of Lowry *et al.* (1951), and carbohydrates according to the phenol-sulfuric acid method of Dubois *et al.* (1956). The results were expressed as a percentage by weight (% w/w).

The extracted lipids were derivatized according to the methodology of Ichihara and Fukubayashi (2010). Subsequently, the fatty acid methyl esters were analyzed by gas chromatography using Varian equipment (CP-3800, USA) and a Restek, Stabilwax WCOT fused silica column of 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm , employing a splitless injection method (0.50 minute), a 1 μL injection volume, an injector temperature of 250 °C, helium as the carrier gas at a flow rate of 1 mL/min, and a temperature ramp of 120 °C for one minute, 30 °C/min up to 160 °C, 160 °C for one minute, 4 °C/min up to 240 °C, and 240 °C for 7 minutes. The total time of the temperature program was 30.33 minutes, and the detector temperature was set at 260 °C. The results were expressed as a relative percentage.

The amino acid assay was carried out according to the instructions of the AccQ-Fluor reagent kit (Waters Corporation, Milford, MA, USA). The derivatized amino acids were injected into an HPLC Elite LaChrom (Hitachi High Technologies, Japan). The equipment conditions were as follows: Hypersil GOLD C18 column of 5 μm \times 4.6 mm \times 150 mm, column temperature: 37 °C, injection volume: 5 μL , mobile phase flow: 1 mL/min, excitation wavelength:

longitud de onda de excitación de 250 nm, longitud de onda de emisión de 395 nm, fase móvil A acetato de sodio pH 5.1, fase móvil B acetonitrilo, la rampa de la fase móvil fue: 0 min (100.0), 2 min (100.0), 24 min (83.5, 16.5), 30 min (75.25), 30.1 min (100.0) y 38 min (100.0). La cuantificación de los aminoácidos se realizó con una curva de calibración de 5 a 50 pmol/μL. Los resultados fueron expresados en como porcentaje en peso (% p/p).

Índice de aminoácidos

El score de aminoácidos (AAS) fue calculado de acuerdo a como lo describe Peñaflorida (1989) y Oser (1959). Se utilizó como proteína patrón los requerimientos de aminoácidos esenciales recomendados para las especies *Pleuronectes ferruginea*, *Hippoglossus hippoglossus* y *Paralichthys olivaceus*, peces planos como el “lenguado” (*Paralichthys adspersus*) cultivado en nuestro país (Kim and Lall, 2000) y para el camarón (*Penaeus vannamei*) (Xie *et al.*, 2012) (Tabla 2). En el caso que el *score* de aminoácidos fue superior a 1, este valor se reemplazó con 1. El índice de aminoácidos esenciales propuesta por Peñaflorida (1989) se muestra en la ecuación 1.

$$EAAI = \sqrt[n]{AAS_1 \times AAS_2 \dots \times AAS_n} \quad (1)$$

Un valor de EAAI mayor de 0.95 muestra una alta calidad de proteína, si está entre 0.86 y 0.95 se determina como “buena” calidad de proteína, entre 0.75 y 0.86 se determina como “utilizable”, sin embargo, un valor menor de 0.75 se refiere a una proteína inadecuada (Oser, 1959).

250 nm, emission wavelength: 395 nm, mobile phase A: sodium acetate, pH 5.1, mobile phase B: acetonitrile. The mobile phase ramp was as follows: 0 min (100.0), 2 min (100.0), 24 min (83.5, 16.5), 30 min (75.25), 30.1 min (100.0), and 38 min (100.0). Amino acids were quantified using a calibration curve from 5 to 50 pmol/μL. The results were expressed as a percentage by weight (% w/w).

Amino acid index

The amino acid score (AAS) was calculated according to the description provided by Peñaflorida (1989) and Oser (1959). The standard protein used corresponded to the essential amino acid requirements recommended for the species *Pleuronectes ferruginea*, *Hippoglossus hippoglossus*, and *Paralichthys olivaceus*, flatfish like the ‘flounder’ (*Paralichthys adspersus*) cultivated in our country (Kim and Lall, 2000), as well as to those for shrimp (*Penaeus vannamei*) (Xie *et al.*, 2012) (Table 2). If the amino acid score was higher than 1, this value was replaced with 1. The essential amino acid index proposed by Peñaflorida (1989) is shown in Equation 1.

$$EAAI = \sqrt[n]{AAS_1 \times AAS_2 \dots \times AAS_n} \quad (1)$$

An EAAI value higher than 0.95 indicates a high quality of protein. If it is between 0.86 and 0.95, it is deemed to be of ‘good’ protein quality, and values between 0.75 and 0.86 correspond to a ‘usable’ protein quality. Finally, a value of less than 0.75 refers to an ‘inadequate’ protein (Oser, 1959).

Tabla 2. Requerimiento de aminoácidos en diferentes especies acuícolas (% p/p), concentraciones adaptados de Kim y Lall (2000) y Xie *et al.* (2012).

Aminoácidos / Amino acids	<i>P. ferruginea</i>	<i>H. hippoglossus</i>	<i>P. olivaceus</i>	<i>P. vannamei</i>
Arginina / Arginine (Arg)	6.79	6.85	6.75	1.96
Histidina / Histidine (His)	2.45	2.88	2.36	0.80
Isoleucina / Isoleucine (Ile)	4.11	4.36	3.91	1.73
Leucina / Leucine (Leu)	7.57	7.82	7.59	2.37
Lisina / Lysine (Lys)	8.56	8.85	9.15	1.64
Fenilalanina / Phenylalanine (Phe) + Tirosina / Tyrosine (Tyr)	6.51	7.45	7.86	1.40
Treonina / Threonine (Thr)	4.43	4.62	4.49	1.18
Valina / Valine (Val)	5.63	5.24	4.57	1.40

Table 2. Amino acid requirements in different aquaculture species (% w/w). Concentrations adapted from Kim and Lall (2000) and Xie *et al.* (2012)..

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y pruebas post-hoc Tukey, para comparar los promedios de todos los ensayos de lípidos, proteínas, carbohidratos, cenizas, humedad, ácidos grasos y aminoácidos mediante el software Minitab® 17 (Pennsylvania, EE. UU.). Así mismo, se utilizó el mapa de calor (Heat Map) para determinar la relación de las cepas de microalgas con los ácidos grasos y aminoácidos, mediante el software R-Studio 1.2.5001 (Boston, EE. UU.).

RESULTADOS

Perfil nutricional

El mayor porcentaje de proteínas lo obtuvo la cepa IMP-BG-466, del género *Skeletonema* (30.4 ± 0.8 %), y el menor porcentaje fue de la cepa IMP-BG-056 del género *Chaetoceros* (12.7 ± 0.7 %) (Figura 1). Las otras cepas del género *Skeletonema* no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$).

Con respecto al porcentaje de lípidos totales, las cepas IMP-BG-363 e IMP-BG-466, del género *Skeletonema*, presentaron los mayores porcentajes, 8.9 ± 0.0 % y 8.0 ± 0.2 % respectivamente, sin diferencias significativas entre estas ($p > 0.05$), las otras cepas del género *Skeletonema* no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$). Las cepas del género *Chaetoceros* obtuvieron porcentajes de lípidos totales menores a 3.5 % y no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$).

Los mayores porcentajes de carbohidratos se presentaron en el grupo del género *Skeletonema* (desde 9 hasta 23 %), mientras que las cepas de *Chaetoceros* no superaron el 5 %. Dentro de este último género, la cepa IMP-BG-056 presentó el menor porcentaje (2.5 ± 0.1 %), mientras que las cepas IMP-BG-057 e IMP-BG-058 correspondientes a las especies *C. socialis* y *C. compressus*, no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$). Asimismo, en el género *Skeletonema*, solo las cepas IMP-BG-364 e IMP-BG-465, obtuvieron el porcentaje de carbohidratos superior a 20 %, y no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$).

Con respecto al porcentaje de cenizas, las cepas del género *Chaetoceros*, presentaron valores superiores a 39 %, siendo la cepa IMP-BG-056 (*C. debilis*) la que mayor porcentaje presentó (57.1 ± 0.1 %). Por otro lado, las cepas del género *Skeletonema*, presentaron porcentajes entre 19 a 27 % de cenizas.

Statistical analysis

An analysis of variance (ANOVA) was conducted with a significance level of $\alpha = 0.05$ and *post hoc* Tukey tests, in order to compare the averages of all assays regarding lipids, proteins, carbohydrates, ash, moisture, fatty acids, and amino acids. This was done via the Minitab 17 software (Pennsylvania, USA). Likewise, a heat map was used to determine the relationship between the microalgae strains and the fatty acids and amino acids using the R-Studio 1.2.5001 software (Boston, USA).

RESULTS

Nutritional profile

The highest percentage of proteins was obtained by strain IMP-BG-466 of the genus *Skeletonema* (30.4 ± 0.8 %), and the lowest percentage was from strain IMP-BG-056 of the genus *Chaetoceros* (12.7 ± 0.7 %) (Figure 1). The other strains of the genus *Skeletonema* did not show significant differences ($p > 0.05$).

Regarding the percentage of total lipids, strains IMP-BG-363 and IMP-BG-466 of the genus *Skeletonema* showed the highest percentages, *i.e.*, 8.9 ± 0.0 % and 8.0 ± 0.2 %, respectively, with no significant differences between them ($p > 0.05$). The other strains of the genus *Skeletonema* did not show significant differences ($p > 0.05$). The strains of the genus *Chaetoceros* reported total lipids percentages of less than 3.5 % and did not show significant differences ($p > 0.05$).

The highest percentages of carbohydrates were found in the group of the genus *Skeletonema* (ranging from 9 to 23 %), while the strains of *Chaetoceros* did not exceed 5 %. Within the latter, strain IMP-BG-056 showed the lowest percentage (2.5 ± 0.1 %), while strains IMP-BG-057 and IMP-BG-058, corresponding to the species *C. socialis* and *C. compressus*, did not show significant differences ($p > 0.05$). Likewise, in the genus *Skeletonema*, only strains IMP-BG-364 and IMP-BG-465 reported a carbohydrate percentage higher than 20 %, and they did not show significant differences between each other ($p > 0.05$).

Regarding the percentage of ash, the strains of the genus *Chaetoceros* showed values higher than 39 %, with strain IMP-BG-056 (*C. debilis*) being the one with the highest percentage (57.1 ± 0.1 %). On the other hand, the strains of the genus *Skeletonema* showed ash percentages between 19 and 27 %.

El porcentaje de humedad en todas las muestras fue menor a 14 %. Las cepas IMP-BG-364 e IMP-BG-429, del género *Skeletonema* fueron las que presentaron mayor porcentaje de humedad y no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$). Las cepas IMP-BG-465, IMP-BG-466 (género *Skeletonema*), IMP-BG-058 e IMP-BG-056, siendo estas últimas del género (*Chaetoceros*), tampoco presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$).

The percentage of moisture in all samples was less than 14 %. The strains IMP-BG-364 and IMP-BG-429 from the genus *Skeletonema* showed the highest moisture percentage and exhibited no significant differences ($p > 0.05$). The strains IMP-BG-465, IMP-BG-466 (genus *Skeletonema*), IMP-BG-058, and IMP-BG-056, the latter two belonging to the genus *Chaetoceros*, showed no significant differences between each other ($p > 0.05$).

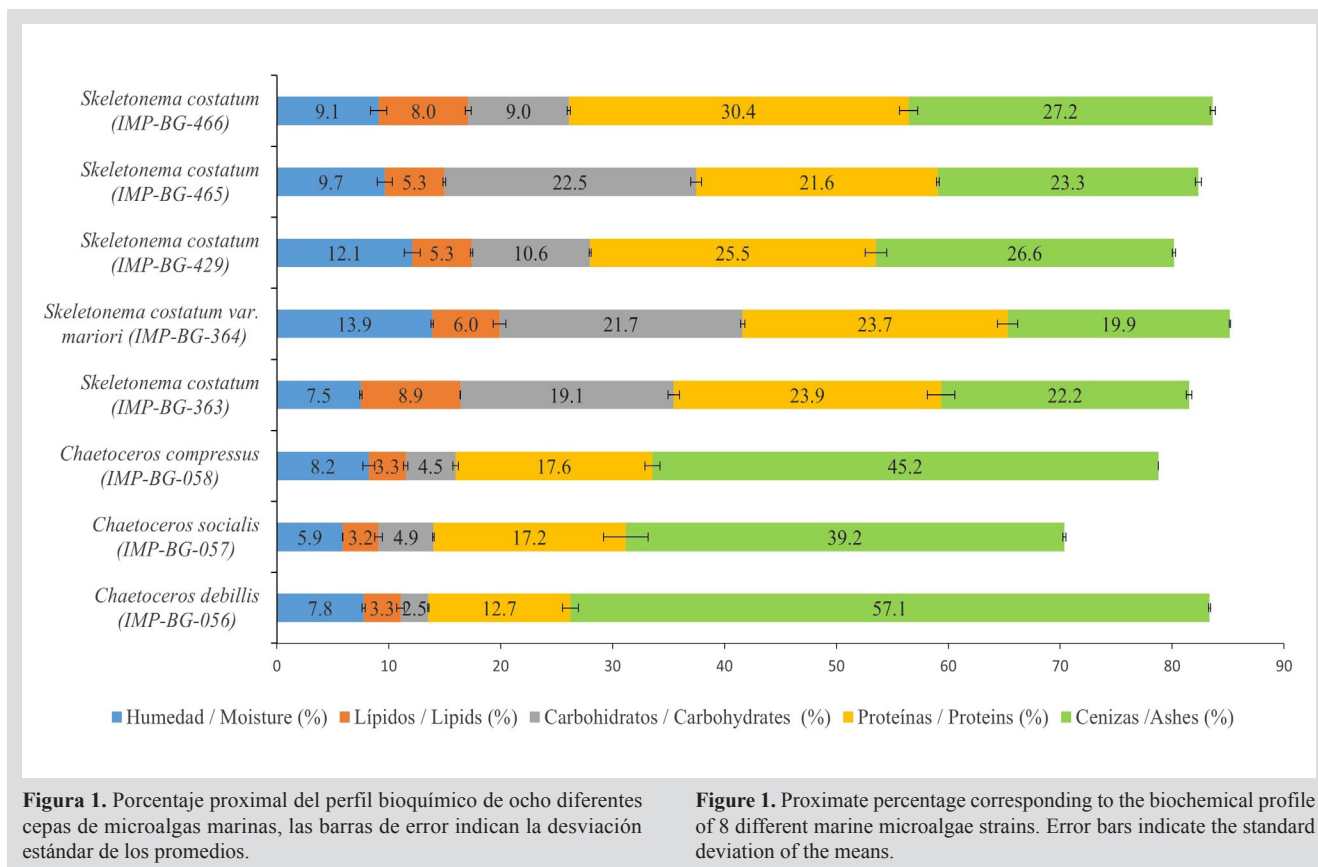


Figura 1. Porcentaje proximal del perfil bioquímico de ocho diferentes cepas de microalgas marinas, las barras de error indican la desviación estándar de los promedios.

Figure 1. Proximate percentage corresponding to the biochemical profile of 8 different marine microalgae strains. Error bars indicate the standard deviation of the means.

Composición de ácidos grasos

En general, los ácidos grasos con mayores porcentajes relativos fueron C 14:0, C 16:3n-4 y el C 20:5n-3 (EPA). Los porcentajes relativos del ácido graso C 14:0 estuvieron entre 11 y 24 % con diferencias significativas entre sí ($p < 0.05$). Las cepas del género *Skeletonema* obtuvieron el mayor porcentaje relativo del ácido C 16:3n-4, entre 18 y 27 %, mientras que las cepas del género *Chaetoceros* obtuvieron los menores porcentajes entre 0.6 y 4.8 %. Con respecto al EPA, la cepa IMP-BG-056 de la especie *C. debillis* obtuvo el mayor porcentaje relativo (30.2 ± 0.9 %), y la cepa IMP-BG-465, correspondiente a *S. costatum*, obtuvo el menor porcentaje relativo (13.4 ± 0.0 %).

Fatty acid composition

In general, the fatty acids with the highest relative percentages were C14:0, C16:3n-4, and C20:5n-3 (EPA). The relative percentages of the fatty acid C14:0 ranged from 11 to 24 %, with significant differences between them ($p < 0.05$). Strains of the genus *Skeletonema* had the highest relative percentage of the acid C16:3n-4 (between 18 and 27 %), while strains of the genus *Chaetoceros* had the lowest percentages (between 0.6 and 4.8 %). Regarding EPA, the strain IMP-BG-056 of the species *C. debillis* showed the highest relative percentage (30.2 ± 0.9 %), and the strain IMP-BG-465, corresponding to *S. costatum*, had the lowest one (13.4 ± 0.0 %).

Por otro lado, la mayor proporción de DHA/EPA se registró en las cepas de *Skeletonema*, seguidas de las demás especies de *Chaetoceros*, esto debido a que los porcentajes relativos de DHA fueron casi nulos para *Chaetoceros*. Los porcentajes de $\omega 3$ estuvieron entre 18 y 33 %, siendo el EPA el ácido graso de mayor aporte en todas las cepas, mientras que los valores de $\omega 6$ estuvieron entre 0.5 y 1.2 %. Las cepas del género *Chaetoceros*, IMP-BG-056 e IMP-BG-058, superaron la proporción $\omega 3 / \omega 6 > 50$ (Tabla 3).

En el mapa de calor se agruparon las cepas del género *Skeletonema* y *Chaetoceros* en clústeres diferentes, debido a las diferencias de porcentaje relativo de los ácidos grasos C 16:0, C 16:3n-4 y C 18:1n-7. Los ácidos grasos se separaron en dos clústeres, los de mayor porcentaje relativo (C 16:3n-4, C 14:0 y EPA) y el resto de menor porcentaje relativo (Figura 2).

Tabla 3. Composición de ácidos grasos de las cepas evaluadas expresados como promedio del porcentaje relativo \pm desviación estándar.

Especie / Specie	<i>C. debilllis</i>	<i>C. socialis</i>	<i>C. compressus</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i> var. <i>mariori</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>
Código / Code	IMP- BG-056	IMP- BG-057	IMP- BG-058	IMP- BG-363	IMP- BG-364	IMP- BG-429	IMP- BG-465	IMP- BG-466
Lípidos / Lipids (%)	3.3 \pm 0.3 ^c	3.2 \pm 0.3 ^c	3.3 \pm 0.2 ^c	8.9 \pm 0.0 ^a	6.0 \pm 0.6 ^b	5.3 \pm 0.1 ^b	5.3 \pm 0.1 ^b	8.0 \pm 0.3 ^a
C 14:0	21.8 \pm 0.6 ^b	11.1 \pm 0.0 ^f	14.3 \pm 0.2 ^c	20.0 \pm 0.3 ^c	18.4 \pm 0.2 ^d	18.7 \pm 0.4 ^{cd}	23.4 \pm 0.7 ^a	18.9 \pm 0.1 ^{cd}
C 16:0	8.5 \pm 0.4 ^c	11.1 \pm 0.4 ^b	16.1 \pm 0.5 ^a	4.6 \pm 0.5 ^{cf}	6.1 \pm 0.0 ^d	4.9 \pm 0.1 ^{de}	5.2 \pm 0.6 ^{de}	3.3 \pm 0.0 ^f
C 18:0	0.9 \pm 0.0 ^b	2.0 \pm 0.1 ^a	2.0 \pm 0.1 ^a	0.5 \pm 0.2 ^{bc}	0.3 \pm 0.0 ^c	0.4 \pm 0.1 ^c	0.6 \pm 0.0 ^{bc}	0.2 \pm 0.0 ^c
ΣSAFAs	31.2	24.3	32.4	25.1	24.6	23.9	29.2	22.4
C 16:1n-9	6.7 \pm 0.4 ^a	4.8 \pm 0.1 ^c	6.8 \pm 0.2 ^a	5.3 \pm 0.1 ^{bc}	2.9 \pm 0.0 ^d	3.2 \pm 0.0 ^d	5.8 \pm 0.0 ^b	5.8 \pm 0.1 ^b
C 16:1n-7	11.7 \pm 0.4 ^c	12.8 \pm 0.1 ^d	16.0 \pm 0.0 ^b	10.5 \pm 0.0 ^f	10.6 \pm 0.1 ^f	15.1 \pm 0.2 ^c	16.7 \pm 0.0 ^a	8.7 \pm 0.0 ^g
C 18:1n-7	8.2 \pm 0.1 ^c	29.9 \pm 0.6 ^a	12.5 \pm 0.1 ^b	1.2 \pm 0.0 ^{cf}	1.5 \pm 0.1 ^{cf}	2.3 \pm 0.1 ^c	5.9 \pm 0.8 ^d	0.9 \pm 0.0 ^f
C 18:1n-9	1.1 \pm 0.0 ^c	6.5 \pm 0.2 ^a	2.3 \pm 0.2 ^b	0.9 \pm 0.1 ^c	0.7 \pm 0.0 ^{cd}	0.8 \pm 0.0 ^{cd}	1.9 \pm 0.2 ^b	0.4 \pm 0.0 ^d
ΣMUFAs	27.6	53.9	37.6	17.9	15.7	21.5	30.3	15.8
C 16:2n-4	3.6 \pm 0.0 ^b	1.7 \pm 0.0 ^f	3.1 \pm 0.0 ^d	2.3 \pm 0.0 ^c	3.7 \pm 0.0 ^b	3.7 \pm 0.0 ^b	3.4 \pm 0.1 ^c	4.2 \pm 0.0 ^a
C 16:3n-4	4.9 \pm 0.1 ^d	0.7 \pm 0.1 ^f	2.5 \pm 0.0 ^c	24.4 \pm 0.7 ^b	26.2 \pm 0.2 ^a	24.9 \pm 0.2 ^{ab}	18.5 \pm 0.8 ^c	25.8 \pm 0.2 ^{ab}
C 16:4n-3	0.6 \pm 0.0 ^a	0.6 \pm 0.0 ^a	0.6 \pm 0.0 ^a	0.4 \pm 0.0 ^{bc}	0.3 \pm 0.0 ^c	0.3 \pm 0.0 ^{bc}	0.5 \pm 0.1 ^{ab}	0.5 \pm 0.1 ^a
C 18:2n-6	0.2 \pm 0.0 ^f	0.3 \pm 0.0 ^{cf}	0.4 \pm 0.0 ^{dc}	0.6 \pm 0.1 ^{bc}	0.8 \pm 0.0 ^a	0.7 \pm 0.0 ^{ab}	0.4 \pm 0.0 ^{dc}	0.5 \pm 0.0 ^{cd}
C 18:3n-6	0.1 \pm 0.0 ^{bc}	0.2 \pm 0.0 ^a	0.0 \pm 0.0 ^c	0.1 \pm 0.0 ^{cde}	0.1 \pm 0.0 ^{bcd}	0.2 \pm 0.0 ^{ab}	0.0 \pm 0.0 ^{dc}	0.1 \pm 0.1 ^{bcd}
C 18:3n-3	0.0 \pm 0.0 ^d	0.6 \pm 0.0 ^a	0.0 \pm 0.0 ^d	0.4 \pm 0.0 ^{bc}	0.6 \pm 0.0 ^a	0.5 \pm 0.0 ^{ab}	0.3 \pm 0.0 ^c	0.6 \pm 0.1 ^a
C 18:4n-3	0.4 \pm 0.0 ^c	0.3 \pm 0.0 ^{cf}	0.3 \pm 0.0 ^f	0.7 \pm 0.0 ^d	1.1 \pm 0.0 ^c	0.7 \pm 0.0 ^d	1.8 \pm 0.0 ^b	2.4 \pm 0.1 ^a
C 20:4n-3	0.4 \pm 0.0 ^a	0.1 \pm 0.0 ^{bc}	0.3 \pm 0.0 ^{ab}	0.1 \pm 0.0 ^c	0.2 \pm 0.0 ^{bc}	0.2 \pm 0.0 ^{bc}	0.1 \pm 0.0 ^c	0.2 \pm 0.1 ^{bc}
C 20:4n-6	0.1 \pm 0.0 ^c	0.2 \pm 0.0 ^b	0.0 \pm 0.0 ^c	0.3 \pm 0.0 ^a	0.3 \pm 0.0 ^a	0.2 \pm 0.0 ^a	0.1 \pm 0.0 ^d	0.3 \pm 0.0 ^a

On the other hand, the highest DHA/EPA ratio was recorded for the *Skeletonema* strains, followed by the other species of *Chaetoceros* because the relative DHA percentages were less than 1 %. The percentages of $\omega 3$ ranged from 18 to 33 %, with EPA being the fatty acid that contributed the most in all strains, while the $\omega 6$ values were between 0.5 and 1.2 %. The strains of the genus *Chaetoceros*, IMP-BG-056 and IMP-BG-058, exceeded the $\omega 3 / \omega 6$ ratio > 50 (Table 3).

In the heat map, the strains of the genus *Skeletonema* and *Chaetoceros* were grouped into different clusters due to differences in the relative percentage of fatty acids C 16:0, C 16:3n-4, and C 18:1n-7. The fatty acids were separated into two clusters: those with a higher relative percentage (C16:3n-4, C 14:0, and EPA) and the rest with a lower relative percentage (Figure 2).

Table 3. Fatty acid composition of the evaluated strains expressed as the average of the relative percentage \pm standard deviation.

Especie / Specie	<i>C. debillis</i>	<i>C. socialis</i>	<i>C. compressus</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i> var. <i>mariori</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>
Código / Code	IMP-BG-056	IMP-BG-057	IMP-BG-058	IMP-BG-363	IMP-BG-364	IMP-BG-429	IMP-BG-465	IMP-BG-466
C 20:5n-3 (EPA)	30.2 ± 0.9 ^a	17.2 ± 0.1 ^f	22.1 ± 0.6 ^{de}	24.4 ± 0.2 ^{bc}	23.4 ± 0.2 ^{cd}	20.4 ± 0.5 ^c	13.4 ± 0.0 ^e	25.5 ± 0.1 ^b
C 22:6n-3 (DHA)	0.6 ± 0.1 ^e	0.0 ± 0.0 ^f	0.7 ± 0.0 ^e	3.5 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.0 ^b	2.8 ± 0.0 ^b	2.0 ± 0.1 ^c	1.7 ± 0.0 ^d
ΣPUFAs	41.2	21.8	29.9	57.0	59.5	54.6	40.5	61.8
DHA / EPA	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.0
ΣDHA + EPA	30.8	17.2	22.8	27.9	26.3	23.2	15.4	27.2
Omega-3 (ω3)	32.2	18.8	23.8	29.4	28.4	24.9	18.1	30.9
Omega-6 (ω6)	0.5	0.7	0.5	0.9	1.2	1.08	0.5	0.9
ω3 / ω6	62.8	26.2	52.2	34.3	24.0	23.0	34.2	36.0

SAFAs: ácidos grasos saturados, MUFAs: ácidos grasos mono saturados, PUFAs: ácidos grasos poliinsaturados. Las comparaciones de los promedios de los porcentajes relativos de ácidos grasos por cepas mostraron diferencias significativas indicadas por las letras de la a-g, según la prueba post-hoc de Tukey.

SAFAs: Saturated fatty acids, MUFAs: Monounsaturated fatty acids, PUFAs: Polyunsaturated fatty acids. Comparisons of the average relative fatty acid percentages by strain showed significant differences, as indicated by the letters a-g, according to the Tukey post hoc test.

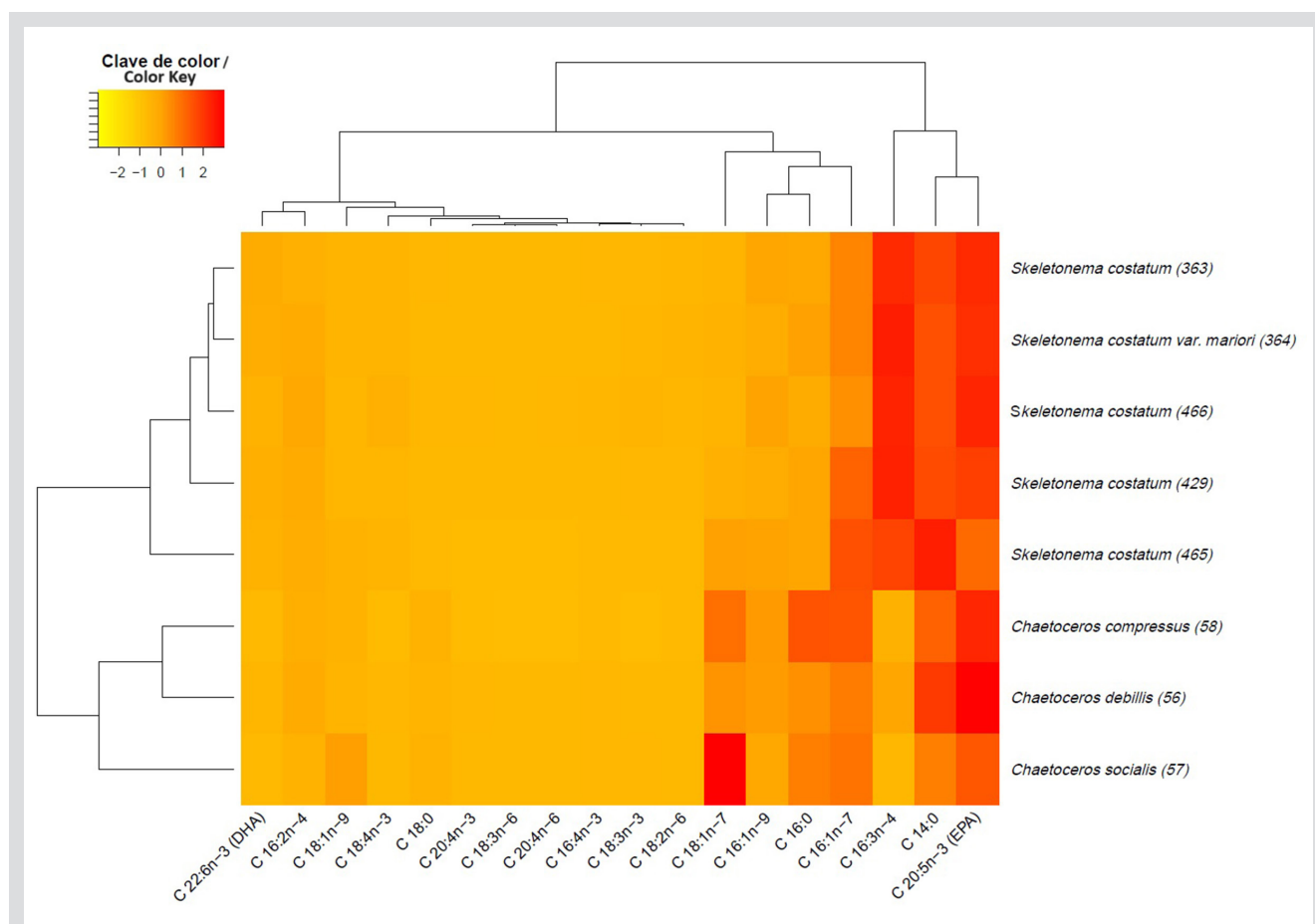


Figura 2. Mapa de calor de cepas analizadas por ácidos grasos.

Figure 2. Heat map of strains analyzed for fatty acids

Composición de aminoácidos

Dentro de los aminoácidos identificados, los ácidos glutámico y aspártico, la leucina y la alanina fueron los mayoritarios (cada una $\geq 1\%$). Por otro lado, el aminoácido con menor porcentaje de todas las cepas fue la histidina ($\leq 0.7\%$). La cepa IMP-BG-466 de la especie *S. costatum* presentó el mayor porcentaje de aminoácidos ($33.3 \pm 0.2\%$) (Tabla 4).

Con respecto al EAAI, en general para peces planos y el langostino, las cepas del género *Skeletonema* poseen una buena calidad de proteína debido a que los EAAs se encontraron entre 0.86 y 0.95. No obstante, la tabla 4 muestra que las cepas del género *Chaetoceros* poseen una calidad utilizable de proteína (EAAs ≤ 0.86). Además, de acuerdo al *score* de aminoácidos (datos no mostrados), en ambos géneros de microalga, para peces planos, los aminoácidos limitantes fueron la lisina (de 0.45 a 0.80) y la histidina (de 0.61 a 1). En el caso del langostino *P. vannamei*, los aminoácidos limitantes fueron la histidina (de 0.52 a 0.70) y la arginina (de 0.73 a 0.94).

En el mapa de calor de aminoácidos (Figura 3), se clasificaron las cepas en dos grupos. El primer clúster agrupó la mayoría de las cepas del género *Skeletonema* y el segundo clasificó a las cepas del género *Chaetoceros* junto con la IMP-BG-363 de la especie *S. costatum*. Estos dos clústeres se separan por la diferencia de porcentajes de alanina y leucina. Asimismo, los aminoácidos se separaron en dos clústeres de acuerdo a su porcentaje, uno de mayor porcentaje en peso (ácido aspártico y ácido glutámico), y el otro con el resto de aminoácidos de menor porcentaje.

Tabla 4. Composición de aminoácidos (% p/p) de las cepas evaluadas.

Especie / Specie	<i>C. debillis</i>	<i>C. socialis</i>	<i>C. compressus</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i> var. <i>mairori</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>
Código / Code	IMP-BG-056	IMP-BG-057	IMP-BG-058	IMP-BG-363	IMP-BG-364	IMP-BG-429	IMP-BG-465	IMP-BG-466
Aminoácidos esenciales / Essential amino acids								
Arginina / Arginine (Arg)	0.77 \pm 0.02 ^f	1.34 \pm 0.05 ^d	1.11 \pm 0.07 ^c	1.55 \pm 0.06 ^c	1.59 \pm 0.03 ^c	1.96 \pm 0.01 ^a	1.78 \pm 0.05 ^b	1.91 \pm 0.02 ^{ab}
Fenilalanina / Phenylalanine (Phe)	0.94 \pm 0.03 ^c	1.65 \pm 0.07 ^{bc}	1.31 \pm 0.10 ^d	1.75 \pm 0.13 ^b	1.55 \pm 0.02 ^{bcd}	1.65 \pm 0.01 ^{bc}	1.48 \pm 0.07 ^{cd}	2.07 \pm 0.00 ^a
Histidina / Histidine (His)	0.24 \pm 0.01 ^d	0.42 \pm 0.02 ^c	0.32 \pm 0.02 ^d	0.57 \pm 0.04 ^b	0.54 \pm 0.01 ^b	0.57 \pm 0.00 ^b	0.52 \pm 0.03 ^b	0.67 \pm 0.00 ^a
Isoleucina / Isoleucine (Ile)	0.79 \pm 0.03 ^d	1.34 \pm 0.06 ^b	1.10 \pm 0.07 ^c	1.46 \pm 0.05 ^b	1.33 \pm 0.02 ^b	1.47 \pm 0.01 ^b	1.31 \pm 0.03 ^b	1.76 \pm 0.03 ^a

Amino acid composition

Among the identified amino acids, glutamic acid, aspartic acid, leucine, and alanine had the highest concentration (each one $\geq 1\%$). On the other hand, the amino acid with the lowest percentage in all strains was histidine ($\leq 0.7\%$). The strain IMP-BG-466 of the species *S. costatum* showed the highest percentage of amino acids ($33.3 \pm 0.2\%$) (Table 4).

Regarding the EAAI, in general for flatfish and shrimp, the strains of the genus *Skeletonema* have a good protein quality, as the EAAs were between 0.86 and 0.95. Table 4 shows that strains of the genus *Chaetoceros* possess a usable protein quality of protein (EAAs ≤ 0.86). In addition, according to the amino acid score (data not shown) of both microalgae genera, for flatfish, the limiting amino acids were lysine (from 0.45 to 0.80) and histidine (from 0.61 to 1). In the case of the shrimp *P. vannamei*, the limiting amino acids were histidine (from 0.52 to 0.70) and arginine (from 0.73 to 0.94).

In the amino acid heat map (Figure 3), the strains were classified into two groups. The first cluster grouped most of the strains of the genus *Skeletonema*, and the second classified those of the genus *Chaetoceros* together with the strain IMP-BG-363 of the species *S. costatum*. These two clusters are separated by the difference in percentages of alanine and leucine. Likewise, the amino acids were separated into two clusters according to their percentage, one with a higher percentage by weight (aspartic acid and glutamic acid), and the other with the rest of the amino acids of a lower percentage.

Table 4. Amino acid composition (% w/w) of the evaluated strains.



Espece / Specie	<i>C. debillis</i>	<i>C. socialis</i>	<i>C. compressus</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i> var. <i>mairori</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>
Código / Code	IMP-BG-056	IMP-BG-057	IMP-BG-058	IMP-BG-363	IMP-BG-364	IMP-BG-429	IMP-BG-465	IMP-BG-466
Leucina / Leucine (Leu)	1.18 ± 0.04 ^d	2.07 ± 0.10 ^b	1.67 ± 0.11 ^c	2.27 ± 0.11 ^b	2.04 ± 0.04 ^b	2.25 ± 0.01 ^b	2.00 ± 0.03 ^b	2.70 ± 0.04
Lisina / Lysine (Lys)	0.68 ± 0.02 ^c	1.04 ± 0.05 ^d	1.02 ± 0.05 ^d	1.77 ± 0.08 ^{bc}	1.79 ± 0.02 ^b	1.95 ± 0.02 ^a	1.62 ± 0.02 ^c	2.06 ± 0.01 ^a
Treonina / Threonine (Thr)	0.70 ± 0.01 ^c	1.40 ± 0.08 ^{ab}	1.12 ± 0.06 ^d	1.30 ± 0.06 ^{bc}	1.17 ± 0.03 ^{cd}	1.29 ± 0.01 ^{bcd}	1.22 ± 0.01 ^{cd}	1.53 ± 0.02 ^a
Valina / Valine (Val)	0.83 ± 0.03 ^d	1.55 ± 0.09 ^b	1.25 ± 0.07 ^c	1.54 ± 0.05 ^b	1.39 ± 0.01 ^{bc}	1.55 ± 0.01 ^b	1.41 ± 0.04 ^{bc}	1.88 ± 0.01 ^a
Aminoácidos no esenciales / Non-essential amino acids								
Alanina / Alanine (Ala)	0.95 ± 0.46 ^c	1.24 ± 0.04 ^c	1.48 ± 0.59 ^{bc}	1.26 ± 0.01 ^c	2.44 ± 0.06 ^{ab}	2.76 ± 0.03 ^a	2.38 ± 0.01 ^{ab}	3.12 ± 0.01 ^a
Ácido aspártico / Aspartic acid (Asp)	1.53 ± 0.04 ^d	2.82 ± 0.15 ^{bc}	2.52 ± 0.14 ^c	2.99 ± 0.13 ^b	2.86 ± 0.03 ^{bc}	3.48 ± 0.04 ^a	2.89 ± 0.03 ^b	3.66 ± 0.01 ^a
Glicina / Glycine (Gly)	0.87 ± 0.04 ^d	1.67 ± 0.11 ^b	1.41 ± 0.07 ^c	1.73 ± 0.09 ^b	1.59 ± 0.04 ^{bc}	1.75 ± 0.00 ^b	1.58 ± 0.06 ^{bc}	2.03 ± 0.02 ^a
Serina / Serine (Ser)	0.65 ± 0.01 ^d	1.30 ± 0.19 ^b	1.03 ± 0.06 ^c	1.42 ± 0.09 ^b	1.24 ± 0.03 ^b	1.38 ± 0.02 ^b	1.28 ± 0.02 ^c	1.67 ± 0.02 ^a
Prolina / Proline (Pro)	0.56 ± 0.02 ^d	1.04 ± 0.06 ^b	0.82 ± 0.04 ^c	1.1 ± 0.05 ^b	1.01 ± 0.02 ^b	1.1 ± 0.00 ^b	1.03 ± 0.02 ^b	1.34 ± 0.01 ^a
Ácido glutámico / Glutamic acid (Glu)	1.75 ± 0.04 ^d	3.86 ± 0.16 ^{bc}	3.1 ± 0.18 ^c	4.03 ± 0.17 ^{bc}	3.87 ± 0.07 ^{bc}	4.23 ± 0.03 ^{ab}	3.40 ± 0.03 ^{bc}	4.82 ± 0.02 ^a
Tirosina / Tyrosine (Tyr)	0.49 ± 0.01 ^c	0.87 ± 0.04 ^b	0.66 ± 0.04 ^d	0.87 ± 0.06 ^b	0.82 ± 0.00 ^{bc}	0.88 ± 0.01 ^b	0.73 ± 0.01 ^{cd}	1.11 ± 0.01 ^a
Índice de Aminoácidos Esenciales / Essential Amino Acid Index (EAAI)								
<i>P. ferruginea</i>	0.86	0.84	0.85	0.91	0.92	0.93	0.93	0.91
<i>H. hippoglossus</i>	0.85	0.83	0.85	0.90	0.92	0.93	0.92	0.90
<i>P. olivaceus</i>	0.86	0.84	0.86	0.91	0.94	0.94	0.93	0.91
<i>P. vannamei</i>	0.85	0.82	0.84	0.89	0.89	0.89	0.90	0.89

Los grupos que no comparten la misma letra presentan promedios con diferencias estadísticamente significativas.

The groups that do not share the same letter have averages with statistically significant differences.

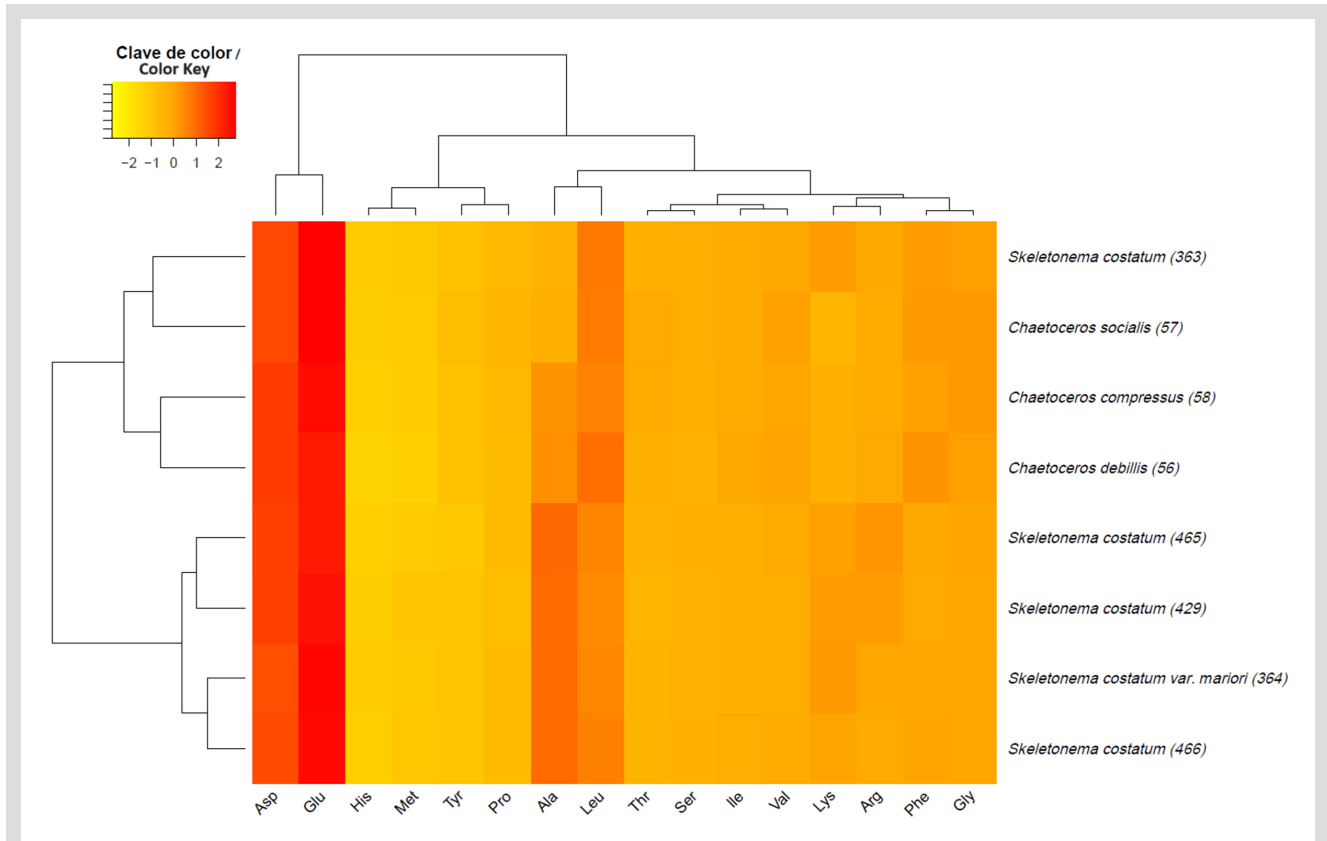


Figura 3. Mapa de calor de cepas analizadas por aminoácidos.

Figure 3. Heat map of strains analyzed for amino acids.

DISCUSIÓN

Perfil nutricional

En acuicultura es necesaria la búsqueda de nuevas fuentes proteicas que cumplan con los requerimientos de cada especie cultivable. Según la FAO, los porcentajes de requerimiento de proteínas en las dietas de peces y langostinos oscilan entre 20 y 45 % (Tacón, 1987). Esta demanda sería satisfecha por los porcentajes de proteína analizadas en *S. costatum* (20 a 31 %), asimismo estos porcentajes se encuentran dentro de los valores registrados por la literatura (Brown y Jeffrey, 1995; Lestari *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Bastos *et al.*, 2022). Según Vásquez-Suárez *et al.* (2010), estos porcentajes se podrían incrementar por encima de 45 %. Dentro del género *Chaetoceros*, los porcentajes de proteína de las cepas analizadas (12 a 18 %), coinciden con lo registrado por Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998) y Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra (2009) para la cepa de *C. mulleri* (6 a 30 %).

En el cultivo de organismos acuáticos los lípidos son esenciales para el crecimiento y supervivencia de larvas de peces (Kanazawa, 1983) y crustáceos (Pascual, 1984),

DISCUSSION

Nutritional profile

In aquaculture, it is necessary to search for new protein sources that meet the requirements of each cultivable species. According to the FAO, the protein requirements in the diets of fish and shrimp range between 20 and 45 % (Tacón, 1987). This demand would be satisfied by the protein percentages analyzed in *S. costatum* (20 to 31 %), and these percentages are within the values reported in the literature (Brown and Jeffrey, 1995; Lestari *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Bastos *et al.*, 2022). According to Vásquez-Suárez *et al.* (2010), these percentages could be increased to over 45 %. Within the genus *Chaetoceros*, the protein percentages of the strains analyzed (12 to 18 %), coincide with those reported by Medina-Reyna and Cordero-Esquivel (1998) and Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra (2009) for the *C. mulleri* strain (6 to 30 %).

In the culture of aquatic organisms, lipids are essential for the growth and survival of fish larvae (Kanazawa, 1983) and crustaceans (Pascual, 1984), with essential fatty acids of the omega-3 (ω 3) and omega-6 (ω 6)

siendo los ácidos grasos esenciales de la serie omega-3 ($\omega 3$) y omega-6 ($\omega 6$) los de mayor valor nutricional. Según la FAO, el requerimiento de lípidos totales es de 5 a 8 % de la dieta (Leger *et al.*, 1979; Tacón, 1987). Esta demanda sería satisfecha por las cepas analizadas de *S. costatum* (5 a 9 %), pero no por las cepas analizadas del género *Chaetoceros* (< 5 %). Sin embargo, existen estudios sobre *S. costatum* que registran niveles elevados de lípidos entre 14 y 19 % (Brown y Jeffrey, 1995; Vásquez-Suárez, *et al.*, 2010), mientras otros registran inferiores al 2 % (Lestari *et al.*, 2014). En el caso del género *Chaetoceros*, los registros son variados; de 11 a 23 % de lípidos en cepas de *C. calcitrans*; de 19 a 22 % en *C. muelleri* (Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra, 2009; Banerjee *et al.*, 2011; Velasco *et al.*, 2016) y solo 7.6 % para la cepa CCMP 3283 de *C. socialis* (d'Ippolito *et al.*, 2015). El menor porcentaje de lípidos en el género *Chaetoceros* se debió posiblemente a las condiciones óptimas de cultivo (Hu *et al.*, 2008), además, estas cepas tienen el potencial de incrementarlo hasta 40 % en condiciones de estrés por deficiencia de nutrientes y altas intensidades lumínicas (Rodolfi *et al.*, 2009).

En nutrición acuícola, al contrario de las proteínas y lípidos, los carbohidratos no poseen un porcentaje de requerimiento absoluto, son una fuente de energía de bajo costo, sustituyen la conversión de proteínas a energía y se utilizan en la formulación de dietas como aglutinantes y saborizantes (Tacón, 1987). Los porcentajes de carbohidratos de las cepas analizadas de *S. costatum* (9 y 23 %) no superaron los porcentajes de Van Houcke *et al.* (2017), de 23 a 25 %, para cepas de la misma especie, pero contienen el porcentaje de 18.3 % registrado por Vásquez-Suárez *et al.* (2010). Por otro lado, los porcentajes de carbohidratos de las cepas analizadas del género *Chaetoceros* (< 5 %) fueron similares a lo presentado por Brown y Jeffrey (1995) y por Banerjee *et al.* (2011) en *C. calcitrans*, los cuales fueron alrededor de 6 %. En contraste, Bastos *et al.* (2022) registraron valores entre 23 a 26 % para *C. calcitrans*, además para *C. mulleri* se registraron de 10 a 37 % según Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998), Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra (2009) y Velasco *et al.* (2016). Esta variación, posiblemente es debido a que los carbohidratos cumplen una función en el mantenimiento de la pared celular y es probable que su disponibilidad sea cambiante según condiciones de laboratorio y fase de crecimiento (Schmid *et al.*, 1981).

En acuicultura los minerales de las cenizas son importantes porque concentran metales como el zinc que previenen enfermedades patológicas en peces (Shearer *et al.*, 1992) o que interviene en el crecimiento del tejido

series being of the highest nutritional value. According to the FAO, the requirement for total lipids is 5-8 % of the diet (Leger *et al.*, 1979; Tacón, 1987). This demand would be met by the analyzed strains of *S. costatum* (5 to 9 %), but not by the analyzed strains of the genus *Chaetoceros* (< 5 %). However, there are studies on *S. costatum* that report high levels of lipids, *i.e.*, between 14 and 19 % (Brown and Jeffrey, 1995; Vásquez-Suárez, *et al.*, 2010), while others report less than 2 % (Lestari *et al.*, 2014). In the case of the genus *Chaetoceros*, the reports are varied: 11-23 % lipids in strains of *C. calcitrans*; 19-22 % in *C. muelleri* (Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra, 2009; Banerjee *et al.*, 2011; Velasco *et al.*, 2016); and only 7.6 % for the strain CCMP 3283 of *C. socialis* (d'Ippolito *et al.*, 2015). The lower percentage of lipids in the genus *Chaetoceros* was possibly due to optimal culture conditions (Hu *et al.*, 2008). Moreover, these strains have the potential to increase it up to 40 % under stress conditions due to nutrient deficiency and high light intensities (Rodolfi *et al.*, 2009).

In aquaculture nutrition, contrary to proteins and lipids, carbohydrates do not have an absolute requirement percentage; they are a low-cost source of energy, substitute the conversion of proteins to energy, and are used in diet formulation as binders and flavor enhancers (Tacón, 1987). The carbohydrate percentages of the analyzed strains of *S. costatum* (9 and 23 %) did not exceed the percentages of Van Houcke *et al.* (2017), which were 23 to 25 % for strains of the same species, but they do contain the 18.3 % reported by Vásquez-Suárez *et al.* (2010). On the other hand, the carbohydrate percentages of the analyzed *Chaetoceros* strains (< 5 %) were similar to those reported by Brown and Jeffrey (1995) and Banerjee *et al.* (2011) in *C. calcitrans*, *i.e.*, around 6 %. In contrast, Bastos *et al.* (2022) recorded values between 23 and 26 % for *C. calcitrans*, and values of 10 to 37 % were reported for *C. mulleri* according to Medina-Reyna and Cordero-Esquivel (1998), Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra (2009), and Velasco *et al.* (2016). This variation is possibly due to the fact that carbohydrates play a role in maintaining the cell wall, and it is likely that their availability changes according to laboratory conditions and growth phase (Schmid *et al.*, 1981).

In aquaculture, the micronutrients present in ashes have very important functions, *e.g.*, zinc, which prevent fish diseases (Shearer *et al.*, 1992) or play a role in the growth of solid tissue such as exoskeletons of sponges and valves in mollusks and crustaceans (Simpson and Volcani, 1981; Welladsen *et al.*, 2014). However, some studies have

sólido como exoesqueleto y valvas en esponjas, moluscos y crustáceos (Simpson y Volcani, 1981; Welladsen *et al.*, 2014). Sin embargo, existen estudios que determinan una reducción de crecimiento en peces; afección en la digestibilidad del alimento y la calidad de agua del cultivo, por lo que su porcentaje se minimiza en la elaboración de piensos alimenticios (Satoh *et al.*, 1987). Según los requerimientos nutricionales para dietas de peces, los porcentajes de cenizas deben estar entre 3 a 12 % y para camarones de 2 a 10 %, no obstante, existen insumos que aumentan dicha proporción hasta un 20 % de la dieta como la harina de pescado (Faidutti, 1992; Moreno-Álvarez *et al.*, 2000; García *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2012). De acuerdo con los resultados, se excedería el porcentaje requerido para peces y camarones en más del doble para del género *Skeletonema* y más del triple para el género *Chaetoceros*. Según Bastos *et al.* (2022), el porcentaje de cenizas de *S. costatum* y *C. calcitrans* aumentan en función de la concentración de silicatos en el medio de cultivo, hasta 53 y 50 % respectivamente. Por otro lado, Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998) y Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra (2009) lograron un máximo de 54 y 40 % en una cepa de *C. muelleri* respectivamente. Otros estudios mencionan que el incremento es debido a la naturaleza de las frústulas silíceas que forman las células (Paasche, 1973; Parsons *et al.*, 1984; Cordero-Esquivel *et al.*, 1993).

Composición de ácidos grasos

Ante la demanda de nuevas fuentes sostenibles de ácidos grasos, se propuso la utilización de microalgas marinas por ser fuentes naturales con alto porcentaje relativo de ácidos grasos poliinsaturados. Las investigaciones de Seiliez *et al.* (2003) e Izquierdo (2005) concluyeron que para el óptimo crecimiento del pez *Sparus aurata* se requiere al menos la proporción en la dieta de DHA/EPA de 1.3 y un máximo de 2.5 respectivamente. La proporción más alta de DHA/EPA en esta investigación fue de 0.15 en la cepa IMP-BG-465 de la especie *S. costatum*. Si bien no llega a la proporción requerida de DHA/EPA, se puede utilizar en combinación con otras cepas de microalgas de mayor porcentaje relativo de DHA o aceite de pescado.

Skeletonema costatum es una especie utilizada en la industria acuícola por a su alto porcentaje relativo de EPA, el cual es importante en la dieta de muchos organismos cultivables en la acuicultura como crustáceos y larvas de peces para su buen desarrollo y supervivencia (Koven *et al.*, 2001; Pratiwy y Pratiwi, 2020). También es una especie idónea para el cultivo masivo por su rápido crecimiento y bajos requerimientos de nutrientes (Zafra-Trelles *et al.*, 2017).

reported that a high ash concentration produce reductions in fish growth and effects on digestibility and water quality in the culture, so their percentage is minimized in the preparation of feed (Satoh *et al.*, 1987). According to the nutritional requirements for fish diets, ash percentages should be between 3 and 12 %, as well as from 2 to 10 % for shrimps. However, there are supplies that increase this proportion up to 20 % of the diet, *e.g.*, fishmeal (Faidutti, 1992; Moreno-Álvarez *et al.*, 2000; García *et al.*, 2004; Cruz *et al.*, 2012). According to the results, the required percentage for fish and shrimp would be exceeded by more than double for the genus *Skeletonema* and more than triple for the genus *Chaetoceros*. According to Bastos *et al.* (2022), the ash percentage of *S. costatum* and *C. calcitrans* increases with respect to the concentration of silicates in the culture medium, up to 53 and 50 %, respectively. On the other hand, Medina-Reyna and Cordero-Esquivel (1998) and Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra (2009) achieved maximum values of 54 and 40 % in a strain of *C. muelleri*, respectively. Other studies mention that the increase is due to the nature of the siliceous frustules that form the cells (Paasche, 1973; Parsons *et al.*, 1984; Cordero-Esquivel *et al.*, 1993).

Fatty acid composition

Given the demand for new sustainable sources of fatty acids, the use of marine microalgae was proposed, as they are natural sources with a high relative percentage of polyunsaturated fatty acids. Research conducted by Seiliez *et al.* (2003) and Izquierdo (2005) concluded that, for the optimal growth of the fish *Sparus aurata*, the diet must contain a DHA/EPA ratio of at least 1.3 and a maximum of 2.5. The highest DHA/EPA ratio in this research was 0.15 for the strain IMP-BG-465 of the species *S. costatum*. Although it does not reach the required DHA/EPA ratio, it can be used in combination with other strains of microalgae with a higher relative percentage of DHA or with fish oil.

Skeletonema costatum is a species used in the aquaculture industry given its high relative percentage of EPA, which is important in the diet of many cultivable aquatic organisms (such as crustaceans and fish larvae) for their good development and survival (Koven *et al.*, 2001; Pratiwy and Pratiwi, 2020). It is also an ideal species for mass cultivation due to its rapid growth and low nutrient requirements (Zafra-Trelles *et al.*, 2017).

EPA was the fatty acid with the highest relative percentage in the diatoms analyzed. In the case of *S. costatum*, reports range from 6 to 24 % (Guihéneuf *et al.*,

El EPA fue el ácido graso con mayor porcentaje relativo en las diatomeas analizadas. En el caso de *S. costatum*, los registros van de 6 a 24 % (Guihéneuf *et al.*, 2008; Lestari, *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2019; Bastos *et al.*, 2022). En el género *Chaetoceros*, se registran como valores máximos 19 % en *C. calcitrans* (Bastos *et al.*, 2022) y 17 % en *C. muelleri* (Pacheco-Vega y Sánchez-Saavedra, 2009), siendo menor a la cepa analizada *C. debilis* IMP-BG-056 (30.2 %).

Un aporte resaltante de la presente investigación se observó en el mapa de calor y fue la separación de los géneros *Skeletonema* y *Chaetoceros* en función de su composición de ácidos grasos. Reconociendo a alguno de ellos como posibles marcadores quimio-taxonómicos, resultado similar a Hernández-Acevedo *et al.* (2019). Uno de estos ácidos grasos, el C 16:3n-4, es utilizado por las diatomeas en la producción de aldehídos volátiles para la regulación trófica del zooplancton (d'Ippolito *et al.*, 2004).

Composición de aminoácidos

De acuerdo con los *scores* de aminoácidos, los aminoácidos limitantes fueron la lisina e histidina para peces planos y arginina e histidina para langostinos, que podrían afectar diversas funciones como las que se describen a continuación: en peces, por ejemplo, la lisina se relaciona al crecimiento, formación de tejido muscular (Pineda-Quiroga, 2010) y células reproductivas (Hamid *et al.*, 2016). Por otro lado, la histidina funciona como antioxidante y regulador de pH en órganos de peces (Wade y Tucker, 1998; Munakata *et al.*, 2000). En langostinos, la arginina es precursora de hormonas de crecimiento (Wan *et al.*, 2006) y regenera el ATP en el músculo (Denis *et al.*, 1998).

Con respecto al EAAI, Okaichi (1974) registró los índices de las diatomeas *Cyclotella* sp., *Skeletonema costatum* y *Phaeodactylum tricornotum* en el rango de 0.66 a 0.76 para el pez *Seriola quinqueradiata* (jurel). Los valores reportados en nuestra investigación fueron superiores para peces planos y langostinos, sobre todo las cepas del género *Skeletonema*. No obstante, las comparaciones se limitan a las pocas referencias disponibles, a pesar que, en nuestros resultados, ambos géneros estudiados poseen una calidad buena y utilizable de proteínas. De otro lado, según Becker (2013), la composición de aminoácidos es similar entre especies de microalgas, sin embargo, en el mapa de calor se observó una separación de dos clústeres en función de las especies y que la cepa IMP-BG-366 del género *Skeletonema* tiene una composición de aminoácidos parecida al género *Chaetoceros*.

2008; Lestari, *et al.*, 2014; Van Houcke *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2019 and Bastos *et al.*, 2022). In the genus *Chaetoceros*, maximum values of 19 % were reported for *C. calcitrans* (Bastos *et al.*, 2022), as well as 17 % for *C. muelleri* (Pacheco-Vega and Sánchez-Saavedra, 2009), which is less than the analyzed strain, *i.e.*, *C. debilis* IMP-BG-056 (30.2 %).

A notable contribution of this research, as observed in the heat map, was the separation of the genera *Skeletonema* and *Chaetoceros* based on their fatty acid composition, recognizing some of them as possible chemotaxonomic markers, which is similar to that found by Hernández-Acevedo *et al.* (2019). One of these fatty acids, C 16:3n-4, is used by diatoms in the production of volatile aldehydes for the trophic regulation of zooplankton (d'Ippolito *et al.*, 2004).

Amino acid composition

According to the amino acid scores, the limiting amino acids were lysine and histidine for flatfish and arginine and histidine for shrimp, which could affect various functions. In fish, lysine is related to growth, muscle tissue formation (Pineda-Quiroga, 2010) and reproductive cells (Hamid *et al.*, 2016). On the other hand, histidine serves as an antioxidant and pH regulator in fish organs (Wade and Tucker, 1998; Munakata *et al.*, 2000). In shrimp, arginine is a precursor to growth hormones (Wan *et al.*, 2006) and regenerates ATP in muscles (Denis *et al.*, 1998).

Regarding the EAAI, Okaichi (1974) reported indices for the diatoms *Cyclotella* sp., *Skeletonema costatum*, and *Phaeodactylum tricornotum* in the range of 0.66 to 0.76 for the fish *Seriola quinqueradiata* (yellowtail). The values reported in our research were higher for flatfish and shrimp, especially regarding the strains of the genus *Skeletonema*. However, comparisons are limited by the few references available, despite the fact that, in our results, both studied genera possess good and usable protein quality. On the other hand, according to Becker (2013), the amino acid composition is similar among microalgae species. However, in the heat map, a separation of two clusters was observed as a function of the species. Moreover, the strain IMP-BG-366 of the genus *Skeletonema* has an amino acid composition similar to that of the genus *Chaetoceros*.

CONCLUSIONES

La evaluación del perfil nutricional de cepas de diatomeas peruanas mantenidas en el BGOA contribuyó a la elección de la cepa IMP-BG-466 del género *Skeletonema* como potencial ingrediente para la formulación de alimentos en la acuicultura. Esta cepa obtuvo el mayor porcentaje de proteína (30.4 %) y calidad buena y utilizable según su EAAI para peces planos y langostinos respectivamente, además el mayor porcentaje relativo de ácidos grasos omega 3 (31.0 %). Sin embargo, esta cepa se enfrenta al desafío de minimizar su alto contenido de cenizas (27.2 %), bajo porcentaje relativo de DHA (< 2 %) y aminoácidos esenciales limitantes como la arginina, histidina y lisina. Se recomienda evaluar esta microalga en ensayos de ingestión y digestibilidad, ensayos de inocuidad y formulación de dietas equilibradas con otras fuentes alimenticias que complementen sus deficiencias.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al PpR “Ordenamiento y Desarrollo de la Acuicultura” (DGIA Imarpe) por el financiamiento del presente proyecto de investigación. Asimismo, se agradece el valioso apoyo de los colegas del Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos (Imarpe) que ayudaron durante el proceso de obtención de las cepas y esterilización del material para los cultivos.

CONCLUSIONS

The assessment of the nutritional profile of Peruvian diatom strains kept in the BGOA contributed to selecting the strain IMP-BG-466 of the genus *Skeletonema* as a potential ingredient for formulating feeds in aquaculture. This strain reported the highest percentage of protein (30.4 %) and was classified as having good and usable protein quality according to its EAAI for flatfish and shrimp, respectively. This, in addition to reporting the highest relative percentage of omega-3 fatty acids (31.0 %). However, this strain needs to decrease its high ash content (27.2 %), as well as to increase its low relative percentage of DHA (< 2 %) and limiting essential amino acids such as arginine, histidine, and lysine to be a feed that meets all the nutritional requirements of the tested aquatic organisms. We recommend evaluating this microalgae in ingestion and digestibility trials, safety tests, and the formulation of balanced diets with other food sources that complement its deficiencies.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the PpR Management and Development of Aquaculture (DGIA Imarpe) for funding this research project. Likewise, we would like to thank the valuable support of colleagues from the Germplasm Bank of Aquatic Organisms (Imarpe) who assisted during strain collection and materials sterilization for the cultures.



BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Araújo, J., A. Candeias-Mendes, I. Monteiro, D. Teixeira, F. Soares and P. Pousão-Ferreira. 2020. The use of diatom *Skeletonema costatum* on aquaculture produced purple sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larvae and post-larvae diet. *Aquaculture*, 51: 2545–2554. <https://doi.org/10.1111/are.14597>
- Arellana, C., N. Becerra, M. Jara, M. I. La Torre y H. Yucra. 2006. Fitoplancton de la Playa Los Pescadores, Chorrillos, Lima, Perú, invierno 2005. *Biologist (Lima)*, 4 (2): 9-11. <http://dx.doi.org/10.24039/rtb200642563>
- Baldisserotto, C., A. Sabia, L. Ferroni and S. Pancaldi. 2019. Biological aspects and biotechnological potential of marine diatoms in relation to different light regimens. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2607-z>
- Banerjee, S., W. Ee-Hew, H. Khatoun, M. Shariff and F.M. Yusuf. 2011. *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *Afr. J. Biotechnol.*, 10: 1375–1383.
- Bastos, C. R.V., I.B. Maia, H. Pereira, J. Navalho and J.C.S. Varela. Optimization of biomass production and nutritional value of two marine diatoms (Bacillariophyceae), *Skeletonema costatum* and *Chaetoceros calcitrans*. *Biology*, 11: 594. <https://doi.org/10.3390/biology11040594>
- Baylón, M., O. Advíncula, O. Loyola, A. Norabuena y D. Hernández-Becerril. 2019. Variación espacial y temporal del fitoplancton con énfasis en las floraciones algales frente a La Playa de Pescadores Artesanales de Chorrillos, Lima, Perú. *Ecol. Apl.*, 18 (2): 133-143. <https://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i2.1332>
- Becker, E.W. (2013). Microalgae for Aquaculture: Nutritional Aspects. A. and Q. Hu (Eds). *Handbook of microalgal culture*. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch36>
- Bhattacharjya, R., T.K. Marella, A. Tiwari, A. Saxena, P.K. Singh and B. Mishra. 2020. Bioprospecting of marine diatoms *Thalassiosira*, *Skeletonema* and *Chaetoceros* for lipids and other value-added products. *Bioresour. Technol.*, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124073>
- Bozart, A., U.G. Maier and S. Zauner, S. 2009. Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 82: 195-201. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1804-8>
- Brown, M. R. and S. W. Jeffrey. 1995. The amino acid and gross composition of marine diatoms potentially useful for mariculture. *J. Appl. Phycol.*, 7: 521-527. <https://doi.org/10.1007/BF00003938>.
- Cordero-Esquivel, B., D. Voltolina and F. Correa-Sandoval. 1993. The biochemical composition of two diatoms after different preservation techniques. *Comp. Biochem. Physiol.*, 105B (2): 369-373.
- Cruz, N., P. Cruz y H. Suárez. 2012. Characterization of the nutritional quality of the meat in some species of catfish: A review. *Rev. Fac. Nal. Agr.* 65(2): 6799-6709.
- Delgado, E., S. Sánchez, F. Chang, F., A. Bernal y N. Jacobo. 2019. Cambios del fitoplancton en el mar peruano durante el verano 2017. *Crucero 1703 04, BIC José Olaya y Luis Flores*. ISSN 0458-7766. 34 (1): p. 61-79. <https://revistas.imarpe.gob.pe>
- Denis, E., M.D. Frcsi, M.D. Lieberman, J. Thomas, III. Fahey, M.D. John and M.A.F. Daly. 1998. Immunonutrition: the role of arginine. *Nutrition* 14, 7–8.
- Díaz, A. H., Ramírez-Ayvar, D. Godínez-Siordia y C. Gallo-García. 2006. Efecto del tamaño de las microalgas sobre la tasa de ingestión en larvas de *Artemia franciscana* (Kellog, 1906). *Zootec. Trop.*, 24 (2): 193-203.
- d'Ippolito, G., S. Tucci, A. Cutignano, G. Romano, G. Cimino, A. Miralto and A. Fontana, A. 2004. The role of complex lipids in the synthesis of bioactive aldehydes of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Biochim. Biophys. Acta–Mol. Cell Biol. Lipids.*, 1686 (1-2): 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2004.09.002>
- d'Ippolito, G., A. Sardo, D. Paris, F.M. Vella, M.G. Adelfi, P. Botte, C. Gallo y A. Fontana. 2015. Potential of lipid metabolism in marine diatoms for biofuel production. *Biotechnol. Biofuels.*, 8: 28. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0212-4>
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 350-356.
- Elyakoubi, M., Y. Ouagajjou, R. Benlahcen, M.B. Harzimi, S. Fal, R. Benhima, M. Idhalla, A. Errhif and M. Elyakoubi. 2020. Isolation and characterization of potential microalgae strains from Moroccan coasts for their utilization as feed in shellfish hatcheries. *AAAL Bioflux*. 13. 3754.
- Faidutti, P. 1992. Estado actual de la industria de alimentos balanceados para la acuicultura. En Calderón V., J. (Ed). *Primer Congr. Ec. Acuic.* FAO, Roma.
- Flores-Ramos, L., A. Ruiz-Soto, A.I. Oscanoa-Huaynate y M.A. Cervantes-Gallegos. 2020. Extracción e identificación de lípidos polares de las microalgas *Nannochloropsis oceanica* y *Desmodesmus asymmetricus*. *Rev. Colomb. Quim.*, 49 (2): 3–11.

- Gao, G., M. Wu, Q. Fu, X. Li and J.A. Xu. 2019. Two-stage model with nitrogen and silicon limitation enhances lipid productivity and biodiesel features of the marine Bloom-forming diatom *Skeletonema costatum*. *Bioresour. Technol.*, 289: 121717.
- García, J.A., F.A. Núñez, O. Chacón, R.H. Alfaro y M.R. Espinosa. 2004. Calidad de canal y carne de trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss* Richardson, producida en el noroeste del Estado de Chihuahua. *Hidrobiológica*, 14 (1): 19-26.
- Granum, E., S. Kirkvold and S. Mykkestad. 2002. Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*: Diel variations and effects of N depletion. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 242: 83-94.
- Guihéneuf, F., V. Mimouni, L. Ulmann and G. Tremblin, G. 2008. Environmental factors affecting growth and omega 3 fatty acid composition in *Skeletonema costatum*. The influences of irradiance and carbon source. *Diatom Res.*, 23: 93–103.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates: 26-60. In Smith, W.L. and M.H. Chanley M.H (Eds.) Culture of marine invertebrate animals. Plenum, New York.
- Hamid, S. N. I. N., M.F. Abdullah, Z. Zakaria, S.J.H.M. Yusof and R. Abdullah. 2016. Formulation of fish feed with optimum protein-bound lysine for african catfish (*Clarias gariepinus*) Fingerlings, *Proc. Engin.*, 148:361-369.
- Hernández, A. y J. Labbé. 2014. Microalgas, cultivos y beneficios. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 49 (2): 157-173. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Hernández-Acevedo, H., L. Flores-Ramos y A. Ruiz-Soto. 2019. Ácidos grasos en cepas de microalgas del Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos del Instituto del Mar del Perú (Imarpe). *Rev. peru. Biol.*, 26 (3): 369-78. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i3>
- Hu, Q., M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert and A. Darzins. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J.*, 54: 621–639.
- Ichihara, K. and Y. Fukubayashi, Y. 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *J. Lipid. Res. Mar.*, 51 (3): 635-40. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.D001065>. Epub 2009 Sep 16. PMID: 19759389; PMCID: PMC2817593.
- Imarpe, I. d. 2020. Manual para la producción de biomasa microalgal en condiciones de invernadero. Callao, Lima: Inf. Inst. Mar. Perú. Izquierdo, M. 2005. Essential fatty acid requirements in mediterranean fish species. *Cah. Options Mediterr.*, 63: 91-102. 63.
- Kanazawa, A. 1983. Effects of dietary phospholipids on growth of the larval red sea bream and knife jaw. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.*, 32: 109–114.
- Kim, J. D. y Lall, S. 2000. Amino acid composition of whole body tissue of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquac.*, 187: 367-373. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00322-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00322-7)
- Kolar, K. 1992. Gravimetric Determination of moisture and ash in meat and meat products: NMKL Interlaboratory Study. *J. AOAC Int.*, 1016-1022.
- Koven, W., Y. Barr, S. Lutzky, I. Ben-Atia, R. Wiss, M. Harel, P. Behrens and A. Tandler. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquac.*, 193: 107-122. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00479-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00479-8)
- Leger, C., F.J. Gatesoupe, R. Metailler, P. Luquet and L. Fremont 1979. Effect of dietary fatty acids differing by chain lengths and omega-series on the growth and lipid composition of turbot *Scophthalmus maximus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, B64: 345–350.
- Lestari, D., A. Ekawatiand and M. Maftuch. 2014. Dried *Skeletonema costatum* in feed formulation for the growth of vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J. Exp. Life Sci.*, 4: 45-49. <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jels.2014.004.02.04>
- Lowry, O. H., N.J. Rosbrough, A. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 256-275. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Maeda, H. 2015. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy; a review. *J. Oleo Sci.*, 64: 125-132. <http://dx.doi.org/10.5650/jos.ess14226>
- Martínez-Fernández E., H. Acosta-Salmón and P. Southgate. 2006. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, L.) larvae. *Aquaculture.*, 257: 491-503. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.022>
- Medina-Reyna, C. y B. Cordero-Esquivel. 1998. Crecimiento y composición bioquímica de la diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, mantenida en cultivo estático con un medio comercial. *Ciencia y Mar.*, II (6): 19-25. (ID: 5868).
- Moreno-Álvarez, M. J., J.G. Hernández, R. Rovero, A. Tablante y L. Rangel, L. 2000. Alimentación de tilapia con raciones parciales de cáscara de naranja. *Ciencia y Tecnología Alimentaria.*, 3 (1): 29-33.
- Munakata A, K. Aida, M. Amano, K. Ikuta and S. Kitamura.. 2000. Changes in histidine and anserine levels in hatchery-reared honmasu salmon parr after release in a river. *J. World Aquac. Soc.* 31 (2): 274-278.



- Ochoa, N. and J. Tarazona. 2003. Variabilidad temporal de pequeña escala en el fitoplancton de la Bahía Independencia, Piso Perú. *Rev. Peru. Biol.*, 10: 59-66. ISSN 1727-9933.
- Okaichi, T. 1974. Significance of amino acid composition of phytoplankton and suspensoid in marine biological production. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 40 (5): 471-478. <https://doi.org/10.2331/suisan.40.471>
- Orozco, R., A. Quispe, A. Lorenzo y M. Zamudio. 2017. Asociación de floraciones de algas nocivas de *Vibrio* spp. en áreas de pesca y acuicultura de bivalvos de moluscos en las bahías de Sechura y Pisco, Perú. *Rev. peru. biol.*, 24 (1), 111-16. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v24i1.13111>
- Oser, B.L. 1959. An integrated essential amino acid index for predicting the biological value of proteins. In: Albanese AA (ed) *Protein and Amino Acid Nutrition*. Academic Press, Amsterdam, 281-295 p.
- Paasche, E. 1973. Silicon and the ecology of marine plankton diatoms. II. Silicate-uptake kinetics in five diatom species. *Mar. Biol.*, 19: 262-269.
- Pacheco-Vega, J. M. y M.D.P. Sánchez-Saavedra. 2009. The biochemical composition of *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann Grown) with an agricultural fertilizer. *JWAS*, 40: 556-560. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00276.x>
- Parsons, T. R., M. Takahashi y B. Hargrave. 1984. *Biological Oceanographic Processes*. 3a. Ed. Pergmon Press Ltd. Oxford, England, 330 pp.
- Pascual, F. P. 1984. Lecithin requirement of *Penaeus monodon* juveniles. Poster No.46; First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/ Shrimps, December 4-7, Iloilo, Philippines.
- Peñaflorida, V. D. 1989. An evaluation of indigenous protein sources as potential component in the diet formulation for tiger prawn, *Penaeus monodon*, using essential amino acid index (EAAI). *Aquaculture*, 83 (3-4): 319-330. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90043-4)
- Pineda-Quiroga, C. 2010. Determinación del requerimiento de lisina en la dieta de alevinos de cachama blanca *Piaractus brachyomus* y su efecto en el desempeño productivo. Recuperado de: <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/450>
- Pratiwy, F. M. and D.Y. Pratiwi. 2020. The potentiality of microalgae as a source of DHA and EPA for Aquaculture Feed: A Review. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, 8: 39-41.
- Rodolfi, L., G.C. Zittelli, N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini and M.R. Tredici. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 102 (1): 100-112.
- Satoh, S., K. Izumic y T. Takucbi. 1987. Availability to rainbow trout (*Oncorhynchus masou*) of zinc contained in various types of fish meals. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53: 1861-1866. ISSN: 0021-5392.
- Schmid, A. M. M., M.A. Borowitzka and B.E. Volcani, B.E. 1981. Morphogenesis and biochemistry of diatom cell walls. In *Cytomorphogenesis in Plants*; Kiermayer, O., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. 63-97 p.
- Seiliez, I., S. Panserat, G. Corraze, S. Kaushik and P. Bergot. 2003. Cloning and nutritional regulation of a 6-desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 135: 449-460.
- Shearer, K., A. Maage, J. Opstvedt and H. Mundheim. 1992. Effects of high-ash diets on growth, feed efficiency, and zinc status of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 106 (3-4):345-355. ISSN 0044-8486. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90266-N](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90266-N)
- Simpson, T.L. y B.E. Volcani. 1981. Genesis and biochemistry. En Simpson TL, Volcani BE (Eds.) *Silicon and siliceous structures in biological systems*. Springer. Nueva York, USA. 157-201 p.
- Tacón, A.G.J. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp—A training manual. 1. The essential nutrients. *FAO Field Doc.*, 117 p.
- Van Houcke, J., I. Medina, H.K. Maehre, J. Cornet, M. Cardinal, J. Linssen and J. Luten. 2017. The effect of algae diets *Skeletonema costatum* and *Rhodomonas baltica* on the biochemical composition and sensory characteristics of Pacific cupped oysters *Crassostrea gigas* during land-based refinement. *Food Res. Int.*, 100: 151-160.
- Vásquez-Suárez, A., M. Guevara, M. González, N. Lemus y B. Arredondo-Vega. 2010. Crecimiento y composición bioquímica de *Skeletonema costatum* (Greville, 1866) Cleve, 1979 (*Heterokontophyta-Bacillariophyceae*) en función de la irradiancia y del medio en cultivo. *SABER. Revi. Multidisc. Cons. Invest. Univ. Oriente*, 22(2): 149-59. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739444006>
- Velasco, L. A., S. Carrera and J. Barros. 2016. Isolation, culture and evaluation of *Chaetoceros muelleri* from the Caribbean as food for the native scallops, *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 44(3): 557-568. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718560X2016000300014&lng=es&tlng=en
- Wade, M. A. and H.N. Tucker. 1998. Antioxidant characteristics of L-histidine. *J. Nutr. Biochem.*, 9 (6): 308-315.

- Welladsen, H., M. Kent, A. Mangott, A. and Y. Li. 2014. Shelf-life assessment of microalgae concentrates: Effect of cold preservation on microalgal nutrition profiles. *Aquaculture*, 430: 241-24.
- Xie F, W. Zeng, Q. Zhou, H. Wang, T. Wang, C. Zheng and Y. Wang. 2012. Dietary lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 358-359: 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.027>
- Zafra-Trelles, A. M., M.E. Díaz -Barboza, F.A. Dávila-Gil, G.M. Bopp-Vidal, K.A. Vela-Alva y M.B. López-Espinoza.. 2017. Cultivo de microalgas marinas potenciales para la acuicultura del litoral entre Puerto Salaverry y Puerto Chicama, La Libertad, Perú. *Arnaldoa*, 24 (2): 567-82. <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24209>

RECIBIDO / RECEIVED: 10/09/2022

ACEPTADO / ACCEPTED: 16/06/2023