

POTENCIAL USO BIOTECNOLÓGICO DE POLISACÁRIDOS EXCRETADOS POR MICROALGAS.

Itahisa del Pilar Bolaños Montero

Trabajo de Fin de Grado

Tutoras: Carolina Reyes Pérez;

Nereida M. Rancel Rodríguez

Facultad de Farmacia

Grado de Farmacia

Curso 2023/2024

ÍNDICE

1. Resumen	3
2. Introducción	
2.1. Biotecnología	5
2.2. Exopolisacáridos y microalgas	7
2.3. Exopolisacáridos y biofilm	8
2.4. La industria de los EPS.	10
3. Objetivos	10
4. Material y métodos	11
5. Resultados	
5.1. Microalgas, cianobacterias y EPS	12
5.2. Condiciones de cultivo y producción para EPS-m	14
5.3. Aplicaciones generales de EPS-m.	
5.3.1. Industria cosmética.	15
5.3.2. Industria de alimentos y nutraceuticos.	15
5.3.3. Industria farmacéutica	16
5.3.4. Industria agrícola	17
6. Conclusiones	19
7. Bibliografía	20
Anexo 1	25

1. Resumen

La biotecnología es una disciplina que amalgama la biología, química e ingeniería y se ha consolidado como una ciencia transdisciplinar que busca el desarrollo de productos y tecnologías en pro de la sociedad. Este campo ha experimentado un notable avance en diversos sectores como la medicina, farmacia, agricultura, protección ambiental, ciencia de alimentos y producción industrial. Los exopolisacáridos (EPS), son polisacáridos extracelulares liberados por microorganismos al medio ambiente, dando lugar al desarrollo de biofilms, que les confiere protección a la desecación y otros factores externos. Las microalgas son microorganismos capaces de adaptarse a ambientes extremos, donde la variabilidad ambiental influye en la composición de las sustancias poliméricas excretadas. Destacan los EPS con propiedades para su aplicación en la industria biotecnológica. La presencia de sustancias tóxicas ha hecho frenar su uso, especialmente en aplicaciones nutricionales, farmacéuticas u otros usos biotecnológicos, haciendo necesario una atención y evaluación meticulosa. Esto conjuntamente con los elevados costos asociados con la producción de EPS, ha provocado que su uso se centre en productos de alto valor, como la industria cosmética. Este escenario se caracteriza por una compensación entre los gastos y la producción, aunque su comercialización conlleva la necesidad de obtener diversas autorizaciones regulatorias.

En el presente Trabajo de Fin de Grado se lleva a cabo un ensayo bibliográfico, donde se hace una revisión de la literatura científica sobre el uso de EPS excretados por microalgas en la biotecnología, y sus diversas aplicaciones industriales, resaltando la importancia de aspectos regulatorios y de seguridad.

Abstract

Biotechnology is a discipline that combines biology, chemistry and engineering and has established itself as a transdisciplinary science that seeks the development of products and technologies for the benefit of society. This field has experienced notable progress in various sectors such as medicine, pharmacy, agriculture, environmental protection, food science and industrial production. Exopolysaccharides (EPS) are extracellular polysaccharides released by microorganisms into the environment, giving rise to the development of biofilms, which gives them protection from desiccation and other external factors. Microalgae are microorganisms capable of adapting to extreme environments,

where environmental variability influences the composition of the polymeric substances excreted. EPS stand out with interesting properties for their application in the biotechnology industry. But the potential presence of toxic substances has slowed its use, especially in nutritional, pharmaceutical or other biotechnological applications, making meticulous attention and evaluation necessary. This, together with the high costs associated with the production of EPS, has caused its use to focus on high value-added products such as the cosmetics industry. This scenario is characterized by a compensation between expenses and production, although its commercialization entails the need to obtain various regulatory authorizations.

In this Bachelor Project, a bibliographical essay is carried out, where a review of the scientific literature on the use of EPS excreted by microalgae in biotechnology is carried out, exploring its potential in various industrial applications, and highlighting the importance of considering regulatory and safety aspects in its use.

2. Introducción

2.1. Biotecnología.

La biotecnología es una ciencia multidisciplinar que combina la biología, la química y la ingeniería para el desarrollo de productos y tecnologías beneficiosas para la sociedad, utilizando organismos, células, cultivos o sustancias procedentes de organismos, sistemas biológicos o derivados. En las últimas décadas, la biotecnología ha experimentado un rápido crecimiento en diversos sectores como herramienta invaluable, en los que se incluye los campos de la medicina, la farmacia, la agricultura y protección del medio ambiente, la ciencia de los alimentos y la producción industrial^[1-3].

La biotecnología tiene un papel crucial en la sociedad desde hace siglos. En un principio se utilizaba para la elaboración de alimentos, como pueden ser el pan, vino, quesos y cerveza, mediante la fermentación. En el ámbito de la medicina, se ha utilizado en el desarrollo de terapias génicas, vacunas recombinantes y diagnósticos moleculares precisos. En el caso de la producción industrial, la biotecnología ha facilitado la producción de enzimas, bioplásticos, biocombustibles y productos farmacéuticos. En la agricultura, los cultivos transgénicos han permitido el aumento de la productividad y la reducción del uso de pesticidas para la descontaminación de suelos y aguas residuales^[4-5].

En la actualidad, la biotecnología está destinada principalmente a la producción a nivel industrial, concretamente se centra en la mejora de las especies, control de plagas y fertilizantes, y la creación de nuevos fármacos y vacunas. Su aplicación en la agricultura ha generado avances significativos en la mejora de cultivos, el aumento de la productividad agrícola y la reducción del impacto ambiental (Figura 1). El uso de técnicas como la ingeniería genética ha permitido el desarrollo de variedades de plantas con mayor resistencia a enfermedades y a las condiciones adversas del medio, y con mayor contenido nutricional para ayudar a la disminución de la desnutrición en la población susceptible^[5].

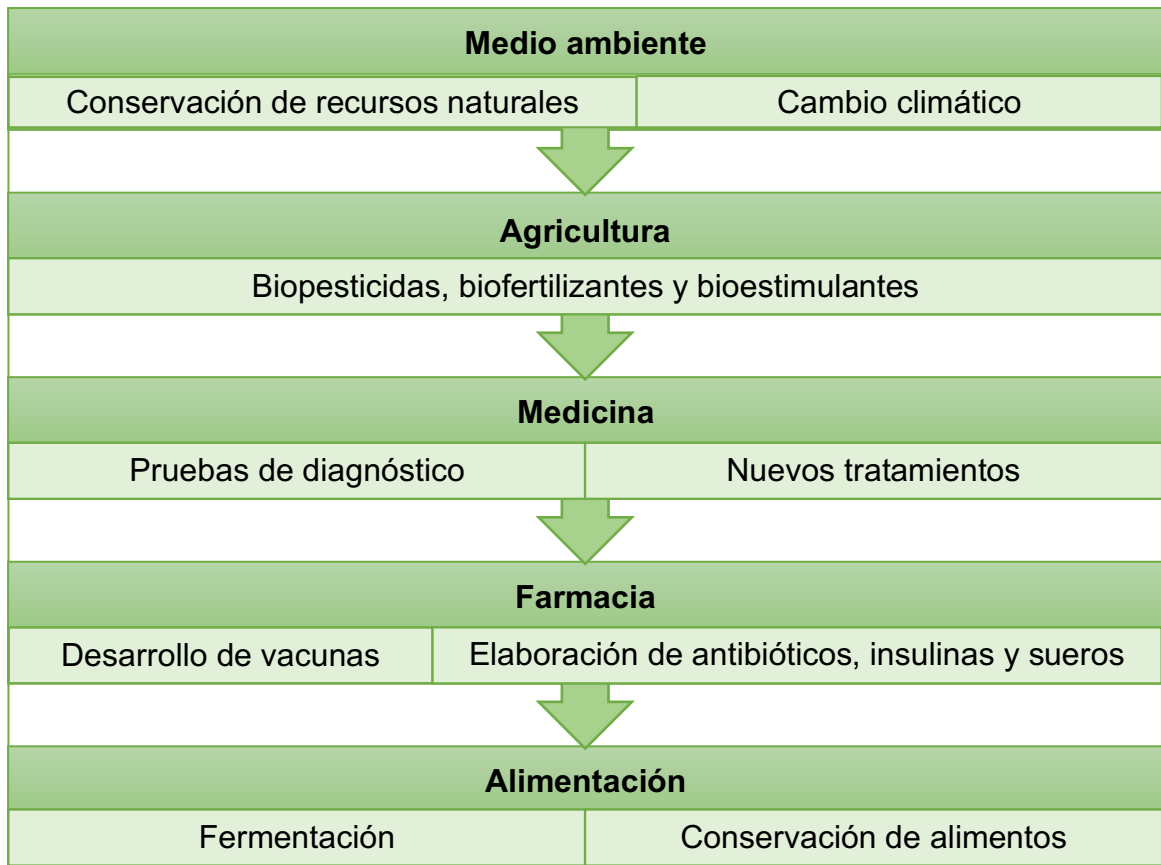


Figura 1: Aplicaciones biotecnológicas en distintas ramas de la ciencia con mayor producción a nivel industrial en la actualidad. Elaboración propia a partir de información contenida en [4-6].

En el ámbito farmacéutico, ha transformado el proceso de descubrimiento y desarrollo de medicamentos. La ingeniería genética ha permitido la producción de proteínas terapéuticas recombinantes, como anticuerpos monoclonales y factores de crecimiento, que se utilizan en el tratamiento de enfermedades como el cáncer, las enfermedades autoinmunes y las enfermedades genéticas. Cabe destacar el tratamiento de la diabetes mellitus. Se trata de una enfermedad prevalente en el mundo causada por la resistencia o la baja producción de insulina, la hormona capaz de controlar los niveles de azúcar en sangre [7]. La aplicación de la biotecnología facilitó la producción de proteínas recombinantes para la obtención de la molécula de insulina. De esta manera, los pacientes diabéticos dejaron de ser tratados con insulina purificada procedente del páncreas de animales, para comenzar a utilizar insulina humana recombinante [8]. Esto significó un antes y un después en el tratamiento de pacientes diabéticos y permitió un aumento de la producción y una mejora de la calidad de vida de las personas [9].

2.2. Exopolisacáridos y microalgas.

Los exopolisacáridos, también llamados EPS, son polisacáridos extracelulares liberados por microorganismos al medio ambiente. Están formados principalmente por carbohidratos, proteínas, lípidos, sustancias húmicas y ácidos nucleicos, aunque los componentes más abundantes y estudiados son los polisacáridos^[10-11]. El campo de la biotecnología presenta un papel fundamental en su producción y aplicación, ya que éstos tienen propiedades físicas y químicas, que los convierte en materiales prometedores en una amplia gama de aplicaciones industriales y biotecnológicas^[6].

Los microorganismos son conocidos productores de sustancias de interés de composición variable dependiendo de la especie, la cepa, los nutrientes y sustratos disponibles, las condiciones ambientales presentes y la fisiología^[10]. Como microorganismos entendemos algas, bacterias, levaduras y hongos. Se sabe que su capacidad para sintetizar EPS puede estar influenciada por factores como el sustrato de crecimiento, el medio de cultivo y los parámetros de fermentación. La ingeniería genética y la optimización de los procesos de fermentación han permitido mejorar su producción y calidad^[12].

Estos polisacáridos presentan un peso molecular elevado, que, junto con su estructura polimérica repetitiva, aporta propiedades de interés, como es la resistencia o la adaptación al medio ambiente o la capacidad de formar geles, su actividad emulsionante, de retención de agua y su resistencia a condiciones extremas^[13]. Estas características los hacen valiosos para su potencial aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y de materiales^[14].

Las microalgas son organismos fotosintéticos capaces de producir y acumular moléculas de interés industrial, como son los EPS^[15]. Los estudios sobre estos polisacáridos excretados por microalgas han permitido la identificación de nuevas cepas con variedad de composiciones de monosacáridos y moléculas productoras, además de la producción de biocombustibles. En cuanto a sus propiedades, destacan las actividades antiinflamatorias, antibacterianas, antioxidantes, antitumorales, etc.^[13].

El cultivo de microalgas es complejo debido a su tiempo de generación y la necesidad de condiciones específicas. La producción de EPS de microalgas (EPS-m) depende de la cepa, la temperatura, el pH, la presión, el O₂ y CO₂, y la presencia de luz, así como la disponibilidad de micro y macronutrientes, y el medio de cultivo utilizado. La limitación con la que se encuentran las industrias son la lenta y baja concentración de EPS producidos por las microalgas, por lo que se necesitan sistemas de cultivos mayores para obtener las mismas cantidades en comparación con otros microorganismos, como pueden ser las bacterias^[14].

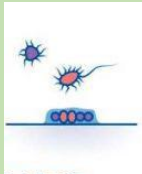
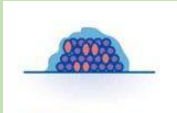
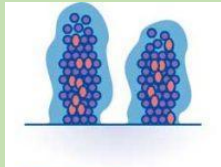

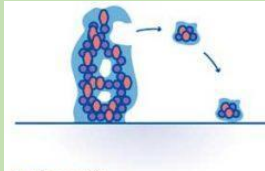
2.3. Exopolisacáridos y biofilms.

Las funciones biológicas de los polisacáridos son de gran importancia en la naturaleza y desempeñan roles en diversos contextos biológicos, actúan en la fijación a las superficies para la formación de biofilms ^[16], protegen frente al estrés ambiental producido por compuestos tóxicos, cambios de temperatura, pH y osmolaridad. Son capaces de mejorar la agregación de partículas al suelo, mejorando así la humedad ambiental, y la estructura y fertilidad del suelo^[10].

Los biofilms son comunidades microbianas adheridas a superficies, y desempeñan un papel vital en la ecología microbiana, la purificación del agua y la resistencia a los antimicrobianos. Los biofilms de microalgas están formados por un 90% de EPS y un 10% de células. Se trata de un conjunto de microalgas estructuradas de forma dinámica, donde las células se encuentran en una matriz de EPS producidas por ellas mismas. Los EPS se encargan de agrupar y unir las células a los sustratos, favoreciendo el metabolismo. También proporcionan estabilidad y resistencia gracias a su viscoelasticidad, para evitar el desprendimiento del sustrato^[11].

El proceso de formación de biofilm dependerá de la especie de microalgas productora de células, y se divide en las etapas que se describen a continuación (Tabla 1).

Tabla 1: Descripción de las etapas de formación de los biofilm con imágenes descriptivas del proceso. ^[17]

Etapas	Descripción de la etapa
<p>1. <u>Adhesión</u></p> 	<p>Tiene lugar la unión de microorganismos a la superficie.</p>
<p>2. <u>Colonización</u></p> 	<p>Las células se unen para formar una película reversible.</p>
<p>3. <u>Formación</u></p> 	<p>Se produce la secreción de EPS creando una unión irreversible.</p>
<p>4. <u>Crecimiento</u></p> 	<p>Aumenta la estructura tridimensional de los biofilm.</p>
<p>5. <u>Dispersión</u></p> 	<p>Se produce el desprendimiento de fragmentos de biofilm, favoreciendo la expansión de estos en otras superficies.</p>

La formación de biofilms puede tener un carácter beneficioso en muchos ámbitos, pero también puede provocar inconvenientes, principalmente en salud pública. Contribuyen a la resistencia frente a los tratamientos y su formación en distintas partes del cuerpo, asociadas a prótesis, catéteres, implantes y dispositivos médicos, pueden dar lugar a enfermedades crónicas. Estos biofilms son capaces de formar una barrera que impide la perfusión de los antibióticos debido a su composición, y proporciona un refugio óptimo para la supervivencia de los microorganismos en condiciones extremas^[18].

2.4. La industria de los EPS.

El aumento de la producción industrial de EPS-m se basa en la selección de la especie, el sistema de cultivo, y el control del proceso para obtener un mayor beneficio, a un menor costo, cumpliendo las obligaciones reglamentarias ^[14].

Estas características presentes en los EPS-m ha aumentado el interés en diferentes áreas, como son los alimentos, los cosméticos, los productos sanitarios y la agricultura. Debido a los altos costes que supone su producción, se utilizan en mayor medida en la industria cosmética, ya que existe una compensación entre los gastos que conllevan y su producción, aunque requiere de distintas autorizaciones para su comercialización^[10,14]. Su capacidad para mejorar la concentración de nutrientes al suelo y mantener la humedad ha generado interés en la comunidad científica como productores de biopesticidas, convirtiéndolos en candidatos ideales para mejoras ambientales ^[10]. La Universidad de la Laguna ha colaborado en el proyecto MacBioPest. que presenta como objetivos el desarrollo de biopesticidas con menor toxicidad y más eficaces en el tratamiento de cultivos y cosechas, permitiendo el desarrollo de una agricultura sostenible, tanto desde el punto de vista sanitario como ecológico^[19].

3. Objetivos

El Objetivo general de este trabajo es realizar un ensayo bibliográfico de la literatura científica existente sobre exopolisacáridos excretados por microalgas (EPS-m), haciendo hincapié en sus propiedades y su potencial uso a nivel biotecnológico como alternativa para el desarrollo de productos que permitan una producción sostenible con el medio ambiente.

Para ello, se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- 1) Conocer y enumerar las propiedades de los EPS excretados por microalgas, prestando especial atención a los organismos productores y a las propiedades de los EPS-m producidos.
- 2) Detallar las condiciones de cultivo utilizados para la producción biotecnológica de microalgas para fomentar la producción industrial de EPS-m.

- 3) Enumerar las aplicaciones de EPS-m en los diferentes sectores biotecnológicos, haciendo hincapié en las más destacadas.

4. Material y métodos

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica de artículos científicos publicados haciendo uso de los siguientes buscadores: PubMed, Google Scholar y Punto Q entre los meses de febrero de 2023 y enero de 2024.

Se incluyeron artículos científicos en inglés y español de acceso gratuito publicados en los últimos 5 años, centrándonos especialmente en aquellos que trataran sobre las propiedades y usos de exopolisacáridos de microalgas.

Se utilizaron las siguientes palabras clave: *microalgae*, *EPS*, *biotechnology* y *biofilm* en búsquedas individuales o combinadas (Tabla 2).

Tabla 2: Criterios de selección de artículos:

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Publicados entre 2019 y 2024.	Artículos fuera del intervalo de tiempo.
Con métodos para la obtención de exopolisacáridos.	Idioma diferente al inglés o español
Incluyen propiedades de exopolisacáridos.	Pago
Detallan aplicaciones farmacéuticas, médicas, cosmética y agricultura.	

5. Resultados

5.1. Microalgas, cianobacterias y EPS.

Las **microalgas** son microorganismos capaces de realizar la fotosíntesis oxigénica por su contenido en clorofila y otros pigmentos fotosintéticos. Dentro estas incluimos un grupo de microorganismos con estructura celular procariota denominado **cianobacterias** o algas verde-azules ^[20]. Éstas presentan características fotosintéticas y pueden producir EPS^[13].

Las microalgas exhiben una notable capacidad de adaptación, pudiendo crecer en diversos ambientes como agua dulce, marina y salina. Esta variabilidad ambiental influye en su composición y metabolitos, lo cual resulta en una diversidad de EPS-m^[14].

En los últimos años, ha habido un aumento significativo en la identificación de cepas de microalgas productoras, revelando una sorprendente diversidad en las composiciones de monosacáridos presentes en los EPS generados por estos organismos. La investigación científica ha abordado enfoques tanto *in vitro* como *in vivo* para explorar las actividades y aplicaciones potenciales de los exopolisacáridos provenientes de microalgas. Estos estudios han destacado la notable actividad biológica y las propiedades versátiles de los EPS (Figura 2), apuntando hacia su prometedor papel en diversas áreas de la biotecnología^[13, 21].



Figura 2: Actividades presentes en los EPS-m. Elaboración propia con información recogida en [13-14,22].

Sin embargo, es importante tener en cuenta la posible presencia de sustancias tóxicas en los EPS producidos por las microalgas y cianobacterias, especialmente cuando se utilizan con fines nutricionales, farmacéuticos u otros usos biotecnológicos. Estas sustancias tóxicas pueden incluir metabolitos secundarios, compuestos orgánicos o metales pesados, que podrían afectar la seguridad y eficacia de los productos derivados de los exopolisacáridos [23]. Por lo tanto, es fundamental realizar estudios exhaustivos y rigurosos de control de calidad para evaluar la presencia de sustancias tóxicas y garantizar la eliminación adecuada de las mismas. Esto se logra mediante procesos de purificación y tratamiento que permiten obtener exopolisacáridos libres de compuestos indeseables y seguros para su uso en aplicaciones biotecnológicas[24].

5.2. Condiciones de cultivo y producción para EPS-m.

Según Pierre y colaboradores se pueden aplicar diferentes condiciones cultivo para favorecer el crecimiento de microalgas, destacan 3 alternativas: autotrofia, heterotrofia y mixotrofia (Tabla 3)^[14].

Tabla 3: Crecimiento de microalgas y condiciones. Elaboración propia a partir de la información contenida en [14].

Forma de vida	Condiciones
Autotrofia	Utiliza luz y dióxido de carbono a partir de la fotosíntesis
Heterotrofia	Utiliza fuente de carbono orgánico en oscuridad a través de las bacterias
Mixotrofia	Utiliza la luz y la fuente de carbono orgánico mediante un proceso mixto

El primer paso para la producción de EPS-m es la identificación de la cepa productora, para luego analizar los parámetros que pueden tener impacto en la cantidad de EPS, como pueden ser la disponibilidad de macro y micronutrientes, salinidad, temperatura o irradiancia. Todos los parámetros son importantes para el rendimiento de la producción de EPS-m, dependiendo de la aplicación, ya que determinadas condiciones pueden variar la composición final^[14].

Tras el crecimiento y producción de EPS-m en condiciones adecuadas, son importantes los métodos para la extracción dependiendo del uso final de los EPS-m. El método más efectivo para la extracción de EPS-m y cianobacterias es la ultrafiltración, debido a la baja pureza y a la precipitación de sales del medio de cultivo. Actualmente, la extracción más utilizada a nivel industrial es la precipitación alcohólica porque es un método más económico^[14].

En el caso de polisacáridos más o menos unidos a las células, se necesitan métodos más específicos de recuperación en función de la cepa, como la utilización de agua caliente, EDTA, hidróxido de sodio, etc. Es importante tener en cuenta la intensidad del tratamiento para no degradar los polisacáridos^[13].

5.3. Aplicaciones generales de EPS-m.

5.3.1. Industria cosmética.

El mercado cosmético es el más desarrollado para el uso de los EPS-m y cianobacterias debido a sus propiedades para evitar el envejecimiento y mejorar la función de la barrera de la piel (Figura 3). Algunas especies concretas se han relacionado con la estimulación para la producción de colágeno y ácido hialurónico^[13].

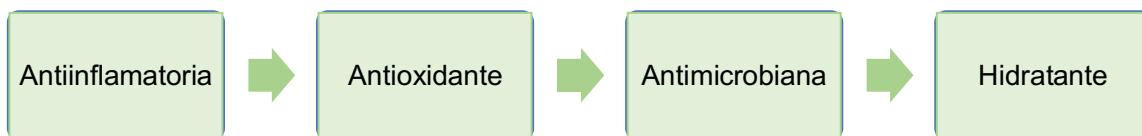


Figura 3: Propiedades relacionadas especialmente con la cosmética. El efecto hidratante viene dado por la capacidad para retener humedad de los EPS-m. Elaboración propia con información de [13] y [14].

El estudio realizado por Toucheteau y colaboradores, demuestra que los EPS de *Diacronema ennorea*, *Glossomastyx* sp., *Phaeodactylum tricornutum* y *Synechococcus* sp. (Ver anexo 1), poseen actividades estimulantes del pro-colágeno por parte de los fibroblastos dérmicos humanos, y son capaces de inhibir la metaloproteinasa-1 (MMP-1), enzima encargada de la degradación del colágeno en fragmentos. En consecuencia, estos autores consideran un aumento en el desarrollo de compuestos con actividad antienvjecimiento en el campo de la dermocosmética^[25].

La famosa compañía de cosméticos L'Oreal S.A., ha desarrollado patentes con capacidad para eliminar o reducir la caspa presente en el cuero cabelludo a base de EPS-m. Se trata de una alternativa más natural a la piritiona de zinc, presente en ese tipo de champús^[13].

5.3.2. Industria de alimentos y nutracéuticos.

Los EPS-m presentan alta viscosidad, por ello son altamente utilizados en este sector y se encuentra en constante crecimiento.

El estudio realizado por Ben Hlima H. y colaboradores, demuestra la capacidad de los EPS de *Porphyridium cruentum* (Ver anexo 1) para aumentar la vida útil de los productos cárnicos. Los resultados mostraban que el uso de los EPS como conservante natural en la carne picada cruda disminuyó el crecimiento bacteriano hasta 14 días a 4°C. Además, mostraban actividad antioxidante de lípidos y proteínas^[26].

5.3.3. Industria farmacéutica.

En este sector, los EPS-m requieren un control de los sistemas de producción, estabilidad y seguridad mucho más estricto mediante ensayos clínicos, ya que deben cumplir los acuerdos de Buenas Prácticas de Fabricación. Un ejemplo son los apósitos hidrocoloides debido a las características que se observan en la Figura 4^[13].

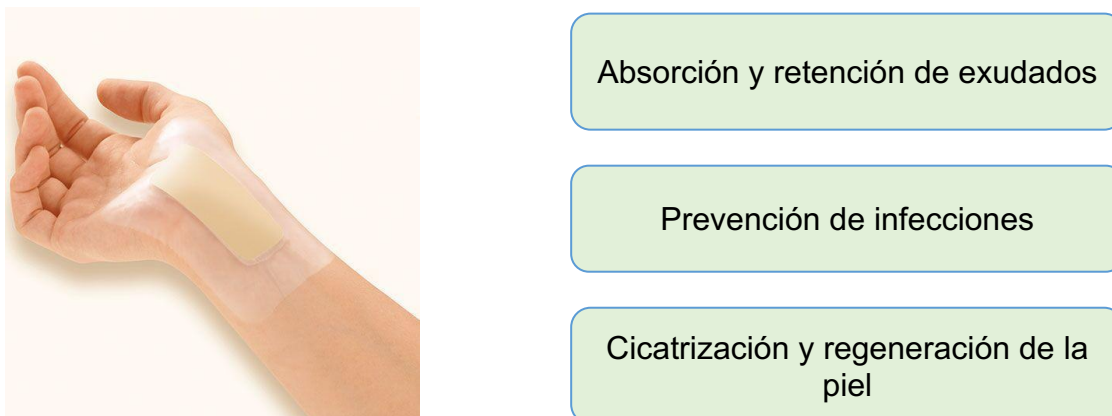


Figura 4: Propiedades de los EPS favorables para la utilización en vendajes. Su uso viene dado por la capacidad de los EPS-m para retener agua, por su actividad antibacteriana y antiinflamatoria. Elaboración propia con información de [13] e ilustración de [27].

En el año 2021, el trabajo de Gargouch y colaboradores se enfocó en investigar las actividades presentes en los EPS de *Porphyridium marinum* (Ver anexo 1), con el objetivo de establecer una relación entre sus actividades y las propiedades de los EPS, y así determinar su mecanismo de acción. A través de una serie de experimentos y análisis, los autores examinaron los siguientes efectos (Figura 5)^[28]:

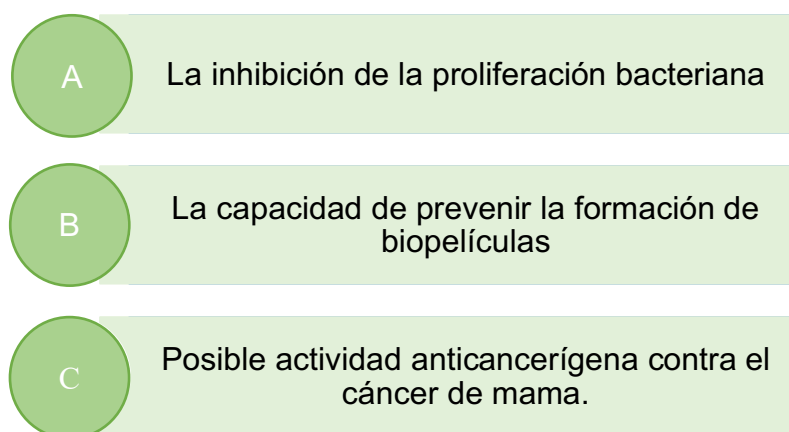


Figura 5: Posibles efectos de los exopolisacáridos de *Porphyridium marinum*. A: La inhibición de la proliferación bacteriana permiten obtener alternativas para la mejora de la gestión terapéutica con productos naturales. B: La formación de biopelículas de *Candida albicans* estaría favorecida por la adhesión a las superficies. C: El efecto antiproliferativo podría estar relacionado con las masas moleculares bajas. Elaboración propia a partir de la información de [28].

El EPS de *P. marinum* fue preparado por un homogeneizador de alta presión (HPH) para la obtención de 3 fracciones: EPS-0C (no tratado), EPS-2C (2 pases de HPH) y EPS-5C (5 pases de HPH). Según los resultados obtenidos, la fracción de EPS-0C mostraba actividad antibacteriana frente a Gram (+) y Gram (-) y capacidad para inhibir la formación de biopelículas de *Candida albicans* atribuida a la composición rica en grupos sulfatos y ácidos urónicos. Las fracciones de EPS-2C y EPS-5C, presentaban actividad antiproliferativa contra las células de cáncer de mama a una alta concentración, a mayor concentración observaban una mayor actividad contra las células cancerosas. Demostraron las actividades biológicas de los EPS de *P. marinum* como fuente natural útil en formulaciones farmacéuticas e industrias alimentarias como conservantes, dependiendo de las masas moleculares, viscosidad y composición^[28].

5.3.4. Industria agrícola.

Teniendo en cuenta la mayor demanda de alimentos producidos mediante técnicas sostenibles en las que no se utilicen productos químicos sintéticos, el uso de microalgas combinadas con innovaciones biotécnicas está siendo relevante en la producción de biofertilizantes, bioenergía, metabolitos secundarios y productos que sean útiles en el control de plagas y patógenos^[13].

Los **bioplaguicidas** son compuestos naturales utilizados para el control de las plagas y patógenos presentes en el medio agrícola, cuya obtención puede ser a través cianobacterias y microalgas entre otros. Los EPS-m con dicha actividad se podrían obtener mediante el uso de aguas residuales por su contenido en amonio, carbono, fósforo y nitrógeno^[29].

Además, los EPS-m se han estudiado como **bioestimulantes de plantas**, mejoran el crecimiento de las plantas, la tolerancia frente a los cambios o condiciones ambientales extremas, y la absorción de nutrientes^[13].

Según el estudio realizado por Kim MJ y colaboradores, el género *Chlorella* presentaba actividad biofertilizante y bioestimulante. Para realizar este estudio, se utilizó una solución *Chlorella fusca* CHK0059 (Ver anexo 1) diluida con agua hasta una concentración del 0,4%. El objetivo fue evaluar los efectos de *Chlorella fusca* CHK0059 en el crecimiento de la planta de fresa de Seolhyang (Tabla 4) y su capacidad para suprimir el marchitamiento causado por un hongo patógeno *Fusarium*, el cual penetraba por las raíces y bloqueaba el movimiento de los nutrientes hasta producir la muerte de las plantas^[30].

Tabla 4: Resultados del tratamiento de la cepa *Chlorella fusca* CHK0059 con una concentración al 0,4%. El estudio consistió en comparar la evolución de las plantas sin tratar con plantas tratadas con *Chlorella*. Los primeros días la tendencia fue similar, pero tras varias semanas se observaron cambios significativos. Elaboración propia con información de [30].

Tiempos de tratamiento	Control sin tratar	Tratamiento con <i>Chlorella fusca</i> CHK0059 al 0,4% de concentración
15 días	Mayor altura	-
85 días	Altura similar	Altura similar 1 mm de grosor mayor de las hojas Aumento del 40,2% de floración Aumento del 6,63% en contenido de clorofila
90 días		Reducción del 9,8% marchitamiento por <i>Fusarium</i>

Tras el tratamiento con CHK0059 al 0,4%, la incidencia de la enfermedad del marchitamiento de la fresa de Seolhyang disminuyó un 70,4% en comparación con el control que no fue tratado, por lo que demostraron mejora en el crecimiento de las plantas^[30].

6. Conclusiones

En este Trabajo Final de Grado, se llevó a cabo un estudio sobre los exopolisacáridos excretado por microalgas (EPS-m) y sus posibles aplicaciones en la industria biotecnológica.

1. A través del análisis de la literatura existente se logró alcanzar una comprensión más profunda sobre el tema, destacando la gran versatilidad biotecnológica de los EPS-m, abarcando desde la industria farmacéutica y alimentaria hasta la cosmética.
2. Destaca, la influencia ambiental en la composición de los EPS-m, lo que les confiere a las microalgas una gran adaptabilidad a diversos entornos. Esto sugiere, la importancia, a la hora de la producción en cultivo, de seleccionar las especies, cepas adecuadas, los factores ambientales y los medios de cultivo para una producción eficaz de EPS-m.
3. La elección de métodos de extracción, como la ultrafiltración, es esencial para maximizar la eficiencia.

En trabajo de fin de grado, ha contribuido al entendimiento de los EPS-m, constituyendo una base de partida para futuras investigaciones.

7. Bibliografía

[1]. BioDic: Diccionario de Biología [Internet]. BioDic By BioScripts. Disponible en: <https://www.biodic.net/palabra/biotecnologia/>

[2]. Real Academia Española y Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología F.S.P [Internet]. Enclave de ciencia. Disponible en: <https://enclavedeciencia.rae.es/biotecnología>

[3]. DICCIOMED: Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico [Internet]. Usal.es. Disponible en: <https://dicciomed.usal.es/palabra/biotecnologia>

[4]. Tenorio-Rodriguez P.A., Freile-Pelegrín Y. Los colores de la biotecnología [Internet]. Invdes. 2021. Disponible en: <https://invdes.com.mx/los-investigadores/los-colores-de-la-biotecnologia/>

[5]. Campos-Flores JR, Hernández-Trejo A, Orbe Orihuela YC. La importancia de la biotecnología en las ciencias de la salud: una revisión. [Internet]. Enero 2023. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/xikua/article/view/9923>

[6]. Lokko Y, Heijde M, Schebesta K, Scholtès P, Van Montagu M, Giacca M. Biotechnology and the bioeconomy—Towards inclusive and sustainable industrial development [Internet]. New Biotechnology. 2018. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.06.005>

[7]. Enciclopedia médica A.D.A.M. Diabetes. [Internet]. 2023. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001214.htm>

[8]. Gómez Ayala AE. Terapia insulínica. Revisión y actualización. Offarm [Internet]. 2008. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-terapia-insulinica-revision-actualizacion-13128906>

[9]. Ruiz S, Sulleiro E, Calvo G. Medicamentos biotecnológicos; del sueño a la realidad [Internet]. Farmacéuticos de Atención Primaria. 2011. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-farmaceuticos-atencion-primaria-317-articulo-medicamentos-biotecnologicos-from-dream-reality-X2172376111012362>

[10]. Bello-Morales R, Andreu S, Ruiz-Carpio V, Ripa I, López-Guerrero JA. Extracellular Polymeric Substances: Still Promising Antivirals [Internet]. *Viruses*. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v14061337>

[11]. Yi Tong Cheah, Derek Juinn Chieh Chan. Physiology of microalgal biofilm: a review on prediction of adhesión on substrates [Internet]. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1980671>

[12]. Chaisuwan W, Jantanasakulwong K, Wangtueai S, Phimolsiripol Y, Chaiyaso T, Techapun C, y colaboradores. Microbial exopolysaccharides for ummune enhancement: Fermentation, modifications and bioactivities. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100564>

[13]. Laroche C. Exopolysaccharides from Microalgae and Cyanobacteria: Diversity of Strains, Production Strategies, and Applications [Internet]. *Marine Drugs*. 2022. Disponible en <https://doi.org/10.3390/md20050336>

[14]. Pierre G, Delattre C, Dubessay P, Jubeau S, Vialleix C, Cadoret JP, Probert I, Michaud P. What is in store for EPS Microalgae in the next decade? [Internet]. *Molecules*. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules24234296>

[15]. Borjas Esqueda A, Gardarin C, Laroche C. Exploring the diversity of red microalgae for exopolysaccharide production. [Internet]. *Marine Drugs*. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/md20040246>

[16]. Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T. Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities. [Internet]. *Trends in Microbiology*. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.016>

- [17]. Sanz M. Biofilms multiespecie en la industria alimentaria [Internet]. Betelgeux Christeyns Food Hygiene. 2019. Disponible en: <https://www.betelgeux.es/blog/2019/11/08/biofilms-multiespecie-en-la-industria-alimentaria/>
- [18]. Yin W, Wang Y, Liu L, He J. Biofilms: The microbial “protective clothing” in extreme environments [Internet]. International Journal of Molecular Sciences. 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms20143423>
- [19]. Macbiopest [Internet]. Macbiopest-project.eu. Disponible en: <https://macbiopest-project.eu/55-2/>
- [20]. Mutale-Joan, C., Sbabou, L. & Hicham, E.A. Microalgae and Cyanobacteria: How Exploiting These Microbial Resources Can Address the Underlying Challenges Related to Food Sources and Sustainable Agriculture: A Review [Internet]. Journal of Plant Growth Regulation. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10534-9>
- [21]. Koçer, A.T., İnan, B., Kaptan Usul, S. *et al.* Exopolysaccharides from microalgae: production, characterization, optimization and techno-economic assessment [Internet]. Brazilian Journal of Microbiology. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00575-3>
- [22]. Asimakis E, Shehata AA, Eisenreich W, Acheuk F, Lasram S, Basiouni S, Emekci M, Ntougias S, Taner G, May-Simera H, Yilmaz M, Tsiamis G. Algae and their metabolites as potential bio-pesticides [Internet]. Microorganisms. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020307>
- [23]. Ibrahim TNBT, Feisal NAS, Kamaludin NH, Cheah WY, How V, Bhatnagar A, Ma Z, Show PL. Biological active metabolites from microalgae for healthcare and pharmaceutical industries: a comprehensive review [Internet]. Bioresource Technology. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128661>

[24]. Song Y, Li S, Gong H, Yip RCS, Chen H. Biopharmaceutical applications of microbial polysaccharides as materials: a review [Internet]. International Journal of Biological Macromolecules. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124259>

[25]. Toucheteau C, Deffains V, Gaignard C, Rihouey C, Laroche C, Pierre G, Lépine O, Probert I, Le Cerf D, Michaud P, Arnaudin-Fruitier I, Bridiau N, Maugard T. Role of some structural features in EPS from microalgae stimulating collagen production by human dermal fibroblasts [Internet]. Bioengineered. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2254027>

[26]. Ben Hlima H, Smaoui S, Barkallah M, Elhadeif K, Tounsi L, Michaud P, Fendri I, Abdelkafi S. Sulfated exopolysaccharides from *Porphyridium cruentum*: A useful strategy to extend the shelf life of minced beef meat [Internet]. International Journal of Biological Macromolecules. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.161>

[27]. La ventaja de los apósitos hidrocoloides de cara al verano [Internet]. Tiritas®. 2018. Disponible en: <https://www.tiritas.es/la-curopedia/punto-de-cura/ventaja-de-los-apositos-hidrocoloides/>

[28]. Gargouch N, Elleuch F, Karkouch I, Tabbene O, Pichon C, Gardarin C, Rihouey C, Picton L, Abdelkafi S, Fendri I, Laroche C. Potential of Exopolysaccharide from *Porphyridium marinum* to Contend with Bacterial Proliferation, Biofilm Formation, and Breast Cancer [Internet]. Marine Drugs. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/md19020066>

[29]. Kumar J, Ramlal A, Mallick D, Mishra V. An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance [Internet]. Plants. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants10061185>

[30]. Kim MJ, Shim CK, Ko BG, Kim J. Effect of the Microalga *Chlorella fusca* CHK0059 on Strawberry PGPR and Biological Control of Fusarium Wilt Disease in Non-Pesticide Hydroponic Strawberry Cultivation

[Internet]. Journal of Microbiology and Biotechnology. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.4014/jmb.2001.01015>

Material suplementario:

ANEXO 1: Especies de microalgas y autoría.

Especie	Autoría	Ref. bibliográfica en la que se cita
<i>Diacronema ennorea</i>	Bendif & Véron	25
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Bohlin, K.	25
<i>Porphyridium cruentum</i>	Nägeli, C.	26
<i>Porphyridium marinum</i>	Kylin, H.	28
<i>Chlorella fusca</i>	Shihira, I. & Krauss, R.W	30