

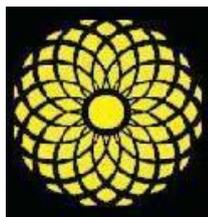
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Dirección de Postgrado
Maestría en Biotecnología Industrial

Caracterización proximal, perfil lipídico e
hidrólisis proteica de *Arthrospira*
platensis

MARÍA REBECA DEJESÚS PRIETO GARCETE

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del
Grado de Magíster en Biotecnología Industrial

SAN LORENZO – PARAGUAY
Junio – 2021



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Dirección de Postgrado
Maestría en Biotecnología Industrial

Caracterización proximal, perfil lipídico e
hidrólisis proteica de *Arthrospira*
platensis.

MARÍA REBECA DEJESÚS PRIETO GARCETE

Orientador: **Dra. Daniela Lorena Lamas**
Co Orientador: **MSc. Francisco Ferreira Peralta**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del
Grado de Magíster en Biotecnología Industrial

SAN LORENZO – PARAGUAY
Junio – 2021

Datos Internacionales de Catalogación en la Publicación (CIP) DE LA BIBLIOTECA DE
LA FACEN – UNA

Prieto Garcete, María Rebeca Dejesús.

Caracterización proximal, perfil lipídico e hidrólisis proteica de *Arthrospira platensis* /
María Rebeca Dejesús Prieto Garcete. - - San Lorenzo: Facultad de Ciencias Exactas y
Naturales, UNA, 2021. 74 p.; 30 cm.

Tesis (Magister en Biotecnología Industrial). -- Universidad Nacional de Asunción,
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1. *Arthrospira platensis*. 2. Microalgas. 3. Hidrólisis proteica. 4. Biodiesel - Producción.
5. Biocombustibles - Producción. 6. Biomasa. 7. Perfil lipídico. 8. Tesis y Disertaciones
Académicas – Paraguay. I. Título.

CDD 574.19221

Caracterización proximal, perfil lipídico e hidrólisis proteica de *Arthrospira platensis*

MARÍA REBECA DEJESÚS PRIETO GARCETE

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del Grado de Magíster en Biotecnología Industrial.

Fecha de aprobación: 24 de mayo de 2021.

MESA EXAMINADORA

MIEMBROS:

Prof. Dra. Daniela Lamas Lorena

Prof. Dr. Edgar Antonio Sánchez Báez

Prof. MSc. Andrea Weiler de Albertini

MSc. Edgar Bernabé Cardozo Ruiz Díaz

Dr. Gilberto Antonio Benítez Rodas

Dr. Julio Cesar Benítez Villalba

Aprobado y catalogado por la Dirección de Postgrado de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, en fecha de 16 de septiembre del 2021.

Prof. MSc. Andrea Weiler
Director de Postgrado, FACEN – UNA

AGRADECIMIENTOS

A Dios por su infinita providencia, por ser mi sostén de cada día. A mi familia por su ayuda y acompañamiento. En especial eterna gratitud a mi padre Pablo Augusto Prieto Cardozo y mi madre Nimia Garcete López a quienes dedico este logro. Gratitud y admiración a mi orientadora la Dra. Daniela Lorena Lamas, gracias a mi co-orientador el Msc. Francisco Ferreira Peralta por la ayuda brindada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT por la financiación de la Maestría. A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción FACEN – UNA por desarrollar la Maestría en Biotecnología Industrial.

Al departamento de Biotecnología por el apoyo y al Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero – INIDEP por brindarme la posibilidad de realizar los análisis correspondientes a la tesis.

Caracterización proximal, perfil lipídico e hidrólisis proteica de *Arthrospira platensis*

Autor: MARÍA REBECA DEJESÚS PRIETO GARCETE

Orientador: Dra. DANIELA LORENA LAMAS

Co Orientador: Prof. MSc. FRANCISCO FERREIRA BENITEZ

RESUMEN

En la actualidad, las microalgas han ganado un gran interés, ya que son fuente de importantes sustancias naturales y producen biomateriales que presentan diversas aplicaciones industriales. Se han analizados tres cepas de diferentes orígenes geográficos de *Arthrospira sp.* La *Arthrospira platensis* aislada de Laguna Capitán del chaco Paraguayo fue cultivada en fotobiorreactor tipo batch con medio Zarrouk en condiciones de 24 hs luz, 0,45 vvm e intensidad lumínica de 12.500 lm durante 75 días que generó un rendimiento de 5,82 gramos de biomasa por litro de cultivo. Las determinaciones realizadas para evaluar la composición proximal de las cepas fueron humedad, cenizas, proteínas y lípidos de acuerdo con los métodos oficiales (AOAC, 1990). Los lípidos fueron analizados por el método de Bligh y Dyer (1959) y el perfil de ácidos grasos fue evaluado mediante cromatografía gaseosa, para la cepa de *Arthrospira platensis* de origen Paraguayo se obtuvieron los valores de porcentaje de proteínas un 67,40%, grasas totales 5,69%, humedad 20,02% y cenizas 9,11%. Las cepas fueron sometidas a hidrólisis enzimática con tres proteasas comerciales Alcalase 2,4 L, Flavourzyme y una pepsina inmovilizada proveída por PROIMI (Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos) de la ciudad de Tucumán, Argentina. Se analizaron la solubilidad y el peso molecular de los hidrolizados, en donde la solubilidad de la *Arthrospira platensis* fue de 33,864 mg/ml hidrolizada con Alcalase 2,4 L, los pesos moleculares variaron de 5kDa hasta 30 kDa con las tres proteasas. De acuerdo a la bibliografía se puede inferir que estos péptidos tienen un alto poder antioxidante y podrían tener actividad biológica para en tratamiento de diversas afecciones crónicas como la presión alta, inflamación intestinal y obesidad. También se ha detectado la presencia de ácidos grasos esenciales de acuerdo con el perfil lipídico, por lo que esta microalga podría ser utilizada como suplemento alimenticio o complemento nutricional.

Palabras claves: *Arthrospira platensis*, análisis proximal, Hidrólisis

Proximal characterization, lipid profile and protein hydrolysis of *Arthrospira platensis*

Autor: MARÍA REBECA DEJESÚS PRIETO GARCETE

Orientador: Dra. DANIELA LORENA LAMAS

Co Orientador: Prof. MSc. FRANCISCO FERREIRA BENITEZ

SUMMARY

At present, microalgae have gained great interest, since they are a source of important natural substances and produce biomaterials that have various industrial applications. Three strains of different geographical origins of *Arthrospira sp* have been analyzed. The *Arthrospira platensis* was isolated of Laguna Capitan of Paraguayan Chaco was cultivated in Batch-type photobioreactor with Zarrouk medium under 24 HS light conditions, 0.45 VVM and luminum intensity of 12,500 lm for 75 days that generated a yield of 5.82 grams of biomass per liter of crop. Determinations made to evaluate the proximal composition of strains were moisture, ash, proteins and lipids in accordance with official methods (AOAC, 1990). The lipids were analyzed by the method of Bligh and Dyer (1959) and the fatty acid profile was evaluated by gas chromatography, for the *Arthrospira platensis* strain of Paraguayan origin, the values of the protein percentage obtained was 67.40%, total fats 5.69%, moisture 20.02% and 9.11% of ash. The strains were subjected to enzymatic hydrolysis with three commercial proteases Alcalase 2.4 L, Flavourzyme and an immobilized pepsin provided by PROIMI (Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos) of Tucumán city, Argentina. The solubility and the molecular weight of the hydrolysates were analyzed, where the solubility of the *Arthrospira platensis* was 33,864 mg/ml hydrolyzed with Alcalase 2,4L, the 5kDa molecular weights up to 30 kDa with the three proteases. According to the bibliography can be inferred that the peptides obtained have a high antioxidant power and could have biological activity for treatment of various chronic conditions such as high pressure, intestinal inflation and obesity. The presence of essential fatty acids has also been detected according to the lipid profile of each strain, so this microalgae could be used as a food supplement or nutritional supplement.

Keywords: *Arthrospira platensis*, proximal analysis, hydrolysis

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Pregunta de investigación	4
1.3. Justificación.....	4
1.4. Objetivos	6
1.4.1. Objetivo General	6
1.4.2. Objetivos Específicos.....	6
2. MARCO TEÓRICO	7
2.1. <i>Arthrospira platensis</i>	7
2.2. Cultivo de <i>Arthrospira platensis</i>	10
2.3. Producción de biodiesel a partir de microalgas.....	13
2.4. Efectos nutraceuticos de <i>Arthrospira sp</i>	13
2.5. <i>Arthrospira platensis</i> en la dieta diaria	14
2.6. Agregados de <i>Arthrospira sp</i> en productos alimenticios.....	16
2.7. Hidrolizados proteicos	17
2.8. Péptidos bioactivos	18
2.9. Antecedentes	20
3. METODOLOGÍA	21
3.1. Materiales y equipamiento	21
3.1.1. Enzimas	21
3.1.2. Biomasa.....	21
3.1.3. Cultivo de <i>Arthrospira platensis</i>	23
3.2. Análisis proximal	24
3.2.1. Determinación de proteínas totales	25
3.2.2. Determinación de lípidos totales.....	26
3.2.3. Determinación de Humedad.....	26
3.2.4. Determinación de Cenizas.....	27
3.3. Hidrólisis enzimática.....	28
3.3.1. Ruptura celular	28
3.3.2. Proceso de hidrólisis	28
3.4. Precipitación de proteínas hidrolizadas con sulfato de amonio	30

3.5.	Determinación de proteínas solubles	30
3.6.	Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE).....	31
3.7.	Perfil lipídico.....	31
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1.	Cosecha de biomasa de <i>Arthrospira platensis</i>	32
4.2.	Análisis proximal	33
4.2.1.	Proteínas totales	34
4.2.2.	Grasas totales	34
4.2.3.	Humedad y cenizas	35
4.3.	Proteínas solubles.....	36
4.4.	Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE).....	38
4.4.1.	Gel SDS de <i>Arthrospira platensis</i>	38
4.4.2.	Gel SDS de <i>Arthrospira sp</i> de origen argentino	40
4.4.3.	Gel SDS de <i>Arthrospira sp</i> de origen chileno.....	41
4.5.	Perfil lipídico.....	44
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
5.1.	Conclusiones	49
5.2.	Recomendaciones a futuro	50
6.	BIBLIOGRAFIA.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cultivo de <i>Arthrospira sp</i> en un sistema abierto tipo raceways.	11
Figura 2. Cultivo de <i>Arthrospira sp</i> en un sistema cerrado tipo fotobiorreactor.	11
Figura 3. <i>Arthrospira platensis</i> nativa del Paraguay.	22
Figura 4. Puntos de muestreo. Laguna Yaragui.	22
Figura 5. Fotobiorreactores utilizados para el cultivo de <i>Arthrospira platensis</i>	24
Figura 6. Tubo falcon con biomasa y buffer fosfato 0,2 M, luego del proceso de congelación, descongelación y sonicado.	28
Figura 7. Sistema de reactores batch de vidrio de 50 ml utilizados en el proceso de hidrólisis de cepas.	29
Figura 8. En las figuras a y b se muestran los tubos con reacción de Lowry de las proteínas solubles.	30
Figura 9 a. Biomasa de <i>Arthrospira platensis</i> luego de la centrifugación del medio de cultivo, b. Biomasa de <i>Arthrospira platensis</i> cosechada.	33
Figura 10. Gel SDS-PAGE de <i>Arthrospira platensis</i>	39
Figura 11. Gel SDS-PAGE de <i>Arthrospira sp</i> de origen argentino.	40
Figura 12. Gel SDS-PAGE de <i>Arthrospira sp</i> de origen chileno.	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparación de los valores del análisis proximal.	36
Gráfico 2. Comparaciones de solubilidad de los hidrolizados.	37

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de aminoácidos de <i>Arthrospira sp</i>	9
Tabla 2. Contenido de vitaminas presentes en <i>Arthrospira sp</i>	9
Tabla 3. Contenido de ácidos grasos en <i>Arthrospira sp</i>	9
Tabla 4. Contenido de minerales en <i>Arthrospira sp</i>	10
Tabla 5. Componentes del medio Zarrouk.	23

Tabla 6. Componentes de la solución A5.....	23
Tabla 7. Condiciones de la hidrólisis enzimática utilizadas para las diferentes enzimas.....	29
Tabla 8. Composición de proximal de cepas de <i>Arthrospira sp</i>	33
Tabla 9. Proteínas solubles.....	37
Tabla 10. Perfil lipídico de <i>Arthrospira platensis</i>	45
Tabla 11. Perfil lipídico de <i>Arthrospira sp</i> de origen argentino	46
Tabla 12. Perfil lipídico de <i>Arthrospira sp</i> de origen chileno.....	47

1. INTRODUCCIÓN

Se espera que la población mundial aumente en 2.000 millones de personas durante los próximos 30 años, para la cual se deben producir alimentos suficientes que puedan satisfacer la demanda general. Las proyecciones citadas por Alexandratos et al, (2012) en el documento de la FAO, titulada Recomendaciones Agrícolas Mundiales 2030/2050, mencionan que la demanda mundial de fuentes de proteínas tradicionales, constituidas por ganado y pescado, crecerá en un 76 % para el 2050. La búsqueda de nuevas fuentes de alimentos y productos naturales es la consecuencia del incremento de la demanda alimenticia a nivel mundial, y la necesidad de generar alternativas de alimentos para una dieta más saludable, así lo menciona Ramírez et al., (2010).

El consumo de microalgas como fuente de alimento humano se remonta al siglo XIV en el Imperio Precolombino, sin embargo, fue a principios de la década de 1950, cuando el aumento incipiente de la población mundial, motivó su consumo como fuentes alternativas de proteínas para equilibrar la posible escasez de alimentos (FAO, 2008).

Además de ser una buena fuente de proteínas, estas microalgas contienen ingredientes bioactivos, lo que les da un gran potencial como moléculas funcionales (Vaz et al., 2016). Así mismo, evaluaciones nutricionales han demostrado que la biomasa de microalgas es beneficiosa como suplemento dietético o sustituto de las fuentes convencionales de proteínas (Beker, 2007).

En las últimas décadas, aumentó el número de investigaciones y empresas relacionadas con la producción de productos y derivados microalgales que se comercializan en forma de cápsulas, tabletas y polvo (Ganta & Svircev, 2008). Por otro lado, su consumo está relacionado con la reducción y prevención del desarrollo de patologías tales como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, cáncer, entre otras; lo cual está asociado fundamentalmente al alto contenido en fibra que contienen (Cano et al., 2012).

La *Arthrospira sp* posee un elevado porcentaje de proteínas totales, entre el 50% a 75% (Altmann et al., 2020; Licett et al., 2014; Plaza et al., 2009) y esta característica la convierte en una materia prima de interés para elaborar hidrolizados proteicos.

En este contexto, en este trabajo se ha implementado la hidrólisis de la misma utilizando tres proteasas diferentes. Inicialmente la cepa de *Arthrospira platensis* aislada de la región del Chaco Paraguayo, fue caracterizada de acuerdo con su contenido proximal de macronutrientes y paralelamente se realizó una comparación con dos cepas de *Arthrospira sp* de diferente origen. La cepa de *Arthrospira platensis*, fue obtenida de un cultivo controlado en el laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

La intención es dar un aporte a la comunidad científica acerca de las bondades de esta microalga, de manera tal de abrir nuevos horizontes a futuras investigaciones con esta línea.

1.1. Planteamiento del problema

Las especies de *Arthrospira sp* son organismos procariotas fotosintéticos con morfología filamentosa que pertenecen al filo Cyanobacteria y tienen un valor comercial excepcional en la industria alimentaria de alto valor nutricional debido al alto contenido de proteínas que presenta (Soni et al., 2017). Es rica en vitaminas, minerales, β -caroteno, ácidos grasos esenciales y antioxidantes (Capelli et al., 2010);

Su comercialización en forma de cápsulas y tabletas, ya está siendo establecida tanto para la industria alimentaria, como cosmética, debido a que es una fuente de ficocianina, utilizado como tinte natural (Kamble et al., 2013).

Su 60-70% de contenido proteico en peso seco, la hace apreciarse como un alimento altamente proteico, superior a cualquier otra fuente alimentaria ya que posee proteínas de alta calidad con presencia balanceada de aminoácidos esenciales, lo que trae ventajas al consumidor en términos de mejoras profilácticas para mantener un buen estado de salud (Arsenault et al., 2012)

Su biomasa es considerada GRAS según certificación emitida por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), que garantiza su posible uso como alimento y medicina cuando se cultiva y procesa bajo los estándares de salud y seguridad requeridos. En los últimos años, se desarrollaron numerosos estudios sobre la hidrólisis de microalgas como método eficaz para producir péptidos bioactivos (Bamdad & Chen, 2013). Los péptidos son inactivos en la proteína precursora y, para tener un efecto fisiológico, deben hidrolizarse dependiendo de la estructura,

composición y secuencia los péptidos generados por hidrólisis de proteínas pueden presentar actividad antioxidantes (Lisboa, et al., 2016; Sheih, et al., 2010;), anticáncer (Sheih et al., 2010), antihipertensivo, hipocolesterolémico, antimicrobiano e inmuno modulador y quelante de metales (Hartmann & Meisel, 2007, Kim & Wijesekara 2010). De esta manera, varios estudios han demostrado diversos beneficios de las microalgas sobre la salud (Blinkova, et al., 2001; Khan, et al., 2005; Kulshreshtha et al., 2008). La hidrólisis se realiza generalmente por enzimas derivadas de microorganismos o plantas (Samaranayaka & Li-Chan, 2011) aunque también se han reportado estudios de digestión por enzimas del tracto gastrointestinal como la pepsina o la tripsina (Minic et al., 2016).

Las proteínas de origen animal contenidas en las harinas de pescado, carne o sangre son de excelente calidad; pero su precio es elevado, ya sea para alimentación animal en donde el principal mercado es el sector agropecuario y la industria alimenticia. Entre los criterios de selección de algunas fuentes proteicas alternativas, es necesario considerar que el contenido de proteínas del producto a utilizar, sin importar su origen (animal, vegetal o unicelular), sea lo suficientemente elevado como para permitir sustituciones importantes de fuentes de proteínas utilizadas hasta ahora (Rodríguez et al., 2013).

Los hidrolizados proteicos en su mayoría tienen como materia prima las proteínas de origen animal, lo cual excluye a la fracción de la población que por filosofía de vida no consume productos de origen y derivados animales. El principal motivo por el cual se decidió realizar un hidrolizado a partir de microalgas es debido a la abundancia en el porcentaje de proteína que ofrece la *Arthrospira platensis*.

Así, el grado y tipo de hidrólisis va a determinar el resto de las propiedades del hidrolizado. Los hidrolizados con poder espumante son usados en la producción de pasteles, pan, helados y postres, los hidrolizados con buen poder emulsificante son usados en la fabricación de mayonesas, carne picada, salchichas o helados, también hidrolizados con una buena absorción de aceite o agua son usados en derivados cárnicos y en productos bajos en grasas (Vioque et al., 2001; Marti et al., 2019; Mendoza, 2017)

El hidrolizado de microalgas representa una alternativa nutricional para la proteína animal, a bajo costo (Madkaur et al., 2012), incidiendo positivamente en el progreso de la seguridad alimentaria. (Rodríguez et al., 2013).

Los hidrolizados de *Arthrospira sp* a ser empleada como fuente de proteína microalgal, representan un avance importante en la tecnología de alimentos con miras a la sustitución parcial o substancial de algunos ingredientes y proteínas de origen animal, en la alimentación de animales del sector agropecuario y consumo humano.

1.2. Pregunta de investigación

1. ¿Cuál es el contenido proteico total de la cepa de *Arthrospira platensis* del chaco paraguayo?
2. ¿Cuál es su caracterización bioquímica?
3. ¿Será posible realizar la hidrólisis enzimática proteica de tres cepas de *Arthrospira sp*?

1.3. Justificación

El propósito de este trabajo es caracterizar mediante el análisis proximal de macronutrientes, una cepa de *Arthrospira platensis* del chaco paraguayo que aún no ha sido estudiada. Además se pretende realizar la hidrólisis de ésta, utilizando diferentes proteasas y evaluar los pesos moleculares de los péptidos generados. Por último, estas determinaciones también serán realizadas sobre otras cepas de *Arthrospira sp* de diferentes orígenes geográficos.

Las microalgas son un producto de fácil producción y con impacto ambiental favorable debido a que pueden convertir el CO₂ en biomasa y oxígeno a través de la fotosíntesis y absorbe dióxido de carbono del ambiente para incorporarlo en su metabolismo (Moraes et al, 2016).

Arthrospira platensis, una alga azul-verde ha ganado popularidad en todo el mundo como un suplemento alimenticio, siendo uno de los alimentos más nutritivos conocidos por el hombre. Hoy en día el consumo de *Arthrospira sp* como suplemento alimenticio y alimento funcional, ha ganado un amplio terreno en el mercado y se consume en todo el mundo por su valor nutricional (Ponce, 2013; Grahl

et al., 2018). Algunas de las microalgas biotecnológicamente más relevantes son las algas verdes como la *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina* y las cianobacterias como *Arthrospira máximas* que se comercializan y utilizan ampliamente, principalmente como suplementos nutricionales para humanos y como suplementos para piensos de animales criados con potencial económico (Gutiérrez et al., 2017)

Se ha demostrado que la *Arthrospira sp* es una excelente fuente ácidos grasos poliinsaturados, pigmentos, vitaminas y compuestos fenólicos. Actualmente, el principal uso de *Arthrospira* es la extracción de ficocianina, un pigmento fotosintético azul (Priyadarshani & Rath, 2012). Al contrario de otros microorganismos propuestos como fuentes de proteínas como levaduras, *Chlorella*, *Scenedesmus*, etc, la *Arthrospira sp*, no contiene paredes celulósicas, sino una cubierta de mureina, relativamente frágil, este hecho explica la buena digestibilidad de sus proteínas en el caso de consumo directo, sin un tratamiento previo, que es del 83% a 90% (Neptalí, 2014). Además de su contenido en proteínas y aminoácidos esenciales, las microalgas son conocidas por presentar excelente contenido de vitaminas, macro y microelementos, ácidos grasos esenciales, carbohidratos, pigmentos y proteínas antioxidantes (Gershwin & Belay, 2008; Deamici, et al., 2018; Moraes, et al., 2016).

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Caracterizar químicamente la biomasa de cepas de *Arthrospira sp*, y estudiar la hidrólisis enzimática de las mismas y su perfil lipídico.

1.4.2. Objetivos Específicos

- a) Obtener biomasa de *Arthrospira platensis* en condiciones controladas de cultivo.
- b) Determinar la composición proximal de tres cepas de microalgas *Arthrospira platensis*.
- c) Realizar la hidrólisis proteica con tres proteasas diferentes de tres cepas de microalgas *Arthrospira sp*.
- d) Determinar el peso molecular de los péptidos resultantes de la hidrólisis proteica de tres cepas de microalgas *Arthrospira sp*.
- e) Determinar el perfil lipídico de las cepas *Arthrospira sp*

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *Arthrospira platensis*

La continua designación actual del nombre *Spirulina* para las especies del género *Arthrospira sp* tiene un significado más tradicional, práctico y tecnológico que taxonómico, sin embargo esta designación suele crear confusión. Por lo tanto es importante destacar que las especies *Arthrospira platensis* y *Spirulina platensis* son diferentes y filogenéticamente distantes (Vonshak, 1997). Aunque comparte con la *Spirulina* la forma helicoidal de los tricomas y la distribución de estas especies en los mismos hábitats.

La popularidad o notoriedad de las especies de cianobacterias *Arthrospira platensis*, *Arthrospira máxima*, *Arthrospira geitleri* y *Arthrospira fusiformis*, es el resultado de su importancia económica, que surge de las características peculiares de las especies cultivadas en cuanto a sus bondades nutricionales y sus posibles aplicaciones (Grahl et al., 2018). Desde hace años se recomienda su consumo diario la Organización Mundial de la Salud y la FAO debido a que las microalgas conforman un alimento conocido y usado por la raza humana desde hace siglos. Últimamente han adquirido un creciente interés comercial, debido a que tienen la capacidad de producir, gracias a su metabolismo varios compuestos nutraceuticos (Molino et al., 2018; Markova et al 2020) que facilitan la prevención de diferentes patologías o alteraciones de la salud, por lo cual las microalgas son una ejemplificación de los denominados superalimentos (Wollina et al., 2018).

La *Arthrospira* contiene un alto contenido de proteínas (hasta un 70%), junto con altas cantidades de ácidos grasos esenciales, aminoácidos esenciales, minerales, vitaminas (especialmente B12), pigmentos antioxidantes (ficobiliproteínas y carotenoides) y polisacáridos (Belay et al., 1993; Vonshak, 1997). Estas características hacen atractiva la explotación de este organismo en cultivos masivos como fuente de alimento.

Otro aspecto que la caracteriza, es que actualmente se cultiva industrialmente en varios lugares del mundo debido a su capacidad de reproducción, ya que se divide en dos cada 7 horas, y en condiciones ideales puede generar hasta 15000 kg/ha anuales de material seco, y con la aplicación de tecnología apropiada los rendimientos pueden mejorar. (Camacho, 2017).

En el año 2000 se estimó que la producción mundial llegaría a las 2000 toneladas por año, para el año 2013, a nivel mundial en el año 2000 existían 500 plantaciones que producían 6 mil toneladas al año. La cantidad de agua que se necesita para cultivarla en litros para producir un kilogramo de biomasa con un porcentaje aproximado de 65% de proteínas, es de 2.499 litros, y comparando con otras fuentes proteicas como la soja con un porcentaje de 34% de proteínas utiliza 8.860 litros por kilogramo; el maíz tiene 9% de proteínas y consume 12.416 litros; una res en establo alimentada con grano tiene 20% de proteínas y consume 104.000 litros por kilogramo (Ponce, 2013). A diferencia del maíz, la soja y la cría de ganado, las algas no compiten con los cultivos tradicionales por espacio, y consumen una cantidad mucho menor de agua para producir biomasa con alta calidad proteica.

Se estima que la proteína será uno de los principales nutrientes que escaseará en el futuro, por lo que actualmente la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2020), poseen proyectos que se enfocan en la producción alternativa de proteínas de distintos suministros tradicionales, tanto de origen animal como vegetal, y las algas y las microalgas son consideradas una fuente viable de producción proteínas para el futuro.

De acuerdo con diversos autores (Licett et al., 2014; Vonshak, 1997; Capelli et al., 2010; Molino et al., 2018) la composición nutricional de la *Arthrospira sp* presenta los componentes especificados en las tablas 1, 2, 3 y 4.

Tabla 1. Contenido de aminoácidos de *Arthrospira sp*.

Aminoácidos esenciales	
Nombre	Contenido (%)
Leucina	5,9-6,5
Valina	7,5
Isoleucina	6,8
Lisina	2,6-3,3
Fenilalanina	2,6-3,3
Metionina	1,3-2,0
Triptófano	1,0-1,6
Aminoácidos no esenciales	
Ácido glutámico	7,3-9,5
Ácido aspártico	5,2-6,0
Cisteína	0,5-0,7

Tabla 1. Contenido de aminoácidos de *Arthrospira sp.*

Aminoácidos esenciales	
Nombre	Contenido (%)
Leucina	5,9-6,5
Valina	7,5
Isoleucina	6,8
Lisina	2,6-3,3
Fenilalanina	2,6-3,3
Metionina	1,3-2,0
Triptófano	1,0-1,6
Aminoácidos no esenciales	
Ácido glutámico	7,3-9,5
Ácido aspártico	5,2-6,0
Cisteína	0,5-0,7

Tabla 2. Contenido de vitaminas presentes en *Arthrospira sp.*

Nombre	Contenido (%)
Provitamina A	0,11-0,2
Tiamina B1	3-4mg
Riboflavina B2	2,5-3,5mg
Niacina B3	0,014
Vitamina B6	0,5-0,7mg
Cobalamina B12	0,15-0,25mg
Vitamina E	5-7mg
Vitamina K	2.2mg
Ácido fólico	4-5mg
Ácido pantoténico	0,5-0,8mg
Biotina	5µg

Tabla 3. Contenido de ácidos grasos en *Arthrospira sp.*

Nombre	Contenido (%)
Ácido mirístico	0,23
Ácido palmítico	44,6-54,1
Ácido palmitoleico	1,26
Ácido gamma-linoleico (GLA)	8-32
Ácido linolénico	11
Ácido oleico	1-15,5
Otros	20,88

Tabla 4. Contenido de minerales en *Arthrospira sp.*

Nombre	Contenido (%)
Potasio	1-14
Sodio	0,45-0,5
Fósforo	0,3-0,7
Calcio	0,1-0,4
Magnesio	0,1-0,2
Hierro	0,03-0,05
Manganeso	0,005
Zinc	0,003
Cobre	0,0012
Cromo	0,28mg

La *Arthrospira sp* es una alternativa innovadora para ser utilizadas como factorías celulares con el fin de producir grandes cantidades de metabolitos primarios y secundarios, y también posee una la alta capacidad de acumular lisina intracelularmente, un aminoácido esencial y vitaminas , los cuales tendrían una aplicación importante en el campo de la salud humana y animal (Naranjo et al., 2010)

2.2. Cultivo de *Arthrospira platensis*

Actualmente para el cultivo de las de *Arthrospira platensis* se utilizan fotobiorreactores con el fin de propiciar condiciones óptimas para la reproducción celular y aprovechar al máximo su potencial (Soletto et al., 2008; Zhu et al., 2018; Radmann et al., 2007).

Se puede cultivar en sistemas abiertos o cerrados como se muestran en la figura 1 y 2, en donde la fuente de luz y la intensidad son factores que afectan su desarrollo y crecimiento (Álvarez, 2018; Soletto et al., 2008). En cultivos de sistemas abiertos, la luz solar es la principal fuente de energía, mientras que para sistemas de cultivo cerrados hay diferentes fuentes luminosas que se pueden utilizarse como: lámparas de tungsteno o halógeno, diodos emisores de luz (LED), lámparas fluorescentes y láser. También uno de los factores más importantes para el óptimo crecimiento, es la buena oxigenación del cultivo mediante la aireación y la biodisponibilidad de nutrientes (Ramírez et al., 2014; Soletto et al., 2008).



Figura 1. Cultivo de *Arthrospira sp* en un sistema abierto tipo raceways.
Fuente:(Rodríguez, 2010)



Figura 2. Cultivo de *Arthrospira sp* en un sistema cerrado tipo fotobiorreactor.
Fuente:(Rodríguez, 2010)

Es posible cultivar *Arthrospira sp* con sales de grado comercial para disminuir los costos de los cultivos y reemplazar los componentes del medio Zarrouk por sales como la urea, bicarbonato de sodio y sal marina cruda, y tener un rendimiento de proteínas totales aproximadamente de 52,95% en un periodo de cultivo de 30 días con un rendimiento similar (Madkour et al., 2012).

Una vez cosechada la biomasa generada, queda el medio de cultivo remanente posee componentes con principio activo, productos del metabolismo de la microalga. Aunque la mayoría de los metabolitos bioactivos que se han aislado de cianobacterias se acumularon en la biomasa, también se sabe que estos microorganismos excretan varios compuestos activos biológicos durante su crecimiento al medio de cultivo en cantidades variables (Jaki et al., 2000; Challouf et al., 2011).

Se ha demostrado que tiene actividad antimicrobiana y actividad molicida contra los caracoles *Biomphalaria alexandrina*, que es el huésped intermedio de *Schistosoma mansoni* el parásito causante de la esquistosomiasis (Mostafa & Gawish, 2009). Por lo tanto, el medio cultivo remanente podría ser utilizado para control biológico. También se ha comprobado de acuerdo con la investigación realizada por Challouf et al., (2011) antibacteriana y antioxidante.

El medio de cultivo también tiene la capacidad de utilizarse para el pretratamiento de semillas antes de ser cultivadas, por su acción protectora en contra de los efectos secundarios que podrían tener los herbicidas que se aplican a los cultivos (Osman et al., 2016).

Asimismo la *Arthrospira sp* posee dentro de sus células y también excreta, componentes con capacidad de inhibir el crecimiento de ciertas bacterias, como *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* lo cual es muy alentador, ya que se podría utilizarse en la industria de alimentos como conservantes o en el área farmacéutica reemplazando el uso de ciertos antibióticos (Shanmugapriya et al., 2012).

2.3. Producción de biodiesel a partir de microalgas

El biodiesel desarrollado con microalgas tiene potencial como combustible sostenible, ya que algunas especies muestran niveles altos de producción de lípido con la capacidad de acumularse bajo diversas tensiones en las condiciones de cultivo. Se ha demostrado que el elemento precursor para la producción de ácidos grasos en *Arthrospira sp* es el nitrógeno, el cual puede estar disponible en el medio de cultivo mediante diversos compuestos que lo contienen (Licett et al., 2014). Variar la disponibilidad de nitrógeno en el medio es una estrategia que puede ser usada a favor del productor, de manera tal de forzar a las cepas a aumentar los niveles de producción de ácidos grasos.

El cultivo de *Arthrospira platensis* en aguas residuales para la producción de biodiesel ha logrado un rendimiento de biomasa de hasta 30,23% en peso de lípidos en biomasa seca, debido al déficit en el porcentaje de concentración de nitrógeno que fuerzan a una mayor producción de ácidos grasos (Hena et al., 2018).

2.4. Efectos nutracéuticos de *Arthrospira sp*

Las proteínas que forman parte de la estructura de la *Arthrospira platensis* tienen el poder de eliminar radicales libres, el extracto de estas proteínas ha demostrado ser efectivo en la inhibición del crecimiento y evitar la migración de células cancerígenas. Los tumores tratados con el extracto de proteínas desarrollan grados de vascularización mucho menores que los que no tratados (Marková et al., 2020)

Los ácidos grasos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) pertenecientes a la serie omega 3 son esenciales y tienen la función de controlar diversas respuestas del sistema inmune, como las respuestas a las inflamaciones, el DHA interactúa con la membrana celular, ayudando a su normal crecimiento y desarrollo también el consumo diario de los mismos mejora el rendimiento muscular durante la actividad física y aumenta la tolerancia a la fatiga (Peixoto et al., 2020).

Las recomendaciones sobre la ingesta diaria de ácidos grasos Omega-3 fluctúan alrededor de 500 mg de EPA + DHA en forma de alimentos o suplementos (Simopoulos, 2002; Kris et al., 2009). El EPA es el precursor de las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos, y el DHA es un componente de

la membrana de fosfolípidos del cerebro y las células de la retina, por lo tanto, ambos ácidos grasos son esenciales para la salud humana, mostrando acciones sobresalientes en la prevención de enfermedades cardiovasculares y el desarrollo de la cognición (Zhong et al., 2007). Sus beneficios han motivado, en las últimas décadas, el desarrollo de productos con su incorporación como aditivos, emulsiones o cápsulas (Kolanowski y Laufenberg, 2006; Bermúdez et al., 2011).

Las dietas vegetarianas y veganas se han vuelto tendencia en los últimos años, aunque este estilo de alimentación se ha relacionado con algunos beneficios para la salud, la baja biodisponibilidad de determinados micronutrientes en los alimentos vegetales puede resultar en riesgo de déficit nutricional (Brignardello et al., 2013; Rojas et al., 2017). En este sentido, se ha evidenciado que el déficit de vitamina B12, vitamina D, EPA y DHA son comunes en las personas vegetarianas, y está consensuada la necesidad de ingerir suplementos alimenticios para cubrirlo. La baja biodisponibilidad del hierro, el zinc y selenio en los alimentos vegetales también puede afectar al estado nutricional de vegetarianos, por ello el uso de *Arthrospira sp* en la dieta diaria para las personas vegetarianas o veganas resulta muy beneficiosa (García et al., 2019). En este sentido, las algas aportan cantidades significativas de EPA y DHA, vitaminas del complejo B como la B12, B1, B2 y B6, también biotina y minerales como el Fe, Na, Zn, K, Ca y Mg (Christaki et al., 2011).

2.5. *Arthrospira platensis* en la dieta diaria

La *Arthrospira platensis*, está aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) como GRAS (generalmente reconocidos como seguros) (Masojídek & Prášil, 2010).

El consumo diario de 1g de *Arthrospira platensis* tiene efectos muy beneficiosos sobre la salud y uno de ellos es la disminución de los niveles de triglicéridos en sangre (Mazokopakis et al., 2014), posee gran cantidad de polifenoles que se encuentran en concentración aproximada de 350 mg por cada 100 gramos de biomasa seca con efecto vasodilatadores, que regulan la presión arterial, también aporta ácidos grasos esenciales y de esta manera el consumo diario ayuda a mejorar el perfil lipídico y nutricional (Matos et al., 2020).

El alto nivel de proteínas de varias especies de microalgas es una de las razones principales para considerarlos una fuente no convencional de este compuesto tan valioso para la alimentación humana y animal. La *Arthrospira Platensis* produce entre 460-750 g de proteínas por 1 kg en base de materia seca cuya composición es de alta calidad nutricional en comparación con las proteínas de origen animal y vegetal (Lupatini et al., 2017)

Desde hace años su consumo se ha utilizado para la alimentación de animales de cría en los balanceados para mejora la calidad de la carne en la sustitución de otras fuentes de proteínas que se utilizan actualmente en la formulación de los balanceados, como son las de soja y pescado (Altmann et al., 2020). La ingesta en la dieta mejora el color de la carne fresca del animal, la dureza y la textura luego de ser cocidas, también mejora de sobre manera el porcentaje de aminoácidos esenciales y el porcentaje final de proteínas totales de la carne (Marti et al., 2018).

Actualmente, muchos productos cárnicos para consumo humano poseen aditivos de proteínas, como la proteína de soja o de pescado para mejorar su perfil nutricional y características tecnofuncionales (Marti et al., 2018; 2019). Este es un inconveniente para las personas alérgicas a este tipo de alimento, por lo tanto es necesario buscar alternativas para mejorar la calidad del producto y brindar a este grupo poblacional una opción innovadora y segura.

La ingesta diaria mínima recomendada de proteína en la dieta del ser humano es 0,8 g por cada kg de peso del individuo, el consumo de cantidades menores a este valor se ha considerado insuficiente para el crecimiento y el desarrollo muscular en jóvenes y mantenimiento de la masa muscular en adultos. Los adultos mayores necesitan una mayor cantidad de ingesta diaria de proteínas, aproximadamente 1,0 a 1,2 g / kg o mayor cantidad en aquellos más activos para mantener la salud muscular (Naclerio, 2019).

La digestión con proteasas de *Arthrospira platensis*, específicamente con pepsina, simulando las condiciones de la digestión en el estómago, genera péptidos con elevado poder antioxidante (Minic et al., 2016), por ello consumo diario de *Arthrospira sp* podría contribuir sustancialmente a la promoción de la salud humana al aumentar la carga de antioxidantes en el organismo, por otro lado obesidad se considera un problema grave asociado con el desarrollo de las principales

enfermedades metabólicas humanas, de acuerdo con el reporte de Fan et al, (2018) se ha demostrado que los péptidos generados con pepsina tienen la capacidad de inhibir la generación de células adiposas, lo que indica que el consumo diario de hidrolizados de *Arthrospira platensis* puede evitar el desarrollo de la obesidad.

2.6. Agregados de *Arthrospira sp* en productos alimenticios

El consumo de *Arthrospira sp* se remonta a los tiempos de las civilizaciones aztecas, en donde eran cosechadas de las aguas por los nativos, y hasta hoy en día su consumo sigue vigente en la adición de diversos productos.

Las proteínas representan uno de los componentes principales de los alimentos, tanto desde un punto de vista funcional como nutricional. Las texturas de los alimentos como la carne, queso o pan dependen en gran medida de la cantidad de las proteínas que la constituyen (Güemes et al., 2009; Martí et al 2019). La *Arthrospira sp* es utilizada actualmente como suplemento proteico de muchos productos como espaguetis, donde su incorporación hasta un 10% como ingrediente funcional, ha generado un producto de adecuada calidad nutricional, favoreciendo a los parámetros estándar del producto, como tiempo de cocción, peso, pérdidas de sólidos durante la cocción, proteínas y reducción de firmeza (Torres et al 2014).

Se ha utilizado en la formulación de golosinas funcionales con un alto porcentaje de cobertura de energía, proteínas, grasas y hierro (Tafur et al., 2019). También se ha empleado en la formulación de bebidas como lo es en el caso de la bebida a base de limón que fue destinada para la prevención de deficiencia de proteínas y hierro en niños (Izquierdo, 2019)

En los alimentos ricos en grasas, la oxidación de los lípidos es la segunda causa de deterioro, después de la acción de los microorganismos, esto se da tanto en el procesado como en su almacenamiento, en ambas circunstancias se limita la vida del producto (Velasco & Williams, 2011). Este proceso puede causar olor y sabor a rancidez, un proceso que se conoce como rancidez oxidativa, además, la oxidación lipídica puede dañar enzimas y proteínas de los productos, y provocar la aparición de compuestos secundarios potencialmente tóxicos y la formación de sustancias potencialmente nocivas (Serra et al, 2020).

La *Arthrospira platensis* tiene la capacidad de evitar la oxidación de los ácidos grasos de los alimentos que contengan gran cantidad de lípidos y actuar como conservante natural (Souza et al., 2017).

2.7. Hidrolizados proteicos

Los hidrolizados proteicos se usan ampliamente en diversas industrias, incluidas la de alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y biomédicos. Los hidrolizados de proteínas tienen la capacidad de mejorar las propiedades funcionales de las proteínas nativas y permiten la liberación de péptidos de diferentes tamaños con diversas actividades como antioxidante, antimicrobiano, antihipertensivo, antiinflamatorio o antihiper glucémico. (Fan et al., 2018; Sun et al., 2015)

El uso de los hidrolizados proteicos en la alimentación animal se remonta hace cincuenta décadas atrás, en donde eran utilizados para mejorar la calidad de la carne y leche (Rakes et al, 1968)

Actualmente la mayoría de los hidrolizados proteicos que se pueden adquirir son provenientes del colágeno de los restos de animales faenados o del suero de leche vacuna, restos de pescado o también de soja (Benítez & Ibarz, 2008), en donde las personas que tienen alguna condición alérgica o por filosofía de vida no consumen derivados animal no pueden tener acceso a dicho producto. El colágeno hidrolizado está constituido por un grupo de péptidos con bajo peso molecular entre 3 kDa y 6 kDa, que se obtiene mediante una acción enzimática en medios ácidos o alcalinos a una temperatura específica, de proteínas de diferentes fuentes, como bovina o porcina (Arely et al., 2019). El hidrolizado de proteínas de carne de vacuna deshidratado representa un alto alimento nutricional que proporciona aproximadamente un 82% de proteínas de alta calidad, que incluye un 40% del aminoácido esencial con 6,6 g de leucina por cada 100 g de hidrolizado (Naclerio, 2019).

Se requiere hidrólisis de las proteínas para facilitar su solubilidad en agua y su digestibilidad, y es por ello que los hidrolizados de proteínas tienen mucho valor en la nutrición, ya que la predigestión con proteasas ayuda a que los péptidos sean más fácil de absorber y mejora el contenido de proteínas del músculo esquelético (Wang et al., 2014).

Los procesos de hidrólisis enzimática pueden ser inducidos con proteasas purificadas comerciales o por procesos fermentativos (Benítez & Ibarz, 2008), en donde la fermentación de *Arthrospira platensis* con *Lactobacillus plantarum* en un promedio de tiempo de fermentación de 36hs, ha demostrado generar péptidos bioactivos con actividades antioxidante y actividad quelante, y con el aumento del tiempo de fermentación también aumenta exponencialmente el porcentaje de metionina libre, un aminoácido esencial. (De et al, 2019)

Innumerables investigadores han buscado fuentes alternativas de materia prima para producir hidrolizados proteicos como lo ha hecho Dupont et al., (2020) con hidrolizado de proteínas de arroz, debido a su baja alergenicidad, pero su contenido total de proteínas en el arroz, es a menudo más bajo que las proteínas de origen animal, que representa aproximadamente el 30-40% de las proteínas, y en las de origen vegetal el 20-25% de proteína.

Los hidrolizados no solo se utilizan con fines nutracéuticos, sino también como aditivos en gastronomía para conseguir mejores texturas en las formulaciones de alimentos y también para disminuir los tiempos de cocción (Marti et al 2019; Plaza et al., 2009). La hidrólisis de proteínas de huevos logró producir nuevas texturas al ser añadido a las formulaciones de los alimentos, desde suaves y cremosos, hasta rígidos y espumas ligeras con una alta capacidad de formación de espuma y capacidad de reincorporar aire una vez colapsado en diversas recetas, los hidrolizados puede proporcionar los medios para mejorar las propiedades tecno funcionales de los alimentos, como ingrediente y expandir su uso en nuevas recetas (Garcés et al., 2016)

2.8. Péptidos bioactivos

Hoy en día diversas investigaciones están dirigidas al estudio de las proteínas y subproductos de origen proteico, y una de ellas es la hidrólisis de las proteínas, es decir el rompimiento de los enlaces peptídicos generando péptidos de menor tamaño.

El potencial efecto beneficioso que poseen los péptidos depende de su capacidad para alcanzar intactos los órganos en los que llevarán a cabo su función,

sin embargo, una vez en el organismo, los péptidos deben cruzar una serie de barreras potenciales que deben evitar para no ser inactivadas (Manninen, 2004).

Una vez ingerido los péptidos, en el organismo deben resistir el proceso de digestión y llegar intactos al intestino, bien pueden ejercer una función local como relajantes de la mucosa gástrica o inhibidores de la secreción de enzimas (Fan et al., 2018; Esthefany & Montalvo, 2018), o si su acción es sistémica deben atravesar el epitelio y pasar al torrente circulatorio. Las enzimas digestivas, la absorción a través del tracto gastrointestinal y las proteasas sanguíneas pueden producir la hidrólisis de los péptidos, y generar fragmentos inactivos o con una actividad mayor que su secuencia precursora (Segura et al, 2010)

Los hidrolizados de proteínas se pueden obtener mediante técnicas de fermentación utilizando bacterias y también levaduras (Liu et al., 2011), o con una digestión química con tratamientos ácidos o básicos. Algunos péptidos obtenidos de diferentes fuentes de alimentos fermentados han mostrado efectos marcadamente positivos en la salud al funcionar como antihipertensivos, antioxidantes, anticancerígenos o antimicrobianos, de ahí provienen los efectos beneficiosos de los alimentos fermentados (Korhonen & Pihlanto, 2006).

El interés por generar productos que tengan péptidos bioactivos se ha enfatizado debido a la importancia que tiene su consumo en la salud, estudios epidemiológicos (Domínguez et al., 2014; Ruiz et al., 2017; Lopitz et al., 2006) han demostrado que existe una buena relación entre la dieta de las personas que consumen hidrolizados de proteínas o alimentos fermentados y la poca incidencia de enfermedades crónico degenerativas.

En la *Arthrospira platensis* su alto contenido de proteínas sugiere la presencia de péptidos importantes encriptados dentro, que luego de ser liberados por el proceso digestivo podrían mostrar un efecto antioxidante. (Martinez et al., 2015)

La digestión de *Arthrospira sp* específicamente con pepsina y pancreatina, ha generado péptidos con un alto poder antioxidante y poder quelante, en donde las proteínas hidrolizadas por más tiempo tienen una actividad quelante mayor a las demás (Martínez et al, 2015). Del mismo modo los péptidos generados a partir de la hidrólisis tienen actividad antibacteriana, específicamente contra *Bacillus subtilis*,

Staphylococcus aureus y *Salmonella typhi* y actividad antiinflamatoria e inhibición de la hialuronidasa (Esthefany & Montalvo, 2018).

La digestión proteica de *Arthrospira sp* con pepsina, genera péptidos con actividad sobre la hemólisis oxidativa, regulando la actividad de la glutatión peroxidasa en eritrocitos (Zeng et al., 2020)

2.9. Antecedentes

La determinación de los parámetros proximales de diversas materias permite comprender la determinación de los porcentajes de humedad, grasa, fibra, cenizas y proteína en los alimentos. Al realizar el análisis químico de alimentos proporciona un resultado que sea válido para el consumidor en donde se demuestra las bondades de los alimentos.

El género *Arthrospira* ha sido reconocido por su característica proximal como la composición mineral, vitamínica, perfil de aminoácidos, perfil de ácidos grasos, digestibilidad proteica *in vitro* como también compuestos antioxidantes, estos valores pueden variar de acuerdo a las condiciones de cultivo y también debido al origen geográfico en una misma especie (Molino et al, 2018). Dichas diferencias pueden deberse a la distinta procedencia geográfica, sin embargo, es indispensable caracterizar en profundidad las diversas cepas existentes, aun cuando taxonómicamente se les considere como iguales (pertenecen a la misma especie) para la producción de biomasa con una composición nutricional específica requerida para el desarrollo de productos en la industria alimenticia.

La hidrólisis con papaína de *Arthrospira platensis* ha dado como resultado una secuencia de aminoácidos que contiene 18 residuos de aminoácidos (KLV DASHRLATGDVAVRA) con una masa molecular de 1878,97 Da, que tiene la capacidad inhibitoria de bacterias para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Sun et al., 2015).

3. METODOLOGÍA

3.1. Materiales y equipamiento

3.1.1. Enzimas

Las proteasas utilizadas en esta tesis para llevar a cabo la hidrólisis fueron Flavourzyme, Alcalase 2.4L y una pepsina inmovilizada desarrollada en el PROIMI (Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos) de la ciudad de Tucumán-Argentina.

3.1.2. Biomasa

Para realizar este trabajo se utilizaron tres cepas de microalgas, una cepa comercial *Arthrospira sp* de argentina, y una cepa *Arthrospira sp* de origen chilena que fue donada por el INIDEP (Instituto Nacional de Desarrollo Pesquero) de Mar del Plata-Argentina.

La *Arthrospira platensis* (Figura 3) nativa del Paraguay fue aislada del Chaco paraguayo e identificada molecularmente por Villalba et al., (2018). El punto de donde fue aislada la *Arthrospira platensis* fue de la Laguna Yaragui que se encuentra ubicada a 4 Km de la Colonia Lolita y a 59 Km del desvío de Loma Plata, Ruta Transchaco; a una altitud de 113 m.s.n.m, tiene una extensión aproximada en uno de sus brazos de 17 ha y una profundidad promedio de 1.30 m (Villalba et al., 2018).



Figura 3. *Arthrospira platensis* nativa del Paraguay. Fuente propia

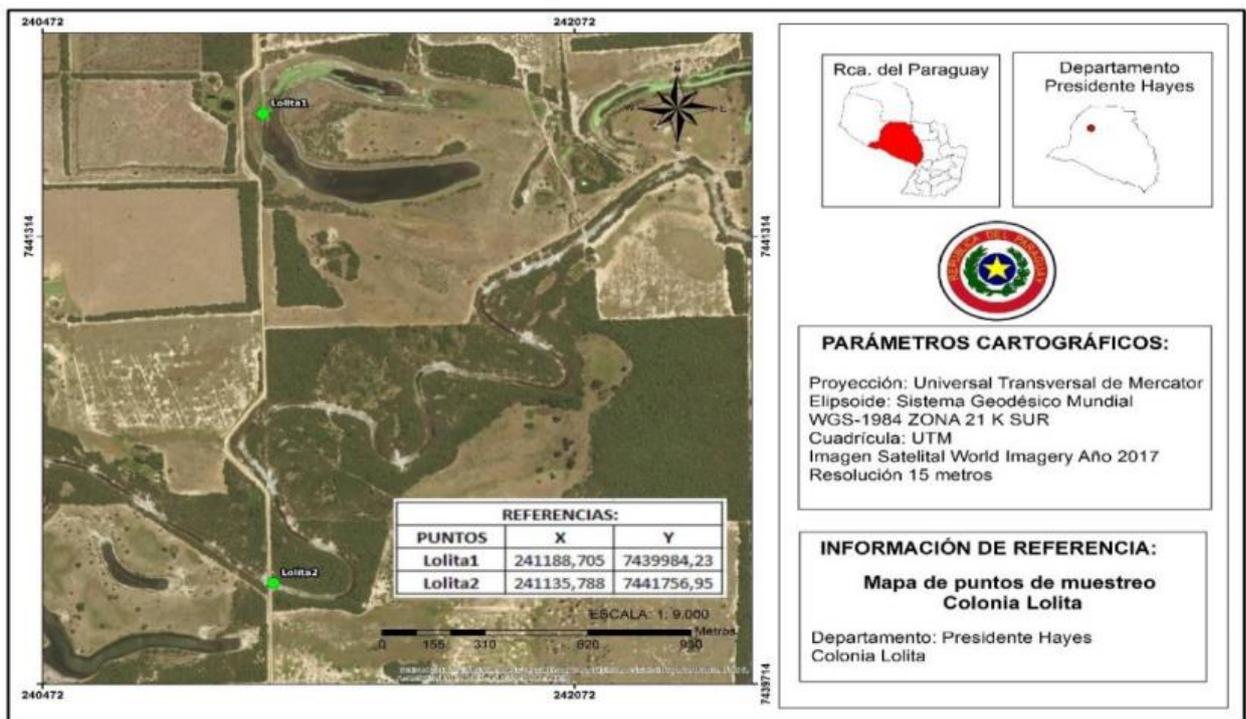


Figura 4. Puntos de muestreo. Laguna Yaragui. Fuente: Villalba et al., 2018

3.1.3. Cultivo de *Arthrospira platensis*

La *Arthrospira platensis* de origen paraguaya, fue cultivada en el laboratorio de biotecnología ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. Las condiciones de cultivo se llevaron a cabo de acuerdo con la metodología de Huarachi et al. (2015) con ligeras modificaciones, con fotoperiodo de 24 horas luz a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con un pH 9 en medio de cultivo Zarrouk (C. Zarrouk, 1966) (Tabla 5 y 6).

Tabla 5. Componentes del medio Zarrouk para 1 L

Nombre	Contenido (g/L)
NaHCO ₃	16,8
K ₂ HPO	0,5
NaNO ₃	2,5
K ₂ SO ₄	1
NaCl	1
MgSO ₄	0,2
CaCl ₂	0.04
FeSO ₄	0.01
EDTA	0.08
Solución A5	1ml

Tabla 6. Componentes de la solución A5

Nombre	Contenido (g/L)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,22
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.39
CuSO ₂ . 5H ₂ O	0.08



Figura 5. Fotobiorreactores utilizados para el cultivo de *Arthrospira platensis*

El fotobiorreactor tipo batch utilizado para el cultivo de la *Arthrospira platensis* (Figura 4). El cultivo se inició con 240.103 células/ml, con un tiempo de cultivo de 75 días, con una reposición del agua evaporada del medio con 1L de agua destilada cada 15 días. Se suministró una aireación constante de 0,45 vvm, previamente filtrada con filtros de nylon de membrana de 0,22 μm a un volumen de 13 litros de cultivo, con iluminación de 5 fluorescentes cool-white de 36 w cada uno, con una intensidad lumínica total de 12.500 lm, la intensidad lumínica es un factores determinante en el proceso de fijación de carbono y por ende en el rendimiento final de la cepa, en condiciones operativas de 11.000 lm, se obtiene la tasa máxima de crecimiento. (Jacob, et al 2008). La cosecha de la biomasa generada (Figura 8), se realizó con una centrifugación del cultivo a 2500 rpm a 4°C durante 10 min. Posterior a la cosecha la biomasa obtenida se lavó dos veces con agua destilada en una proporción 1/10 para retirar los excedentes de sales del medio.

3.2. Análisis proximal

Para la caracterización de las cepas se utilizó 1 g en peso seco de biomasa. La humedad se cuantificó mediante desecación en estufa a temperatura de 105°C hasta peso constante (AOAC, 952.08; 1990) y también las cenizas se determinaron por

calcificación en mufla a 550°C de temperatura, hasta la obtención de cenizas blancas y peso constante (AOAC, 938.08; 1990). Las proteínas se determinaron por el método Kjeldahl usando el factor de conversión 6,25 (AOAC, 24.027; 1984). Se realizó la determinación de grasas por el método de Randall (AOAC, 1990)

3.2.1. Determinación de proteínas totales

Para la determinación de proteínas totales se empleó el método Kjeldahl usando el factor de conversión 6,25 según la técnica de la (AOAC, 24.027; 1984) que se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador metálico a una temperatura de digestión de 400°C. Para la digestión se utilizaron 1 g de biomasa seca de cada una de las microalgas que se colocaron en un tubo de digestión con 4 g de catalizador en una proporción de 1:10 sulfato de potasio y sulfato cúprico con 10 ml de ácido sulfúrico concentrado que posteriormente fue conectado al digestor con los tiempos de 30 minutos a 150°C luego otros 30 minutos a 205°C y por último 60 minutos a 420°C. Los productos de la digestión fueron neutralizados con 80 ml de NaOH al 30% hasta el viraje a marrón oscuro, posteriormente se destiló la muestra con 40 ml de Ácido Bórico al 4% y 5 gotas de fenolftaleína como indicador, durante 4:30 minutos hasta el viraje a un color celeste pálido.

Luego fueron valorados con HCl al 0.1 N hasta un viraje de color violeta pálido y se anotó los mililitros de HCl consumidos para determinar el porcentaje de proteínas presentes en cada muestra analizada.

Para la determinación el porcentaje de las proteínas totales se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ N: } \frac{(\text{V HCl} - \text{V blanco}) \times \text{N HCl} \times 0.014 \times 100}{\text{Peso muestra (gramos)}}$$

$$\% \text{ Proteína: } \% \text{ N} \times \text{factor de conversión.}$$

Factor: 6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general

V HCl: Volumen de HCL consumido en la valoración por la muestra

V blanco: Volumen de HCL consumido en la valoración por el blanco

N HCl: Normalidad de la solución de HCl

3.2.2. Determinación de lípidos totales

La determinación de lípidos totales presentes se determinó por medio de la metodología de Bligh y Dyer (1959) con ligeras modificaciones. Se utilizaron 1 g de biomasa con una humedad de aproximadamente 80% y se le agregó 16 ml de agua destilada y posteriormente fue homogeneizada por unos 30 segundos, luego se agregaron unos 40 ml de metanol y 20 ml de cloroformo y nuevamente se homogeneizaron por 1 minutos, luego de este procedimiento se le agregaron 20 ml de cloroformo y se homogeneizó durante unos 30 segundos, se agregó 20 ml de agua destilada y nuevamente fue homogeneizada por unos 30 segundos, luego toda la muestra fue centrifugada a 2500 rpm por 20 minutos a 5°C en donde se formaron dos fases, se tomó la fase inferior, que corresponde a la fase clorofórmica, y se colocó en un balón de fondo plano que previamente fue secado y pesado, el cloroformo se evaporó en un evaporador rotatorio a una temperatura constante de 60°C durante dos horas, la cantidad de lípidos obtenidos se obtuvo por diferencia de peso.

Para la determinación el porcentaje de los lípidos totales se utilizó la siguiente fórmula.

$$A \text{ (g/100g)} = \frac{V_T \times P_2}{V_a \times P_1}$$

A: Concentración en g/100g (%) de lípidos

P₁: Peso de la muestra

P₂: Peso de la grasa seca obtenida

V_T: Volumen total de cloroformo

V_a: Volumen de la fase clorofórmica tomada

3.2.3. Determinación de Humedad

Para la determinación de la humedad, la biomasa empleada fue de 1 g, que fue colocada en una placa de petri de vidrio previamente secada y pesada, la muestra se mantuvo en estufa durante 24hs a 100°C ± 5°C hasta obtener un peso constante.

Para la determinación el porcentaje de humedad se utilizó la siguiente fórmula.

$$H \% = \frac{m - m_1}{m} \times 100$$

$$ST\% = 100 - H$$

H: humedad %

m: masa de la muestra inicial (gr)

m₁: masa de la muestra seca o residuo (gr)

ST: sólidos totales (incluidas las grasas) en %

3.2.4. Determinación de Cenizas

Para la determinación de cenizas totales, se empleó 1 g de biomasa que se colocó en crisoles de porcelana previamente pesada, los crisoles fueron colocados sobre mechero hasta carbonizar las muestras, luego se colocó en una mufla a 500°C ± 50°C por seis horas, una vez transcurrido este tiempo, se pesaron los crisoles y por diferencia de peso se obtuvo la cantidad de cenizas presentes en cada muestra.

Para la determinación el porcentaje de humedad se utilizó la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{PC - P}{m} \times 100$$

P: Peso del crisol solo

m: Peso de la muestra

PC: Peso del crisol más las cenizas

3.3. Hidrólisis enzimática

3.3.1. Ruptura celular

Antes de realizar la hidrólisis la biomasa de las cepas fueron colocadas en tubos falcon con 10 ml con buffer fosfato 0,2 M, y se congelaron durante 4 horas a -20° C, se descongeló por 1 hora a temperatura ambiente y se sonicó por 2 min (Figura 5). Este procedimiento facilitó la ruptura de las células de las cepas de acuerdo con las metodologías empleadas por Tavanandi et al., (2018) y Rempel et al., (2018)



Figura 6. Tubo falcon con biomasa y buffer fosfato 0,2 M, luego del proceso de congelación, descongelación y sonicado.

3.3.2. Proceso de hidrólisis

La hidrólisis proteica de las cepas de *Arthrospira sp* se llevó a cabo de acuerdo con la metodología de Lisboa et al., (2016) y Martínez et al., (2015) con modificaciones menores. Para las hidrólisis enzimáticas se emplearon enzimas comerciales líquidas que fueron Alcalase 2,4 L, Flavourzyme y una pepsina inmovilizada, desarrollada en el PROIMI (Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos) de la ciudad de Tucumán Argentina.

Las enzimas fueron colocadas en una proporción de 0,5 % de enzima con relación al sustrato, y una concentración del 10% de sustrato en relación con el buffer fosfato 0,2 M para las tres enzimas.

Las condiciones de la hidrólisis enzimática (Tabla 7) de las cepas, para las enzimas Alcalase 2,4 L (Figura 6) y Flavourzyme con un tiempo de hidrólisis de 2 horas a una temperatura de $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ y 7,15 de pH, y agitación constante. Para la enzima pepsina inmovilizada, la temperatura de hidrólisis fue de $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en buffer fosfato 0,2 M y 7,15 de pH durante 2 horas, una vez terminado el tiempo de hidrólisis las enzimas fueron inactivadas a 95°C por 5 min.

Tabla 7. Condiciones de la hidrólisis enzimática utilizadas para las diferentes enzimas

	Alcalase 2,4 L	Flavourzyme	Pepsina Inmovilizada
Temperatura	$50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$	$50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$	$30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
pH	7.15	7.15	7.15
E-S	0.5 %	0.5 %	0.5 %
S-B	10%	10%	10%
Tiempo	2hs	2hs	2hs

E-S. Relación enzima respecto al sustrato S-B. Relación sustrato respecto al buffer



Figura 7. Sistema de reactores batch de vidrio de 50 ml utilizados en el proceso de hidrólisis de cepas. La foto corresponde al conjunto de hidrólisis con enzima Alcalase 2,4 L

3.4. Precipitación de proteínas hidrolizadas con sulfato de amonio

Los hidrolizados de las cepas se purificaron parcialmente con sulfato de amonio al 40% de saturación, realizando una precipitación mediante el agregado de esta sal, manteniendo la reacción a 4° C por 4h para cada hidrolizado. Una vez transcurrida dicho tiempo se procedió a centrifugar la solución a 12000 rpm durante 15 minutos, el pellet precipitado fue resuspendido en buffer fosfato 0,2 M. Los precipitados resuspendidos en buffer se utilizaron para determinar el tamaño de los residuos resultantes de la hidrólisis.

3.5. Determinación de proteínas solubles

La determinación de proteínas solubles de los hidrolizados crudos se realizó utilizando el método de Lowry (1951), con albúmina bovina como estándar. El reactivo de Lowry empleado estaba constituido por el buffer A que contenía Carbonato sódico al 2% en NaOH 0.1M, el buffer B Sulfato cúprico al 1% y tartrato sódico-potásico al 2%.

Se emplearon 1 ml de hidrolizado crudo, se añadieron 2 ml del reactivo de Lowry y se dejó reaccionar 15 minutos, una vez transcurrido este tiempo se agregaron 2 ml del reactivo de Folin con un tiempo de reacción de 15 minutos (Figura 7), luego las absorbancias de la muestras se leyeron en el espectrofotómetro a 500 nm. Los resultados se expresaron como mg proteína/ml de hidrolizados.

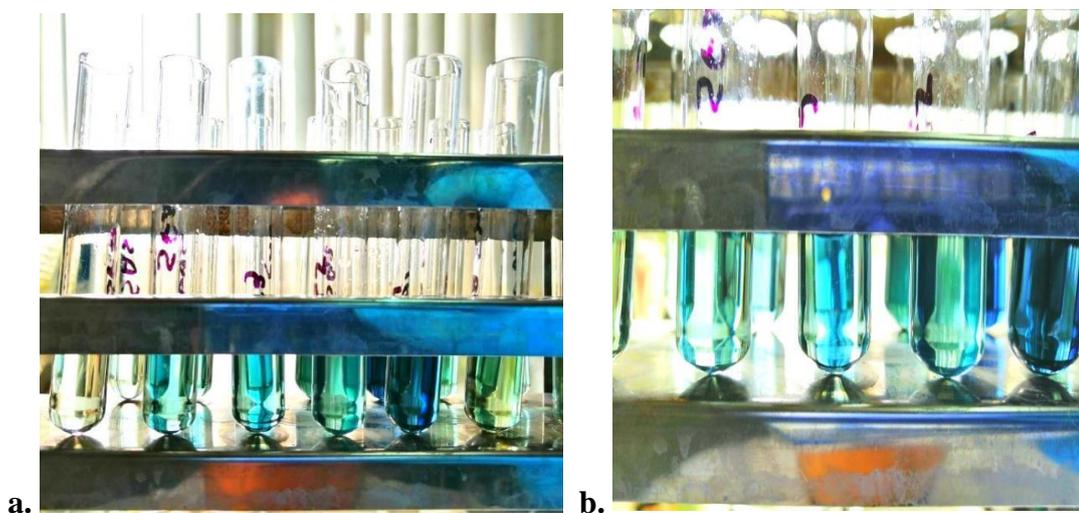


Figura 8. En las figuras a y b se muestran los tubos con reacción de Lowry de las proteínas solubles.

3.6. Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE)

Para identificar los tamaños de los péptidos generados por la digestión enzimática se realizó una corrida de electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida. La misma se llevó a cabo usando una relación de acrilamida / bisacrilamida (37, 5: 1) de acuerdo con el procedimiento de Laemmli (1970). El gel de corrida se preparó al 4%, y el de separación al 12,5%. Inicialmente, alícuotas de los extractos (10 µl), fueron desnaturalizadas por calentamiento en buffer Tris-HCl 0,125 M, pH 6,8, SDS al 4%, glicerol al 20%, β-mercaptoetanol al 10%. Luego, fueron sembradas en el gel de corrida, y sometidas a una corriente constante de 65 mA durante 100 minutos. Después de ese tiempo, los geles se tiñeron con Azul Brillante Coomassie 0,1% R-250, y a continuación se decoloraron en metanol al 50% y ácido acético al 7% durante 24 hs. El peso molecular del producto de hidrólisis se estimó utilizando distintos marcadores de diferente peso molecular correspondientes a 245, 180, 135, 100, 75, 63, 48, 35, 25, 20, 17, 11 y 5 kDa.

3.7. Perfil lipídico

El perfil de ácidos grasos de la fracción lipídica de las cepas se llevó a cabo mediante metilación alcalina en frío de los mismos y posterior cromatografía gaseosa (ISO 12966-2:2011). Se utilizó un equipo Shimadzu® GC-2010 acoplado a un espectrómetro de masas GCMS-QP2010 plus, equipado con inyector Split/Splitless e inyector automático AOC-20i, se utilizó una columna capilar Supelco® Omegawax 320 (30m x 0,32mm x 0,25 µm) y Split 100:1

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Cosecha de biomasa de *Arthrospira platensis*

El empleo de fotobiorreactores es una tecnología potencial para el cultivo de microalgas con una disponibilidad elevada de la luz, con fotoperiodos controlados. La biomasa generada luego de 75 días de cultivo con luz continua obtuvo un rendimiento de 5,82 g/L. La tasa de crecimiento y la productividad de la biomasa en las microalgas verdes difieren en el modo de reproducción si son expuestas a diferentes fotoperiodos (Krzemińska et al., 2013). En la microalga *Chlorella vulgaris* se puede obtener una máxima producción de biomasa aumentando las horas de luz en el fotoperiodo (Ruiz, 2014), en cambio para *Scenedesmus acutus* el aumento de las horas de luz en el fotoperiodo inhibe su crecimiento (Valle & Tirado, 2018).

De acuerdo con el reporte de Álvarez (2018) en donde el cultivo de *Arthrospira platensis* se han expuesto a variaciones de fotoperiodo, el rendimiento máximo se obtuvo con luz continua, entonces se podría afirmar que existe una relación entre la cantidad de horas de exposición a la luz y la tasa de crecimiento de la cepa de *Arthrospira platensis* con luz continua. Jacob et al. (2009) evaluó el crecimiento de la cianobacteria *Aphanothece microscopica Nägeli* a diferentes períodos de luz y bajo luz continua, y constato que existe una reducción en la producción de biomasa en paralelo con la reducción de los períodos de luz, de forma similar a lo registrado para la cepa de *Arthrospira platensis* estudiada por Álvarez (2018)

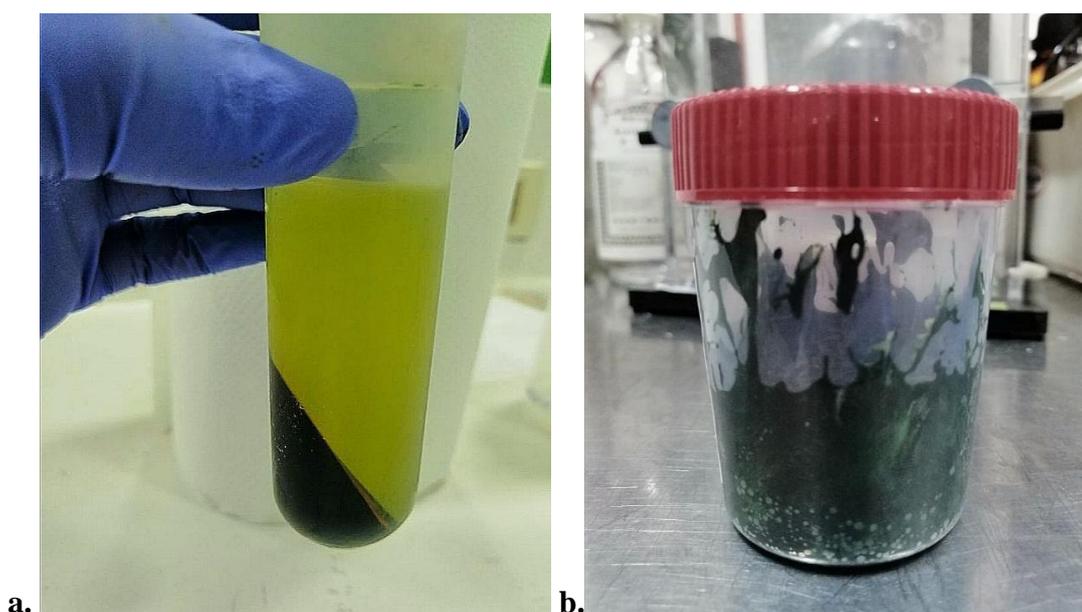


Figura 9. a. Biomasa de *Arthrospira platensis* luego de la centrifugación del medio de cultivo, b. Biomasa de *Arthrospira platensis* cosechada.

4.2. Análisis proximal

Determinar la composición proximal es el primer requisito para evaluar el potencial de nuevas fuentes de alimentos, los valores proporcionan una información bioquímica rigurosa que detalla las bondades de las cepas analizadas y ayuda a decidir las posibles aplicaciones a las cuales podrían ser destinadas. Para análisis proximal realizado a las cepas estudiadas en la Tabla 8 se pueden observar los valores obtenidos.

Tabla 8. Composición de proximal de cepas de *Arthrospira sp*

	<i>Arthrospira platensis.</i>	<i>Arthrospira sp. argentina</i>	<i>Arthrospira sp. chilena</i>
Proteínas totales	67,40	63,55	73,69
Grasas totales	5,69	3,11	6,85
Humedad	20,02	9,11	6,37
Cenizas	9,11	7,43	6,31

Los valores de la tabla están expresados en porcentajes

4.2.1. Proteínas totales

Las proteínas son muy importantes en la composición química de las microalgas ya que están involucradas en el crecimiento, la reparación y el mantenimiento de las células (Rosales et al., 2021). En el presente trabajo, el porcentaje de proteínas totales obtenido se encontró en el rango de 63 a 74%. Este valor, es considerado un porcentaje de proteínas totales significativo, ya que en promedio los alimentos de origen vegetal considerados buenas fuentes proteicas contienen alrededor del 35% (Becker, 2007). Además, estos datos son concordantes con reportes previos de otras cepas de la *Arthrospira sp* (Molino et al., 2018; Duongbia et al., 2019). Molino et al., (2018) reporto un valor del 46,76% para una cepa de *Arthrospira* comercial de origen italiano., Las diferencias obtenidas pueden deberse a las condiciones de cultivo y al fotoperiodo (Peixoto et al., 2020).

Para *Arthrospira sp* existe una relación directamente proporcional en el aumento de la fase lumínica en relación al rendimiento del cultivo y la cantidad de proteínas (Pedro, 2015).

Las proteínas totales de la cepa de *Arthrospira platensis* se cuantificó en un 67.40 %. Este valor mostró una diferencia significativa respecto del dato reportado por Villalba et al, (2018) para la misma cepa que obtuvo un 58,6%. Esta diferencia podría deberse principalmente a las condiciones de cultivo, ya que Villalba et al, (2018) ensayo condiciones disímiles, a saber 12 hs luz y 12 hs oscuridad con el medio de cultivo Schlösser (1982) con aireación de 0,025 vvm y luz artificial fluorescente de 5600 lúmenes a 26° C, durante 90 días. Además, la cantidad de sales disponible en los diferentes medios de cultivos utilizados y el fotoperiodo al que fueron expuestas pudo contribuir a esta divergencia (Peixoto et al., 2020).

4.2.2. Grasas totales

Reportes previos indican que *Arthrospira sp* muestra un contenido de lípidos de 4 a 9% (Hernandez et al., 2019). La cantidad de grasas totales que produce la *Arthrospira sp* está fuertemente ligada a la disponibilidad de nitrógeno en el medio de cultivo, la temperatura y el pH (Ogbonda et al., 2007).

Los resultados de la extracción de las grasas totales de las cepas analizadas se observan en la Tabla 8. La *Arthrospira platensis* mostró un 5,69%, un valor

suficiente para que la cepa objeto de estudio de la presente tesis podría ser investigada para la producción de biodiesel a través de transesterificación de ácidos grasos (Almeida et al., 2017).

Las grasas totales reportadas por Villalba et al, (2018) para la misma cepa fue de 0,4%, valor drásticamente menor al obtenido en este trabajo. Esto pudo ser debido a las diferencias en las condiciones de cultivo. El aumento del volumen de aireación en el cultivo mejora el rendimiento general del reactor, es decir, la tasa de crecimiento específica, y el contenido de ácidos grasos producidos por las células de las *Arthrospira platensis* (Srinivasa et al, 2012). La aireación y fotoperiodo del cultivo de *Arthrospira platensis* en el presente trabajo fue de 0,45 vvm y 24 hs luz, mientras que Villalba et al, (2018) trabajò con una aireación de 0,025 vvm y un fotoperiodo de 12 hs luz y 12 hs de oscuridad. Por otro lado, la producción de ácidos grasos también depende del crecimiento de algas (biomasa), que está influenciada por la aireación y el fotoperiodo empelado en el cultivo (Ruiz, 2014)

De acuerdo con Álvarez (2018), la cepa de *Arthrospira platensis* registró un aumento del 27% en la producción de ácidos grasos bajo una condición de luz continua frente a una condición control de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

4.2.3. Humedad y cenizas

La determinación de humedad es una de las técnicas más importantes y de mayor uso en el procesado, control y conservación de los alimentos, puesto que la mayoría de los productos alimenticios poseen un contenido mayoritario de agua. También las cenizas son las sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, como los minerales que constituyen a las células.

El mayor contenido de humedad, expresado como un porcentaje del peso húmedo fue para la cepa de *Arthrospira platensis* con un valor de 20.91% en comparación a las otras cepas analizadas que fueron de 9,11 y 6,37, la diferencia significativa en la humedad se debe a que la cepa de *Arthrospira platensis* originaria del Paraguay fue utilizada fresca en comparación a las otras dos que se encontraban liofilizadas. En comparación con los reportes de Villalba et al, (2018) el parámetro de humedad para la cepa de *Arthrospira platensis* fue de 7,6%. Estos valores caen dentro de los valores reportados por Molino et al, (2018) y Ogbonda et al., (2007).

Para el parámetro de las cenizas el mayor porcentaje fue para *Arthrospira platensis* con un 9,11%, de la cepa *Arthrospira sp* de origen argentina y la cepa de origen chilena, valores similares a este reporte se ha registrado por Molino et al, (2018) y Ogbonda et al., (2007).

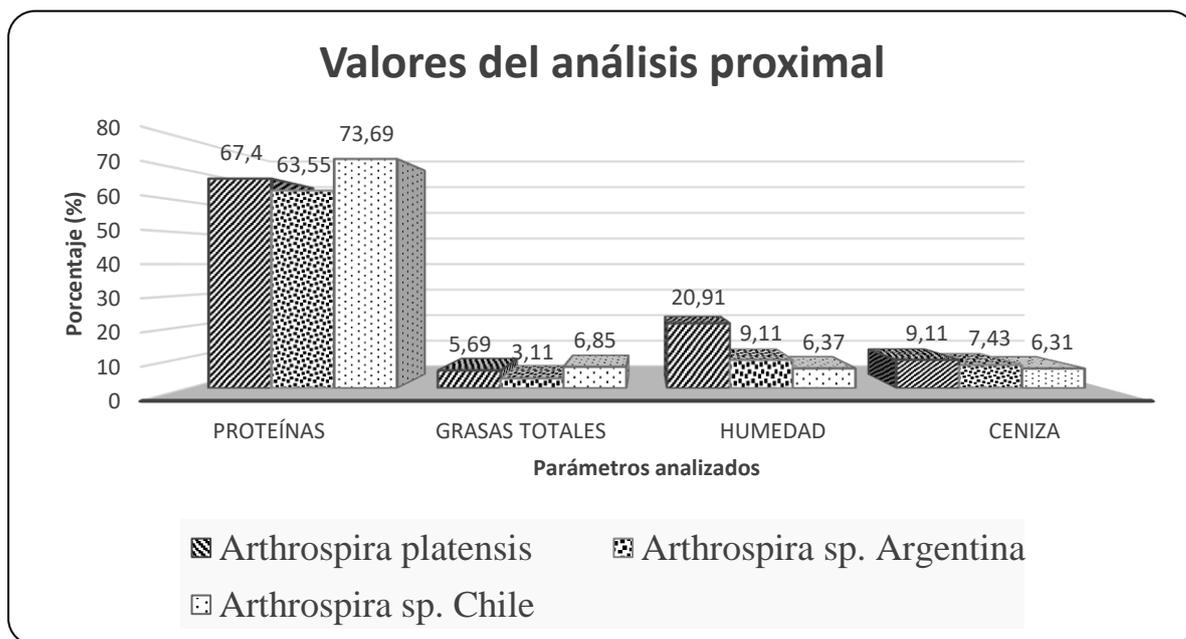


Gráfico 1. Comparación de los valores del análisis proximal.

4.3. Proteínas solubles

En matrices complejas como los productos alimenticios, donde las mezclas de péptidos están presentes como hidrolizados con diversas propiedades físico químicas, se centran en la capacidad de los péptidos para modular la textura de los alimentos y sus propiedades funcionales, incluida la solubilidad y la gelificación e incluso propiedades emulsionantes y espumantes (Benítez & Ibarz, 2008; Vioque et al., 2001)

En cuanto a la precipitación de proteínas con sulfato de amonio, las proteínas son solubles gracias a su interacción con el agua, al añadir el sulfato de amonio se unen al agua formando puentes de hidrógeno, la proteína se deshidrata y las biomoléculas interactúan hidrofobicamente entre ellas y forman el precipitado (Burgess, 2009).

Tabla 9. Proteínas solubles

	Alcalase 2,4 L	Flavourzyme	Pepsina Inmovilizada
<i>Arthrospira platensis</i>	33,864	1,152	2,592
<i>Arthrospira sp. argentina</i>	9,587	0,121	3,660
<i>Arthrospira sp. chilena</i>	2,798	9,793	4,199

Los valores de la tabla están expresados en mg/ml

Los valores registrados de la cantidad de proteínas solubles (Tabla 9), para las cepas hidrolizadas presentaron valores promedio, para la *Arthrospira platensis* que obtuvo el mayor valor de solubilidad con un total de 33.864 mg/ml con la enzima Alcalase 2,4 L, en el caso de la *Arthrospira sp* de origen argentino presentó el menor valor de solubilidad de 0,121 mg/ml con la enzima Flavourzyme.

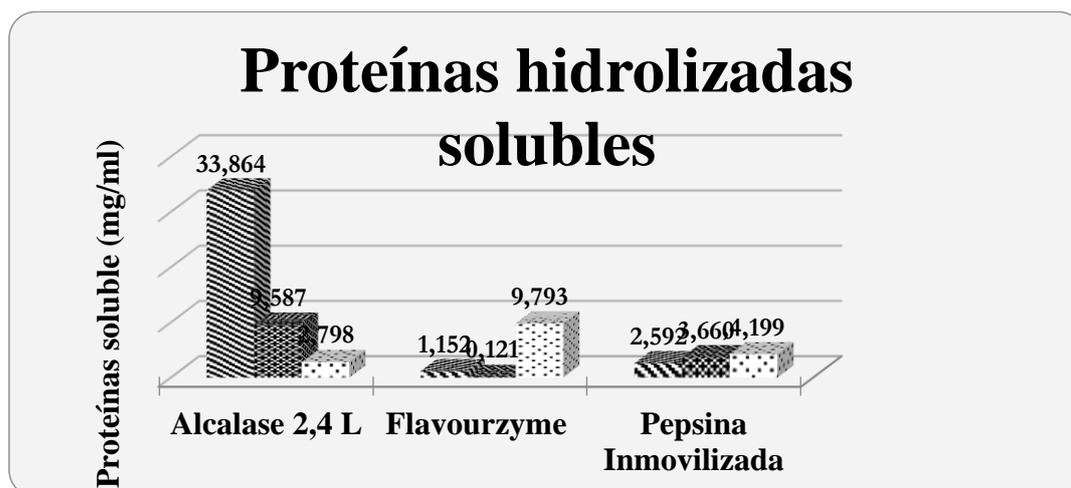


Gráfico 2. Comparaciones de solubilidad de los hidrolizados en mg/ml.

La hidrólisis enzimática aumenta la solubilidad de las proteínas y al aumentar la solubilidad también se incrementa la capacidad espumante, emulsionadora y estabilidad de emulsión (Klompong et al, 2007). Los péptidos solubles pueden ensamblarse espontáneamente o agregarse con otras proteínas cuando las condiciones físico químicas de la solución sean las adecuadas, es decir, el pH, la fuerza iónica y la temperatura, por ello la agregación de péptidos a la formulación de alimentos podría propiciar a mejorar la gelificación o la estructura, brindándole mayor textura a las emulsiones y espumas. (Konopka & Schnur, 2017)

Los beneficios de los péptidos versus las proteínas nativas se dan debido a su capacidad para disolverse más rápidamente a través de su solubilidad mejorada y, a su vez, para absorber más rápidamente de aire-agua o lípidos-agua en los alimentos (Arely et al., 2019; Hleap et al, 2015). El agregado de péptidos en la formulación de productos liofilizados ha demostrado mejorar la solubilidad de las proteínas nativas del producto al ser rehidratadas para su consumo a bajas temperaturas (Torres et al., 2018).

Estas características sugieren una potencial utilidad industrial de péptidos derivados de la hidrólisis enzimática para mejorar la solubilidad y características tecno funcionales para la formulación de alimentos, particularmente a bajas temperaturas. (Franco et al., 2013)

4.4. Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE)

Las cepas estudiadas fueron sometidas a hidrólisis con tres proteasas diferentes y los hidrolizados fueron purificados parcialmente con sulfato de amonio, tanto para el hidrolizado puro y el parcialmente purificado, se han determinado el peso molecular de los péptidos resultantes de la hidrólisis enzimática que se pueden observar en las figuras 9, 10 y 11, en el margen izquierdo se encuentran los marcadores moleculares indicados con su pesos moleculares correspondiente en kilo Dalton (kDa) que van desde 245 kDa como el fragmento de mayor tamaño y 5 kDa como el fragmento de menor tamaño.

4.4.1. Gel SDS de *Arthrospira platensis*

La distribución de siembra elegida para los hidrolizados de *Arthrospira platensis* fue, en el carril 1 (C1) se sembró el hidrolizado con Alcalase 2,4L puro, en el carril 2 (C2) se encuentra el hidrolizado con Alcalase 2,4 L purificado con sulfato de amonio al 40%, en el carril 3 (C3) el hidrolizado puro con Flavourzyme, en el carril 4 (C4) el hidrolizado con Flavourzyme purificado con sulfato de amonio al 40%. Siguiendo esta secuencia, en el carril 5 (C5) se sembró el hidrolizado puro con la pepsina inmovilizada y en el carril 6 (C6) el hidrolizado con pepsina inmovilizada purificado con sulfato de amonio al 40%. Las bandas de los péptidos se pueden

observar en la figura 9 que muestra el gel SDS-PAGE de *Arthrospira platensis* de origen paraguayo obtenidas luego de la corrida.

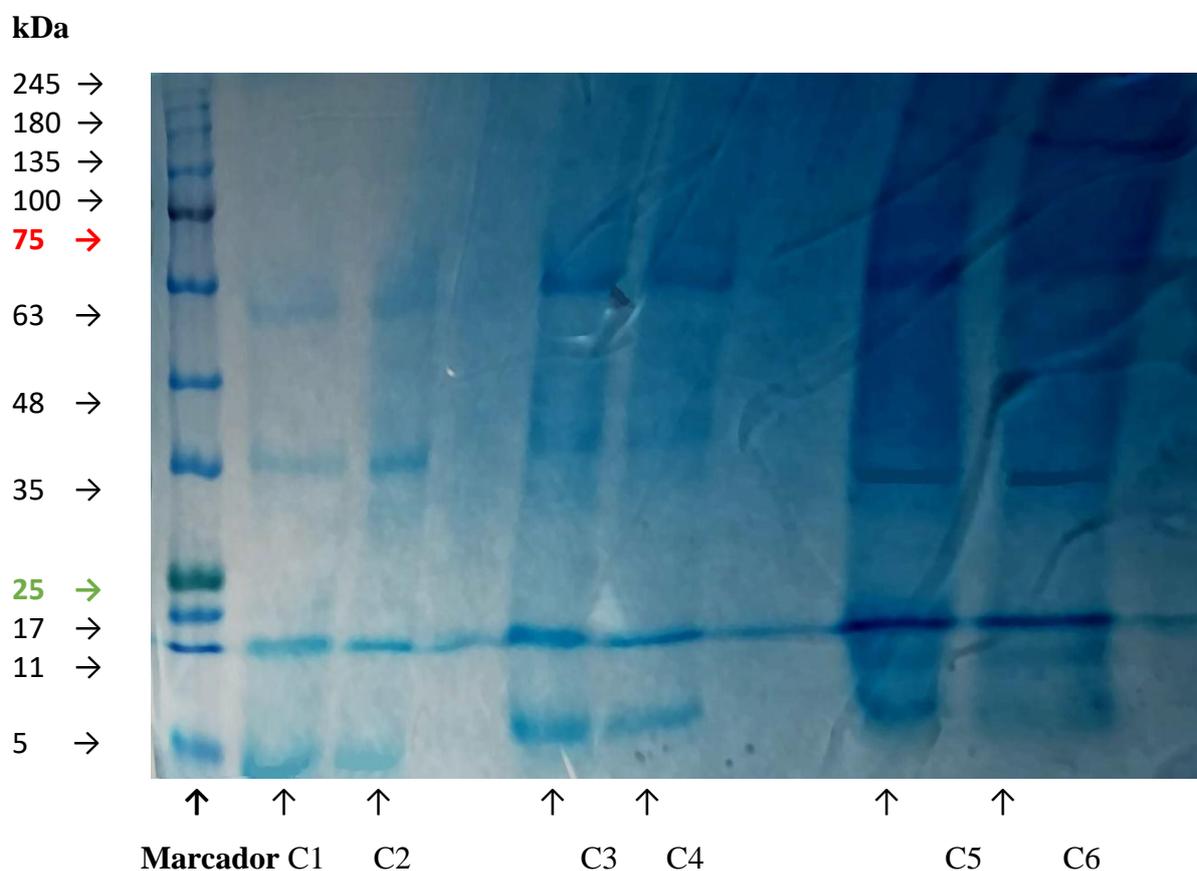


Figura 10. Gel SDS-PAGE de *Arthrospira platensis*.

Como se muestra en dicha figura en el C1 y C2 se pueden observar fragmentos de aproximadamente 60 kDa, 35 kDa, 11 kDa y 5 kDa. Los fragmentos de 11 kDa y 5 kDa son resultado de la hidrólisis con Alcalasa 2,4 L. En el caso del C2 y C3 que fue el hidrolizado con Flavourzyme se obtuvieron residuos del mismo tamaño que con Alcalasa 2,4 L. En los carriles C5 y C6 se obtuvieron residuos de 135 kDa, 63 kDa, aproximadamente 30 kDa, 11 kDa, aproximadamente 8 kDa y 5 kDa, generados con la pepsina inmovilizada. Como se ve en los carriles 1-3, las muestras mostraron una banda con un peso molecular (MW) entre 17-19 kilodalton (kDa), que probablemente corresponde a la subunidades α y β de CPC y APC, las principales proteínas de la *Arthrospira*.

4.4.2. Gel SDS de *Arthrospira sp* de origen argentino

La distribución de siembra elegida para los hidrolizados de *Arthrospira sp* de origen argentino fue, en el carril 1 (C1) se sembró el hidrolizado con Alcalase 2,4L puro, en el carril 2 (C2) se encuentra el hidrolizado con Alcalase 2,4 L purificado con sulfato de amonio al 40%, en el carril 3 (C3) el hidrolizado puro con Flavourzyme, en el carril 4 (C4) el hidrolizado con Flavourzyme purificado con sulfato de amonio al 40%. Siguiendo esta secuencia, en el carril 5 (C5) se sembró el hidrolizado puro con la pepsina inmovilizada y en el carril 6 (C6) el hidrolizado con pepsina inmovilizada purificado con sulfato de amonio al 40%. Las bandas de los péptidos se pueden observar en la figura 10 que muestra el gel SDS-PAGE obtenidas luego de la corrida.

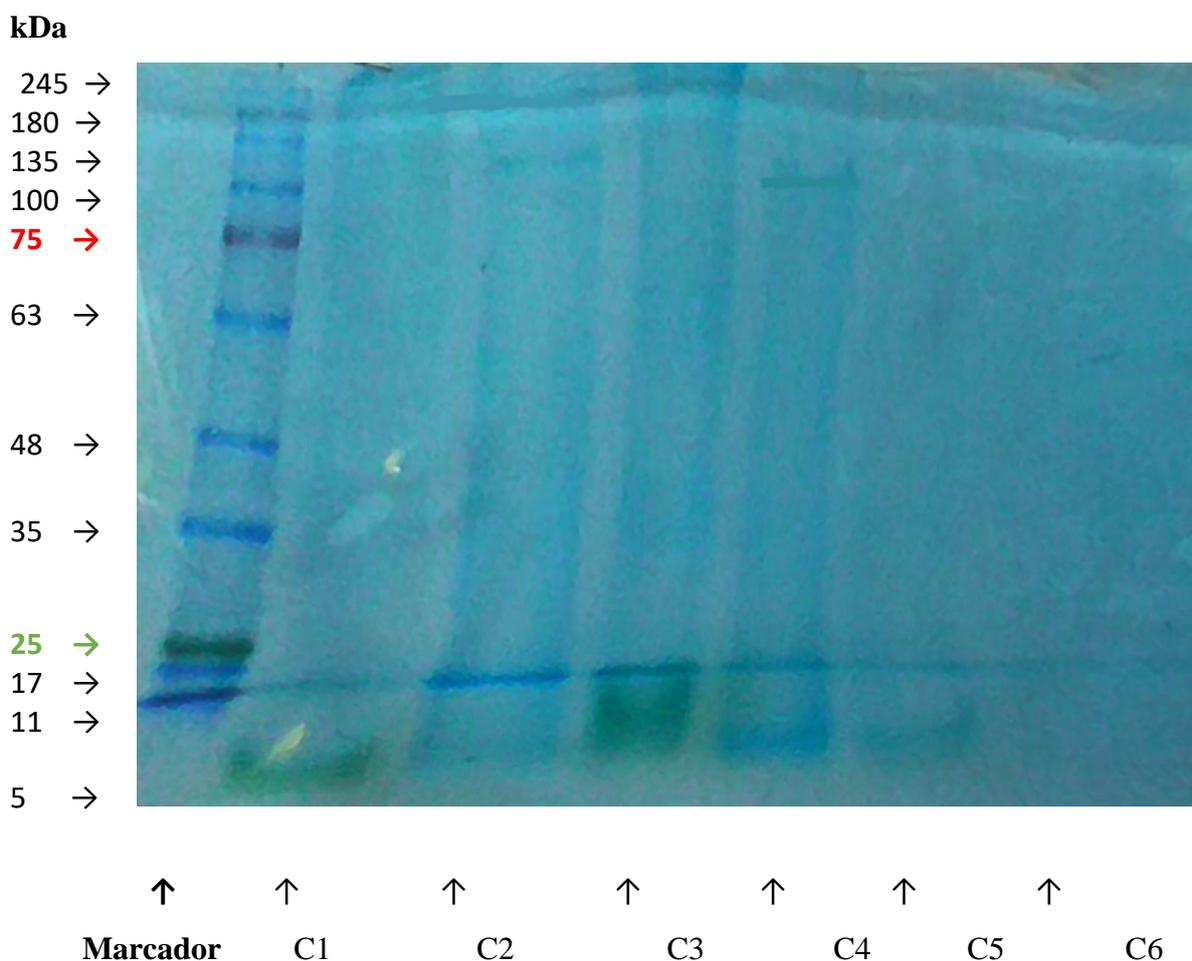


Figura 11. Gel SDS-PAGE de *Arthrospira sp* de origen argentino.

Como se observa en la figura 10, en el carril C1 se obtuvo residuos de 11 kDa y 5 kDa, para el C2 se diferenciaron residuos de 135 kDa, 11 kDa y 5 kDa, en ambos carriles se encuentran residuos de la hidrólisis con Alcalasa 2,4 L. Para el carril C3 se diferenciaron productos de 11 kDa y 5 kDa, para el carril C4 se observaron residuos de 100 kDa, 11 kDa y 5 kDa, tanto en el carril C3 y C4 se encuentran residuos de la hidrólisis con Flavourzyme 50U. Para los residuos generados con la pepsina inmovilizada, en el carril C5 se observaron residuos de 11 kDa y 5kDa, y para el carril C6 no se observaron residuos.

4.4.3. Gel SDS de *Arthrospira sp* de origen chileno

La distribución de siembra elegida para los hidrolizados de *Arthrospira sp* de origen chileno fue, en el carril 1 (C1) se sembró el hidrolizado con Alcalase 2,4L puro, en el carril 2 (C2) se encuentra el hidrolizado con Alcalase 2,4 L purificado con sulfato de amonio al 40%, en el carril 3 (C3) el hidrolizado puro con Flavourzyme, en el carril 4 (C4) el hidrolizado con Flavourzyme purificado con sulfato de amonio al 40%. Siguiendo esta secuencia, en el carril 5 (C5) se sembró el hidrolizado puro con la pepsina inmovilizada y en el carril 6 (C6) el hidrolizado con pepsina inmovilizada purificado con sulfato de amonio al 40%. Las bandas de los péptidos se pueden observar en la figura 11 que muestra el gel SDS-PAGE obtenidas luego de la corrida.

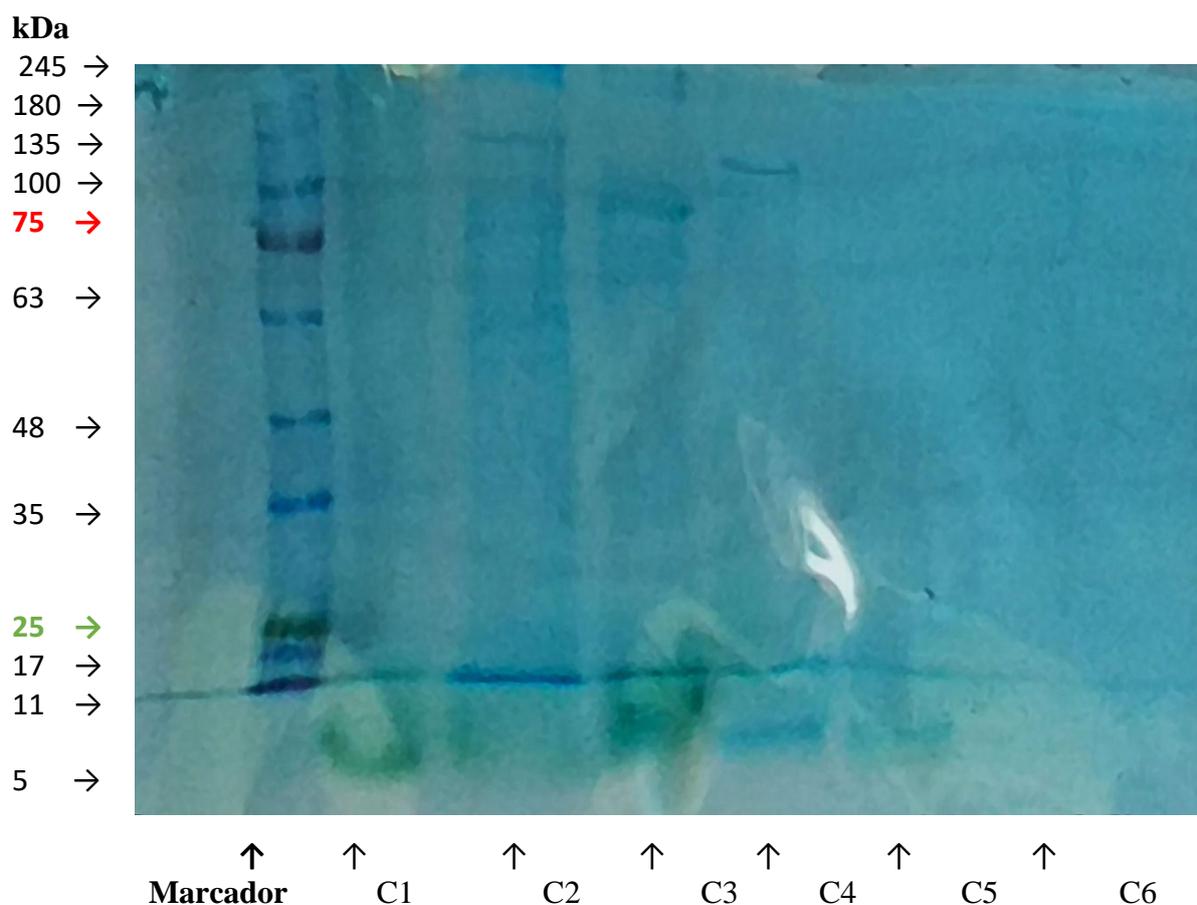


Figura 12. Gel SDS-PAGE de *Arthrospira sp* de origen chileno.

En la figura 11 en el carril C1 se observaron residuos de 100 kDa, 11 kDa y 5 kDa, en el carril C2 se pudo observar residuos de 135 kDa, 100 kDa, 11 kDa y 5 kDa, en ambos carriles se encuentra residuos generados con Alcalase 2,4 L. Los residuos generados con Flavourzyme, el carril C3 se observaron residuos de 100 kDa, 11 kDa y 5 kDa, en el carril C4 se observaron residuos de 135 kDa, 11 kDa y 5 kDa. Para los residuos generados con la pepsina inmovilizada, en el carril C5 se identificaron residuos de 11 kDa y 5 kDa, en cambio en el carril C6 no se observaron residuos.

De acuerdo con el genoma de *Arthrospira platensis* y el estudio proteómico se han identificado 593 secuencias de proteínas (Chang et al., 2017; Matallan et al 2014), las diez proteínas más abundantes representan el 26,2% de las proteínas totales identificadas, las cuales están relacionadas con el sistema fotosintético. De acuerdo con un análisis in silico de digestión con pepsina se han identificado 78

posibles péptidos con actividad biológica como regular la presión arterial, actividad antioxidante, actividad antibacteriana y regulador de los niveles de azúcar en sangre. (Li et al., 2020), los tamaños de los péptidos bioactivos pueden variar desde 440 Da a mayores a 10 kDa. De acuerdo con el reporte de Li et al., (2020), y las bandas observadas en las figuras 9, 10 y 11, se puede inferir la posible presencia de péptidos con dichas actividades.

Se han registrado péptidos procedentes de *Arthrospira platensis* generados con pepsina, con actividad antioxidante con fracciones de péptidos menores a 3 kDa que presentan actividad antioxidante muy fuerte y también fracciones de 3 kDa a 10 kDa, fracciones mayores a 10 kDa tienen actividad antioxidante más baja. (Zeng et al., 2020). De acuerdo con esto las fracciones generadas con la pepsina inmovilizada ha tenido un tamaño de 30 kDa, 11 kDa, 8 kDa y 5 kDa para la cepa de *Arthrospira platensis*, para la cepa de *Arthrospira sp* de origen argentino y chilena, se han obtenido fracciones de péptidos de 11 kDa y 5 kDa. En los hidrolizados con Alcalase 2,4 L y Flavourzyme se han obtenido péptidos entre 5 kDa y 11 kDa.

La lipasa pancreática es una enzima clave en el curso del metabolismo de los lípidos, su inhibición es eficiente para prevenir la obesidad, que es uno de los métodos más importantes para la evaluación de la obesidad in vitro (Liu et al., 2013) Los péptidos generados con la Alcalase 2,4 L de acuerdo con el reporte de Fan et al, (2018) para *Arthrospira platensis* fueron con peso moleculares de 10 kDa hasta 1 kDa , siendo los péptidos de entre 10 kDa a 5 kDa los que presentaron una mayor actividad de inhibición de la lipasa y aparición de células adiposas, en cambio para la pepsina se han mostrado mayor actividad inhibitoria para los péptidos 5 kDa y 3 kDa.

Como puede observarse, la cepa paraguaya mostró el mayor número de péptidos con las 3 proteasas estudiadas. Esto puede deberse al tratamiento original de la muestra. La cepa paraguaya es la microalga objeto de estudio que ha tenido un seguimiento en su producción desde el inicio de esta tesis. Las otras cepas son comerciales, por lo que se desconoce su tratamiento general hasta la comercialización. Dentro de las enzimas estudiadas, puede observarse que Alcalase 2,4 L hidrolizó la cepa paraguaya arrojando los péptidos de peso molecular mencionados. En las otras cepas, Alcalase 2,4 L produjo péptidos cortos difíciles de

visualizar en el sistema electroforético utilizado en este estudio. Estudios sobre diferentes microalgas muestran que el proceso de hidrólisis mejoró la actividad antioxidante en péptidos obtenidas con Alcalase 2,4 L (Alzahrani et al., 2017).

Las hidrólisis con Flavourzyme mostraron bandas en las tres especies de microalgas. Otros estudios realizados con Flavourzyme indican que dicha enzima que no podía hidrolizar los péptidos en la región de 30 kDa (Alzharani et al., 2017). Las posibles razones pueden ser debido a la creciente inhibición del producto, autopeptidolisis de las enzimas y la falta de sitios de escote. Esto es confirmado en estudios previos de hidrólisis de gluten de trigo utilizando Flavourzyme. Un efecto combinado del producto inhibición y falta de sitios de escote produjo bandas SDS PAGE alrededor de 30 kDa (Grimrath et al., 2011; Giesler et al., 2014). Bandas reflejadas entre 30 kDa y 14,4 kDa en hidrolizados de *Arthrospira platensis* que representan las subunidades de la ficocianina (aproximadamente entre 16 kDa y 19 kDa) y corresponden a los principales contribuyentes a la bioactividad de *Arthrospira sp* fueron reportados en trabajos previos (Riss et al., 2007). Respecto de la proteasa sintetizada in situ en PROIMI puede observarse que hidrolizó muy bien la cepa paraguaya con fragmentos de 11 kDa, 8 kDa y 5 kDa.

Algunos péptidos han sido secuenciados, como el péptido con la secuencia LGTPGSSVAVG, LIAGGTGPMDEY, LIAGGTGPMDEY que proveniente de la subunidad alfa y beta de la ficocianina con actividad antiinflamatorio, antimicrobiano, antiparasitario, antitrombótico, regulador de memoria y estimulante de la captación de glucosa (Anekthanakul et al., 2019). La secuencia elucidada para péptidos con actividad inhibitoria de lipasas registradas por Fan et al, (2018) fueron CANPHELPNK y CANPHELPNK.

4.5. Perfil lipídico

El valor nutricional de una dieta a base de microalgas se encuentra relacionado con la habilidad de satisfacer los nutrientes esenciales, como son los ácidos grasos esenciales (Brown et al. 2002). Uno de los requerimientos es la calidad de los lípidos suministrados como alimento, especialmente los ácidos grasos esenciales poliinsaturados de cadena larga por ejemplo la familia de los omega 3 (20:5n-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) y 22:6n-3n, ácido docosahexaenoico

(DHA) (Matos et al., 2020). Estos ácidos grasos tienen efectos positivos en la salud cardiovascular, el sistema nervioso y visual, principalmente por sus funciones antiinflamatorias, antiarrítmicas, inmunoprotectoras, citoprotectoras, neuroprotectoras y antiapoptóticas, tanto en la salud humana como animal (Brenna et al., 2009; 2014). Los resultados de los perfiles lipídicos de las cepas analizadas se pueden observar en las tablas 10, 11 y 12.

Tabla 10. Perfil lipídico de *Arthrospira platensis*

Saturados	Ácidos grasos	Nombre trivial	Porcentaje (%)
	10:00	Cáprico	1,70
	12:00	Laurico	1,75
	14:00	Mirístico	1,30
	15:00	Pentadecanoico	8,83
	16:00	Palmitico	10,69
	18:00	Estearico	5,85
	20:00	Araquídico	1,67
	21:00	Henecosanoico	3,82
	23:00	Tricosanoico	1,37
	24:00	Lignocérico	2,08
Monoinsaturados			Agrega
	14:1	Miristoleico	sumatorias
	15:1	Pentadecanoico	3,49
	16:1n7	Palmitoleico	12,49
	17:1n5	Heptadecanoico	8,23
	18:1n9	Oleico	1,31
	22:1n9	Eúrico	5,59
Poliinsaturados			1,57
	18:2n6	Linoleico (ω -6)	
	18:3n3	γ -Linolenico (ALA)	5,95
	18:3n6	γ -Linolenico (GLA)	1,66
	20:2n6	Decosadienoico	1,89
	20:3n3	di-homo(α)linolenico	2,13
	20:3n6	di-homo- γ -linolenico	1,38
	20:4n6	Araquidónico	5,53
	20:5n3	Eicosapentanoico (EPA)	2,56
	22:6n3	Decosahexaenoico	4,10
		(DHA)	3,12

En este reporte se registra que la cepa *Arthrospira platensis* en las condiciones de cultivo utilizadas, produce ácidos grasos de carácter esencial como el 18:2n6, linoleico (ω -6) en un 5.95%; 18:3n3, γ -linolenico (ALA) en un 1,66 %; 18:3n6, γ -linolenico (GLA) en un 1,89%; 20:5n3, eicosapentanoico (EPA) en un 4,10% y

22:6n3, decosahexaenoico (DHA) en un 3,12%, lo que concuerda con los reportes de Santos et al., (2018); El et al., (2018) y Licett et al (2014). De la misma manera, la alta concentración del 16:00, ácido palmítico en un 10, 69% concuerda con los reportes de El et al., (2018) y Nicolai et al., (2019). La alta producción de este ácido graso es característico en esta especie y se evidencia en las otras dos cepas estudiadas (Golmakani et al., 2012).

Tabla 11. Perfil lipídico de *Arthrospira* sp de origen argentino

Saturados	Ácidos grasos	Nombre trivial	Porcentaje (%)
	06:00	Caproico	0,0062
	10:00	Cáprico	0,0156
	12:00	Laurico	3,42
	15:00	Pentadecanoico	5,85
	16:00	Palmitico	14,36
	18:00	Estearico	8,33
	20:00	Araquídico	ND
	21:00	Henecosanoico	ND
	23:00	Tricosanoico	ND
	24:00	Lignocérico	ND
Monoinsaturados			
	14:1	Miristoleico	6,84
	15:1	Pentadecanoico	19,72
	16:1n7	Palmitoleico	2,81
	17:1n5	Heptadecanoico	2,55
	18:1n9	Oleico	7,83
	20:1n9	Eicosenoico	3,09
	22:1n9	Eúrico	1,72
Poliinsaturados			
	18:2n6	Linoleico (ω -6)	10,65
	18:3n3	γ -Linolenico (ALA)	3,51
	18:3n6	γ -Linolenico (GLA)	ND
	20:2n6	Decosadienoico	ND
	20:3n3	di-	ND
	20:3n6	homo(α)linolenico	2,19
	20:4n6	di-homo- γ -linolenico	ND
	20:5n3	Araquidónico	3,13
	22:6n3	Eicosapentanoico (EPA)	3,86
		Decosahexaenoico (DHA)	

Para la *Arthrospira* sp de origen argentino también se han detectado ácidos grasos esenciales acorde con los reportado por Santos et al., (2018); El et al., (2018) y Licett et al (2014). En comparación con la cepa de *Arthrospira platensis*, las tablas 11 y 12 muestran que no se han detectado todos los ácidos grasos. Esto pudo deberse a las condiciones del cultivo a las que han sido sometidas las muestras comerciales, las cuales se desconocen.

Tabla 12. Perfil lipídico de *Arthrospira* sp de origen chileno

Saturados	Ácidos grasos	Nombre trivial	Porcentaje (%)
	06:00	Caproico	18,58
	10:00	Cáprico	2,77
	12:00	Laurico	5,93
	14:00	Mirístico	5,87
	15:00	Pentadecanoico	9,69
	16:00	Palmitico	8,87
	18:00	Estearico	5,09
	20:00	Araquídico	ND
	21:00	Henecosanoico	ND
	23:00	Tricosanoico	ND
	24:00	Lignocérico	ND
Monoinsaturados			
	14:1	Miristoleico	6,33
	15:1	Pentadecanoico	3,53
	16:1n7	Palmitoleico	ND
	17:1n5	Heptadecanoico	ND
	18:1n9	Oleico	ND
	20:1n9	Eúrico	3,95
	22:1n9	Eicosenoico	3,13
Poliinsaturados			
	18:2n6	Linoleico (ω -6)	2,59
	18:3n3	γ -Linolenico (ALA)	4,07
	18:3n6	γ -Linolenico (GLA)	ND
	20:2n6	Decosadienoico	ND
	20:3n3	di-homo(α)linolenico	4,05
	20:3n6	di-homo- γ -linolenico	ND
	20:4n6	Araquidónico	ND
	20:5n3	Eicosapentanoico (EPA)	7,51
	22:6n3	Decosaheptaenoico (DHA)	2,20

Actualmente, y desde hace un par de décadas, los ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (omega-3) EPA y DHA, son considerados de gran importancia nutricional debido a los numerosos efectos positivos observados a partir de su administración tanto en la nutrición humana como animal (Valenzuela et al., 2015). Por ello, esta microalga podría ser utilizada como suplemento alimenticio o complemento nutricional (Nicolai et al., 2019).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

En la actualidad, las microalgas han ganado un gran interés, ya que son fuente de importantes sustancias naturales, componentes bioactivos y producen biomateriales que presentan diversas aplicaciones industriales. Se han analizados tres cepas de diferentes orígenes geográficos de *Arthrospira sp.* La cepa de *Arthrospira platensis* aislada de Laguna Capitán del chaco Paraguayo analizada, fue cultivada en fotobiorreactor tipo batch con medio Zarrouk en condiciones de 24 hs luz, 0,45 vvm e intensidad lumínica de 12.500 lm durante 75 días que generó un rendimiento de 5,82 gramos de biomasa por litro de cultivo. Además se estudiaron 2 cepas comerciales de diferentes países para fines comparativos. Las determinaciones realizadas para evaluar la composición proximal de las cepas fueron humedad, cenizas, proteínas y lípidos de acuerdo con los métodos oficiales (AOAC, 1990). Los lípidos fueron analizados por el método de Bligh y Dyer (1959) y el perfil de ácidos grasos fue evaluado mediante cromatografía gaseosa. Para la cepa de *Arthrospira platensis* de origen Paraguayo objeto estudio de esta tesis se obtuvieron los siguientes valores: porcentaje de proteínas 67,40%, grasas totales 5,69%, humedad 20,02% y cenizas de 9,11 %. Las cepas fueron sometidas a hidrólisis enzimática con tres proteasas comerciales Alcalase 2,4 L, Flavourzyme y una pepsina inmovilizada proveída por PROIMI (Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos) de la ciudad de Tucumán-Argentina. Se analizaron la solubilidad y el peso molecular de los hidrolizados, siendo para la *Arthrospira platensis* de 33,864 mg/ml hidrolizada con Alcalase 2,4 L, y los pesos moleculares variaron de 5 kDa hasta 30 kDa con las tres proteasas. Estos resultados indicarían la presencia de péptidos de diferentes pesos moleculares post hidrólisis respecto a la muestra original, que de acuerdo a la bibliografía se puede inferir que tienen un alto poder antioxidante y podrían tener actividad biológica para el tratamiento de diversas afecciones crónicas como la presión alta, inflamación intestinal y obesidad. También se ha detectado la presencia de ácidos grasos esenciales, destacándose el Eicosapentanoico (EPA) Decosaheptanoico (DHA) de acuerdo con el perfil lipídico de cada cepa. Estos resultados sugieren que esta microalga podría ser utilizada como suplemento alimenticio o complemento nutricional.

5.2. Recomendaciones a futuro

En base a los análisis realizados en este trabajo se recomienda continuar la línea de investigación referida a la composición química y nutricional de la cepa de *Arthrospira platensis* de origen Paraguayo. En este sentido el mayor interés radica en secuenciar de los péptidos generados a partir de la hidrólisis enzimática, ya que los mismos han sido obtenidos con una enzima comúnmente utilizada como la Alcalasa 2,4L, pero pocos estudios hay sobre la hidrólisis con Flavouyrzyme y proteasas nativas. Del mismo modo la materia prima de origen constituye la originalidad de la tesis, ya que se trata de una cepa de incipiente desarrollo. Por otro lado, una vez secuenciados dichos péptidos, resultaría de interés evaluar sus efector nutracéuticos y diferentes potencialidades. Ampliar el perfil bioquímico de la cepa de en cuenta al contenido de aminoácidos, acrecentaría el conocimiento de la fracción proteica de la muestra y sus potenciales propiedades. Por otro lado, evaluar exhaustivamente el uso de los biocompuestos de la fracción lipídica extendería las fronteras de oportunidades de uso de esta cepa.

6. BIBLIOGRAFIA

- Alexandratos, N. and J. Bruinsma. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper No. 12-03. Rome, FAO.
- Almeida, J. (2017). Obtención de bioetanol a partir de hidrolisis enzimática y fermentación de arracacha. (Tesis pregrado). Universidad central del Ecuador, Quito
- Anekthanakul, K., Senachak, J., Hongsthong, A., Charoonratana, T., & Ruengjitchachawalya, M. (2019). Natural ace inhibitory peptides discovery from spirulina (*Arthrospira platensis*) strain c1. *Peptides*, 118, 170107–170107. <https://doi-org.ezproxy-cicco.conacyt.gov.py/10.1016/j.peptides.2019.170107>
- Altmann, B. A., Wigger, R., Ciulu, M., & Mörlein, D. (2020). The effect of insect or microalga alternative protein feeds on broiler meat quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(11), 4292–4302. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10473>
- Alzahrani, M.A.J.; Perera, C.O.; Hemar, Y. Production of bioactive proteins and peptides from the diatom *Nitzschia laevis* and comparison of their in vitro antioxidant activities with those from *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris*. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2017, 29, 128–130.
- Álvarez, P. (2018). Influencia de la luz sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Spirulina platensis* LMPA55. Escuela de Posgrado - Facultad Regional Buenos Aires, 90. Retrieved from <https://ria.utn.edu.ar/handle/20.500.12272/3901>
- Arely León-López¹, Alejandro Morales-Peñaloza², Víctor Manuel Martínez-Juárez¹, Apolonio Vargas-Torres¹, Dimitrios I. Zeugolis^{3,4} and Gabriel Aguirre-Álvarez^{1, *}. (2019). Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Sources and Applications Molecules*, 24(4031), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>
- AOAC, Official Methods of Analysis. (1990). Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. AOAC INTERNATIONAL 16th Ed.
- AOCS, American Oil Chemists' Society. (2009). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, AOCS Press, Champaign, US
- Bamdad, F. & Chen, L. (2013). Antioxidant capacities of fractionated barley hordein 369 hydrolysates in relation to peptide structures. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57, 493–370 503.
- Becker, E. W. (2007). Microalgae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones Resumen. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 227–237. <https://doi.org/1851-6114>
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K., Shimamatsu, H., (1993). Current know ledge on potential

- health benefits of Spirulina. *Journal of Applied Phycology* 5, 235–241.
- Berenice Licett¹, Miguel Guevara^{2*}, Nathalie Lemus¹, Luis Freites², Lolymar Romero³, C. L. & B. A. V. 4. (2014). Crecimiento y composición bioquímica de *Arthrospira platensis* (division cyanophyta) cultivada a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno. *Boletín Del Instituto Oceanográfico de Venezuela*, 53(1), 3–13. Retrieved from <http://ojs.udo.edu.ve/index.php/boletiniov/search>
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). Quality of selected cheeses fortified with vegetable and animal sources of omega-3. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1577–1584. doi:10.1016/j.lwt.2011.01.023
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37:911-917
- Brenna J, Salem N, Sinclair A, Cunnane S.(2009). Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids*,; 80: 85-91.
- Brenna J, Carlson S. (2014). Docosahexaenoic acid and human brain development: Evidence that dietary supply is needed for optimal development. *J Hum Evol.* 77: 99-106
- Blinkova, L.P., Gorobets, O.B., Batur, A.P., (2001). Biological activity of Spirulina. *Zh Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 114–118 Review.
- Brignardello G, J., Heredia P, L., Paz Ocharán S, M., & Durán A, S. (2013). Conocimientos alimentarios de vegetarianos y veganos chilenos. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(2), 129–134. doi:10.4067/s0717-75182013000200006
- Brown M.R., L.E. Cruz Suárez, D. Ricque Marie, M. Tapia Salazar, M.G. Gaxiola Cortés, N. Simoes. (2002). Nutritional value of microalgae for aquaculture. In *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 60-70. México.
- Burgess, R. R. (2009). Chapter 17 Refolding Solubilized Inclusion Body Proteins. *Guide to Protein Purification*, 2nd Edition, 259–282. doi:10.1016/s0076-6879(09)63017-2
- Camacho Ayala, T. X. (2017). Obtención de un hidrolizado de Spirulina (*Arthrospira platensis*) en polvo, mediante secado por aspersión, como ingrediente funcional. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25303/1/BQ_118.pdf
- Cano Europa, E., Blas Valdivia, V., Rodríguez Sánchez, R., Torres Manzo, P., Franco Colín, M., Hernández García, A., y Ortiz Butrón, R. (2012). Uso terapéutico de algunos microorganismos, microalgas, algas y hongos. *Rev. Mex. De Cien. Farm.*, 43(4).
- Capelli, B., & Cysewski, G. R. (2010). Potential health benefits of spirulina microalgae*. *Nutrafoods*, 9(2), 19–26. doi:10.1007/bf03223332

- Chang, R., Lv, B., & Li, B. (2017). Quantitative proteomics analysis by iTRAQ revealed underlying changes in thermotolerance of *Arthrospira platensis*. *Journal of Proteomics*, 165, 119–131. doi:10.1016/j.jprot.2017.06.015
- Challouf, R., Trabelsi, L., Ben Dhieb, R., El Abed, O., Yahia, A., Ghozzi, K., ... Ben Ouada, H. (2011). Evaluation of cytotoxicity and biological activities in extracellular polysaccharides released by cyanobacterium *Arthrospira platensis*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(4), 831–838. <https://doi.org/10.1590/s1516-89132011000400024>
- Christaki, E., Florou-Paneri, P., & Bonos, E. (2011). Microalgae: A novel ingredient in nutrition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(8), 794–799. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.582460>
- C. Zarrouk (1966). Construcción para el estudio de una Cyanophyceae. Influencia de varios factores físicos y químicos en el crecimiento y la fotosíntesis de *Spirulina maxima*. (Tesis) vol. 84, Universidad de París
- Deamici, K. M., Santos, L. O., & Costa, J. A. V. (2018). Magnetic field action on outdoor and indoor cultures of *Spirulina*: Evaluation of growth, medium consumption and protein profile. *Bioresource Technology*, 249, 168–174. doi:10.1016/j.biortech.2017.09.185
- De Marco Castro, E., Shannon, E., & Abu-Ghannam, N. (2019). Effect of fermentation on enhancing the nutraceutical properties of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Fermentation*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/fermentation5010028>
- Duongbia, N., Chaiwongsar, S., Chaichana, C., & Chaiklangmuang, S. (2018). Acidic hydrolysis performance and hydrolyzed lipid characterizations of wet *Spirulina platensis*. *Biomass Conversion and Biorefinery*. doi:10.1007/s13399-018-0350-6
- Dupont, C., Bocquet, A., Tom, D., Bernard, M., Campeotto, F., Dumond, P. Frelut, M. (2020). Hydrolyzed Rice Protein-Based Formulas, a Vegetal Alternative in Cow's Milk Allergy. *Nutrients*, 12, 2654. <https://doi.org/10.3390/nu12092654>
- Domínguez González, K. N., Cruz Guerrero, A. E., Márquez, H. G., Gómez Ruiz, L. C., García-Garibay, M., & Rodríguez Serrano, G. M. (2014). El efecto antihipertensivo de las leches fermentadas. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(1), 58–65. doi:10.1016/s0325-7541(14)70050-1
- El Baky, H. H. A., El Baroty, G. S., & Mostafa, E. M. (2018). Optimization growth of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* in photobioreactor under varied nitrogen concentration for maximized biomass, carotenoids and lipid contents. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 10. doi:10.2174/2212798410666181227125229
- Esthefany, G., & Montalvo, B. (2018). DISCOVERY OF NOVEL BIOACTIVE PEPTIDES FROM *Spirulina* (*Arthrospira*). BDTD - Biblioteca Digital de Teses e Dissertações Da UFT. Retrieved from <http://hdl.handle.net/11612/964>

- Fan, X., Cui, Y., Zhang, R., & Zhang, X. (2018). Purification and identification of anti-obesity peptides derived from *Spirulina platensis*. *Journal of Functional Foods*, 47(June), 350–360. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.066>
- FAO. (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción*. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- FAO. (2008). Food and Aquaculture Organization of the United Nations. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Roma: FAO Fisheries and Aquaculture circular 2008; 1034(33).
- Franco Miranda, H. G., Chel Guerrero, L., Betancur Ancona, D. (2013). Incorporación De Hidrolizados Proteicos De *Phaseolus Lunatus* Y *Vigna Unguiculata* en Productos De Panadería Y Extrudidos. *Foro En Ciencias Químicas y Bioquímicas 2013 Libro de Resúmenes*, 6–9
- Ganta R., Svircev Z. (2008) Microalgae and cyanobacteria: food for thought. *Journal of Phycology*; (44):260–268. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00469.x>.
- Garcés-Rimón, M., Sandoval, M., Molina, E., López-Fandiño, R., & Miguel, M. (2016). Egg protein hydrolysates: New culinary textures. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 3, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2015.04.001>
- García-Maldonado, E., Gallego-Narbón, A., & Vaquero, M. P. (2019). Are vegetarian diets nutritionally adequate? A revision of the scientific evidence | ¿son las dietas vegetarianas nutricionalmente adecuadas. Una revisión de la evidencia científica. *Nutricion Hospitalaria*, 36(4), 950–961.
- Gershwin, M. E., & Belay, A. (2008). *Spirulina in human nutrition and health*. CRC Press-Boca Raton, FL, USA
- Giesler, L., Linke, D., & Berger, R. G. (2014). Factors Limiting the Enzymatic Hydrolysis of Wheat Gluten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20), 4762–4768. doi:10.1021/jf500901a
- Golmakani, M. T., Rezaei, K., Mazidi, S., & Razavi, S. H. (2012). γ -Linolenic acid production by *Arthrospira platensis* using different carbon sources. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(3), 306–314. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100264>
- Gutiérrez Cuesta, R., González García, K., Rivera Hernández, Y., Acosta Suárez, Y., & Marrero Delange, D. (2017). ALGAS MARINAS, FUENTE POTENCIAL DE MACRONUTRIENTES-Marine algae, potential source of macronutrients. *Revista Investigaciones Marinas*, 37(2), 16–28. Retrieved from <http://www.cim.uh.cu/rim/>
- Grahl, S., Strack, M., Weinrich, R., & Mörlein, D. (2018). Consumer-Oriented Product Development: The Conceptualization of Novel Food Products Based on *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and Resulting Consumer Expectations. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1919482>

- Grimrath, A., Berends, P., Rabe, S., Berger, R. G., & Linke, D. (2010). Koji fermentation based on extracellular peptidases of *Flammulina velutipes*. *European Food Research and Technology*, 232(3), 415–424. doi:10.1007/s00217-010-1401-9
- Güemes Vera, N., Totosaus, A., Hernandez, J. F., Soto, S., & Aquino Bolaños, E. N. (2009). Propiedades de textura de masa y pan dulce tipo “concha” fortificados con proteínas de suero de leche. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(1), 70–75. https://doi.org/10.1590/s0101-20612009000100011
- Hartmann, R., & Meisel, H. (2007). Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 163–169. doi:10.1016/j.copbio.2007.01.013
- Hena, S., Znad, H., Heong, K. T., & Judd, S. (2018). Dairy farm wastewater treatment and lipid accumulation by *Arthrospira platensis*. *Water Research*, 128, 267–277. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.057
- Hleap Zapata, José Igor; Gutiérrez Castañeda, Claudio Alejandro. (2015). Hidrolizados de pescado – producción, beneficios y nuevos avances en la industria.-Una revisión *Acta Agronómica*, vol. 66, núm. 3, 2017, pp. 311-322 Universidad Nacional de Colombia Palmira, Colombia
- Hernandez Acevedo, H., Flores Ramos, L., & Soto, A. R. (2019). Acidos grasos en cepas de microalgas del banco de germoplasma de organismos acuaticos del instituto del mar del peru (imarpe).(trabajos originales). *Revista Peruana De Biología*, 26(3), 369
- Huarachi Olivera, R. E., Yapo Pari, U. A., Dueñas Gonza, A. P., Condori Huamanga, J., Pacheco Salazar, D., & Soto Flores, J. (2015). Cultivo de *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) en fotobiorreactor tubular doblemente curvado a condiciones ambientales en el sur del Perú. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(1), 143–150. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50679
- Izquierdo Stephanie, G. A. (2019). Bebida De Limón (Citrus Limón)Ycapulí(*Prunus Serotina*) Enriquecida Conspirulina(*Arthrospira Platensis*),Para La Prevencion De La Deficiencia De Proteínas Y Hierro, En El Preescolar. Repositorio Institucional Unjfs, 121. Retrieved From [Http://Repositorio.Unjfsc.Edu.Pe/Handle/Unjfsc/3454](http://Repositorio.Unjfsc.Edu.Pe/Handle/Unjfsc/3454)
- Jaki, B.; Orjala, J.; Heilmann, J.; Linden, A. and Vogler B, Sticher, O. (2000), Novel Extracellular Diterpenoids with Biological Activity from the Cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Natural Products*, 63, 339–343.
- Jacob-Lopes, E., Cacia Ferreira Lacerda, L. M., & Franco, T. T. (2008). Biomass production and carbon dioxide fixation by *Aphanothece microscopica* Nägeli in a bubble column photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 40(1), 27–34. https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.11.013
- Jacob-Lopes, E., Scoparo, C. H. G., Lacerda, L. M. C. F., & Franco, T. T. (2009). Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(1), 306–310. https://doi.org/10.1016/j.cep.2008.04.007

- J.E. Arsenault, V.L. Fulgoni, J.C. Hersey, M.K. Muth, (2012). A novel approach to selecting and weighting nutrients for nutrient profiling of foods and diets, *J. Acad. Nutr. Diet.* 112 (12) 1968–1975.
- Khan, Z., Bhadouria, P. y Bisen, P., (2005). Nutritional and Therapeutic Potential of Spirulina. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 6(5), pp.373-379. Available at: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-2010&volume=6&issue=5&spage=373>.
- Kamble, S. P., Gaikar, R. B., Padalia, R. B., & Shinde, K. D. (2013). Extraction and purification of C-phycoyanin from dry Spirulina powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(8), 149–153. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3826>
- Kim, S.-K., & Wijesekara, I. (2010). Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 1–9. doi:10.1016/j.jff.2010.01.003
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>
- Konopka, A., & Schnur, M. (2017). Effect of light intensity on macromolecular synthesis in cyanobacteria. *Microbial Ecology*, 6(4), 291–301.
- Kolanowski, W., & Laufenberg, G. (2005). Enrichment of food products with polyunsaturated fatty acids by fish oil addition. *European Food Research and Technology*, 222(3-4), 472–477. doi:10.1007/s00217-005-0089-8
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945–960. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.012>
- Kris-Etherton, P. M., Grieger, J. A., & Etherton, T. D. (2009). Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81(2-3), 99–104. doi:10.1016/j.plefa.2009.05.011
- Krzemińska, I., Pawlik-Skowrońska, B., Trzcińska, M., & Tys, J. (2013). Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(4), 735–741. doi:10.1007/s00449-013-1044-x
- Kulshreshtha, A., J., A., Jarouliya, U., Bhadauriya, P., Prasad, G., & Bisen, P. (2008). Spirulina in Health Care Management. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 9(5), 400–405. <https://doi.org/10.2174/138920108785915111>
- Laemmli, U.K., (1970), *Nature* 227,680.
- Li, Y., Aiello, G., Bollati, C., Bartolomei, M., Arnoldi, A., & Lammi, C. (2020). Phycobiliproteins from *Arthrospira Platensis* (Spirulina): A New Source of Peptides

- with Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitory Activity. *Nutrients*, 12(794), 1–11. <https://doi.org/10.3390/nu12030794>
- Lisboa, C. R., Pereira, A. M., Alberto, J., & Costa, V. (2016). Biopeptides with antioxidant activity extracted from the biomass of *Spirulina* sp. LEB 18. *African Journal of Microbiology Research*, 10(3), 79–86. <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7760>
- Liu, J.-G., Hou, C.-W., Lee, S.-Y., Chuang, Y., & Lin, C.-C. (2011). Antioxidant effects and UVB protective activity of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) products fermented with lactic acid bacteria. *Process Biochemistry*, 46(7), 1405–1410. doi:10.1016/j.procbio.2011.03.010
- Lupatini, A. L., Colla, L. M., Canan, C., & Colla, E. (2017). Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 724–732. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7987>
- Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elguezabal, N., & Garaizar, J. (2006). Kefir: una comunidad simbiótica de bacterias y levaduras con propiedades saludables. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23(2), 67–74. doi:10.1016/s1130-1406(06)70016-x
- Madkour, F. F., Kamil, A. E. W., & Nasr, H. S. (2012). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38(1), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2012.09.003>
- Manninen, A. H. (2004). Protein hydrolysates in sports and exercise: A brief review. *Journal of Sports Science and Medicine*, 3(2), 60–63.
- Marková, I., Koničková, R., Vaňková, K., Leníček, M., Kolář, M., Strnad, H., Vítek, L. (2020). Anti-angiogenic effects of the blue-green alga *Arthrospira platensis* on pancreatic cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(4), 2402–2415. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14922>
- Martinez Palma N., A. Martinez Ayala2, G. D. O. 1z1*. (2015). Determination of antioxidant and chelating activity of protein hydrolysates from spirulina (*Arthrospira maxima*) OBTAINED BY. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14(1665–2738), 25–34.
- Marti-Quijal, F. J., Zamuz, S., Galvez, F., Roohinejad, S., Tiwari, B. K., Gómez, B., Lorenzo, J. M. (2018). Replacement of soy protein with other legumes or algae in turkey breast formulation: Changes in physicochemical and technological properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(12), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13845>
- Marti-Quijal, F. J., Zamuz, S., Tomašević, I., Gómez, B., Rocchetti, G., Lucini, L., Lorenzo, J. M. (2019). Influence of different sources of vegetable, whey and microalgae proteins on the physicochemical properties and amino acid profile of fresh pork sausages. *LWT*, 110, 316–323. doi:10.1016/j.lwt.2019.04.097
- Masojídek, J., & Prášil, O. (2010). The development of microalgal biotechnology in the

Czech Republic. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37(12), 1307–1317. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0802-x>

Matallana-Surget S, Derock J, Leroy B, Badri H, Deschoenmaecker F, et al. (2014) Proteome-Wide Analysis and Diel Proteomic Profiling of the Cyanobacterium *Arthrospira platensis* PCC 8005. *PLoS ONE* 9(6): e99076. doi:10.1371/journal.pone.0099076

Matos, J., Cardoso, C. L., Falé, P., Afonso, C. M., & Bandarra, N. M. (2020). Investigation of nutraceutical potential of the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis*. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 303–312. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14278>

Mazokopakis, E. E., Starakis, I. K., Papadomanolaki, M. G., Mavroeidi, N. G., & Ganotakis, E. S. (2014). The hypolipidaemic effects of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population: A prospective study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(3), 432–437. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6261>

Mendoza, K. S. (2017). Muffins de chocolate con relleno de mermelada de kiwi enriquecida con spirulina (*Arthrospira platensis*)". Universidad Nacional de san Agustín de Arequipa. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera. Arequipa Perú.

Minic, S. L., Stanic-Vucinic, D., Mihailovic, J., Krstic, M., Nikolic, M. R., & Cirkovic Velickovic, T. (2016). Digestion by pepsin releases biologically active chromopeptides from C-phycocyanin, a blue-colored biliprotein of microalga *Spirulina*. *Journal of Proteomics*, 147, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.03.043>

Molino, A., Iovine, A., Casella, P., Mehariya, S., Chianese, S., Cerbone, A., Musmarra, D. (2018). Microalgae Characterization for Consolidated and New Application in Human Food, Animal Feed and Nutraceuticals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijerph15112436>

Mostafa, S.S.M. & F.A. Gawish. (2009). Towards to control *Biomphalaria alexandrina* snails and the free living larval stages of *Schistosoma mansoni* using the microalga *Spirulina platensis*. *Austr. J. Bas. Appl. Sci.*, 3(4): 4112-4119.

Moraes, L., Martins, G., Cardias, B. B., Oliveira, L., Alberto, J., & Costa, V. (2016). Microalgal biotechnology for greenhouse gas control: Carbon dioxide fixation by *Spirulina* sp. at different diffusers. *Ecological Engineering*, 91, 426–431. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.02.035>

Naclerio, F. (2019). Consideration of a New Form of Hydrolysed Beef Powder as a Source of High-Quality Protein for Elderly. *RICYDE: Revista Internacional de Ciencias Del Deporte*, 11(41), 226–244. <https://doi.org/10.5232/ricyde2019.05703>

Neptalí Asero Farinango, L. (2014). Obtención de la espirulina en polvo por secado al vacío para el enriquecimiento nutricional de los productos alimenticios. Tesis. Quito:

- Naranjo-briceño, L., Rojas-tortolero, D., González, H., & Torres, R. (2010). *Arthrospira platensis* como biofactoría de metabolitos secundarios de interés farmacológico: el ácido pipercolico. *Rev Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 1(1), 64–90.
- Niccolai, A., Chini Zittelli, G., Rodolfi, L., Biondi, N., & Tredici, M. R. (2019). Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. *Algal Research*, 42, 101617. doi:10.1016/j.algal.2019.101617
- Ogbonda, K. H., Aminigo, R. E., & Abu, G. O. (2007). Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. *Bioresource Technology*, 98(11), 2207–2211. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.028>
- Osman, M. E. H., Abo-Shady, A. M., & El-Nagar, M. M. F. (2016). Cyanobacterial *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) as safener against harmful effects of fusilade herbicide on faba bean plant. *Rendiconti Lincei*, 27(3), 455–462. <https://doi.org/10.1007/s12210-015-0498-y>
- Pedro Inês Soraia Hipólito (2015). Evaluation of photoperiod effect on the growth and protein content of microalgae.. *Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar*. <http://hdl.handle.net/10400.8/2177>
- Peixoto, J. V. C., Paula, L. M. R. de, Iagher, F., Silva, I. K., Dias, F. A. L., & Fogaça, R. T. H. (2020). Shark liver oil consumption decreases contractility in EDL muscle of trained rats. *Fisioterapia Em Movimento*, 33, 1–9. <https://doi.org/10.1590/1980-5918.033.ao11>
- Plaza, M., Herrero, M., Alejandro Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2009). Innovative natural functional ingredients from microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7159–7170. <https://doi.org/10.1021/jf901070g>
- Ponce López, E. (2013). Superalimento para un mundo en crisis: *Spirulina* a bajo costo. *Idesia (Arica)*, 31(1), 135–139. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292013000100016>
- Priyadarshani, I., & Rath, B. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae – A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4), 89–100.
- Radmann, E. M., Reinehr, C. O., & Costa, J. A. V. (2007). Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. *Aquaculture*, 265(1-4), 118–126. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.02.001
- Rakes, A. H., Davenport, D. G., Pettyjohn, J. D., & Linnerud, A. C. (1968). Hydrolyzed Feather Meal as a Protein Supplement for Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 51(10), 1701–1702. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(68\)87256-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(68)87256-X)
- Ramírez Mérida, L. G., Jacob-Lopes, E., & Queiroz Zepka, L. (2014). Fotobiorreactor: Herramienta Para Cultivo De Cianobacterias. *Ciencia y Tecnología*, 6(2), 9–19.

<https://doi.org/10.18779/cyt.v6i2.90>

- Ramírez-Moreno, L.; Olvera-Ramírez, R (2010). Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). *Interciencia* 2006, 31, 657–663.
- Rempel, A., Machado, T., Treichel, H., Colla, E., Margarites, A. C., & Colla, L. M. (2018). Saccharification of *Spirulina platensis* biomass using free and immobilized amylolytic enzymes. *Bioresource Technology*, 263(April), 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.114>
- Riss, J., Décordé, K., Sutra, T., Delage, M., Baccou, J.-C., Jouy, N., Rouanet, J.-M. (2007). Phycobiliprotein C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* Is Powerfully Responsible for Reducing Oxidative Stress and NADPH Oxidase Expression Induced by an Atherogenic Diet in Hamsters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7962–7967. doi:10.1021/jf070529g
- Rodríguez, D. (2010). Diseño de Fotobiorreactores de alta eficiencia y bajo coste para el cultivo de microalga. *Journal of Biotechnology*, 129(3), 19–24. <https://doi.org/10.101.2007.01.009>
- Rodríguez, A.R. y Triana, F.C., (2013). Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología Industrial, p.106,
- Rojas Allende, D., Figueras Díaz, F., & Durán Agüero, S. (2017). Ventajas y desventajas nutricionales de ser vegano o vegetariano. *Revista Chilena de Nutrición*, 44(3), 218–225. doi:10.4067/s0717-75182017000300218
- Rosales Loaiza, Néstor, et al. (2021) "Comparación del crecimiento y Composición Bioquímica de cuatro cepas de *Nostoc* y *Anabaena* (Cyanobacteria, Nostocales) en relación con el nitrato de sodio." *Revista Acta Biológica Colombiana*, vol. 21, no. 2, 2016, p. 347+. Gale OneFile: Informe Académico, . Accessed 2 May.
- Ruiz Aguilar, M. (2014). Análisis del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* a diferentes fotoperiodos y concentraciones de nitrógen. Instituto Tecnológico De Tuxtla Gutiérrez. Repositorio digital. <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/723/4891.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ruiz, M. J., Colello, R., Padola, N. L., & Etcheverría, A. I. (2017). Efecto inhibitorio de *Lactobacillus* spp. sobre bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(2), 174–177. doi:10.1016/j.ram.2016.10.005
- Samaranayaka, A. G. P. and Li-chan, E. C. Y. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: a review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods* 3, 229-254.
- Santos de Jesus, C., da Silva Uebel, L., Costa, S. S., Miranda, A. L., de Morais, E. G., de

- Morais, M. G., ... Druzian, J. I. (2018). Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. *Bioresource Technology*, 256(January), 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.149>
- Segura-Campos, M., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2010). Effect of digestion on bioavailability of peptides with biological activity | Efecto de la digestión en la biodisponibilidad de péptidos con actividad biológica. *Revista Chilena de Nutricion*, 37(3).
- Serra Bisbal, J. J., Melero Lloret, J., Martínez Lozano, G., & Fagoaga, C. (2020). Especies vegetales como antioxidantes de alimentos. *Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.*, (12), 71–90. https://doi.org/10.46583/nereis_2020.12.577
- Shanmugapriya, R., & Ramanathan, T. (2012). Study of Antibacterial activity of Cyanobacterial sp . *Spirulina platensis* Shanmugapriya and Ramanathan South As . *J . Biol . Sci . 2 (3)*: 161 – 166 Shanmugapriya and Ramanathan. *Cultures*, 2(3), 161–166.
- Sheih, I.-C., Fang, T. J., Wu, T.-K., & Lin, P.-H. (2010). Anticancer and Antioxidant Activities of the Peptide Fraction from Algae Protein Waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1202–1207. doi:10.1021/jf903089m
- Schlösser, U.G. (1982). *Sammlung von Algenkulturen*. Ber. Deutsch Bot. Ges. 95: 18-276.
- Simopoulos, A. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(8), 365–379. doi:10.1016/s0753-3322(02)00253-6
- Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). *Spirulina*—From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology*.
- Soletto, D., Binaghi, L., Ferrari, L., Lodi, A., Carvalho, J. C. M., Zilli, M., & Converti, A. (2008). Effects of carbon dioxide feeding rate and light intensity on the fed-batch pulse-feeding cultivation of *Spirulina platensis* in helical photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 39(2), 369–375. doi:10.1016/j.bej.2007.10.007
- Souza, D. M. de, Pinho Junior, J. D. S., Branco, V. N. C., Araujo, K. G. de L., Santos, B. D. N. C. dos, & Domingues, J. R. (2017). Antioxidative effect of *Arthrospira platensis* biomass on the lipid oxidation. *Vigilância Sanitária Em Debate*, 5(3), 76. <https://doi.org/10.22239/2317-269x.00887>
- Srinivasa Reddy Ronda, Chandra Sekhar Bokka, Chandrika Ketineni, Binod Rijal, P. R. A. (2012). Aeration effect on *spirulina platensis* growth and g-linolenic acid production. *Brazilian Journal of Microbiology*, 16(20), 12–20.
- Sun, Y., Chang, R., Li, Q., & Li, B. (2015). Isolation and characterization of an antibacterial peptide from protein hydrolysates of *Spirulina platensis*. *European Food Research and*

Technology, (35). <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2576-x>

- Tafur Medina, Israel Auberto; Obregón Dionicio, E. D. (2019). Gomas Funcionales Decushuro (*Nostoc Commune*) Enriquecida Con Aceite De Sacha Inchi (*Plukenetia Volubilis*) Y Spirulina (*Arthrospira Platensis*), Con Sabor A Frutas. Repositorio Institucional Unjfs. Retrieved From <Http://Repositorio.Unjfs.Edu.Pe/Handle/Unjfs/4051>
- Tavanandi, H. A., Chandralekha Devi, A., & Raghavarao, K. S. M. S. (2018). A newer approach for the primary extraction of allophycocyanin with high purity and yield from dry biomass of *Arthrospira platensis*. *Separation and Purification Technology*, 204(April), 162–174. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.04.057>
- Torres, Alexia; Parra, José; ROJAS, Diego; Fernández-Gómez, Rodolfo; Valero, Y. (2014). Efecto de la suplementación de sémola de trigo con *arthrospira platensis* sobre calidad, aceptabilidad y composición física y química de espaguetis. *Vitae*, 21, n, págs. 81-89.
- Velasco, V., & Williams P, (2011). Improving meat quality through natural antioxidants mejoramiento de la calidad de carne utilizando antioxidantes naturales
- Valenzuela B, A., Sanhueza C, J., & Valenzuela B, R. (2015). Las microalgas: una fuente renovable para la obtención de ácidos grasos omega-3 de cadena larga para la nutrición humana y animal. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(3), 306–310. doi:10.4067/s0717-75182015000300013
- Valle, E. M., & Tirado, J. (2018). *Scenedesmus acutus* Effect of photoperiod and temperature on population growth and production of biomass, proteins and lipids from *Scenedesmus acutus*. *Caxamarca*, 17, 91–99.
- Vaz, B. da S., Moreira, J. B., Morais, M. G. de, & Costa, J. A. V. (2016). Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. *Current Opinion in Food Science*, 7, 73–77. doi:10.1016/j.cofs.2015.12.006
- Villalba Clara, López Tomás, Albrecht Mónica. (2018). Bioprospección De *Arthrospira Platensis* Nativa Del Chaco Paraguayo Como Propuesta Alternativa Para Fines Alimentarios. Tesis. Universidad Nacional De Itapúa Facultad De Ciencias Y Tecnología. Retrieved From <Space.Conacyt.Gov.Py/Xmlui/Bitstream/Handle/123456789/42696/Tesis-Claravillalba.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y>
- Vioque, J., Clemente, A., Pedroche, J., Yust, M. D. M., & Millán, F. (2001). Obtention and uses of protein hydrolysates. *Grasas y Aceites*, 52(2), 132–136. <https://doi.org/10.3989/gya.2001.v52.i2.385>
- Vonshak, A., 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, London.
- Wang, X., Niu, C., Lu, J., Li, N., & Li, J. (2014). Hydrolyzed protein supplementation improves protein content and peroxidation of skeletal muscle by adjusting the plasma amino acid spectrums in rats after exhaustive swimming exercise: A pilot study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 11(1), 1–6.

<https://doi.org/10.1186/1550-2783-11-5>

- Wollina, U., Voicu, C., Gianfaldoni, S., Lotti, T., França, K., & Tchernev, G. (2018). *Arthrospira platensis* – Potential in dermatology and beyond. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(1), 176–180. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.033>
- Zeng, Q. H., Wang, J. J., Zhang, Y. H., Song, Y. Q., Liang, J. L., & Zhang, X. W. (2020). Recovery and identification bioactive peptides from protein isolate of *Spirulina platensis* and their in vitro effectiveness against oxidative stress-induced erythrocyte hemolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3776–3782. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10408>
- Zhong, Y., Madhujith, T., Mahfouz, N., & Shahidi, F. (2007). Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. *Food Chemistry*, 104(2), 602–608. doi:10.1016/j.foodchem.2006.12.036
- Zhu, C., Zhai, X., Wang, J., Han, D., Li, Y., Xi, Y., Chi, Z. (2018). Large-scale cultivation of *Spirulina* in a floating horizontal photobioreactor without aeration or an agitation device. *Applied Microbiology and Biotechnology*. doi:10.1007/s00253-018-9258-0