

TÍTULO DEL PROYECTO

Efecto de la cantidad de concentrado algal de *Spirulina* y tiempo de secado por Ventana Refractante en la humedad y digestibilidad proteica

SIGLAS

SPIRU

TIPO DE PROYECTO

Aplicada

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

LINCAP

DURACIÓN ESTIMADA

Fecha de inicio: 01/04/2016 Fecha de término: 30/03/2017

PARTICIPANTES

- BARRIOS SALAZAR IBONNY DIANA (TESISTA PREGRADO) — 000104468
- VASQUEZ VILLALOBOS VICTOR JAVIER (COORDINADOR(INV. PRINCIPAL)) — 000000772
- ASCATE CRUZ VIRGINIA SOLEDAD (ESTUDIANTE) — 000090222

INSTITUCIÓN O LUGAR A EJECUCARSE

- UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO - UPAO (Ciencias Agrarias. Ingeniería en Industrias Alimentarias)

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál será el efecto de la cantidad de concentrado algal de *Spirulina* y tiempo de secado por Ventana Refractante en la humedad y digestibilidad proteica?

II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Becker (1978) presentó los principales resultados de un proyecto de algas indo-alemán con *Scendesmus acutus*, mencionando que la biomasa de concentrado algal cosechada, después de haber pasado por un separador se obtenía con 30% de sólidos húmedos y 3% de sólidos, la cual fue procesada con secador de tambor rotatorio. El área de superficie de este secador fue de 0.5 m², con una capacidad aproximada de 20 L/h/m² de concentrado algal. El tiempo de secado del concentrado no fue mayor de 10 segundos a una temperatura de 120 °C, con una tasa de consumo de energía de 52 kWh. Show, et al. (2013) han reportado que reemplazar la tecnología de secado de tambor rotatorio calentado con electricidad a una con vapor, puede reducir el costo de procesamiento en 6.8 veces. Los referidos investigadores mencionan que el secado de algas en secador de tambor rotatorio proporciona una doble ventaja: esteriliza el concentrado algal y

rompe la pared celular por el aumento instantáneo de la temperatura, haciendo que el componente intracelular sea más digestible, lo cual comprobaron mediante análisis de digestibilidad proteica *in vitro*. Realizaron el procesamiento de secado por diferentes métodos: secado por tambor (ST), cocinado y secado al sol (CSS), liofilizado (LF); los cuales fueron comparados con algas frescas sin procesar. La mayor digestibilidad (78%) mostró el concentrado deshidratado con ST, seguido de CSS (48%), LF (44%) y el de algas frescas (34%).

Becker y Venkataraman (1982) han reportado estudios de digestibilidad *in vitro* de *Spirulina* fresca, liofilizada y secada al sol. La muestra fresca mostró una digestibilidad de 85% y las secadas al sol y liofilizadas, una digestibilidad máxima de 70%. Los valores obtenidos en este estudio fueron comparados con investigaciones hechas con ratas (digestibilidad *in vivo*) habiéndose reportado 84% de digestibilidad. Asimismo, investigaron la digestibilidad con los tratamientos de HCl 2N; con hervido y Ca(OH)_2 , a 105° - 120°C en autoclave por 15 y 30 min, respectivamente; sonicación por 20 min. Los tratamientos no alteraron la digestibilidad significativamente mostrando valores de 74.6-77.6%, comparada con la *Spirulina* no tratada que mostró valores de 76.3%.

Viswanathan *et al.* (2012) investigaron el efecto de métodos de ruptura celular sobre las características de secado y la composición de lípidos de un consorcio de microalgas verdes (*Chlorella minutissima*, *Chlamydomonas globosa*, *Scenedesmus bijuga*) cultivadas en piletas al aire libre. La ruptura de las microalgas fue realizada con prensa francesa, autoclave y sonicación. El secado fue realizado en capa delgada a 30, 50, 70 y 90 °C. La curva de secado típica indicó que la tasa de secado fue limitada por la difusión. La ruptura con prensa francesa de las células produjo el mayor rendimiento de los lípidos totales sin ningún cambio significativo su composición.

Para la producción de biodiesel a partir de algas, Show *et al.* (2013) propusieron la deshidratación con secadores rotarios, atomización, calentamiento solar, secado por flujo de aire cruzado en estante. En un estudio de requerimiento de energía para secado de algas con un contenido de agua de 4%, fue necesario un ingreso de calor hasta 15700 kcal, para evaporar 18.2 kg de agua por cada kilo de alga (Soeder y Pabst, 1975). Asimismo, un ingreso de energía adicional de 1.4 kWh fue necesaria para operar el secador. Se propuso que para disminuir el costo de energía, un mayor contenido de agua de unos 10% en vez de 4–5%, debe ser mantenida en el producto final. También se estudió el secado por atomización. De acuerdo a Mohn y Soeder (1978), su desventaja principal es el alto costo de operación. Por otra parte, la digestibilidad de secado por atomización de las algas fue menor que con la de secado por tambor.

Becker y Venkataraman (1982) estudiaron la factibilidad de usar secado solar en comparación con la radiación directa del sol para el secado de las algas *Spirulina*. El secado fue con una cámara de madera con superficie interior pintada de negro y la parte superior cubierta con placa de vidrio. Se deshidrató en 5 – 6 h, entre 60 y 65 °C, para obtener un producto con 4 – 8% de agua. El método de secado involucró tecnología de nivel bajo, simple y barato; aunque el método es altamente dependiente del tiempo y sujeta a un riesgo de fermentación y derrames en secado

prolongado. Es necesario precisar que el secado por radiación solar directa de las algas provoca la desintegración de la clorofila, lo que altera la textura y el color del producto final. Debido a que la radiación solar es incontrolable, puede ocurrir recalentamiento de algas, lo que es causa de que esta operación sea de baja confiabilidad y altamente dependiente del clima (Show *et al.*, 2013). Según los mismos investigadores con un sistema de calefacción solar, la energía térmica puede ser aprovechada en paneles de vidrio o tubos para calentar el agua y con un sistema apropiado de diseño, se evita el sobrecalentamiento de la biomasa de algas. Aunque este método ha sido comúnmente utilizado, el producto final es menos atractivo, debido a mayores gastos de capital.

Becker y Venkataraman (1982) también estudiaron un sistema de secado de flujo cruzado y estante de secado al vacío en la deshidratación de algas *Spirulina* con 55 - 66% de humedad, secadas por 14 h a 62 °C, para obtener un producto seco de 2 - 3 mm de espesor con humedad de 4 - 8%. Consignaron que el proceso fue más barato que el secador de tambor y más rápido que el secado solar. En este estudio, las algas *Spirulina* se deshidrataron hasta 4% de humedad a 50 - 65 °C y 0.06 atm. Las algas secas tuvieron propiedades higroscópicas y estructura porosa. Mayores costos de capital y costos corrientes también fueron mencionados por los investigadores.

Según sostienen Pavan *et al.* (2012), el método de secado por Ventana Refractante (VR) es relativamente nuevo. La tecnología consiste en aplicar el producto como una capa delgada sobre la superficie de una cinta transportadora de plástico transparente, debajo de la cual, circula agua caliente que transporta energía térmica al producto (Nindo y Tang, 2007). El método usa temperatura moderada y tiempo corto de secado, lo cual reporta resultados de productos de alta calidad (Abonyi *et al.*, 2002; Nindo *et al.*, 2003). El secado por Ventana Refractante es aplicable especialmente a productos líquidos y semilíquidos, tales como puré y jugos con partículas (Nindo y Tang, 2007). Esta técnica provee una temperatura al interior del alimento de menos de 70 °C y corto tiempo de secado (3 - 5 min para materiales tipo puré), que dependen del espesor del producto deshidratado (Ochoa-Martínez *et al.*, 2012). Nindo y Tang (2007) mencionan, basados en el calor latente de vaporización del agua de unos 2300 kJ/kg, eficiencia térmica del secador por Ventana Refractante de 52 - 77%, que es comparable con el secador de tambor (35 - 78%). Sistemas de secado por aire caliente generalmente tienen eficiencias más bajas (20 - 40%). El secado con tambor rotatorio permite obtener algas deshidratadas con alta digestibilidad en corto tiempo y temperatura superior a los 120 °C. El secado con Ventana Refractante no opera con temperaturas elevadas ni tiempos tan cortos como el secador de tambor rotatorio, pero si permite obtener humedades en el producto final comparables al secador de tambor, por lo que resulta de interés investigar su nivel de digestibilidad en base al tiempo de secado y dosificación de concentrado algal.

Debido a las bajas temperaturas y tiempo desecado con los que opera el secador por Ventana Refractante, no es excluyente el uso de ultrasonido. Lee *et al.* (2001) encontraron que bajo ultrasonido de alta potencia, biomasa algal o vacuolas dentro de las células sufren una disrupción

severa. Aspecto que fue observado por microscopia electrónica en *Microcystis aeruginosa* después de un tratamiento ultrasónico a 28 kHz para 30 s (intensidad de potencia $1.2 \times 10^{-7} \text{ W.m}^3$). Asimismo Tang *et al.* (2003, 2004) concluyeron que la disrupción en la funcionalidad e integridad de las estructuras celulares y subcelulares después del tratamiento con ultrasonido por 5 minutos reduce la tasa de crecimiento de *Spirulina platensis* a 38.9% del control.

III. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO (IMPORTANCIA, BENEFICIARIOS, RESULTADOS ESPERADOS)

Importancia:

La microalga *Spirulina* sp. es una cianofita filamentosa no diferenciada, habitante de cuerpos de agua alcalinos y que se cultiva para consumo humano debido a su valor nutritivo. De acuerdo a Ramírez y Olvera (2006) en los últimos años se le ha atribuido a la biomasa deshidratada diversos efectos beneficiosos en la alimentación y nutrición, que han determinado considerarlo un alimento “promotor de la salud” o “nutraceútico”. Debido a que posee alto contenido proteico (60 por ciento) con altos niveles de -caroteno, vitamina B₁₂, hierro, minerales traza y -linolénico, un ácido graso esencial normalmente escaso en los alimentos. Adicionalmente no tiene negativa cultural y religiosa para su consumo (Habib *et al.*, 2008).

De acuerdo a Madkour *et al.* (2012) normalmente la *Spirulina* se cultiva en aguas con alta concentración de bicarbonato (16.8 g/L). Vásquez-Villalobos *et al.* (2014) desarrollaron un medio de cultivo utilizando agua de mar, con una salinidad de 1.35% y 0.8 g/L de bicarbonato, habiendo obtenido elevada producción de biomasa de *Spirulina*. Estos aspectos son importantes debido que por un lado, se utiliza un recurso que es abundante el agua de mar (3.5% de salinidad) en reemplazo de agua dulce, un recurso que es escaso y por otro lado, utilizan un nivel bajo de bicarbonato.

Una propuesta tecnológica con posibilidades de desarrollo debe sustentarse en la economía del proceso y la aceptación de un producto. De acuerdo a los antecedentes, los métodos de secado tradicionales incurren en alto consumo de energía (secado convectivo, atomización, liofilización y secado por tambor) con elevado costo e inversión, lo que encarece la obtención de biomasa deshidratada de *Spirulina*. Un sistema de secado por Ventana Refractante es una alternativa debido a su alta eficiencia térmica y bajo costo de capital, faltando dilucidar el nivel de digestibilidad que se podría lograr de acuerdo a dos variables: cantidad de concentrado algal dosificado al secador por Ventana Refractante y el tiempo de secado y en este sentido se está planteando la presente investigación.

Beneficiarios:

Existe como antecedente la investigación de Belay (2002) respecto a la aplicación potencial de

Spirulina como complemento nutritivo y terapéutico. También se han realizado investigaciones médicas así como de la acción de los principales nutrientes en *Spirulina* (Grande *et al.*, 2009). Hug y von der Weid (2011) han reportado antecedentes de la utilización de la *Spirulina* en la lucha contra la desnutrición, realizando una revisión de los argumentos nutricionales, terapéuticos y estudios clínicos. Estos aspectos que caracterizan a la *Spirulina* son importantes y en este sentido se justifica realizar investigaciones que permitan obtener biomasa deshidratada con buena digestibilidad y tecnología sencilla, en favor del segmento de la población con problemas de nutrición.

Resultados esperados:

Obtener *Spirulina* deshidratada con secador por Ventana Refractante con humedad menor a 10% y digestibilidad no menor de 70%.

IV. OBJETIVOS

Objetivo general (propósito del proyecto)	Resultados finales	Medios de verificación
Evaluar el efecto de la cantidad de concentrado algal de <i>Spirulina</i> y tiempo de secado por Ventana Refractante en la humedad y digestibilidad proteica.	<i>Spirulina</i> deshidratada con una humedad menor a 10% y digestibilidad proteica no menor de 70%.	Análisis de la humedad la <i>Spirulina</i> deshidratada y de su digestibilidad proteica.
Objetivos específicos (componentes)	Resultados intermedios	Medios de verificación

- Deshidratar concentrado algal de <i>Spirulina</i> en secador por Ventana Refractante, variando la cantidad de concentrado y tiempo secado. - Evaluar la digestibilidad proteica de <i>Spirulina</i> deshidratada en secador por Ventana Refractante.	- Obtención de <i>Spirulina</i> deshidratada y determinación de su humedad. - Determinación de la digestibilidad proteica de <i>Spirulina</i> deshidratada en secador por Ventana Refractante.	- Análisis de humedad de la <i>Spirulina</i>. - Análisis de la digestibilidad proteica de <i>Spirulina</i>.
---	---	--

V. MARCO TEÓRICO

La *Spirulina* es un alga microscópica filamentosa multicelular azul-verdosa, perteneciente a dos géneros *Spirulina* y *Arthrospira* con más de 15 especies. De éstos, *Arthrospira platensis* es la que más publicaciones científicas tiene. Crece en el agua, y puede ser cosechada, procesada fácilmente y tiene significativamente altos contenidos de macro y micronutrientes (Habib *et al.*, 2008). Los referidos autores reportan que en muchos países de África, se utiliza como alimento humano como una importante fuente de proteína que se recoge del agua natural, para que después de un proceso de secado sea utilizada en la alimentación y asimismo, que en muchos países de Asia se utiliza como suplemento de proteína y alimento humano.

Se ha atribuido a la *Spirulina* efectos positivos en el tratamiento de algunos tipos de alergias, anemia, cáncer, enfermedades virales y cardiovasculares. Muchas de sus propiedades son consecuencia de la presencia de pigmentos como las ficobiliproteínas y los carotenoides, así como polisacáridos, ácidos grasos (destacando el ácido gama linoleico) proteínas, vitaminas y minerales (Ramírez-Moreno y Olvera-Ramírez, 2006).

Se ha reportado propiedades antidiabéticas de la *Spirulina* sp., aspecto que fue investigado con ensayos clínicos con un modelo animal (Layam y Kasi, 2007). En la referida investigación los niveles de glucosa en sangre, insulina en el plasma y péptido-C en el suero, actividad de la enzima hexoquinasa y glucosa 6-fosfato que metabolizan la glucosa, fueron estudiadas en ratas diabéticas. El efecto de la *Spirulina* sp. en una dosis de 15 mg/kg de peso corporal, proporcionó un mayor índice de significancia que una dosis 5 y 10 mg/kg de peso corporal. La actividad de hexoquinasa en el hígado disminuyó marcadamente, en tanto que la actividad de la glucosa-6 - fosfatasa incrementó significativamente en el control diabético.

Rodríguez y Triana (2006) mencionan que *Spirulina* sp. protege contra el desarrollo de alergias,

se ha demostrado en ratas que disminuye las reacciones anafilácticas. Bloquea la liberación de la histamina y el factor de necrosis tumoral (TNF- α) inducida por IgE. Asimismo que la *Spirulina* sp. incluida en la dieta de ratas a una concentración del 45% (equivalente al 22% de proteína) proporcionada sola o en combinación con gluten de trigo durante la primera semana de gestación y lactancia, aumenta el contenido de hierro y hemoglobina más que la caseína y gluten de trigo juntos. El estudio mostró un buen potencial hematológico de *Spirulina* sp. durante la gestación y lactancia. Por otro lado los mismos autores indican que la administración de *Spirulina* sp. aumentó en 10000 veces la actividad antitrombina del cofactor II de la heparina, e indujo eficientemente la producción de un activador de plasminógeno específico en tejidos a través de un proceso de translocación, cuyo mecanismo se desconoce (Chamorro *et al.*, 1996).

Dosis de 100 y 200 mg/kg de ficocianina C, obtenida de *Spirulina* sp. administrada oralmente a ratones, han reducido la inflamación de extremidades posteriores, producidas por glucosa oxidasa. Se ha encontrado que este pigmento disminuye significativamente edemas producidos por ácido araquidónico y acetato de 12-O-tetradecanoil forbol. Igualmente ha reducido, inflamaciones causadas por inoculación de carragenina en las extremidades posteriores de ratas y granulomas provocados por la implantación de algodón. También se ha encontrado que la ficocianina C inhibe significativamente edemas y leucotrieno TB4 inducidos por ácido araquidónico, así como tiene un efecto antiinflamatorio en colitis, originado en ratas con edemas (Romay, 1998).

Administración de *Spirulina* sp. en dosis de 800 mg/kg a ratones albinos Swiss, con acetato de plomo, aumenta su tiempo de supervivencia protegiéndolos del efecto del metal (Chamorro *et al.*, 2002). También se ha observado que en la intoxicación con este metal, el ácido 5-aminolevulínico genera radicales libres de oxígeno, que conducen a muerte celular y por otro lado disminuye la síntesis del DNA. Al ser la *Spirulina* sp. una fuente rica en antioxidantes y capaz de aumentar su síntesis, protege y evita el daño causado por este metal (Belay, 2002).

Se ha evaluado en ratas el efecto de la administración oral de *Spirulina* sp. durante 2 semanas, sobre las respuestas vasomotoras de anillos de aorta con y sin endotelio. *Spirulina* sp. mostró efecto sobre las respuestas vasomotoras dependientes del endotelio y disminuyó el tono vascular al incrementar la síntesis y liberación de óxido nítrico, así como de un eicosanoide vasodilatador dependiente de la ciclooxigenasa. Al disminuir la síntesis y liberación de un eicosanoide vasoconstrictor, se previenen los efectos vasomotores, causados por una dieta rica en fructosa, cuando fue administrada durante 6 semanas (Paredes *et al.*, 1998).

Se ha informado que el tratamiento de cultivos de macrófagos de pollo con un extracto de *Spirulina* sp. aumentó su capacidad fagocítica intrínseca, aunque no mejoró la de partículas opsonizadas. Además los macrófagos tratados produjeron una sustancia soluble capaz de matar células tumorales (Qureshi *et al.*, 1995).

La cosecha de *Spirulina* sp., procesamiento y embalaje tiene ocho etapas principales:

- Filtración y limpieza: a través de un filtro de nylon a la entrada de la pileta
- Pre-concentración: Para obtener biomasa algal, la cual se lava para reducir las sales
- Concentración: Para remover la mayor cantidad posible de agua intersticial situado entre los filamentos
- Neutralización: De la biomasa con la adición de solución ácida
- Desintegración: Rompimiento de los tricomas con un molinillo
- Deshidratación por atomización: esta operación tiene gran importancia económica ya que se trata de acerca de 20 a 30 por ciento de los costos de producción
- Embalaje: Generalmente, en bolsas de plástico selladas, para evitar absorción de humedad por el efecto higroscópico de la *Spirulina* sp. seca; y
- Almacenamiento: En fresco, seco, en oscuridad, libres de plagas e higiénico, para evitar el deterioro de los pigmentos de la *Spirulina* sp.

La digestibilidad es uno de los indicadores más utilizados para determinar la calidad de las proteínas debido a que no todas son digeridas, absorbidas y utilizadas en la misma medida. Las diferencias en digestibilidad pueden deberse a factores inherentes a la naturaleza de las proteínas alimentarias, a la presencia de componentes no proteicos con influencia en la digestión (fibra de la dieta, taninos, fitatos), a la presencia de factores antifisiológicos o a las condiciones de elaboración que pueden interferir en los procesos enzimáticos de liberación de los aminoácidos (Church y Pond, 1990). La digestibilidad proteica se puede determinar por varios métodos, entre ellos, la digestibilidad *in vivo*, ya sea aparente o verdadera, directa o indirecta, y la digestibilidad *in vitro* utilizando enzimas (FAO/OMS, 1992).

Hsu *et al.* (1977), Arteaga y Bertorelli (1989) sostienen que la calidad nutritiva de las proteínas puede valorarse por métodos biológicos químicos o enzimáticos. Los métodos biológicos se basan en la ganancia de peso o retención de nitrógeno en ensayos con animales experimentales alimentados con dietas que contengan la proteína a analizar; estos métodos generalmente son caros y conllevan a largas jornadas de trabajo (Cerón, 2006). En los métodos químicos, se calcula el valor nutritivo de la proteína al determinar su contenido de aminoácidos y comparando su riqueza en aminoácidos esenciales con los de una proteína patrón ideal, generalmente se utiliza el patrón dado por la FAO (Fennema, 2000; Abdel, 2002). Los métodos enzimáticos se basan en crear un medio muy similar al del organismo, digiriéndose las proteínas con enzimas como la pepsina y la pancreatina o con una mezcla de tripsina, quimotripsina y peptidasa intestinal porcina. Estos métodos tienen la ventaja de determinar la calidad de la proteína en alimentos que

han sido sometidos a algún proceso y son relativamente menos costosos que los métodos biológicos. Se ha demostrado que los métodos *in vitro* e *in vivo* tienen una correlación entre 0.90 y 0.99, por lo que se recomienda utilizar los métodos *in vitro* en estudios nutricionales (Hsu *et al.*, 1977; Arteaga y Bertorelli, 1989).

Una nueva y novedosa tecnología de deshidratación es la Ventana Refractante (VR) (*Refractance Window*TM), que ofrece una operación relativamente de bajo costo con excelente retención de color, sabor y nutrientes de los alimentos. Esta tecnología puede aplicarse a la evaporación y secado para obtener polvo. El secreto es su capacidad para crear una "ventana" para el paso de energía infrarroja utilizada para el secado, que opera a temperaturas relativamente bajas. Agua caliente proporciona el medio de calefacción utilizando la transferencia de calor mediante radiación. Otro atributo único es su capacidad para autoregularse minimizando el daño por calor (Clarke, 2004).

La Ventana Refractante permite convertir los alimentos líquidos y otros biomateriales en polvo, hojas u hojuelas con valor agregado. En este sistema, purés o jugos preparados a partir de frutas, verduras o hierbas son secadas en corto tiempos, normalmente de 3 - 5 min, resultando en productos con excelente retención de color, vitaminas y antioxidantes. El sistema de Ventana Refractante es relativamente simple y barato comparada con la liofilización, que normalmente necesita grandes instalaciones para ser económica. En la Ventana Refractante la energía térmica es transferida del agua caliente a una película de puré o jugo, extendida finamente en una banda transportadora de plástico. Estos sistemas de secado funcionan a presión atmosférica y se utilizan para la producción comercial de la mezcla de huevos revueltos, aguacate en polvo, algas con alto contenido de carotenoides, extractos de hierbas y suplementos para nutrición humana e ingredientes alimenticios, así como frutos secos y verduras (Nindo y Tang, 2007).

VI. HIPÓTESIS

20 g de concentrado algal de *Spirulina* y 12.5 minutos de tiempo de secado por Ventana Refractante permitirá obtener una humedad de 5% y 70% de digestibilidad proteica.

VII. METODOLOGÍA

La secuencia experimental a desarrollar se muestra en la Figura 1, donde la biomasa húmeda cosechada del fotobiorreactor, será deshidratada en secador por Ventana Refractante, controlándose la temperatura del secador que no sobrepase de 97 °C y se dosificará una cantidad de concentrado algal entre 10 a 30 g, deshidratándose en tiempos de 5 a 20 min de acuerdo a un Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) (Tabla 1), en el que las variables independientes serán: X_1 , cantidad de biomasa húmeda y X_2 , tiempo de secado y las variables dependientes: Y_1 , humedad de la *Spirulina* deshidratada e Y_2 , digestibilidad proteica.

Con los valores de la Tabla 1 se establecerá una matriz de desarrollo experimental con cuatro (04) puntos axiales, cuatro (04) repeticiones en el punto central, totalizando doce (12) ensayos con (02) las variables dependientes: Y_1 e Y_2 (Tabla 2).

Con los valores experimentales obtenidos en la Tabla 2, se obtendrán los coeficientes de regresión de un modelo matemático de 2° orden de acuerdo a:

$$(1) \quad Y = 0 + {}_1X_1 + {}_2X_2 + {}_{11}X_1^2 + {}_{22}X_2^2 + {}_{12}X_1X_2$$

Dónde:

$0, {}_1, {}_2, {}_{11}, {}_{22}, {}_{12}$: coeficientes de regresión

X_1, X_2 : variables independientes

Y : variable dependiente que puede tomar valores de Y_1 e

El diagrama de proceso para la obtención de biomasa de *Spirulina* se muestra en la Figura 2. Donde un 250 mL de inóculo de *Spirulina* sp. en estado de crecimiento logarítmico y mantenido en medio líquido estándar Zarrouck (g/L: K_2HPO_4 : 0.5; Fe_2SO_4 : 0.01; $NaNO_3$: 2.5; $NaHCO_3$: 16.8; K_2SO_4 : 1.0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.2; $CaCl_2$: 0.04; EDTA: 0.08; $NaCl$: 1.0; H_3BO_3 : 2.86; $MnCl_2$: 1.81; $ZnSO_4$: 0.222; Na_2MoO_4 : 0.01777; $CuSO_4$: 0.079) será vertido en el fotobiorreactor de 2.5 L en el cual previamente deberá de prepararse con el medio de cultivo de acuerdo a la Tabla 3.

El fotobiorreactor será iluminado con luz LED y agitado con burbujeo de aire. Se realizará controles de crecimiento empleando cámara Neubauer. Al llegar al crecimiento máximo la biomasa será cosechada por filtración, luego esta será sometida a una operación de sonicación por 20 minutos y colocado en el secador por Ventana Refractante de acuerdo al procedimiento experimental.

Análisis estadístico

Se determinará la significancia estadística de los resultados experimentales y en segundo lugar la significancia estadística de las variables en el contexto lineal, cuadrático o de su interacción (ecuación 1) que permita ajustar el modelo, posibilitando elaborar la Superficie de Respuesta y Superficie de Contornos, ubicando la región de optimización.

Análisis fisicoquímicos

Determinación de la humedad inicial del concentrado de *Spirulina*, determinación de humedad la

Spirulina deshidratada por Ventana Refractante y análisis proximal de polvo deshidratado de *Spirulina*: proteínas, grasa, fibra y cenizas (AOAC, 2000).

Análisis biológicos

Digestibilidad proteica (digestibilidad a la pepsina) in vitro de las muestras de *Spirulina* deshidratadas en secador con Ventana Refractante (AOAC, 1998). El método se basa en crear un medio muy similar al del organismo humano, para que mediante la capacidad que tienen las enzimas digestivas se degraden las proteínas y con ello se pueda determinar la digestibilidad, es decir la cantidad absorbida del alimento. Para lo cual se debe utilizar dos soluciones enzimáticas, una solución A: tripsina, quimotripsina y pepetidasa y una solución B: proteasa. Asimismo se usa como control caseína. Las muestras deben ser incubadas y finalmente se mide el pH del hidrolizado enzimático. La muestra a analizar es de 0.7259 g finamente molida. La digestibilidad de la proteína in vitro de la muestra se calcula por medio de:

$$\% \text{ de digestibilidad} = 234.84 - 22.56(x)$$

Dónde:

x: lectura de pH, que se obtiene después de 20 minutos de incubación.

Nota: Las muestras deshidratadas serán envasadas y enviadas a los laboratorios de CERPER-Certificaciones del Perú S. A. debido a la falta de disponibilidad de equipos en el laboratorio de Industrias Alimentarias: Limitación para el uso de estufa para estimación de humedad y de uso restrictivo porque son utilizadas por los alumnos en sus tesis y prácticas de laboratorio. Carencia de equipo extractor para la operación de kjeldahl para determinación de nitrógeno, así como la complejidad del uso de reactivos de uso controlado.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis. 17ªed. Gaithersburg, USA.

Abdel, H. (2002). Aminoacid composition and in vitro protein digestibility of selected ancient wheats and their end products. J. Food Comp. Anal., 15, 737-747.

Abonyi, B. I., Feng, H., Tang, J., Edwards, C. G., Chew, B. P., & Mattinson, D. S. (2002). Quality retention in strawberry and carrot purees dried with Refractance Window™ system. Journal of Food Science, 67(2), 1051-1056.

Arteaga, J., & Bertorelli, L. O. (1989). Evaluación nutricional de la proteína del grano de seis cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). Rev. Fac. Agron. (Maracay), 15, 213-224.

Becker, E. W. (1978). Major results of the Indo-German Algal Project. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol., 11, 23-40.

Becker, E. W., & Venkataraman, L. V. (1982). Biotechnology and exploitation of Algae – The Indian Approach. German Agency for Technical Cooperation (GTZ). Eschborn, Germany.

Belay, A. (2002). The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. The Journal of the American Nutraceutical Association, 5(2), 27-48.

Cerón, A. (2006). Determinación de digestibilidad in vitro de la proteína, contenido de fitatos y lisina disponible en variedades criollas de maíz del estado de Hidalgo. Tesis para obtener el título de Licenciada en Nutrición. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Méjico.

Clarke, P. T. (2004). Refractance WindowTM - “down under”. *Drying 2004* – Proceedings of the 14th International Drying Symposium (IDS 2004). São Paulo, Brazil.

Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., y Bourges, H. (1996). Farmacología y toxicología del alga *Spirulina* sp. Inv. Clín., 48, 389-399.

Chamorro, G.; Salazar, M.; Araujo, K.G.; Pereira, C. y Ceballos, G. (2002). Actualización en la farmacología de *Spirulina* (*Arthrospira*), un alimento no convencional. ALAN, 52(3), 720-741.

Church, D. C., y Pond, W. G. (1990). Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Limusa. México.

FAO/OMS (Food and Agriculture Organization/Organización Mundial de Salud) (1992). Informe de una consulta de expertos. Evaluación de la calidad de las proteínas FAO. EE.UU.

Fennema, O. R. (2000). Química de alimentos. Acribia. Zaragoza. España.

Granda, T., Capelli, B., & Cysewski, G. R. (2009). The Medical Research of *Spirulina*. Cyanotech Corporation.

Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034. Rome.

Hsu, H. W., Vawak, D. L., Satterlee, L. D., & Miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J. Food Sci., 42(5), 1269-1263.

Hug, C.; & von der Weid, D. (2011). *Spirulina* in the fight against malnutrition. Assessment and prospects. Antenna Research for progress.

Layam, A., & Kasi, Ch. (2007). Antidiabetic property of *Spirulina*. Diabetología Croática, 35(2), 29-33.

Lee, L., Nakano, K., & Matsumara, M. (2001). Ultrasonic irradiation for blue-green algae bloom control. Environ. Technol., 22, 383–390.

Mohn, F. H., & Soeder, C. J. (1978). Improved technologies for harvesting and processing of microalgae and their impact on production costs. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol., 11, 228–253.

Nindo, C. I.; & Tang, J. (2007). Refractance window dehydration technology: a novel contact drying method. Drying Technology, 25(1), 37-48.

Nindo, C. I., Sun, T., Wang, S. W., Tang, J., & Powers, J. R. (2003). Evaluation of drying technologies for retention of physical quality and antioxidants in asparagus (*Asparagus officinalis* L.). LWT - Food Science and Technology, 36(5), 507-516.

Ochoa-Martínez, C. I., Quintero, P. T., Ayala, A. A., & Ortiz, M. J. (2012). Drying characteristics of mango slices using the Refractance Window™ technique. Journal of Food Engineering, 109, 69–75.

Pavan, M. A., Schmidt, S. J., & Feng H. (2012). Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, Refractance Window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea* Martius) juice. LWT - Food Science and Technology, 48, 75-81.

Ramírez-Moreno, L., y Olvera-Ramírez, R. (2006). Uso tradicional y actual de la *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). Interciencia, 31(9), 657-663.

Qureshi, M.A., Kidd, M.T., & Ali, R.A. (1995). *Spirulina platensis* extract enhances chicken macrophage functions after in vitro exposure. J. Nutri. Immunol., 3, 35-45.

Rodríguez, A., & Triana, F. (2006). Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. (= *Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio. Tesis Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Soeder, C.J., & Pabst, W., (1975). Production, properties, preclinical and clinical testing of *Scenedesmus* 276–3a. In: The PAG Compendium. World Mark Press Ltd., New York, C-2, 2113.

Show, K. Y., Lee, D. J., & Chang, J. S. (2013). Algal biomass dehydration. Bioresource Technology, 135, 720-729.

Romay, C., Ledón, N., & Gonzales, R. (1998). Further studies on anti-inflammatory activity of

phycocyanin in some animal models of inflammation. *Inflamm. Res.*, 47, 334-339.

Tang, J.W., Wu, Q.Y., Hao, H.W., Chen, Y.F., & Wu, M.S. (2003). Growth inhibition of the cyanobacterium *Spirulina (Arthrospira) platensis* by 1.7 MHz ultrasonic irradiation. *J. Appl. Phycol.*, 15, 37-43.

Tang, J. W., Wu, Q. Y., Hao, H. W., Chen, Y. F., & Wu, M. S. (2004). Effect of 1.7 MHz ultrasound on a gas-vacuolate cyanobacterium and a gas-vacuole negative cyanobacterium. *Colloids Surf, B36*, 115-121.

Vásquez-Villalobos, V., Vergaray, D., Suarez, S., Valladares, J., Zamora, A., Gaspar, K., & Escurra, Z. (2014). Proportional influence of sea water and bicarbonate on the production of *Spirulina* sp. biomass with light-emitting diode lighting. *Scientia Agropecuaria*, 5, 199-209.

Viswanathan, T., Mani, S., Das, K. C., Chinnasamy, C., Bhatnagar, A., Singh, R. K., & Singh, M. (2012). Effect of cell rupturing methods on the drying characteristics and lipid compositions of microalgae. *Bioresource Technology*, 126, 131–136.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	INICIO	FIN
Adquisición de reactivos	01/04/2016	29/04/2016
Instalación y ajuste del sistema VR	01/04/2016	30/04/2016
Realización de pruebas preliminares	01/05/2016	31/05/2016
Cultivo de Spirulina sp.	01/06/2016	31/07/2016
Obtención de biomasa deshidratada	01/06/2016	31/08/2016
Análisis fisicoquímicos y biológicos	01/09/2016	31/10/2016
Informe Parcial del Proyecto	30/09/2016	08/10/2016
Obtención de resultados	01/11/2016	31/12/2016
Tratamientos de datos	01/01/2017	28/02/2017
Redacción de informe final	01/03/2017	27/03/2017
Informe Final del Proyecto	28/03/2017	30/03/2017

PRESUPUESTO			
DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	PRECIO PARCIAL
TESISTA	5 UNI	500	2500
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	150	150
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	170	170
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	120	120
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	220	220
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	450	450
PASAJES	1 UNI	300	300
ALIMENTACION	1 UNI	70	70
Análisis en Laboratorio Externo	3 P01	53.70	161.10
Análisis en Laboratorio Externo	3 P01	287.60	862.80
Análisis en Laboratorio Externo	3 P01	38.40	115.20
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	350	350
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	190	190
Análisis en Laboratorio Externo	39 P01	107.40	4188.60
PASAJES	4 UNI	40	160
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	170	340
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	120	120
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	150	150
OTROS	1 UNI	500	500
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	250	250
Análisis en Laboratorio Externo	3 P01	38.40	115.20
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	190	190
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	240	240
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	170	170
Análisis en Laboratorio Externo	39 P01	38.40	1497.60
Difusión	1 UNI	500	500
Total 14080.50			