



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN  
CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA  
SUSTENTABLE

**OBTENCIÓN DE UNA PROTEÍNA AISLADO DE  
ESPIRULINA (*Arthrospira maxima*) Y SU APLICACIÓN  
EN PRODUCTOS CÁRNICOS**

MARIANA INÉS ACATECA HERNÁNDEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO

2023

La presente tesis, titulada “**Obtención de una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) y su aplicación en productos cárnicos**”, realizada por la alumna: Mariana Inés Acateca Hernández, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERA Y DIRECTORA DE TESIS:



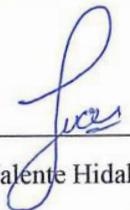
Dra. María Antonieta Ríos Corripio

ASESORA:



Dra. Aleida Selene Hernández Cázares

ASESOR:



Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras

ASESORA:



Dra. María Teresa Jiménez Munguía

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, Junio de 2023.

# OBTENCIÓN DE UNA PROTEÍNA AISLADO DE ESPIRULINA (*Arthrospira maxima*) Y SU APLICACIÓN EN PRODUCTOS CÁRNICOS

Mariana Inés Acateca Hernández, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2023.

## RESUMEN

La espirulina (*Arthrospira maxima*) es una microalga fotosintética que produce una biomasa con alto contenido de proteínas (50-60%) y valor nutricional, con proporciones de aminoácidos esenciales que representan el 47% del contenido total de proteína. Estas características reflejan su potencial para la obtención de una proteína aislado para su uso en la industria alimentaria con fines funcionales. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue obtener una proteína aislado de espirulina (SpPI) mediante el método de solubilización y precipitación isoeléctrica, evaluar sus propiedades funcionales para su inclusión en un embutido cárnico. El método de solubilización alcalina (pH 11) y precipitación isoeléctrica (pH 4.2) utilizado permitió obtener una SpPI con un contenido de proteína del 77.58%, lo cual representa un incremento del 16.63% en comparación con la biomasa en polvo de espirulina (SpPb) con un contenido de proteína del 60.96%. La extracción de proteínas resultó en mejoras significativas ( $p < 0.05$ ) en las propiedades de solubilidad de proteínas (PS), capacidad emulsionante (EC) y espumante (FC) de SpPI en comparación con SpPb y la proteína aislado de soja (SPI) utilizada como control. La inclusión parcial de SpPI en la formulación de un embutido cárnico se realizó a diferentes concentraciones: T1 (15% SpPI, 85% SPI), T2 (10% SpPI, 90% SPI), T3 (5% SpPI, 95% SPI) y T4 (0% SpPI, 100% SPI), como control. Efectos significativos ( $p < 0.05$ ) en los parámetros de color ( $L^*$  y  $a^*$ ), contenido de proteínas y carbohidratos de los embutidos cárnicos fueron observados. El contenido de proteína más bajo ( $p < 0.05$ ) fue observado en T1; sin embargo, mostró mayor contenido de aminoácidos totales, esenciales y no esenciales en comparación con T4 ( $p < 0.05$ ). Estos resultados demuestran el potencial que tienen las propiedades funcionales de SpPI para ser incorporado en la formulación de un embutido cárnico, mejorar su calidad nutrimental, sin afectar sus atributos de textura.

### Palabras clave

*Arthrospira maxima*, proteína aislado, propiedades funcionales, embutido cárnico.

# **OBTAINING A PROTEIN ISOLATE FROM SPIRULINA (*Arthrospira maxima*) AND ITS APPLICATION IN MEAT PRODUCTS**

Mariana Inés Acateca Hernández, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2023.

## **ABSTRACT**

*Spirulina (Arthrospira maxima)* is a photosynthetic microalgae that produces a biomass with a high protein content (50-60%) and nutritional value, with proportions of essential amino acids representing 47% of the total protein content. These characteristics reflect its potential for obtaining an isolated protein for use in the food industry for functional purposes. Therefore, the objective of this research was to obtain a spirulina isolated protein (SpPI) by means of the solubilization and isoelectric precipitation method, to evaluate its functional properties for its inclusion in a meat sausage. The alkaline solubilization (pH 11) and isoelectric precipitation (pH 4.2) method used allowed obtaining a SpPI with a protein content of 77.58%, which represents an increase of 16.63% compared to the biomass in spirulina powder (SpPb). with a protein content of 60.96%. Protein extraction resulted in significant improvements ( $p < 0.05$ ) in the protein solubility (PS), emulsifying (EC) and foaming (FC) properties of SpPI compared to SpPb and the soy protein isolate (SPI) used. as control. The partial inclusion of SpPI in the formulation of a meat sausage was carried out at different concentrations: T1 (15% SpPI, 85% SPI), T2 (10% SpPI, 90% SPI), T3 (5% SpPI, 95% SPI). and T4 (0% SpPI, 100% SPI), as a control. Significant effects ( $p < 0.05$ ) on the color parameters ( $L^*$  and  $a^*$ ), protein and carbohydrate content of the meat sausages were observed. The lowest protein content ( $p < 0.05$ ) was observed in T1; however, it showed a higher content of total, essential and non-essential amino acids compared to T4 ( $p < 0.05$ ). These results demonstrate the potential of the functional properties of SpPI to be incorporated into the formulation of a meat sausage, improve its nutritional quality, without affecting its textural attributes.

## **Keywords**

*Arthrospira maxima*, protein isolate, functional properties, meat sausage.

## **DEDICATORIA**

*A mis padres,*

*Con inmenso amor y gratitud.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)**, quien otorgó la beca y financiamiento para la presente investigación.

Al **Colegio de Postgraduados (CP)** Campus Córdoba, por las facilidades otorgadas durante la estancia en el Programa de Postgrado en Innovación Agroalimentaria Sustentable.

A mi apreciable Consejo Particular, por su disponibilidad y orientación a lo largo de este proyecto. Sus conocimientos, aportaciones y sugerencias han contribuido al éxito del presente proyecto:

Dra. María Antonieta Ríos Corripio

Dra. Aleida Selene Hernández Cázares

Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras

Dra. María Teresa Jiménez Munguía

## CONTENIDO

PORTADA .....	1
HOJA DE FIRMAS .....	iii
RESUMEN .....	iv
ABSTRACT .....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTOS .....	vii
CONTENIDO .....	viii
LISTA DE CUADROS .....	xii
LISTA DE FIGURAS .....	xiii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
2. HIPÓTESIS .....	3
3. OBJETIVOS .....	3
3.2 Particulares .....	3
4. INNOVACIÓN .....	4
5. SUSTENTABILIDAD .....	5
6. SEGURIDAD ALIMENTARIA .....	6
7. MARCO TEÓRICO .....	7
7.1 Proteínas .....	7
7.1.1 Clasificación de las proteínas .....	8
7.1.1.1 Forma estructural .....	8
7.1.1.2 Forma molecular .....	8
7.1.2 Importancia de las proteínas .....	9
7.2 Proteína aislado .....	10
7.2.1 Métodos de extracción .....	10
7.2.1.1 Campos eléctricos pulsados .....	10
7.2.1.2 Ultrasonidos .....	12
7.2.1.3 Extracción asistida por microondas .....	13
7.2.1.4 Solubilización alcalina y precipitación isoelectrica .....	14
7.2.1.5 Hidrólisis enzimática .....	14
7.2.1.6 Micelización .....	15

7.2.2 Propiedades funcionales de la proteína aislado .....	16
7.2.2.1 Solubilidad de proteínas (PS) .....	17
7.2.2.2 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad de la emulsión (ES) .....	18
7.2.2.3 Capacidad de absorción de agua (WAC) .....	20
7.2.2.4 Capacidad de absorción de aceite (OAC) .....	21
7.2.2.5 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma (FS) .....	21
7.3 Fuentes de obtención de proteínas .....	23
7.3.1 Microalgas.....	24
7.4 Espirulina ( <i>Arthrospira maxima</i> ) .....	24
7.4.1 Composición bioquímica .....	25
7.4.1.1 Contenido de proteínas.....	25
7.4.1.2 Perfil de aminoácidos .....	27
7.5 Aplicaciones de las microalgas en alimentos .....	28
7.6 Carne .....	30
7.6.1 Productos cárnicos.....	30
7.6.1.1 Embutido cárnico tipo salchicha.....	32
7.6.1.2 Aplicación de algas y microalgas en productos cárnicos.....	34
8. LITERATURA CITADA .....	36
CAPÍTULO I.....	47
OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE ESPIRULINA ( <i>Arthrospira maxima</i> ) CULTIVADA EN ZONA TROPICAL.....	47
1.1 RESUMEN .....	47
1.2 INTRODUCCIÓN .....	47
1.3 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO .....	48
1.3.1 Producción de espirulina.....	48
1.3.2 Obtención del aislado proteico de <i>Arthrospira maxima</i> .....	49
1.3.3 Caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico.....	49
1.3.4 Caracterización estructural de la espirulina en polvo y el aislado proteico.....	49
1.4 RESULTADOS .....	50
1.4.1 Producción de espirulina.....	50
1.4.2 Obtención del aislado proteico de espirulina.....	50

1.4.4 Caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico .....	51
1.4.5 Caracterización estructural de la espirulina en polvo y el aislado proteico por FTIR.....	53
1.5 CONCLUSIONES .....	54
1.6 RECOMENDACIONES.....	54
1.7 LITERATURA CITADA .....	54
CAPÍTULO II .....	57
EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE UNA PROTEÍNA AISLADO DE ESPIRULINA ( <i>Arthrospira maxima</i> ) Y SU APLICACIÓN EN UN EMBUTIDO CÁRNICO.....	57
2.1 RESUMEN .....	57
2.2 INTRODUCCIÓN .....	58
2.3 MATERIALES Y MÉTODOS .....	58
2.3.1 Obtención de la proteína aislado de espirulina ( <i>Arthrospira maxima</i> ) .....	59
2.3.1.1 Rendimiento.....	59
2.3.1.2 Composición proximal.....	59
2.3.1.3 Caracterización estructural.....	60
2.3.1.4 Perfil de aminoácidos.....	60
2.3.2 Propiedades funcionales.....	60
2.3.2.1 Solubilidad de proteínas (PS) .....	60
2.3.2.2 Capacidad de absorción de agua (WAC) .....	61
2.3.2.3 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad emulsionante (ES) .....	61
2.3.2.4 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma (FS).....	62
2.3.2.5 Capacidad de absorción de aceite (OAC) .....	62
2.3.3 Obtención del embutido cárnico.....	62
2.3.3.1 Estabilidad de la emulsión (ES) de las pastas cárnicas .....	63
2.3.3.2 Capacidad de absorción de agua (WAC) de las pastas cárnicas.....	63
2.3.3.3 Caracterización fisicoquímica del embutido cárnico .....	63
2.3.3.4 Caracterización proximal del embutido cárnico .....	64
2.3.3.5 Análisis de perfil de textura (TPA) y fuerza de corte .....	64
2.3.3.6 Perfil de aminoácidos de los tratamientos T1 y T4 de los embutidos cárnicos	

.....	65
2.3.4 Análisis estadístico .....	65
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
2.4.1 Obtención de la biomasa en polvo de espirulina y de la proteína aislado .....	65
2.4.1.1 Composición proximal.....	66
2.4.1.2 Caracterización estructural.....	66
2.4.1.3 Perfil de aminoácidos .....	67
2.4.1.4 Propiedades funcionales.....	69
2.4.2 Caracterización de las pastas y del embutido cárnico .....	74
2.5 CONCLUSIONES .....	79
2.6 LITERATURA CITADA .....	80
CONCLUSIONES GENERALES.....	83
RECOMENDACIONES GENERALES .....	83
ANEXOS.....	84

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Clasificación de los aminoácidos.....	8
<b>Cuadro 2.</b> Valores proteicos de espirulina ( <i>Arthrospira maxima</i> ) comparada con una proteína. ....	26
<b>Cuadro 3.</b> Perfil de aminoácidos de la biomasa de espirulina ( <i>Arthrospira maxima</i> ) .....	27
<b>Cuadro 4.</b> Innovaciones en el desarrollo de nuevos productos alimenticios que incorporan biomasa de microalgas en diferentes concentraciones. ....	29
<b>Cuadro 5.</b> Aplicación de algas y microalgas en el desarrollo de productos cárnicos. ....	35
<b>Cuadro 1-1.</b> Caracterización fisicoquímica de la espirulina en polvo y del Aislado proteico de <i>Arthrospira maxima</i> .....	52
<b>Cuadro 2-1.</b> Composición proximal de biomasa en polvo de espirulina (SpPb) y de proteína aislado de espirulina (SpPI).....	66
<b>Cuadro 2-2.</b> Perfil de aminoácidos de la biomasa en polvo de espirulina (SpPb) en comparación con la proteína aislado de espirulina (SpPI) y de soya (SPI).....	68
<b>Cuadro 2-3.</b> Propiedades funcionales de la biomasa en polvo de espirulina (SpPb), proteína aislado de espirulina (SpPI) y proteína aislado de soya (SPI) en función del pH.....	70
<b>Cuadro 2-4.</b> Estabilidad de la emulsión (ES) de las pastas cárnicas formuladas con la inclusión de SpPI al 15, 10 y 5%, y pasta cárnica control (100% SPI). ....	74
<b>Cuadro 2-5.</b> Caracterización fisicoquímica, proximal, análisis de perfil de textura y fuerza de corte de embutidos cárnicos con la inclusión de SpPI al 15, 10 y 5%, y embutido cárnico control (100% SPI). ....	75
<b>Cuadro 2-6.</b> Composición de aminoácidos (g /100 g) de los embutidos cárnicos con 15% SpPI, 85% SPI (T1) y 100% SPI (T4) .....	78

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representación de la composición de un aminoácido.....	7
<b>Figura 2.</b> Representación esquemática de células expuestas a campos eléctricos pulsados. ....	11
<b>Figura 3.</b> Mecanismo del fenómeno de cavitación de burbujas.....	12
<b>Figura 4.</b> Representación esquemática del mecanismo del proceso de micelización. ....	16
<b>Figura 5.</b> Principales mecanismos implicados en la desestabilización de la emulsión. ....	19
<b>Figura 6.</b> Un diseño esquemático de la estructura general de espumas típicas en alimentos. ....	22
<b>Figura 7.</b> Micrografía de la microalga espirulina ( <i>Arthrospira maxima</i> ), Ampliación 100x. ....	25
<b>Figura 8.</b> Un diseño esquemático de la estructura general de los ficobilisomas. ....	26
<b>Figura 9.</b> Alimentos que contienen biomasa de microalgas. ....	28
<b>Figura 10.</b> Ejemplo de la estructura física de la matriz de emulsión en salchichas. ....	33
<b>Figura 11.</b> Apariencia visual de salchichas Frankfurt. <b>a.</b> Salchichas preparadas con proteína <i>Chlorella</i> ; <b>b.</b> salchichas preparadas con proteína de espirulina; <b>c.</b> Salchichas preparadas con proteína <i>Chlorella</i> blanca y <b>d.</b> Salchichas preparadas con proteína <i>Chlorella</i> miel .....	34
<b>Figura 1-1.</b> a) Cultivos de espirulina ( <i>A. maxima</i> ) que se encuentran en el área experimental del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México b) proceso de cosecha de espirulina ( <i>A. maxima</i> ).....	50
<b>Figura 1-2.</b> Imágenes de a) espirulina ( <i>A. maxima</i> ) en polvo y b) aislado proteico de espirulina ( <i>A. maxima</i> ).....	51
<b>Figura 1-3.</b> Espectros FTIR de espirulina en polvo y aislado proteico de espirulina ( <i>Arthrospira maxima</i> ) en la región de 2000 a 700 cm <sup>-1</sup> .....	53
<b>Figura 2-1.</b> Espectros FTIR; a) biomasa en polvo de espirulina (SpPb), b) proteína aislado de espirulina (SpPI) y c) proteína aislado de soya (SPI) en la región de 2000-700 cm <sup>-1</sup> .....	67
<b>Figura 2-2.</b> Estabilidad de la espuma (FS) de biomasa en polvo de espirulina (SpPb), proteína aislado de espirulina (SpPI) y proteína aislado de soya (SPI). <sup>abcd</sup> , Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).....	72
<b>Figura 2-3.</b> Capacidad de absorción de aceite (OAC); ▲ biomasa en polvo de espirulina (SpPb), ● proteína aislado de espirulina (SpPI) y ■ proteína aislado de soya (SPI) en el rango de 0.4 a 10.0% de muestra. <sup>abcd</sup> , Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).....	73
<b>Figura 2-4.</b> Aspecto visual de los embutidos cárnicos formulados <b>a.</b> T1 (15% SpPI, 85% SPI), <b>b.</b> T2 (10% SpPI, 90% SPI), <b>c.</b> T3 (5% SpPI, 95% SPI), <b>d.</b> T4 (0% SpPI, 100% SPI). SpPI: proteína aislado de espirulina; SPI: proteína aislado de soya.....	76

# OBTENCIÓN DE UNA PROTEÍNA AISLADO DE ESPIRULINA (*Arthrospira maxima*) Y SU APLICACIÓN EN PRODUCTOS CÁRNICOS

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

### Planteamiento del problema

Debido a que la población mundial se encuentra en constante aumento, para el año 2050 se espera que alcance los 10,000 millones de personas, lo que significa una mayor demanda de alimentos principalmente de proteínas de origen animal (Nadathur et al., 2017). La producción de proteína de origen animal conlleva un severo impacto ambiental, por lo que es necesario explorar nuevas fuentes alternativas y sostenibles de proteínas para la alimentación humana. Se están estudiando y evaluando diversas fuentes de proteínas vegetales, incluidas las proteínas de insectos, microorganismos, hongos, algas y microalgas (Fasolin et al., 2019). El potencial de las microalgas como fuente prometedora de proteínas se centra en su rápida tasa de crecimiento y producción, así como en su capacidad de crecer en espacios reducidos y agua salada. Además, las microalgas no compiten con los cultivos de la agricultura convencional por el uso de tierra y agua. Esto ha permitido una producción de proteína más sostenible y amigable con el ambiente convirtiéndolas en el candidato perfecto para satisfacer la demanda de proteínas con menor impacto ambiental y mayores beneficios a la salud (De Mendonça et al., 2021; Geada et al., 2017).

La espirulina (*Arthrospira maxima*) es una microalga fotosintética que hace uso de la energía solar para producir una biomasa de alta calidad nutritiva debido a que sus proteínas generadas (50 al 60% en peso seco) mantienen una composición de aminoácidos completa con un buen índice de digestibilidad (Wu, 2009). Este aspecto refleja su alto potencial para la obtención de una proteína aislado como posible ingrediente funcional en la industria alimentaria (Benelhadj et al., 2023). La inclusión de la proteína aislado en la formulación de productos cárnicos como retenedor sirve para emulsionar, dar textura e incrementar rendimientos (Bošković et al., 2023; Marti-Quijal et al., 2019). Sin embargo, el conocimiento de las propiedades funcionales de la proteína aislado de espirulina permite explorar nuevas aplicaciones en la industria cárnica como ingrediente funcional, con la finalidad de mejorar la calidad nutricional y desarrollar nuevos productos cárnicos saludables.

La producción de proteínas sostenibles se ha convertido en un tema de importancia en el contexto de los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) establecidos por la ONU. En este sentido, la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) surge como una alternativa prometedora que puede promover el alcance de varios ODS, de manera simultánea. El objetivo 2 “hambre cero”, se ve respaldado al proporcionar una fuente de proteínas, que puede contribuir a mejorar la seguridad alimentaria y promover una agricultura sostenible. Además, la producción de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) se alinea con los objetivos 12 “producción y consumo sostenible” y 13 “acción con el clima” (ODS, de la Agenda, 2030) que buscan promover prácticas sostenibles en la producción y consumo de alimentos, teniendo en cuenta la protección del ambiente, eficiencia de recursos naturales, reducción de residuos y emisiones de gases de efecto invernadero (ONU, 2015).

En consecuencia, utilizar tecnologías sostenibles para producir proteínas, no sólo contribuye a la sustentabilidad del planeta, sino que también tiene el potencial de satisfacer las necesidades nutricionales. En este contexto, es fundamental continuar investigando y promoviendo el uso de ingredientes funcionales para impulsar la transformación hacia sistemas alimentarios más sostenibles, promover el bienestar humano y ambiental. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue obtener una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) mediante el método de solubilización y precipitación isoeléctrica, evaluar sus propiedades funcionales para su inclusión en un embutido cárnico.

## **2. HIPÓTESIS**

La proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) obtenida mediante el método de solubilización alcalina y precipitación isoelectrica posee propiedades funcionales potenciales para su inclusión en la formulación de un embutido cárnico, mejorar su calidad nutrimental, sin afectar sus atributos de textura.

## **3. OBJETIVOS**

Obtener una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) mediante el método de solubilización y precipitación isoelectrica, evaluar sus propiedades funcionales para su inclusión en un embutido cárnico.

### **3.2 Particulares**

1. Obtener una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) cultivada en el área de Córdoba, Veracruz, México, utilizando el método de solubilización y precipitación isoelectrica.
2. Evaluar las propiedades funcionales de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*), tales como solubilidad de proteínas, capacidad de absorción de agua y aceite, capacidad emulsionante y estabilidad de la emulsión, capacidad espumante y estabilidad de la espuma, para determinar su aplicación en productos cárnicos.
3. Evaluar la inclusión de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) en la formulación de un embutido cárnico, mejorar su calidad nutrimental, sin afectar sus atributos de textura.

## 4. INNOVACIÓN

El término innovación juega un papel fundamental en el desarrollo de nuevos conocimientos y soluciones a los desafíos actuales y futuros en distintas áreas. El término innovación según Schumpeter (1911), fue definido formalmente en su obra “teoría del desarrollo económico”. Según el autor, la innovación hace referencia a **“la introducción de nuevos bienes o servicios, métodos de producción, mercados, fuentes de suministro de materias primas o creación de nuevas organizaciones en la industria”**. El manual de Oslo guía desarrollada por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, establece que la definición de innovación incluye la introducción de nuevos productos y procesos, la implementación de nuevos cambios o formas de marketing y la organización de una empresa (OCDE, 2018).

Algunos autores han ampliado este concepto en la industria agroalimentaria como la “generación, difusión y aplicación de nuevos conocimientos y tecnologías para la creación de nuevos productos, procesos, servicios incluyendo modelos de negocios con el objetivo de mantener la calidad, crear valor para el consumidor y mejorar la competitividad de la empresa (Bigliardi & Filippelli, 2022).

En este sentido, la innovación de este proyecto se enfoca en generar conocimiento para la creación de un nuevo producto, en este caso, una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*), y su inclusión en un embutido cárnico. Esta iniciativa innovadora se enfoca en ofrecer alimentos saludables, con alto valor nutrimental y sostenibles para los consumidores. De esta manera, el proyecto contribuye a abordar los desafíos globales relacionados con la sustentabilidad, ofreciendo alternativas viables a las fuentes de proteínas convencionales.

## 5. SUSTENTABILIDAD

La sustentabilidad es un concepto fundamental para abordar los desafíos globales del siglo XXI, como la pérdida de biodiversidad, desafíos nutricionales, impactos ambientales y falta y demanda de alimentos, entre otros (Allievi et al., 2019). En el informe de Brundtland, la Comisión mundial sobre el medio ambiente y el Desarrollo de las Naciones Unidas definió que el desarrollo sostenible engloba un enfoque integral que busca **“satisfacer las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades”** (WCED, 1987).

El desarrollo sustentable se asocia a tres dimensiones vinculadas con el desempeño económico, ambiental y social. La **dimensión económica**, se basa en encontrar el equilibrio entre el crecimiento económico y la sustentabilidad ambiental que a su vez implica cambios en la organización de las empresas y de la sociedad en general; la **dimensión ambiental** busca alcanzar un balance entre el crecimiento económico y la calidad del medio ambiente sin comprometer la integridad de los ecosistemas, la biodiversidad y el equilibrio ecológico y por último la **dimensión social** tiene como objetivo mejorar la calidad de vida y el bienestar de la sociedad mediante una distribución equitativa de bienes y servicios promoviendo el desarrollo humano, medios de vida, salud y educación (Roy, 2021).

Por tanto, se propone utilizar la biomasa de espirulina (*Arthrospira maxima*) como materia prima, que forma parte de un proceso de producción sostenible que contribuye a la preservación de los recursos naturales y la reducción del impacto ambiental para la obtención de una proteína aislado y su inclusión en el desarrollo de nuevos productos. Esto no sólo pretende mejorar la calidad de vida de las personas a nivel nutricional, sino también promover un modelo de consumo sostenible, que contribuya a los ODS 12 y 13, al cubrir las necesidades nutricionales de una población creciente y ofrecer alimentos que proporcionen una dieta segura y saludable.

## 6. SEGURIDAD ALIMENTARIA

La seguridad alimentaria surge como una respuesta a la preocupación de las personas y el derecho a la alimentación de las personas. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación establece que la seguridad alimentaria a nivel individuo, hogar, nación y global, se logra cuando las personas tienen acceso tanto físico como económico a alimentos suficientes, nutritivos y seguros para satisfacer sus necesidades alimentarias y preferencias, permitiéndoles llevar una vida activa y saludable en todo momento (FAO, 1996).

La seguridad alimentaria abarca cuatro elementos básicos: disponibilidad, estabilidad, acceso y control, consumo y utilización biológica. Con el aumento de la población mundial y la demanda de alimentos en crecimiento, es prioridad que los sistemas alimentarios sostenibles tengan en cuenta la seguridad alimentaria. Por lo anterior, será necesario el desarrollo de nuevas tecnologías de producción y la exploración de fuentes alternativas de alimentos no sólo para satisfacer las necesidades alimentarias de la población, sino para dar solución a problemáticas de sostenibilidad ambiental y seguridad alimentaria (EFSA, 2021).

La obtención de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) y su aplicación en un embutido cárnico contribuye al impulso de sistemas alimentarios sustentables. Estos sistemas buscan garantizar la seguridad alimentaria a través de la mejora del valor nutricional de alimentos, la reducción del impacto ambiental, y la mejora de la eficiencia en los sistemas de producción de acuerdo con el ODS 2 (ONU, 2015). El uso de proteínas de fuentes alternativas también puede tener un impacto positivo en el ambiente, ya que la producción de proteínas convencionales a menudo tiene un mayor impacto ambiental lo que podría comprometer la seguridad alimentaria a largo plazo. La búsqueda y diversificación de fuentes alternativas de proteínas puede garantizar la disponibilidad de alimentos nutritivos y seguros para el futuro.



**Cuadro 1.** Clasificación de los aminoácidos.

<b>Aminoácidos esenciales</b>		<b>Aminoácidos no esenciales</b>	
Leucina	Isoleucina	Ácido glutámico	Alanina
Lisina	Metionina	Arginina	Cisteína
Treonina	Triptófano	Ácido aspártico	Tirosina
Fenilalanina		Glicina	Glutamina
Valina		Serina	Asparagina
Histidina		Prolina	

**Fuente:** Tomado de Wu (2009).

### **7.1.1 Clasificación de las proteínas**

Las proteínas se clasifican de acuerdo con su forma estructural, a partir de cuatro niveles de organización (estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria). Así mismo, se pueden dividir en tres clases principales, que se encuentran relacionadas a sus estructuras terciarias: proteínas globulares, proteínas fibrosas y proteínas de membrana. Donde la mayoría de las proteínas globulares son solubles y cumplen ciertas funciones como enzimas.

#### **7.1.1.1 Forma estructural**

La estructura de las proteínas es compleja, estas presentan cuatro niveles de organización; estructura primaria definida por la secuencia de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, que solo pueden formar estructuras lineales. La estructura secundaria se define como la distribución espacial regular y repetitiva de la secuencia de aminoácidos en la cadena peptídica, unida por enlaces hidrógeno. La estructura terciaria describe la distribución espacial que sucede cuando una secuencia primaria, con segmentos de estructuras secundarias, se pliegan para formar una estructura tridimensional compacta. Mientras que la estructura cuaternaria se aplica sólo a las proteínas formadas por dos o más cadenas peptídicas, haciendo referencia a la distribución espacial de las cadenas y eslabones establecidos entre ellas (Litwack, 2018).

#### **7.1.1.2 Forma molecular**

Las proteínas en su estado original presentan ciertas formas moleculares características, donde se pueden diferenciar tres tipos de proteínas: globulares, fibrilares y proteínas de membrana. Las proteínas globulares presentan una estructura terciaria compleja, ya que se encuentran plegadas

formando un esferoide compacto u ovoide que presenta tres ejes de longitud similares. Así mismo son conocidas como proteínas funcionales activas ya que cumplen ciertas funciones como hormonas, enzimas, anticuerpos y proteínas de sangre (Litwack, 2018).

Los residuos apolares de estas proteínas se orientan hacia el interior (hidrófobos), y los polares hacia el exterior (hidrófilos), por lo que se dispersan bien en medios acuosos. Las proteínas fibrilares son moléculas compuestas a partir de cadenas polipeptídicas paralelas que se ensamblan para formar fibras. Principalmente son proteínas estáticas que proporcionan soporte mecánico a las células y organismos, no se dispersan en agua y forman parte de estructuras que requieren grandes esfuerzos físicos. Mientras que las proteínas de membrana son moléculas de proteínas que se encuentran unidas/asociadas a la membrana celular o en un orgánulo. Dichas proteínas asisten a otras sustancias o moléculas para cruzar la membrana celular (Godbey, 2022).

### **7.1.2 Importancia de las proteínas**

Las proteínas en el organismo cumplen con ciertas funciones importantes tales como componentes estructurales y funcionales que permiten mantener el crecimiento y el funcionamiento de los órganos y del sistema inmunitario. Por lo tanto, se debe tener en cuenta la calidad de la proteína que se consume para el mantenimiento de una buena salud (Adenekan et al., 2018). La calidad de la proteína hace referencia a la cantidad, biodisponibilidad y digestibilidad de los de aminoácidos esenciales en la proteína, lo que determina su capacidad para satisfacer las demandas metabólicas de aminoácidos y nitrógeno del organismo (Sá et al., 2020).

La industria alimentaria se ha enfocado en la búsqueda de proteínas de calidad con características nutricionales, funcionales y sensoriales apropiadas para su aplicación en el desarrollo de productos alimenticios (Sá et al., 2020). Que puedan competir con las que se encuentran en el mercado, por lo tanto, la forma más frecuente de obtener estas proteínas es mediante procesos de fraccionamiento en seco o en húmedo para mejorar su calidad. Permitiendo la obtención de ingredientes, como harinas (20-30% de proteína), harinas enriquecidas (30-50%), concentrados (50-80%) y aislados (>90%) (Stone et al., 2019). El procesamiento de las proteínas ocasiona su desnaturalización, genera ciertos cambios en las estructuras cuaternaria y terciaria, lo que contribuye en la mejora de su susceptibilidad a ser hidrolizadas por enzimas digestivas (proteasas) y el aumento de su digestibilidad (López et al., 2018).

## **7.2 Proteína aislado**

La proteína aislado es un producto del proceso de refinación de ciertas materias primas; presentan un contenido bajo en grasa, carbohidratos y no presentan fibra dietética. Poseen una cantidad sustancial de proteínas con mejor digestibilidad; principalmente se utilizan para el mejoramiento de la calidad nutrimental y sensorial en numerosos productos alimenticios (Benelhadj et al., 2016). Se han obtenido a partir de diversas fuentes vegetales, animales, algas y microalgas, las más conocidas son a partir de leguminosas, tales como la soja, almendras, maní y frijoles pintos, por mencionar algunos (Shrestha et al., 2023). La proteína aislado es una fuente potencial de proteína que juega un papel importante en la formulación de diversos productos alimenticios cuya aceptabilidad depende del valor nutrimental, calidad sensorial y propiedades funcionales de estos (Lafarga, 2019).

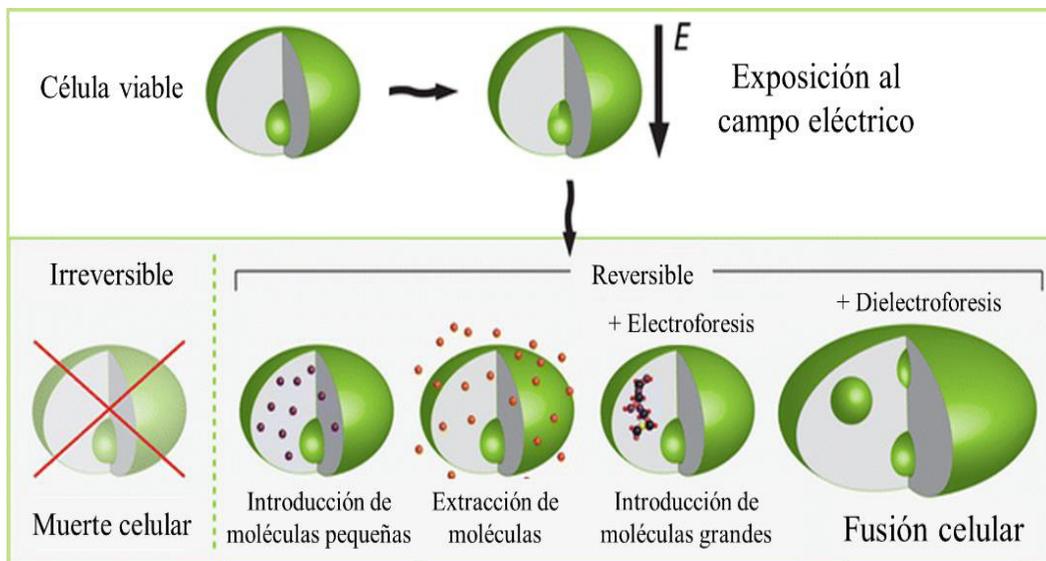
### **7.2.1 Métodos de extracción**

Los métodos de extracción son fundamentales para maximizar el aislamiento de proteínas de una muestra, debido a que influirán principalmente en la biodisponibilidad, bioactividad y funcionalidad de las proteínas extraídas (Bleakley y Hayes, 2017). Entre los métodos de extracción se encuentran los procesos físicos que permiten la rotura de la membrana celular y la liberación de los constituyentes intracelulares mediante métodos de desintegración mecánica, tales como los campos eléctricos pulsados, ultrasonidos y microondas. Mientras que los procesos no físicos permiten la desintegración de la membrana celular mediante el uso de procesos químicos y métodos novedosos, tales como la solubilización alcalina y precipitación isoelectrica, hidrólisis enzimática y micelización, con el fin de evitar problemas frecuentes en los métodos tradicionales, principalmente la desintegración de las proteínas (Postma et al., 2018).

#### **7.2.1.1 Campos eléctricos pulsados**

El campo eléctrico pulsado (PEF) es una tecnología emergente no química, no térmica y energéticamente eficaz para el procesamiento de alimentos. En la industria alimentaria se utiliza en la extracción de ciertas moléculas a partir de diversas fuentes de biomasa, como plantas, bacterias, microalgas, entre otros (Golberg et al., 2016). El funcionamiento del PEF consiste en la aplicación de pulsos eléctricos de corta duración (micro o nanosegundos) y de alto voltaje (rango kV) que ocasionan la electroporación (formación de poros reversibles o irreversibles) de las

membranas celulares (Nowosad et al., 2021). La electroporación se inicia por medio de la introducción de moléculas de agua a la bicapa lipídica de las membranas celulares (procariotas y eucariotas), ocasionando la reorientación de los lípidos mediante los grupos polares de sus cabezas hacia las moléculas de agua (Nowosad et al., 2021) y por consiguiente ocurre la formación de poros que permiten el transporte transmembrana de iones, moléculas y compuestos intracelulares, incluido el ADN. Cuando la membrana celular experimenta un aumento temporal de su permeabilidad y posteriormente recupera su permeabilidad selectiva (la célula sobrevive), presenta una electroporación reversible (Castejón et al., 2021). En su defecto sí la célula muere, la electroporación es irreversible (Figura 2).



**Figura 2.** Representación esquemática de células expuestas a campos eléctricos pulsados.

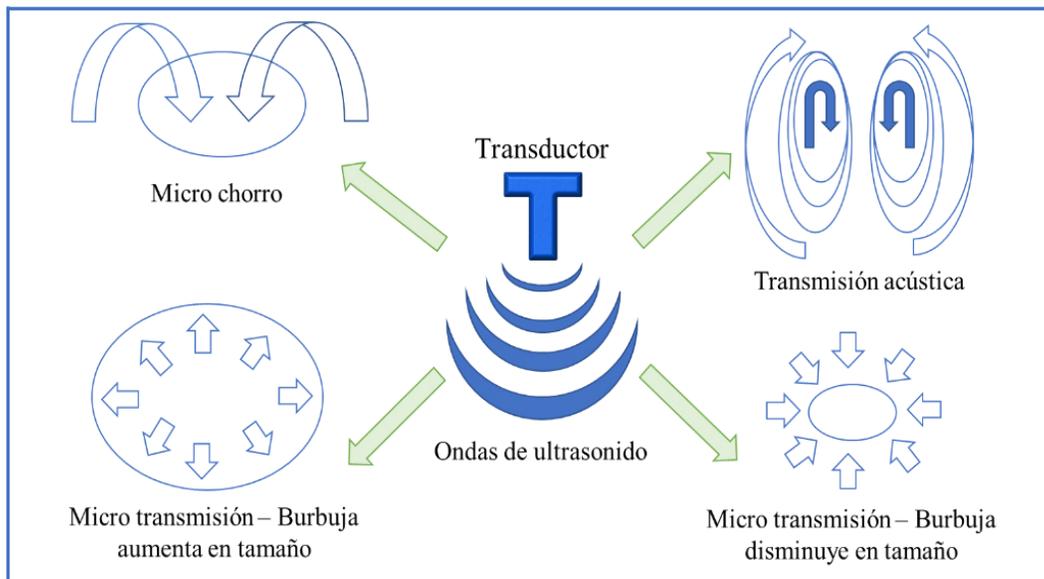
**Fuente:** Modificado de Mahnič-Kalamiza et al. (2014).

La eficacia del PEF depende de los ajustes establecidos de ciertos parámetros, tales como la intensidad aplicada del campo eléctrico (forma, número, amplitud y duración de los pulsos), la cantidad de energía total específica que entra y de técnicas adicionales de manejo celular (Arnal et al., 2018). Mediante la aplicación de PEF es posible la obtención de extractos con mayor pureza, la mejora del transporte de moléculas pequeñas, el aumento de extracción de compuestos bioactivos y la eliminación del uso de solventes orgánicos (Golberg et al., 2016). Además de ser una técnica ambientalmente segura, económica y sostenible, para la producción de alimentos frescos sin afectar sus propiedades nutricionales y sensoriales.

### 7.2.1.2 Ultrasonidos

El ultrasonido se refiere al uso de ondas mecánicas sonoras con frecuencias superiores del umbral de la audición humana (>20 kHz). Su aplicación se puede dividir en dos rangos de intensidad y frecuencia; es decir, alta intensidad-baja frecuencia ( $I = 10\text{--}1000 \text{ W cm}^{-2}$  y  $F = 20\text{--}100 \text{ kHz}$ ) y baja intensidad-alta frecuencia ( $I < 1 \text{ W cm}^{-2}$  y  $F = 100 \text{ kHz--}1 \text{ MHz}$ ). Ambos rangos son capaces de generar presiones bajas y altas alternadamente ocasionando ciclos de compresión y expansión (rarefacción) en el medio conduciendo la cavitación acústica de burbujas de vacío (Carrillo-Lopez et al., 2021).

Dichas burbujas crecen durante varios ciclos de rarefacción hasta que no pueden absorber más energía por lo que colapsan violentamente generando temperaturas (5000 K) y presiones (1000 atm) extremas que inducen ondas de energía de corte intensas (Fu et al., 2022). El colapso violento de las burbujas da lugar a efectos químicos y físicos en la zona de cavitación, como la agitación, turbulencia, micro flujos, micro chorros, generación de radicales libres altamente reactivos, entre otras (Carrillo-Lopez et al., 2021). Además de favorecer la ruptura de la pared celular, la introducción del solvente en el material celular, la transferencia de masa desde y hacia la interfase (Kadam et al., 2015). Los principales mecanismos que generan la cavitación de las burbujas mediante ultrasonidos se muestran en la Figura 3.



**Figura 3.** Mecanismo del fenómeno de cavitación de burbujas.

**Fuente:** Modificado de Kadam et al. (2015).

El ultrasonido se ha utilizado en el procesamiento de alimentos, principalmente en la extracción de componentes bioactivos y en la mejora de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las proteínas (Nikbakht Nasrabadi et al., 2021). Debido a que el tratamiento ultrasónico se considera como una tecnología rápida, de alta eficiencia, bajo consumo de energía y respetuosa con el medio ambiente, además de ser económicamente factible (Kadam et al., 2015).

### **7.2.1.3 Extracción asistida por microondas**

La extracción asistida por microondas (MAE) es un método que hace uso de ondas electromagnéticas que varían en frecuencia desde los 300 MHz hasta los 300 GHz (radiofrecuencias) y en longitud de onda que oscila entre 1 mm y 1 m en espacios abiertos. Existen dos frecuencias utilizadas en la investigación científica: 2450 MHz (en equipos de laboratorio y microondas domésticos) y 950 MHz (para equipos industriales y médicos) (Llompart et al., 2019). Durante este proceso, los cambios en el campo electromagnético generados por radiación de microondas ocasionan el movimiento de moléculas iónicas y/o rotación de moléculas dipolares de las células. La fricción generada entre moléculas induce al aumento de la presión y calentamiento intracelular ocasionando la disrupción celular, liberación y extracción rápida de las moléculas de interés (Zhao et al., 2020).

Debido a que la radiación de microondas no es ionizada la interacción que se produce con el material es a partir de su calentamiento, por lo tanto, solo se pueden calentar aquellos materiales que absorban la energía del microondas. Por lo general, se refiere a materiales dieléctricos que absorben energía y la convierten en calor. La eficiencia y el rendimiento de dicho calentamiento por microondas está influenciado por la frecuencia, temperatura, tiempo y solvente utilizados en la extracción, además de depender de la capacidad del material para absorber energía y disipar el calor (Aparamarta et al., 2020).

Las ventajas en el uso de este método se basan en la reducción de materia prima, solventes, energía y tiempo necesarios para la extracción, por lo que se ha definido como un método con impacto ecológico, eficiente, rentable y sencillo para la extracción de ciertas moléculas bioactivas (Liu et al., 2018). Sin embargo, las aplicaciones de microondas para la extracción de compuestos bioactivos requieren de diseños apropiados de la cámara de calentamiento con respecto a las moléculas que se deseen extraer.

#### **7.2.1.4 Solubilización alcalina y precipitación isoelectrica**

Las proteínas en agua tienden a presentar ciertas cargas positivas o negativas cuando son ajustadas a condiciones de pH ácido o alcalino, respectivamente. Debido a las repulsiones generadas por la presencia de cargas similares se da lugar a las interacciones con el agua, lo cual favorece la solubilización de las proteínas, permitiendo la eliminación de la materia insoluble. La extracción de proteínas mediante solubilización alcalina y precipitación isoelectrica se lleva a cabo mediante la dispersión de proteínas en agua, ajustando a pH alcalino con hidróxido de sodio, calcio o potasio (Lam et al., 2018).

La solución se deja reposar durante un determinado tiempo para aumentar la solubilidad de las proteínas, posteriormente se centrifuga y se recoge el sobrenadante para ser ajustado a pH isoelectrico utilizando ácido clorhídrico o sulfúrico. Con el fin de cambiar la solubilidad de los componentes del sobrenadante y poder separar el componente objetivo. Las proteínas precipitadas se recuperan mediante centrifugación y decantación, finalmente se aísla el sedimento que contiene proteínas, se lava y seca mediante liofilización o cualquier otro método de secado (Boye et al., 2010).

El método de solubilización alcalina y precipitación isoelectrica es eficiente, da como resultado proteínas funcionales y estables desprovistas de lípidos y fibra, por lo que puede ser aplicado a gran escala logrando altos rendimientos (Lui et al., 2021). Además de presentar ciertas ventajas, tales como bajo costo, operación simple, eficiencia de concentración efectiva, entre otros; enfatizando que la proteína aislado obtenida posee un estatus generalmente considerado como seguro (GRAS) en los EE. UU. (FDA, 2004).

#### **7.2.1.5 Hidrólisis enzimática**

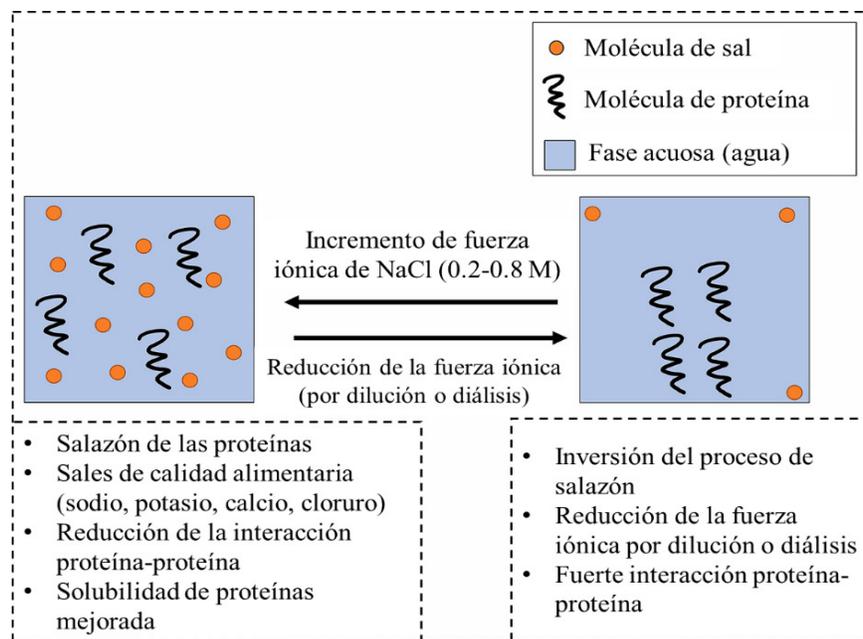
La hidrólisis enzimática se describe como una reacción química catalizada por una enzima que hace uso de moléculas de agua para romper ciertas moléculas en dos o más fracciones. Por lo tanto, cuando se aplica en un medio que contiene proteínas el proceso consiste en la hidrólisis de enlaces peptídicos catalizada por enzimas proteasas que rompen las proteínas en cadenas de aminoácidos más pequeñas y aminoácidos libres (Liceaga y Hall, 2019). El proceso de hidrólisis enzimática de proteínas conduce a la exhibición de grupos hidrófobos e ionizables, aumentando la actividad interfacial debido a una alta tasa de difusión, mejora la digestibilidad y las propiedades funcionales

de las proteínas (Evangelho et al., 2017). Se puede llevar a cabo en dos pasos; 1) la exposición de las proteínas a condiciones de hidrólisis óptimas (temperatura y pH) con enzimas durante cierto tiempo con el fin de obtener el grado de hidrólisis deseado. 2) El calentamiento de los hidrolizados obtenidos (85–100 °C) para la inactivación enzimática y por consiguiente la detención de la hidrólisis. Cabe destacar que la obtención de los hidrolizados (paso 1) se puede llevar a cabo mediante dos mecanismos (cremallera y uno por uno), en el mecanismo “cremallera” las moléculas de proteína son hidrolizadas al mismo tiempo dando como resultado una amplia variedad de péptidos. Mientras que en el mecanismo “uno por uno” las moléculas de proteína se hidrolizan una tras otra hasta la obtención de péptidos de bajo peso molecular (Jia et al., 2022; Yang et al., 2021).

En la producción de hidrolizados a partir de proteínas vegetales se ha utilizado una amplia gama de enzimas, incluidas la quimosina (Baracé et al., 2011), tripsina (Wani et al., 2015), alcalasa (Jamdar et al., 2010) y papaína (Yust et al., 2010), principalmente para el mejoramiento del valor nutricional y las propiedades funcionales de las proteínas. Sin embargo, la hidrólisis enzimática no siempre conduce a estas mejoras debido a que la composición y propiedades de los hidrolizados obtenidos se ven afectadas por las condiciones de hidrólisis enzimática, que incluyen la selección de una enzima adecuada, tiempo, temperatura, pH y grado de hidrólisis (Barati et al., 2020).

#### **7.2.1.6 Micelización**

El método de micelización implica la extracción de proteínas mediante el aprovechamiento de sus propiedades hidrofóbicas con el fin de obtener aglomerados de estructura micelar que excluyen el material no proteico. El material proteico se suspende en una solución salina (cloruro de sodio, calcio o potasio) de baja fuerza iónica para solubilizar fracciones de proteínas a temperatura moderada (15–35 °C), que mediante centrifugación se logran separar del material insoluble (Sun y Arntfield, 2011). La recuperación de las proteínas se lleva a cabo mediante precipitación por diálisis o dilución en agua fría (1–4 °C) para disminuir la fuerza iónica de la solución (Figura 4), donde las proteínas solubilizadas para adaptarse al entorno se reajustan al agregarse y precipitarse (Lam et al., 2018). Los agregados se asocian en micelas y la centrifugación permite la recuperación de las proteínas.



**Figura 4.** Representación esquemática del mecanismo del proceso de micelización.

**Fuente:** Modificado de Shrestha et al. (2021).

La micelización permite la extracción de proteína aislado, conocida como proteína de masa micelar, que puede estar compuesta tanto de albúminas como de globulinas, dispuestas en estructuras micelares estabilizadas por enlaces de hidrógeno (Lee, 2017). Mediante este método las proteínas sufren menos desnaturalización en comparación con otros métodos, debido a las condiciones suaves utilizadas que permiten la conservación de la estructura original de las proteínas. Sin embargo, la solubilidad de los materiales proteicos suspendidos en solución salina puede verse afectada principalmente por la fuerza iónica, la concentración y tipo de sal utilizada, el tiempo de extracción y la presencia de ciertos componentes que ocasionan enlaces intermoleculares (Jain et al., 2019).

### 7.2.2 Propiedades funcionales de la proteína aislado

La proteína aislado presenta diversas propiedades fisicoquímicas que dependen del número, tipo, propiedades físicas, químicas y estructurales de las proteínas presentes (Shevkani et al., 2014). A partir de las propiedades funcionales de la proteína aislado se decide su aplicación final en los sistemas alimentarios, ya que brindan ciertas características y comportamientos fisicoquímicos a los alimentos durante su preparación, procesamiento, almacenamiento y consumo (Shevkani et al., 2019). Las posibles aplicaciones que pueden comprender dependen de su funcionalidad, aunque es incluida en mezclas complejas, donde ocurren diversos fenómenos simultáneamente.

Existen diferentes métodos de clasificación de las propiedades funcionales, sin embargo, solo se presenta la propuesta de Cheftel et al. (1989) que las ha clasificado según el mecanismo de acción en tres grupos principales.

1. Propiedades de hidratación: Son aquellas propiedades que dependen de las relaciones proteína-agua y proteína-aceite, tales como la solubilidad, dispersabilidad, capacidades de humectación, hinchamiento, sorción, absorción y retención de agua/aceite.
2. Propiedades dependientes de las relaciones proteína-proteína y características reológicas: Se trata de propiedades de gelificación, precipitación, elasticidad, viscosidad, adhesividad, cohesividad, coagulación, capacidad de formación de masa, películas y fibras.
3. Propiedades de superficie: Son aquellas propiedades dependientes de interacción superficial de la proteína con dos fases inmiscibles, agua/aceite y agua/aire, de las cuales dependerá su capacidad de ligar grasas y aromas respectivamente. Las principales propiedades relacionadas con los fenómenos de superficie son la capacidad espumante, emulsionante, formación de película lipoproteica y batido.

La evaluación de las propiedades funcionales permite conocer el comportamiento de la proteína aislado en una matriz alimentaria; en donde se encontrarán interrelacionadas. Por ejemplo, la capacidad de gelificación no solo comprende aquellas interacciones proteína-proteína sino también proteína-agua, mientras que propiedades como la solubilidad y viscosidad dependen de las interacciones proteína-proteína y proteína-agua.

#### **7.2.2.1 Solubilidad de proteínas (PS)**

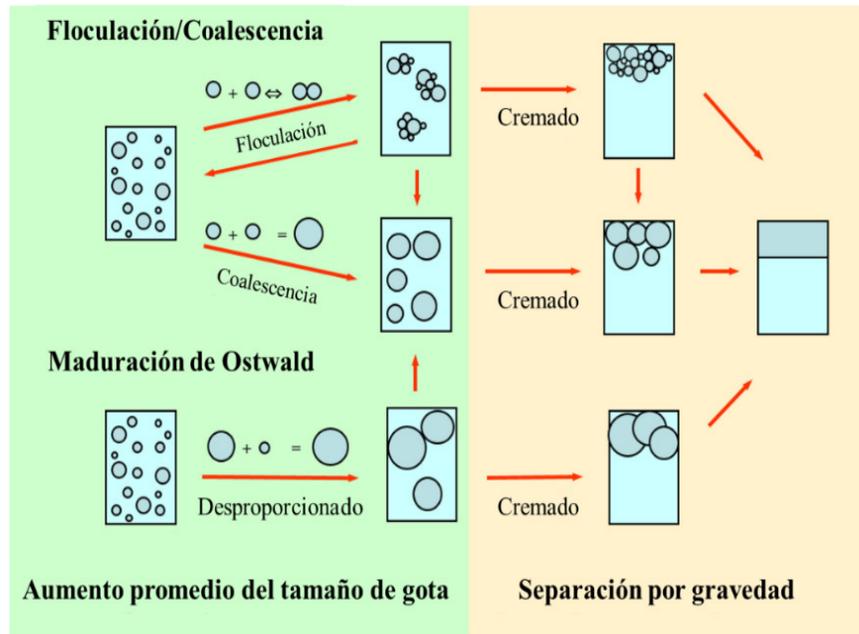
Un indicador del rendimiento de la proteína aislada a matrices alimentarias es la propiedad de solubilidad de proteínas (PS) que se encuentra relacionada con las interacciones hidrofílicas e hidrofóbicas con el agua (Grossmann et al., 2020). La PS resulta del equilibrio entre las interacciones proteína-proteína (disminución de la solubilidad promovida por las interacciones hidrofóbicas) y proteína-solvente (aumento de la solubilidad promovida por las interacciones iónicas). Depende de la composición de aminoácidos que conforman las proteínas; particularmente de la cantidad, distribución en la superficie y de su estado desnaturalizado, así mismo de factores como el pH del disolvente, fuerza iónica (tipo y concentración de sales), temperatura e

interacciones con otros componentes alimenticios (Zheng et al., 2020). La PS aumenta a valores de pH superiores e inferiores del punto isoeléctrico debido a la repulsión electrostática en la superficie de la proteína que presenta cargas netas positivas o negativas respectivamente. Mientras que la PS, específicamente globulares, es mínima en su punto isoeléctrico debido a que presentan cargas netas cero lo que permite minimizar las fuerzas de repulsión electrostática. En dicha situación, se da paso a las interacciones hidrofóbicas entre las proteínas vecinas lo cual conduce a la agregación de estas; una vez que los agregados alcanzan cierto número y tamaño suficiente se genera su precipitación (Zayas, 1997; Damodaran et al., 2008).

Numerosas proteínas presentan alta solubilidad a pH alcalino (8-9) generalmente en el que se realiza la extracción de proteínas de fuentes vegetales, tal como en la obtención de la proteína aislado principalmente de leguminosas como la soya, guisantes, frijol y arvejas. En general, la PS es un excelente indicador de las posibles aplicaciones de la proteína aislado, además de ser importante debido a que impacta en otras propiedades funcionales, como la capacidad espumante, emulsificante y el estado de agregación (Grossmann y McClements, 2023).

#### **7.2.2.2 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad de la emulsión (ES)**

La capacidad emulsionante (EC) es una propiedad sumamente importante que se basa en la hidrofobicidad (apolar) e hidrofiliidad (polar) de los compuestos emulsionantes para formar una fase estable, ya que diversos alimentos presentan fases lipídicas y acuosas (Badui, 2006). Una emulsión es la dispersión o suspensión homogénea de dos líquidos inmiscibles, generalmente de aceite en agua, que se forma a partir de la dispersión mecánica de un líquido dentro de la fase continua de otro líquido mediante la adición de un emulsionante (Shevkani et al., 2019). Debido a que la estructura del emulsionante presenta una parte polar y una parte no polar es capaz de absorberse en la interfaz de ambos líquidos con el fin de minimizar la tensión interfacial y estabilizar termodinámicamente el sistema (Alzagtat y Alli, 2009). La EC hace referencia a la cantidad máxima de aceite que se puede dispersar en una solución emulsionante, sin que el sistema sea termodinámicamente inestable (Shevkani et al., 2019). En cuanto a la estabilidad de la emulsión (ES) es la capacidad de la emulsión para resistir los cambios de estructura o separación mediante mecanismos como la floculación, coalescencia, cremado o sedimentación durante un tiempo definido (Figura 5) (Kumari et al., 2014).



**Figura 5.** Principales mecanismos implicados en la desestabilización de la emulsión.

**Fuente:** Modificado de Ravera et al. (2021).

La floculación es el proceso de agregación de partículas dispersas que logran formar cierta cantidad de grumos, debido a un desequilibrio entre las fuerzas de atracción y repulsión. La coalescencia se lleva a cabo cuando las partículas individuales de la fase dispersa se fusionan irreversiblemente para dar paso a partículas más grandes (Damodaran, 2006; Dickinson, 2010). Mientras que el cremado es el ascenso de las partículas de la fase dispersa ocasionado por las diferencias de densidad entre las dos fases (Damodaran, 2006).

Las emulsiones se pueden clasificar en torno a las fases que se encuentren presentes en la emulsión (simples y múltiples) y por su naturaleza (aceite en agua y agua en aceite). Las emulsiones simples se caracterizan por presentar una fase dispersa y una continua (Pal, 2011), mientras que las emulsiones múltiples se caracterizan por la presencia de emulsiones aceite en agua (O/W) o agua en aceite (W/O) constituyendo glóbulos que a su vez se encuentran dispersos en el interior de una fase continua oleosa o acuosa.

Las emulsiones estabilizadas con proteínas se ven influenciadas por características propias de la proteína, tales como su naturaleza, masa molar, densidad, concentración, estabilidad conformacional, solubilidad e hidrofobicidad (Grossmann et al., 2018). Por factores intrínsecos, como el pH, temperatura, fuerza iónica, adición de cationes divalentes, interacciones electrostáticas, volumen de la fase oleosa, presencia de surfactantes y polisacáridos (Schwenzfeier

et al., 2013). Así mismo, por factores extrínsecos, como el método de preparación de la emulsión, nivel de agitación, velocidad de incorporación de la fase oleosa y equipo utilizado para formar la emulsión (Grossmann et al., 2020). Dichos factores dificultan la estandarización de los procesos de emulsificación y la comparación de resultados.

La proteína aislado como emulsionante se utiliza para la formulación de emulsiones alimentarias aceite en agua o agua en aceite, debido a su capacidad de absorberse y estabilizar la interfaz, favoreciendo mayor resistencia a los cambios estructura o separación (Dickinson, 2019). Esta propiedad es de suma importancia, debido a que una gran cantidad de alimentos de forma natural o procesados se componen a partir de fases lipídicas y acuosas, tales como aderezos para ensaladas, leche, mantequilla, margarina, mayonesa, productos untables, helados, salchichas, por mencionar (Ravera et al., 2021).

### **7.2.2.3 Capacidad de absorción de agua (WAC)**

La capacidad de absorción de agua (WAC) se define como la cantidad total de agua que se puede absorber por gramo de material proteico (Boye et al., 2010), o como la capacidad de las proteínas para retener el agua en su estructura tridimensional (Shevkani et al., 2015). Esta propiedad se basa en la interacción que ocurre entre las moléculas de proteína con el agua, a partir de una combinación de interacciones, tales como ion-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo inducido por dipolo e interacciones hidrofóbicas (Damodaran et al., 2008). La asociación entre proteína y agua se ve afectada por la estructura de la matriz proteica, principalmente por el tamaño de los poros (Hall, 1996). Por la composición de aminoácidos de la proteína, debido a que las moléculas de agua se unen a los grupos cargados (grupos amida, peptídicos, hidroxilo y residuos no polares) que varían en su capacidad molecular para unir agua (Damodaran et al., 2008). Factores intrínsecos, extrínsecos y ambientales, como el pH, la fuerza iónica y la temperatura afectan la WAC de las proteínas. Se encontró que la desnaturalización provocada por calor suele mejorar la capacidad de atrapar y retener agua (Stone et al., 2015).

La WAC más baja se presenta en el punto isoeléctrico de una proteína, pH al cual la molécula presenta una carga neta cero debido a que la suma de todas las cargas positivas iguales a las cargas negativas, dominando las interacciones proteína-proteína (Yada, 2018). La WAC juega un papel importante en el desarrollo de productos alimenticios, debido a que estos generalmente presentan

más del 50% de agua. Una WAC deficiente contribuye a la pérdida de agua de los alimentos durante su procesamiento, mientras que, una WAC alta deshidrata a los demás componentes del sistema alimentario. Ambas WAC pueden alterar desfavorablemente la textura de los alimentos, por lo tanto, la selección de proteínas con una WAC adecuada para la formulación de alimentos es de gran importancia (Hall, 1996; Damodaran et al., 2008).

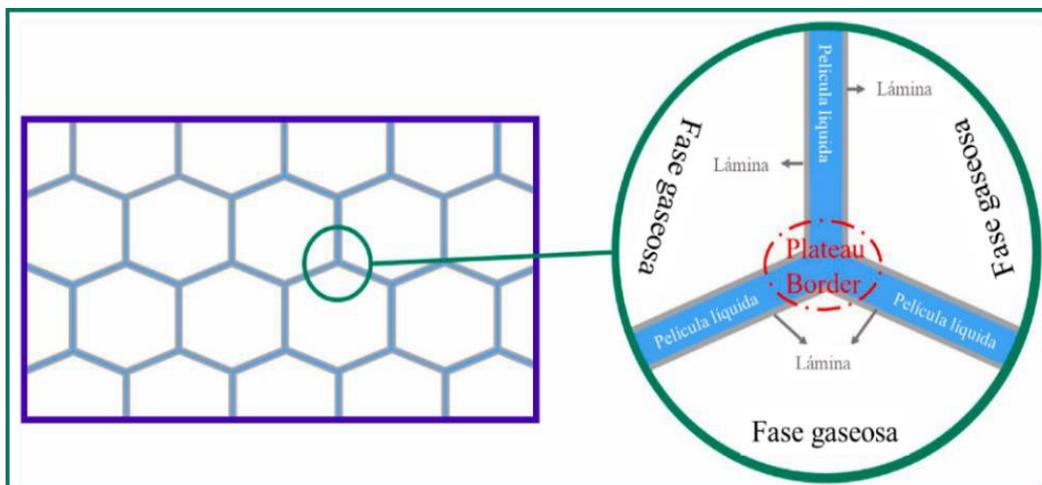
#### **7.2.2.4 Capacidad de absorción de aceite (OAC)**

La capacidad de retención de aceite, también conocida como la capacidad de absorción de aceite (OAC), se define como la cantidad de aceite absorbido por gramo de proteína, debido a la unión de las cadenas alifáticas de los lípidos con las cadenas laterales no polares de las proteínas (Shevkani et al., 2015). Por lo tanto, la tasa de OAC depende de factores intrínsecos como la composición de la proteína, la disponibilidad de aminoácidos no polares y el tipo de lípido presente; como este se dispersa y estabiliza (Brishti et al., 2017). Este último se ve influenciado por su tamaño y distribución de las gotas, así mismo de la presencia de emulsionantes (Hall, 1996).

La comprensión de la OAC es importante ya que se relaciona con la capacidad emulsionante de las proteínas, además de ser una propiedad funcional que favorece la sensación en boca manteniendo el sabor de los alimentos (Lam et al., 2018). La proteína aislado u otros ingredientes proteicos con alta capacidad de unión con los aceites los hace útiles en la elaboración de ciertos alimentos donde se desee una absorción óptima del aceite. Tales como embutidos, pasteles, coberturas batidas, bizcochos, horneados, aderezos, por mencionar (Tiwari y Singh, 2012).

#### **7.2.2.5 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma (FS)**

Las espumas son sistemas coloidales de burbujas de gas dispersas en la fase continua líquida o sólida, rodeadas por delgadas láminas de proteína líquida que se forman al romperse. Se pueden crear mediante el rociado (forzando el paso del gas por medio de una abertura a la fase líquida), batiendo, agitando o vertiendo, con el fin de remover el aire ambiental hacia la fase líquida con cierta rapidez y energía (Mleko et al., 2007). Mediante la incorporación de la fase gaseosa distribuida uniformemente se crean celdas de aire atrapado que modifican la textura de los alimentos, impartiendo cuerpo y suavidad, sensación en boca, además de facilitar la dispersión del sabor (Sangamithra et al., 2015). En la Figura 6 se muestra un diseño esquemático de las espumas.



**Figura 6.** Un diseño esquemático de la estructura general de espumas típicas en alimentos.

**Fuente:** Tomado de Razi et al. (2023).

En la estructura típica de la espuma, las burbujas de gas se capturan entre laminillas (paredes de burbujas) que al encontrarse entre sí forman el borde de la meseta, mientras que la interfaz entre dos burbujas colindantes es una película líquida (Nguyen, 2002). Existen dos tipos de espumas que se forman a partir de burbujas esféricas y burbujas poliédricas, cuya formación depende de la relación entre las cantidades de volumen de gas y líquido. Cuando el volumen de gas es bajo se forman burbujas esféricas de diámetro pequeño, por el contrario, cuando el volumen de gas es alto y existe una baja tensión superficial se forman burbujas poliédricas (Drenckhan y Hutzler, 2015).

Las espumas son termodinámicamente inestables debido a la alta energía libre presente en la interfaz gas-líquido, llevando a cabo la transferencia de gas de las burbujas pequeñas a las grandes (coalescencia y desproporción) debido a la alta presión para reducir el área interfacial (Razi et al., 2023). La fuerte tensión superficial del agua ocasiona que las burbujas recién formadas se rompan inmediatamente. Por lo tanto, es indispensable el uso de agentes de superficie activos para la generación de espumas cinéticamente estables. Por ejemplo, la adsorción de proteínas solubilizadas en la interfaz gas-líquido contribuye a la reducción de la tensión superficial, debido a que forman una película interfacial elástica y densa (Drenckhan y Hutzler, 2015).

La FC se refiere a la capacidad de la proteína para crear área interfacial durante la formación de espuma y se cuantifica mediante el aumento en el volumen de la espuma (Damodaran et al., 2008). Esta propiedad se determina por la velocidad en la que se crean y estabilizan las burbujas de gas en comparación con la velocidad de colapso. Y se correlaciona con la hidrofobicidad promedio de

las proteínas cuando se exponen a solventes no polares debido a la desigualdad de energía libre de las cadenas laterales de los aminoácidos (Kinsella, 1981). Dicha correlación indica que las proteínas se encuentran más desplegadas, debido a que la hidrofobicidad promedio se determina a partir del uso de todos los aminoácidos de la proteína (Kaur y Ghoshal, 2022).

La FC depende de la hidrofobicidad de la superficie, la flexibilidad molecular y la estabilidad de la estructura de las proteínas que forman la película interfacial para mantener la suspensión de las burbujas de gas y disminuir la tasa de coalescencia (Grossmann et al., 2020). Mientras que la estabilidad de la espuma (FS) hace referencia a la capacidad de la proteína para mantener estables las burbujas de gas frente a tensiones mecánicas y estrés gravitatorio durante un tiempo específico (Kinsella, 1981; Razi et al., 2023).

Las espumas estables son resistentes a la expansión del gas, a los choques mecánicos, al vaciado y disolución de la película líquida interfacial que debe ser cohesiva por medio de enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas e hidrofóbicas. La mínima repulsión electrostática de las espumas a pH isoelectrico de la proteína favorece al aumento de las interacciones proteína-proteína, la adsorción a la interfaz, la formación de la película líquida y una mayor estabilidad (Grossmann et al., 2018). La proteína aislado u otros ingredientes proteicos con buena FC y FS son destinados a utilizarse en la producción de diversos productos, como tortas, pan, galletas, muffins, merengues, helados, etc., que consisten en dispersiones de gas en fase líquida o sólida debido a su comportamiento anfifílico (Grossmann et al., 2020).

### **7.3 Fuentes de obtención de proteínas**

Debido a que la población mundial se encuentra en constante aumento, para el año 2050 se espera que alcance los 10,000 millones de personas, lo que significa un aumento en la demanda de alimentos principalmente de proteínas de origen animal (Nadathur et al., 2017). La búsqueda de nuevas fuentes alternativas de proteínas no solo para satisfacer las necesidades alimentarias de la población, sino para dar solución a problemáticas de sostenibilidad ambiental y seguridad alimentaria, se ha convertido en un objetivo de suma importancia (Sá et al., 2020). Por consecuente se están estudiando y evaluando diversas proteínas vegetales, incluidas las proteínas de insectos, microbianas, hongos, algas y microalgas (Fasolin et al., 2019).

### 7.3.1 Microalgas

Como recurso proteico potencial, las microalgas son una excelente alternativa ya que presentan ciertas ventajas sobre las fuentes de proteínas agrícolas convencionales como fácil cultivo, mayor disponibilidad, tasa de crecimiento y producción. Además de presentar un alto valor nutricional y producir diversos compuestos bioactivos a partir de bajos consumos de agua, presencia de luz, CO<sub>2</sub> y nutrientes inorgánicos para su crecimiento en espacios reducidos. Convirtiéndolas en el candidato perfecto para satisfacer la demanda de proteínas con menor impacto ambiental y mayores beneficios a la salud (Geada et al., 2017; De Mendonça et al., 2021).

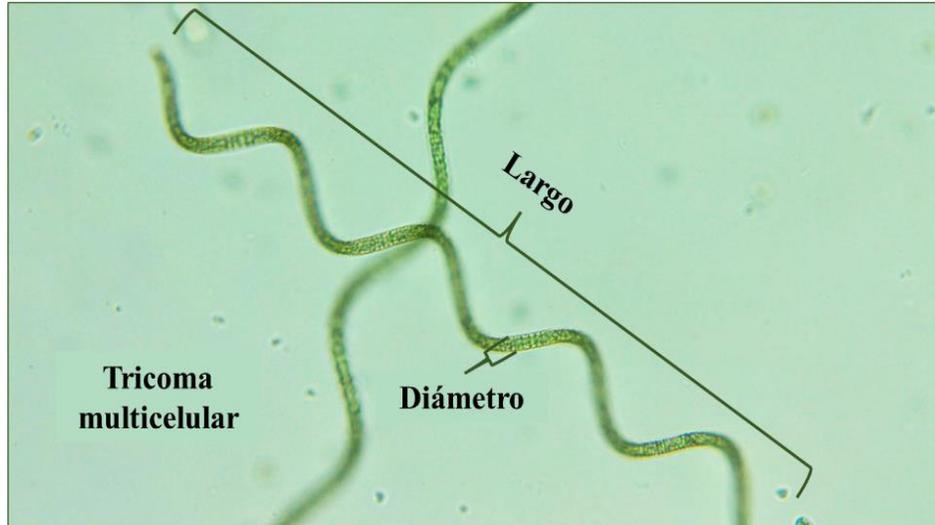
Las microalgas son microorganismos autotróficos fotosintéticos que hacen uso de CO<sub>2</sub>, nitrógeno atmosférico y luz solar para producir biomasa celular con altos contenidos de proteínas que van del 40 al 60% (base seca) y, por lo tanto, puede ser utilizada como ingrediente funcional en la industria alimentaria (Lafarga, 2019; Sathasivam et al., 2019). Las propiedades funcionales y el valor nutricional de las proteínas de microalgas son comparables, y en ciertos casos superiores, al de las fuentes convencionales de proteínas vegetales.

Para el consumo humano las microalgas de las especies *Arthrospira maxima* y *Arthrospira platensis* están aprobadas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), reconocidas como un “superalimento” y generalmente reconocido como seguro (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) en el 2002. Y, por lo tanto, los alimentos que contienen estas microalgas son comercializados (Comisión Europea, 2018; Lafarga et al., 2020).

### 7.4 Espirulina (*Arthrospira maxima*)

*Arthrospira maxima*, comercialmente conocida como espirulina, es una cianobacteria que se caracteriza por su color azul-verdoso y particular geometría (Figura 7) en espiral de tricomas multicelulares que llegan a medir aproximadamente de 3 a 13 micras de diámetro y de largo entre 100 a 200 micras (Zheng et al., 2020). Se cultiva en ambientes acuáticos controlados que permiten garantizar su calidad y seguridad alimentaria, mostrando un óptimo crecimiento y productividad de biomasa a temperaturas de 30-35 °C, pH alcalinos entre 8-11, radiación solar fotosintéticamente activa (400 a 700 nm), presencia de oxígeno disuelto, salinidad y disponibilidad de nutrientes.

Cabe destacar que un estricto control y seguimiento de calidad de estos parámetros en el cultivo de la espirulina permite garantizar la ausencia de cualquier otra cianobacteria o contaminantes microbianos (de Jesus et al., 2018).



**Figura 7.** Micrografía de la microalga espirulina (*Arthrospira maxima*), Ampliación 100x.  
**Fuente:** Propia, (2023).

#### **7.4.1 Composición bioquímica**

La espirulina es una microalga fotosintética que produce una biomasa rica en macro y micronutrientes (López-Rodríguez et al., 2021), incluye proteínas (50-60 %) con un buen índice de digestibilidad (80–93% en base seca) y alto valor nutrimental con proporciones de aminoácidos esenciales que representan el 47% del contenido total de proteína. Además de la composición de hidratos de carbono (15-24 %), ácidos grasos (6-7 %) ricos en ácidos grasos poliinsaturados, pigmentos, compuestos antioxidantes, vitaminas y nutrimentos inorgánicos (Jung et al., 2019).

##### **7.4.1.1 Contenido de proteínas**

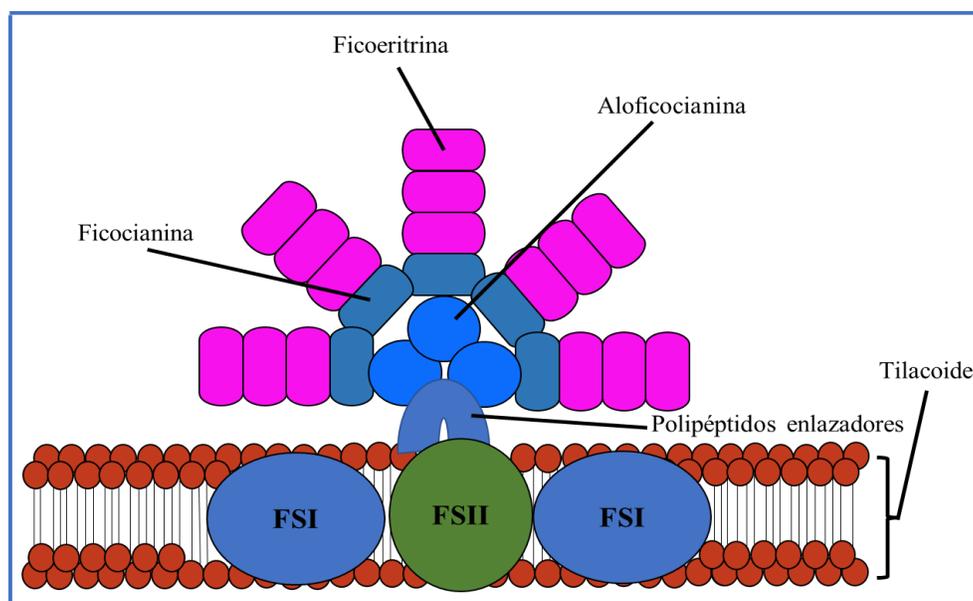
El contenido de proteínas de la espirulina puede variar de acuerdo con las condiciones ambientales y de los cultivos; asimismo de los métodos de análisis utilizados en su estudio. La calidad de las proteínas principalmente se determina a través de su valor biológico (porción absorbida y sintetizada en el cuerpo), utilización neta de proteínas (porción de proteínas que permanece dentro del organismo), digestibilidad (porción digerida en el intestino) y eficiencia proteica (López-Rodríguez et al., 2021). Dichos valores de calidad característicos de las proteínas de espirulina se muestran en el Cuadro 2.

**Cuadro 2.** Valores proteicos de la espirulina (*Arthrospira maxima*) comparada con una proteína de referencia.

Característica	Espirulina	Proteína de referencia (Caseína)	% de referencia
Valor biológico	75	87	86.20
Utilización neta de proteínas	62	83	74.69
Digestibilidad	85	95	89.47
Eficiencia proteica	1.9	2.5	76.00

**Fuente:** Tomado de Soni et al. (2017).

Las proteínas de espirulina en general están compuestas por fracciones proteicas unidas a pigmentos (complejo pigmento-proteína) que se presentan en arreglos moleculares llamados ficobilisomas, este complejo sirve al fotosistema II (FSII) como antenas captadoras de luz. Los ficobilisomas se componen a partir de polipéptidos pigmentados (ficobiliproteínas heterodiméricas) y no pigmentados (polipéptidos enlazadores) (Yu y Glazer, 1982; Arteni et al., 2009). Las ficobiliproteínas son proteínas fluorescentes (de color azul brillante y fucsia) compuestas de subunidades polipeptídicas (aloficocianina, ficocianina y ficoeritrina) ensambladas en forma de discos, que presentan una cavidad central donde los polipéptidos enlazadores se unen (Figura 8) (Sidler, 1994; Chang et al., 2015).



**Figura 8.** Un diseño esquemático de la estructura general de los ficobilisomas.

**Fuente:** Modificado de Vermaas, (2001).

La función de las ficobiliproteínas es capturar energía luminosa y transferirla cuesta abajo desde la ficoeritrina a la ficocianina y después a la aloficocianina que interviene como transmisor de energía final hacia los polipéptidos enlazadores. Estos últimos optimizan la absorción de energía luminosa y su transferencia a los fotosistemas dentro de la membrana para llevar a cabo la fotosíntesis y posteriormente la obtención de biomasa celular con altos contenidos de proteínas (Dagnino-Leone et al., 2022). Por lo tanto, la espirulina se encuentra clasificada como una fuente completa de proteínas, principalmente por componerse a partir de todos los aminoácidos esenciales que son necesarios para llamarse proteína completa.

#### 7.4.1.2 Perfil de aminoácidos

Las proteínas de espirulina presentan una distribución bien equilibrada de aminoácidos esenciales y no esenciales, con niveles significativos de alanina, glicina, prolina, leucina, isoleucina, valina, arginina, ácido glutámico y aspártico (Bohórquez-Medina *et al.*, 2021). El Cuadro 3 muestra el perfil de aminoácidos esenciales y no esenciales de la espirulina.

**Cuadro 3.** Perfil de aminoácidos de la biomasa de espirulina (*Arthrospira maxima*)

<b>Aminoácidos esenciales</b>	<b>(g/100 g proteína)</b>	<b>Aminoácidos no esenciales</b>	<b>(g/100 g proteína)</b>
Leucina	6.17 ± 0.23	Ácido glutámico	8.47 ± 0.19
Lisina	3.40 ± 0.02	Arginina	4.47 ± 0.05
Treonina	3.31 ± 0.07	Ácido aspártico	6.31 ± 0.16
Fenilalanina	3.33 ± 0.12	Glicina	3.43 ± 0.10
Tirosina	3.07 ± 0.05	Serina	NE
Valina	4.22 ± 0.10	Prolina	2.53 ± 0.04
Histidina	1.13 ± 0.04	Alanina	5.02 ± 0.07
Isoleucina	3.64 ± 0.20		
Metionina	1.71 ± 0.11		
Cisteína	0.64 ± 0.03		
Triptófano	0.85 ± 0.02		

**Fuente:** Bashir et al. (2016).

A pesar de presentar bajos contenidos de metionina, histidina, triptófano y cisteína, el contenido de estos 4 aminoácidos es superior a los que presentan ciertas semillas, vegetales y leguminosas. Además de que la pared celular de espirulina está formada por polisacáridos con alta digestibilidad (86%) y los aminoácidos son absorbidos fácilmente por el organismo (Lupatini et al., 2017). Lo que refleja su alto potencial de aplicación en la industria alimentaria, ya que mediante el consumo de al menos 20 g de biomasa en polvo de espirulina es posible cubrir los requerimientos diarios de aminoácidos esenciales para el organismo. Con funciones biológicas, por encima de su valor nutricional, como actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales, anticoagulantes, antihipertensivas, anticancerígenas y neuro protectoras (Bohórquez-Medina et al., 2021) y, por lo tanto, ha sido utilizada en el desarrollo de alimentos funcionales que puedan contribuir a la salud (Roohinejad et al., 2017).

### 7.5 Aplicaciones de las microalgas en alimentos

Para la industria alimentaria, el uso de la biomasa de microalgas representa una oportunidad valiosa para desarrollar nuevos productos alimenticios que sean más saludables y sostenibles (Figura 9). Debido a las propiedades nutricionales, funcionales, fisicoquímicas y texturales que poseen pueden ser incorporadas en diversos productos alimenticios como aperitivos, bebidas, pastas, galletas, productos lácteos y cárnicos tal como se muestra en el Cuadro 4 (Lafarga, 2019).



**Figura 9.** Alimentos que contienen biomasa de microalgas.

**Fuente:** Modificado de Lafarga, (2019).

**Cuadro 4.** Innovaciones en el desarrollo de nuevos productos alimenticios que incorporan biomasa de microalgas en diferentes concentraciones.

<b>Producto alimenticio</b>	<b>Descripción del producto</b>	<b>Contenido de microalgas</b>
Aperitivos	Barrita de frutas ricas en proteínas	<i>Arthrospira platensis</i> (5%)
	Snacks extruidos	<i>Arthrospira platensis</i> (2.6%)
Bebidas	Jugo de vegetales	<i>Chlorella vulgaris</i> (2.4%)
	Batidos verdes	<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Arthrospira platensis</i> (2.2%)
Pastas	Pastas	<i>Dunaliella salina</i> (1 - 3%)
	Pasta de trigo harinero	<i>Arthrospira platensis</i> (5 - 20%)
	Sopa de brócoli	<i>Arthrospira platensis</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Tetraselmis</i> sp. (0.5 - 2.0%)
	Sopa deshidratada	<i>Arthrospira platensis</i> (15%)
Galletas y productos de panadería	Pasteles de avena y arroz	<i>Arthrospira platensis</i> (1%)
	Galletas de espirulina	<i>Arthrospira platensis</i> (2 y 6%)
	Dulce orgánico	<i>Arthrospira platensis</i> (1%)
	Masa de harina de trigo y pan	<i>Chlorella vulgaris</i> (1 - 5%)
	Pan	<i>Arthrospira platensis</i> (1 y 3%)
	Masa de pan	<i>Chlorella vulgaris</i> (0.6, 1.2, 1.8%)
	<i>Crostini</i> de masa fermentada	<i>Arthrospira platensis</i> (2 y 6%)
Chocolate	Chocolate vegano de algas	<i>Arthrospira platensis</i> (5 g)
	Trufas de chocolate con limón	<i>Arthrospira platensis</i> (1.2%)
Productos lácteos	Queso	<i>Chlorella vulgaris</i> (2, 4 y 6%)
	Yogur	<i>Arthrospira platensis</i> (0.25 - 1 %)
	Mezcla de helado	<i>Arthrospira platensis</i> (0.075 - 0.3%)
	“ <i>Ayran</i> ” bebida de yogur	<i>Arthrospira platensis</i> (1%)
Productos cármicos	Hamburguesas vegetales	<i>Arthrospira platensis</i> (1.5%)
	Salchichas frescas de cerdo y	<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Arthrospira platensis</i>
	Hamburguesas de pavo	(1%)
	Chorizos españoles fermentados	<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Arthrospira platensis</i> (3%)

**Fuente:** Adaptado de Bernaerts et al. (2019); Geada et al. (2021); Lafarga, (2019); Nova et al. (2020).

Debido al potencial de las microalgas como fuente prometedora de proteínas, se utilizan para la obtención de proteínas concentrados y aislados (Lupatini et al., 2019). Dichos compuestos han sido estudiados como ingredientes alimentarios funcionales y nutricionales que sugieren su posible aplicación en el procesamiento de productos cárnicos, lácteos, conservas, postres y jaleas. Debido a sus propiedades emulsionantes, gelificantes, espesantes y estabilizantes (Lafarga et al., 2019). Las proteínas extraídas de microalgas se utilizan a menudo como retenedores de productos cárnicos emulsionados (salchichas, jamón y empanadas) porque mejoran su textura y valor nutricional (Geadá et al., 2021). Sin embargo, sus propiedades texturales dependen de la formación de una matriz de proteína, entre la proteína miofibrilar de la carne y el retenedor, al calentar y después del enfriamiento (Torgersen y Toledo, 1977).

## **7.6 Carne**

La carne es el resultado de un proceso complejo que implica cambios energéticos, bioquímicos y físicos que ocurren en el tejido muscular poco después del periodo post-mortem (Matarneh et al., 2023). La carne es un alimento de alto valor nutricional que puede consumirse como parte de una dieta equilibrada y saludable. Proporciona una fuente valiosa de proteínas, vitaminas y minerales, además de ser rica en potasio especialmente la carne de vacuno (Damodaran y Parkin, 2017). Se considera como un sistema de diversos compuestos químicos que presentan un efecto de forma independiente o en combinación con los atributos físicos en la calidad de la carne (Gaudette y Pietrasik, 2017). La carne se procesa en múltiples formas antes de su consumo, dichas formas pueden incluir desde simples cortes hasta operaciones de procesamiento complejas con el fin de obtener un producto específico (Coombs et al., 2017).

### **7.6.1 Productos cárnicos**

El origen de cualquier producto cárnico se encuentra vinculado a sus parámetros únicos de calidad, que los distinguen por presentar características únicas de color, sabor, aroma y textura (Coombs et al., 2017). Los productos cárnicos son aquellos productos elaborados a partir de tejidos animales destinados al consumo humano y que generalmente son sometidos a procesos de cortes, molienda, troceado, cocción, salado, ahumado, adición de condimentos, tales como ingredientes cárnicos y no cárnicos, entre otros (Bolger *et al.*, 2017).

Muchos de los productos cárnicos utilizan tecnologías de procesamiento similares; sin embargo, a nivel mundial existen cientos de productos que cuentan con nombres específicos y características de calidad únicas. Los productos cárnicos se encuentran clasificados principalmente en:

- Productos cárnicos crudos: Consisten en productos de carne cruda y tejido graso, a los cuales se les añaden especias, sal común y en algunos casos también aglutinantes. Las versiones económicas de estos productos presentan la adición de retenedores o rellenos para aumentar su volumen. Cuando este tipo de productos son envasados en tripas se definen como embutidos, mientras que en otro tipo de porciones estos son conocidos como empanadas o kebabs (Bolger et al., 2017).
- Productos cárnicos curados: Generalmente en este tipo de productos se utilizan piezas de músculos que se subdividen en carnes curadas crudas y carnes curadas cocidas. El procesamiento de curado para ambos grupos es similar, se basa en la aplicación de ciertas cantidades de sal de curado mediante la salazón en seco, inyectada o sumergida de la carne en solución de sal de curado. Las carnes curadas crudas no son sometidas a tratamientos térmicos y su procesamiento se basa en su curado, secado, fermentación y maduración. Mientras que las carnes curadas cocidas son sometidas a tratamientos térmicos después de un corto proceso de curado a fin de lograr la palatabilidad deseada (Wall y Kennedy, 2011).
- Productos cárnicos cocidos: En este grupo de productos, la carne e ingredientes no cárnicos (salmuera) se procesan primero crudos triturando, picando y mezclando. La masa viscosa obtenida es incorporada cruda, sufriendo el tratamiento térmico (coagulación de las proteínas) y ahumado opcional, luego de ser embutidos. Entre los que se encuentran los embutidos cárnicos como las salchichas, jamón cocido, vienasas, mortadela, entre otros (Kameník et al., 2017).

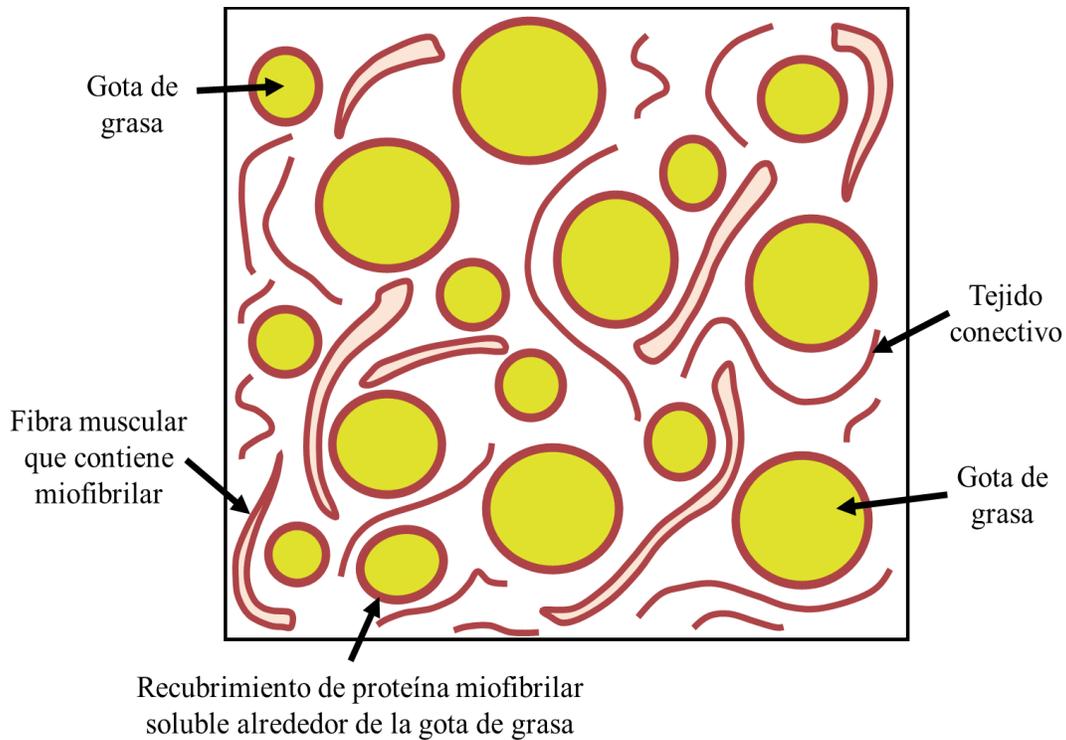
Los productos cárnicos cocidos son muy populares en muchos países del mundo, dicha popularidad se atribuye a ciertas características, tales como sus propiedades texturales, sensoriales y aspectos nutricionales superiores (Jiang et al., 2020). Dentro de estos productos las salchichas son uno de los productos cárnicos procesados más populares en el mundo; sin embargo, las tecnologías de procesamiento para su producción pueden cambiar de acuerdo con las materias primas y condiciones de procesamiento utilizadas (Kameník, 2017).

### **7.6.1.1 Embutido cárnico tipo salchicha**

El embutido cárnico tipo salchicha es un alimento que se prepara a partir de carne picada, especias y condimentos, es moldeada en formas simétricas y se cocinan de diferentes maneras según su variedad; estos dos factores influyen en la diversidad de salchichas (Lonergan et al., 2019). Originalmente, este embutido cárnico se creó como una forma de aprovechar y dar valor a los cortes de menor valor y como un medio de conservación de la carne. Algunos tipos de salchichas que se popularizaron tomaron el nombre de la ciudad o pueblo donde se originaron, como las salchichas Frankfurt de Frankfurt, Alemania, o las salchichas Bolonia de Bolonia, Italia (Knipe, 2014).

El proceso de elaboración del embutido cárnico tipo salchicha comienza con la trituración de la carne de ave, res o cerdo, la cual es sometida a una serie de modificaciones para lograr una pasta homogénea y consistente. En primer lugar, se añade la sal e ingredientes no cárnicos (agua/hielo, azúcares, proteínas, féculas, aromas y especias) y una mezcla de aditivos (nitritos y nitratos, fosfatos, colorantes, antioxidantes, potenciadores del sabor, conservantes). La grasa además de presentar un papel importante en la formación de la emulsión cárnica se encuentra relacionada con la intensidad del sabor, jugosidad y ternura de las salchichas. Mientras que el agua realiza diversas funciones, tales como curar, regular la temperatura de la masa, además de impactar en la textura y jugosidad del producto (Lonergan et al., 2019). Luego, se procede a aplicar acción mecánica para lograr la unión de los ingredientes y formar una estructura similar a la de una emulsión (Keenan, 2016). Esta emulsión o embutido cárnico se distingue de una emulsión verdadera por ser una dispersión de partículas de grasa en una matriz de proteínas solubilizadas, ingredientes no cárnicos y agua.

Las proteínas solubles en sal (proteínas miofibrilares) son los emulsionantes primarios en la emulsión cárnica. La interacción de los iones de sodio y cloruro presentes en una solución salina y los grupos cargados de las proteínas miofibrilares produce proteínas solubles, que se liberan aún más durante el proceso de corte y mezcla para interactuar con las partículas de grasa. Como resultado, de las proteínas solubilizadas y el agua se obtiene una matriz estable que encapsula las partículas de grasa y forma una masa estable para los embutidos cárnicos tipo salchichas tal como se ejemplifica en la Figura 10 (Lonergan et al., 2019).



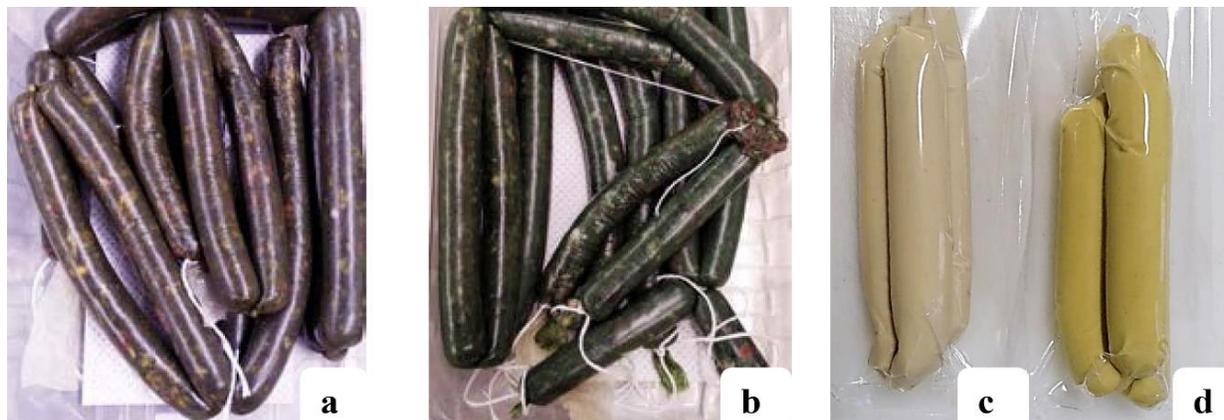
**Figura 10.** Ejemplo de la estructura física de la matriz de emulsión en salchichas.

**Fuente:** Modificado de Lonergan et al. (2019).

La masa viscosa resultante es embutida en tripas de colágeno y atada en eslabones de salchicha para someterlas a tratamiento térmico que permite la estabilización de la mezcla manteniendo su forma y textura deseada inducida por la desnaturalización y gelatinización de las proteínas termolábiles (colágeno) en la mezcla (Keenan, 2016).

Las investigaciones en el procesamiento productos cárnicos emulsionados se enfocan en crear nuevas y novedosas formas de elaborar embutidos cárnicos tipo salchichas saludables, prácticas, que agreguen valor al producto final y mejoren sus cualidades al tiempo que se promueven las propiedades físicas, apariencia visual y seguridad microbiana (Smetana et al., 2019). Una de estas propuestas ha sido la adición de nuevos aditivos no cárnicos, tales como almidones, gomas hidrocoloides, fibras, féculas, aislados y concentrados de proteínas vegetales y de microalgas (Jiang et al., 2020; Rocchetti et al., 2023). Bajo este contexto, el uso de microalgas como ingredientes funcionales puede proporcionar proteínas y otros nutrientes importantes para la nutrición humana. Marti-Quijal et al. (2019), concluyeron que la adición de microalgas (*Chlorella* y *Spirulina*) aumentó los perfiles nutricionales, enriqueciendo las salchichas. Bošković et al. (2023), exploraron el potencial de aplicación de *Chlorella vulgaris* blanca y miel, creando

salchichas sensorialmente aceptables y ricas en micronutrientes (K, Ca, P y Zn), fortificadas en el perfil de aminoácidos esenciales. La inclusión de estas microalgas es adecuada para el desarrollo de nuevos productos cárnicos (Figura 11), ya que mejora su perfil nutricional.



**Figura 11.** Apariencia visual de salchichas Frankfurt. **a.** Salchichas preparadas con proteína *Chlorella*; **b.** salchichas preparadas con proteína de espirulina; **c.** Salchichas preparadas con proteína *Chlorella* blanca y **d.** Salchichas preparadas con proteína *Chlorella* miel.

**Fuente:** Adaptado de Marti-Quijal et al. (2019) y Bošković et al. (2023).

#### 7.6.1.2 Aplicación de algas y microalgas en productos cárnicos

La industria cárnica se adapta a los nuevos conceptos de salud y nutrición, donde la inclusión de ingredientes alimentarios funcionales en la formulación de productos cárnicos representa una excelente oportunidad para satisfacer la demanda de alimentos con beneficios a la salud más allá de la nutrición básica (Lafarga et al., 2020). La inclusión de algas y microalgas en la reformulación de productos cárnicos ofrece oportunidades tecnológicas que permiten la mejora de su valor nutricional, funcional y atributos de calidad, así como la reducción de costos (Cofrades et al., 2017). Además de mejorar la textura y jugosidad de los productos finales, por lo tanto, han sido incorporadas en la formulación de diversos productos cárnicos (Cuadro 5) (Bošković et al., 2023).

Al consumo de la biomasa de *Arthrospira maxima* y alimentos incorporados, se le atribuyen diversas funciones biológicas por encima de su valor nutricional, sin embargo, vale la pena investigar las propiedades funcionales y estructurales de las proteínas extraídas (proteínas concentrados y aislados) de esta microalga (Lupatini et al., 2019). Ya que se ha informado que poseen importantes propiedades funcionales (principalmente de absorción de agua y aceite, capacidad de emulsión y estabilización) deseadas en la formulación de diversos productos cárnicos (Benelhadj et al., 2016; Bertsch et al., 2021).

**Cuadro 5.** Aplicación de algas y microalgas en el desarrollo de productos cárnicos.

Descripción del producto	Contenido de algas y microalgas
Empanadas de carne	Algas Wakame ( <i>Undaria pinnatifida</i> ) (3%)
Filetes de aves reestructurados frescos	Espaguetis de mar ( <i>Himanthalia elongata</i> ) (3%)
Carne picada de cerdo	<i>Laminaria digitada</i> (3 y 6 mg/mL)
Hamburguesas de carne de vacuno	Espaguetis de mar ( <i>Himanthalia elongata</i> ) (10 - 40%) Wakame ( <i>Undaria pinnatifida</i> ) (3%)
Filetes de pollo	Espaguetis de mar ( <i>Himanthalia elongata</i> ) (3%)
Pollo rotti	<i>Chlorella</i> y <i>spirulina</i> (1%)
Carne molida de pechuga de pollo	Wakame ( <i>Undaria pinnatifida</i> ) (200 mg/kg)
Productos pesqueros	<i>Fucus vesiculosus</i> (300 mg/kg)
Tilapia picada	Nori ( <i>Porphyra tenera</i> ) y Hijiki ( <i>Hijikia fusiformis</i> ) (25 y 50 g de equivalentes de ácido gálico/g de muestra)
Chuleta de pescado	<i>Eucheuma</i> (5, 7.5, 10, 12.5 y 15%)
Cecina de pescado	<i>Sargassum wightii</i> (0.3 y 5%)
Frankfurters	Espaguetis de mar ( <i>Himanthalia elongata</i> ), wakame ( <i>Undaria pinnatifida</i> ) y nori ( <i>Porphyra umbilicales</i> ) (0 y 5.5%) Espaguetis de mar ( <i>Himanthalia elongata</i> ) (3.3%) <i>Lamina japónica</i> (1, 2, 3 y 4%)
Frankfurters bajas en grasa y en sal	<i>Himanthalia elongata</i> (5%)

**Fuente:** Adaptado (Cofrades et al. 2017; Roohinejad et al. 2017; Pamiakov et al. 2018).

## 8. LITERATURA CITADA

- Adenekan, M.K., Fadimu, G.J., Odunmbaku, L.A., & Oke, E.K. (2018). Effect of isolation techniques on the characteristics of pigeon pea (*Cajanus cajan*) protein isolates. *Food Science & Nutrition*, 6(1), 146–152. <https://doi.org/10.1002/fsn3.539>
- Allievi, F., Antonelli, M., Dembska, K., & Principato, L. (2019). Understanding the global food system. En R. Valentini, J. L. Sievenpiper, M. Antonelli, & K. Dembska (Eds.), *Achieving the Sustainable Development Goals Through Sustainable Food Systems* (pp. 3–23). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-23969-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-23969-5_1)
- Alzagat, A.A., & Alli, I. (2009). Protein-lipid interactions in food systems: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 53(3), 249–260. <https://doi.org/10.1080/09637480220132850>
- Aparamarta, H.W., Gunawan, S., Husin, H., Azhar, B., & Tri Aditya, H. (2020). The effect of high oleic and linoleic fatty acid composition for quality and economical of biodiesel from crude *Calophyllum inophyllum* oil (Ccio) with microwave-assisted extraction (Mae), batchwise solvent extraction (Bse), and combination of MAE–BSE methods. *Energy Reports*, 6, 3240–3248. <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2020.11.197>
- Arnal, Á., Royo, P., Pataro, G., Ferrari, G., Ferreira, V., López-Sabirón, A., & Ferreira, G. (2018). Implementation of pef treatment at real-scale tomatoes processing considering lca methodology as an innovation strategy in the agri-food sector. *Sustainability*, 10(4), 979. <https://doi.org/10.3390/su10040979>
- Arteni, A.A., Ajlani, G., & Boekema, E.J. (2009). Structural organisation of phycobilisomes from *Synechocystis* sp. Strain PCC6803 and their interaction with the membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1787(4), 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.01.009>
- Badui Dergal, S. (2006) *Química de los alimentos*. Pearson Educación, México, 603-617.
- Barac, M., Čabrilo, S., Pešić, M., Stanojević, S., Pavličević, M., Maćej, O., & Ristić, N. (2011). Functional properties of pea (*Pisum sativum*, L.) protein isolates modified with chymosin. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(12), 8372–8387. <https://doi.org/10.3390/ijms12128372>
- Barati, M., Javanmardi, F., Mousavi Jazayeri, S.M.H., Jabbari, M., Rahmani, J., Barati, F., Nickho, H., Davoodi, S.H., Roshanravan, N., & Mousavi Khaneghah, A. (2020). Techniques, perspectives, and challenges of bioactive peptide generation: A comprehensive systematic review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1488–1520. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12578>
- Bashir, S., Sharif, M.K., Butt, M.S., & Shahid, M. (2016). Functional properties and amino acid profile of *spirulina platensis* protein isolates. *Biological Sciences - PJSIR*, 59(1), 12–19. <https://doi.org/10.52763/PJSIR.BIOL.SCI.59.1.2016.12.19>
- Benelhadj, S., Douiri, S., Ghouilli, A., Hassen, R.B., Keshk, S.M.A.S., El-kott, A., Attia, H., &

- Ghorbel, D. (2023). Extraction of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) proteins via Osborne sequential procedure: Structural and functional characterizations. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 104984. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104984>
- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein isolate. *Food Chemistry*, 194, 1056–1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.133>
- Bernaerts, T.M.M., Gheysen, L., Foubert, I., Hendrickx, M.E., & Van Loey, A.M. (2019). The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review. *Biotechnology Advances*, 37(8), 107419. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107419>
- Bertsch, P., Böcker, L., Mathys, A., & Fischer, P. (2021). Proteins from microalgae for the stabilization of fluid interfaces, emulsions, and foams. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 326–342. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.014>
- Bigliardi, B., & Filippelli, S. (2022). A review of the literature on innovation in the agrofood industry: Sustainability, smartness and health. *European Journal of Innovation Management*, 25(6), 589–611. <https://doi.org/10.1108/EJIM-05-2021-0258>
- Bleakley, S., & Hayes, M. (2017). Algal proteins: Extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), 33. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
- Bohórquez-Medina, S.L., Bohórquez-Medina, A.L., Benites Zapata, V.A., Ignacio-Cconchoy, F.L., Toro-Huamanchumo, C.J., Bendezu-Quispe, G., Pacheco-Mendoza, J., & Hernandez, A.V. (2021). Impact of spirulina supplementation on obesity-related metabolic disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *NFS Journal*, 25, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.09.003>
- Bolger, Z., Brunton, N.P., Lyng, J.G., & Monahan, F.J. (2017). Comminuted meat products—Consumption, composition, and approaches to healthier formulations. *Food Reviews International*, 33(2), 143–166. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1149861>
- Bošković C.M., Glišić, M., Baltić, M., Jovanović, D., Silađi, Č., Simunović, S., Tomašević, I., & Raymundo, A. (2023). White and honey *Chlorella vulgaris*: Sustainable ingredients with the potential to improve nutritional value of pork frankfurters without compromising quality. *Meat Science*, 198, 109123. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109123>
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Brishti, F.H., Chay, S.Y., Muhammad, K., Ismail-Fitry, M.R., Zarei, M., Saari, N. (2021). Texturized mung bean protein as a sustainable food source: Effects of extrusion on its physical, textural and protein quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, Article 102591.
- Carrillo-Lopez, L.M., Garcia-Galicia, I.A., Tirado-Gallegos, J.M., Sanchez-Vega, R., Huerta-

- Jimenez, M., Ashokkumar, M., & Alarcon-Rojo, A.D. (2021). Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105467. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105467>
- Castejón, N., Thorarinsdottir, K.A., Einarsdóttir, R., Kristbergsson, K., & Marteinsdóttir, G. (2021). Exploring the potential of icelandic seaweeds extracts produced by aqueous pulsed electric fields-assisted extraction for cosmetic applications. *Marine Drugs*, 19(12), 662. <https://doi.org/10.3390/md19120662>
- Chang, L., Liu, X., Li, Y., Liu, C.-C., Yang, F., Zhao, J., & Sui, S.-F. (2015). Structural organization of an intact phycobilisome and its association with photosystem II. *Cell Research*, 25(6), 726–737. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.59>
- Cheftel, J.C., Cuq, J.L. and Lorient, D. (1989). "Dietary Proteins". Functional properties. Ed. Acribia S.A. p. 5–13.
- Cofrades, S., Benedí, J., Garcimartin, A., Sánchez-Muniz, F.J., & Jimenez-Colmenero, F. (2017). A comprehensive approach to formulation of seaweed-enriched meat products: From technological development to assessment of healthy properties. *Food Research International*, 99, 1084-1094. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.029>
- Comisión Europea. (2018). Commission implementing Regulation (EU) 2018/1023 of 23 July 2018 correcting Implementing Regulation (EU) 2017/2470 establishing the Union list of novel foods Off. J. Eur. Union L, 187, 1-133.
- Coombs, C.E.O., Holman, B.W.B., Friend, M.A., & Hopkins, D.L. (2017). Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. *Meat Science*, 125, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.025>
- Dagnino-Leone, J., Figueroa, C.P., Castañeda, M.L., Youlton, A.D., Vallejos-Almirall, A., Agurto-Muñoz, A., Pavón Pérez, J., & Agurto-Muñoz, C. (2022). Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20, 1506–1527. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.016>
- Damodaran, S. (2006). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70(3), R54–R66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07150.x>
- Damodaran, S., Parkin, K.L., & Fennema, O.R. (2008). *Fennema's food chemistry* (Fourth edition). CRC Press/Taylor & Francis.
- Damodaran, S., & Parkin, K.L. (2017). *Fennema's food chemistry* (Fifth edition). CRC Press.
- de Jesus, C.S., da Silva, U.L., Costa, S.S., Miranda, A.L., de Morais, E.G., de Morais, M.G., Costa, J.A.V., Nunes, I.L., de Souza, F.E., & 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, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.149>

- De Mendonça, H.V., Assemany, P., Abreu, M., Couto, E., Maciel, A.M., Duarte, R.L., Barbosa Dos Santos, M.G., & Reis, A. (2021). Microalgae in a global world: New solutions for old problems?. *Renewable Energy*, 165, 842–862. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.11.014>
- Dickinson, E. (2010). Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.033>
- Dickinson, E. (2019). Strategies to control and inhibit the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 96, 209–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.021>
- Drenckhan, W., & Hutzler, S. (2015). Structure and energy of liquid foams. *Advances in Colloid and Interface Science*, 224, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.05.004>
- EFSA. Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. 2021. Estrategia 2027 de la EFSA: Ciencia, seguridad alimentaria y sostenibilidad | EFSA. (2021, julio 13). <https://www.efsa.europa.eu/es/corporate-pubs/efsa-strategy-2027-science-safe-food-sustainability>
- Evangelho, J.A.D., Vanier, N.L., Pinto, V.Z., Berrios, J.J.D., Dias, A.R.G., & Zavareze, E.D.R. (2017). Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates: Physicochemical and functional properties. *Food Chemistry*, 214, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.046>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1996. La Cumbre Mundial sobre la Alimentación y su seguimiento. [https://www.fao.org/3/x2051s/x2051s00.htm#P112\\_9205](https://www.fao.org/3/x2051s/x2051s00.htm#P112_9205)
- Fasolin, L.H., Pereira, R.N., Pinheiro, A.C., Martins, J.T., Andrade, C.C.P., Ramos, O.L., & Vicente, A.A. (2019). Emergent food proteins – Towards sustainability, health and innovation. *Food Research International*, 125, 108586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108586>
- Fu, J., Ren, Y., Jiang, F., Wang, L., Yu, X., & Du, S. (2022). Effects of pulsed ultrasonic treatment on the structural and functional properties of cottonseed protein isolate. *LWT - Food Science and Technology*, 172, 114143. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114143>
- Gaudette, N.J., & Pietrasik, Z. (2017). The sensory impact of salt replacers and flavor enhancer in reduced sodium processed meats is matrix dependent: GAUDETTE and Pietrasik. *Journal of Sensory Studies*, 32(1), e12247. <https://doi.org/10.1111/joss.12247>
- Geda, P., Moreira, C., Silva, M., Nunes, R., Madureira, L., Rocha, C.M.R., Pereira, R.N., Vicente, A.A., & Teixeira, J.A. (2021). Algal proteins: Production strategies and nutritional and functional properties. *Bioresource Technology*, 332, 125125. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125125>
- Geda, P., Vasconcelos, V., Vicente, A., & Fernandes, B. (2017). Chapter 13–Microalgal biomass cultivation. *Algal Green Chemistry*, 257–284. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63784->

0.00013-8

- Godbey, W.T. (2022). Proteins. En *Biotechnology and its Applications*, 2, 47–72. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817726-6.00003-4>
- Golberg, A., Sack, M., Teissie, J., Pataro, G., Pliquet, U., Saulis, G., Stefan, T., Miklavcic, D., Vorobiev, E., & Frey, W. (2016). Energy-efficient biomass processing with pulsed electric fields for bioeconomy and sustainable development. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 94. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0508-z>
- Gromiha, M.M. (2010). Proteins. En *Protein Bioinformatics*, 1–27. <https://doi.org/10.1016/B978-8-1312-2297-3.50001-1>
- Grossmann, L., Ebert, S., Hinrichs, J., & Weiss, J. (2018). Effect of precipitation, lyophilization, and organic solvent extraction on preparation of protein-rich powders from the microalgae *Chlorella protothecoides*. *Algal Research*, 29, 266–276. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.019>
- Grossmann, L., Hinrichs, J., & Weiss, J. (2020). Cultivation and downstream processing of microalgae and cyanobacteria to generate protein-based technofunctional food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(17), 2961–2989. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1672137>
- Grossmann, L., & McClements, D. J. (2023). Current insights into protein solubility: A review of its importance for alternative proteins. *Food Hydrocolloids*, 137, 108416. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108416>
- Hall, G.M. (1996). *Methods of testing protein functionality*; Blackie Academic & Professional: London, UK, 265.
- Hou, Y., & Wu, G. (2018). Nutritionally essential amino acids. *Advances in Nutrition*, 9(6), 849–851. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy054>
- Hou, Y., Yin, Y., & Wu, G. (2015). Dietary essentiality of “nutritionally non-essential amino acids” for animals and humans. *Experimental Biology and Medicine*, 240(8), 997–1007. <https://doi.org/10.1177/1535370215587913>
- Jain, A., Subramanian, R., Manohar, B., & Radha, C. (2019). Preparation, characterization and functional properties of *Moringa oleifera* seed protein isolate. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 2093–2104. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03690-0>
- Jamdar, S.N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V., & Sharma, A. (2010). Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 121(1), 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.027>
- Jia, X.-y., Zhu, M.-f., Zhang, L., Ma, T.-X., Li, Y.-h., Sheng, W.-s., & Tu, Z.-c. (2022). Extraction optimization and screening of antioxidant peptides from grass carp meat and synergistic–antagonistic effect. *Food Science & Nutrition*, 10(5), 1481–1493. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2765>

- Jiang, S., Zhao, S., Jia, X., Wang, H., Zhang, H., Liu, Q., & Kong, B. (2020). Thermal gelling properties and structural properties of myofibrillar protein including thermo-reversible and thermo-irreversible curdland gels. *Food Chemistry*, 311, 126018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126018>
- Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J.-H. (2019). *Spirulina platensis*, a super food?. *Journal of Cellular Biotechnology*, 5(1), 43–54. <https://doi.org/10.3233/JCB-189012>
- Kadam, S.U., Tiwari, B.K., Álvarez, C., & O'Donnell, C.P. (2015). Ultrasound applications for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.012>
- Kameník, J., Saláková, A., Vyskočilová, V., Pechová, A., & Haruštiaková, D. (2017). Salt, sodium chloride or sodium? Content and relationship with chemical, instrumental and sensory attributes in cooked meat products. *Meat Science*, 131, 196–202. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.010>
- Kaur, R., & Ghoshal, G. (2022). Sunflower protein isolates-composition, extraction and functional properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 306, 102725. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102725>
- Keenan, D.F. (2016). Pork meat quality, production and processing on. En B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 419-431). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00551-1>
- Kinsella, J. (1981). Functional properties of proteins: Possible relationships between structure and function in foams. *Food Chemistry*, 7(4), 273–288. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(81\)90033-9](https://doi.org/10.1016/0308-8146(81)90033-9)
- Knipe, C.L. (2014). Sausages, types of cooked. En *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 241-247). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00144-6>
- Kumari, P., Kumar, M., Reddy, C.R.K., & Jha, B. (2014). Nitrate and phosphate regimes induced lipidomic and biochemical changes in the intertidal macroalga *Ulva lactuca* (*Ulvophyceae, chlorophyta*). *Plant and Cell Physiology*, 55(1), 52–63. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct156>
- Lafarga, T. (2019). Effect of microalgal biomass incorporation into foods: Nutritional and sensorial attributes of the end products. *Algal Research*, 41, 101566. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101566>
- Lafarga, T., Acién-Fernández, F.G., Castellari, M., Villaró, S., Bobo, G., & Aguiló-Aguayo, I. (2019). Effect of microalgae incorporation on the physicochemical, nutritional, and sensorial properties of an innovative broccoli soup. *LWT*, 111, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.037>
- Lafarga, T., Fernández-Sevilla, J.M., González-López, C., & Acién-Fernández, F.G. (2020). *Spirulina* for the food and functional food industries. *Food Research International*, 137, 109356. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356>

- Lam, A.C.Y., Can Karaca, A., Tyler, R.T., & Nickerson, M.T. (2018). Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*, 34(2), 126–147. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>
- Lee, C.-H. (2017). A simple outline of methods for protein isolation and purification. *Endocrinology and Metabolism*, 32(1), 18. <https://doi.org/10.3803/EnM.2017.32.1.18>
- Liceaga, A.M., & Hall, F. (2019). Nutritional, functional and bioactive protein hydrolysates. *En Encyclopedia of Food Chemistry*, 456–464. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21776-9>
- Litwack, G. (2018). Proteins. *En Human Biochemistry*, 63–94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-383864-3.00004-1>
- Liu, Z., Deng, B., Li, S., & Zou, Z. (2018). Optimization of solvent-free microwave assisted extraction of essential oil from *Cinnamomum camphora* leaves. *Industrial Crops and Products*, 124, 353–362. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.016>
- Llompart, M., Celeiro, M., & Dagnac, T. (2019). Microwave-assisted extraction of pharmaceuticals, personal care products and industrial contaminants in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 136–150. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.029>
- Lonergan, S.M., Topel, D.G., & Marple, D.N. (2019). Sausage processing and production. *En The Science of Animal Growth and Meat Technology* (pp. 229-253). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815277-5.00014-7>
- López, D.N., Galante, M., Robson, M., Boeris, V., & Spelzini, D. (2018). Amaranth, quinoa and chia protein isolates: Physicochemical and structural properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.080>
- López-Rodríguez, A., Mayorga, J., Flaig, D., Fuentes, G., Cotabarren, J., Obregón, W.D., & Gómez, P.I. (2021). Comparison of two strains of the edible cyanobacteria *Arthrospira*: Biochemical characterization and antioxidant properties. *Food Bioscience*, 42, 101144. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101144>
- Lupatini, M.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>
- Lupatini, M.A.L., Souza, L.E.S. de, Colla, L.M., Costa, J.A.V., Sehn, E., Bittencourt, P.R. S., Moraes Flores, É.L. de, Canan, C., & Colla, E. (2019). Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. *LWT*, 114, 108267. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108267>
- Mahnič-Kalamiza, S., Vorobiev, E., & Miklavčič, D. (2014). Electroporation in food processing and biorefinery. *The Journal of Membrane Biology*, 247(12), 1279–1304.

<https://doi.org/10.1007/s00232-014-9737-x>

- Matarneh, S.K., Scheffler, T.L., & Gerrard, D.E. (2023). Chapter 5–The conversion of muscle to meat. F. Toldrá (Ed.), *Lawrie’s Meat Science (Ninth Edition)* (pp. 159-194). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85408-5.00010-8>
- Marti-Quijal, F.J., Zamuz, S., Tomašević, I., Gómez, B., Rocchetti, G., Lucini, L., Remize, F., Barba, F.J., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.097>
- Mleko, S., Kristinsson, H.G., Liang, Y., & Gustaw, W. (2007). Rheological properties of foams generated from egg albumin after pH treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 40(5), 908–914. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.04.007>
- Naciones Unidas. (2015). Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Objetivo 12: Garantizar patrones de producción y consumo sostenibles. Recuperado de <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/sustainable-consumption-production/>
- Nadathur, S.R., Wanasundara, J.P.D., & Scanlin, L. (2017). Proteins in the diet. En *Sustainable Protein Sources* (pp. 1–19). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00001-9>
- Nguyen, A.V. (2002). Liquid drainage in single plateau borders of foam. *Journal of Colloid and Interface Science*, 249(1), 194–199. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.8176>
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Nova, P., Martins, A.P., Teixeira, C., Abreu, H., Silva, J.G., Silva, A.M., Freitas, A.C., & Gomes, A.M. (2020). Foods with microalgae and seaweeds fostering consumers health: A review on scientific and market innovations. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1789-1802. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02129-w>
- Nowosad, K., Sujka, M., Pankiewicz, U., & Kowalski, R. (2021). The application of PEF technology in food processing and human nutrition. *Journal of Food Science and Technology*, 58(2), 397–411. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04512-4>
- OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos). (2018). *Oslo Manual 2018: Guidelines for Collecting, Reporting and Using Data on Innovation*, 4th Edition. Organisation for Economic Co-operation and Development. OECD iLibrary, [https://www.oecd-ilibrary.org/science-and-technology/oslo-manual-2018\\_9789264304604-en;jsessionid=aYv8tkFePDSH-NM5m0Fy8-bh.ip-10-240-5-172](https://www.oecd-ilibrary.org/science-and-technology/oslo-manual-2018_9789264304604-en;jsessionid=aYv8tkFePDSH-NM5m0Fy8-bh.ip-10-240-5-172).
- Pal, R. (2011). Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16(1), 41–60. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.10.001>

- Parniakov, O., Toepfl, S., Barba, F.J., Granato, D., Zamuz, S., Galvez, F., & Lorenzo, J.M. (2018). Impact of the soy protein replacement by legumes and algae based proteins on the quality of chicken rotti. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2552-2559. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3175-1>
- Postma, P.R., Cerezo-Chinarro, O., Akkerman, R.J., Olivieri, G., Wijffels, R.H., Brandenburg, W.A., & Eppink, M.H.M. (2018). Biorefinery of the macroalgae *Ulva lactuca*: Extraction of proteins and carbohydrates by mild disintegration. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1319-8>
- Ravera, F., Dziza, K., Santini, E., Cristofolini, L., & Liggieri, L. (2021). Emulsification and emulsion stability: The role of the interfacial properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 288, 102344. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102344>
- Razi, S.M., Fahim, H., Amirabadi, S., & Rashidinejad, A. (2023). An overview of the functional properties of egg white proteins and their application in the food industry. *Food Hydrocolloids*, 135, 108183. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108183>
- Rocchetti, G., Ferronato, G., Sarv, V., Kerner, K., Venskutonis, P.R., & Lucini, L. (2023). Meat extenders from different sources as protein-rich alternatives to improve the technological properties and functional quality of meat products. *Current Opinion in Food Science*, 49, 100967. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100967>
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M., & Greiner, R. (2017). Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Research International*, 99, 1066–1083. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.016>
- Roy, M. (2021). Chapter 1- Introduction to sustainable development. En M. Roy (Ed.), *Sustainable Development Strategies* (pp. 1-25). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818920-7.00005-0>
- Sá, A.G.A., Moreno, Y.M.F., & Carciofi, B.A.M. (2020). Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(20), 3367–3386. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>
- Sangamithra, A., Venkatachalam, S., John, S.G., & Kuppaswamy, K. (2015). Foam mat drying of food materials: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 3165–3174. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12421>
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd\_Allah, E.F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 709–722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>
- Schumpeter, J.A. (1911). *The Theory of Economic Development*. Cambridge Mass: Harvard University Press.
- Schwenzfeier, A., Helbig, A., Wierenga, P.A., & Gruppen, H. (2013). Emulsion properties of algae soluble protein isolate from *Tetraselmis* sp. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 258–263.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.06.002>
- Shevkani, K., Singh, N., Chen, Y., Kaur, A., & Yu, L. (2019). Pulse proteins: Secondary structure, functionality and applications. *Journal of Food Science and Technology*, 56(6), 2787–2798. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03723-8>
- Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., & Rana, J.C. (2015). Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 43, 679–689. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.024>
- Shevkani, K., Singh, N., Rana, J.C., & Kaur, A. (2014). Relationship between physicochemical and functional properties of amaranth (*amaranthus hypochondriacus*) protein isolates. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(2), 541–550. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12335>
- Shrestha, S., Hag, L. van 't, Haritos, V.S., & Dhital, S. (2021). Lupin proteins: Structure, isolation and application. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 928–939. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.035>
- Shrestha, S., van 't Hag, L., Haritos, V.S., & Dhital, S. (2023). Lentil and Mungbean protein isolates: Processing, functional properties, and potential food applications. *Food Hydrocolloids*, 135, 108142. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108142>
- Sidler, W.A. (1994). Phycobilisome and phycobiliprotein structures. En D. A. Bryant (Ed.), *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (pp. 139–216). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0227-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0227-8_7)
- Smetana, S., Terjung, N., Aganovic, K., Alahakoon, A.U., Oey, I., & Heinz, V. (2019). Emerging technologies of meat processing. En *Sustainable Meat Production and Processing*, 181–205. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814874-7.00010-9>
- Soni, R.A., Sudhakar, K., & Rana, R.S. (2017). *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Stone, A.K., Avarmenko, N.A., Warkentin, T.D., & Nickerson, M.T. (2015). Functional properties of protein isolates from different pea cultivars. *Food Science and Biotechnology*, 24(3), 827–833. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0107-y>
- Stone, A.K., Wang, Y., Tulbek, M., & Nickerson, M.T. (2019). Plant protein ingredients. En *Encyclopedia of Food Chemistry* 1,229–234. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21601-6>
- Sun, X.D., & Arntfield, S.D. (2011). Dynamic oscillatory rheological measurement and thermal properties of pea protein extracted by salt method: Effect of pH and NaCl. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 577–582. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.008>
- Supply, A.R. (2016). Morphology of spirulina. *Algae Research Supply*. Recuperado el 24 de abril de 2023 <https://algaeresearchsupply.com/blogs/news/117805380-morphology-of-spirulina>

- Tiwari, B.K. & Singh, N. (2012). Pulse chemistry and Technology. Royal Society of Chemistry (Ed). RSC. Publishing. Cambridge. Milton, Cambridge. 310 p.
- Torgersen, H., & Toledo, R.T. (1977). Physical properties of protein preparations related to their functional characteristics in comminuted meat systems. *Journal of Food Science*, 42(6), 1615–1620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb08440.x>
- Vermaas, W.F. (2001). Photosynthesis and respiration in cyanobacteria. En John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *ELS* (1a ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001670>
- Wall, P., & Kennedy, J. (2011). Food safety and processed meats: Globalisation and the challenges. En *Processed Meats*, 54–71. <https://doi.org/10.1533/9780857092946.1.54>
- Wani, I.A., Sogi, D.S., Shivhare, U.S., & Gill, B.S. (2015). Physico-chemical and functional properties of native and hydrolyzed kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates. *Food Research International*, 76, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.027>
- WCED World Commission on Environment and Development. (1987). *Our Common Future*. Oxford University Press, Oxford (often referred to simply as the UN’s “Brundtland Commission Report”).
- Wu, G. (2009). Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 37(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0269-0>
- Yada, R.Y. (2018). *Proteins in food processing* (2 ed). Woodhead publ. Elsevier.
- Yang, L., Guo, Z., Wei, J., Han, L., Yu, Q.I., Chen, H., Chen, Y., & Zhang, W. (2021). Extraction of low molecular weight peptides from bovine bone using ultrasound-assisted double enzyme hydrolysis: Impact on the antioxidant activities of the extracted peptides. *LWT-Food Science and Technology*, 146, 111470. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111470>
- Yu, M.H., & Glazer, A.N. (1982). Cyanobacterial phycobilisomes. Role of the linker polypeptides in the assembly of phycocyanin. *Journal of Biological Chemistry*, 257(7), 3429–3433. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)34795-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)34795-1)
- Yust, M.D.M., Pedroche, J., Millán-Linares, M.D.C., Alcaide-Hidalgo, J.M., & Millán, F. (2010). Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. *Food Chemistry*, 122(4), 1212-1217. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.121>
- Zayas, J.F. (1997). *Functionality of proteins in food*. Springer Science & Business Media, 373.
- Zhao, P., Gan, W., Feng, C., Qu, Z., Liu, J., Wu, Z., Gong, Y., & Zeng, B. (2020). Multiphysics analysis for unusual heat convection in microwave heating liquid. *AIP Advances*, 10(8), 085201. <https://doi.org/10.1063/5.0013295>
- Zheng, J.-X., Yin, H., Shen, C.-C., Zhang, L., Ren, D.-F., & Lu, J. (2020). Functional and structural properties of spirulina phycocyanin modified by ultra-high-pressure composite glycation. *Food Chemistry*, 306, 125615. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125615>

# CAPÍTULO I

## OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE ESPIRULINA (*Arthrospira maxima*) CULTIVADA EN ZONA TROPICAL

### 1.1 RESUMEN

Los aislados proteicos (AP) son proteínas extraídas de alimentos enteros; el de soya es el aislado vegetal más conocido y utilizado en la industria alimentaria. Dentro de las fuentes emergentes para la obtención de AP se encuentran las microalgas; el género *Arthrospira maxima* es fuente importante de proteínas con un contenido entre 50-60% en peso, de fácil digestión y puede ser cultivada con poca inversión de infraestructura. El objetivo de este trabajo fue obtener espirulina (*A. maxima*) en polvo (EP) de la producción de los cultivos a cielo abierto en una zona tropical de la región de Córdoba, Veracruz, México. La EP presentó un contenido de proteína de  $60.958 \pm 0.505\%$ , se utilizó el método de solubilización alcalina y precipitación isoelectrica para la obtención del AP el cual presentó un contenido proteico del  $77.583 \pm 0.505\%$ . La EP como el AP se caracterizó fisicoquímicamente, se comparó su estructura química mediante espectroscopia infrarroja FTIR observándose un aumento en la absorción en la región de las proteínas ( $1647-1539 \text{ cm}^{-1}$ ); lo cual se asocia con un incremento en la concentración de proteínas del AP. Se concluye que el AP de espirulina tiene potencial para ser considerado una fuente de consumo alterna de proteínas animal y vegetal.

**Palabras clave:** Proteínas, aislados proteicos, alimentos, espirulina.

### 1.2 INTRODUCCIÓN

Las proteínas son componentes principales de los alimentos, debido a su importancia nutricional y comercial, han sido estudiados con detalle por la industria alimentaria con fines tecnológicos y funcionales (Fernández et al., 1997). Derivado del incremento de la demanda proteínica en el mundo, las proteínas alternativas a la proteína animal han llegado para innovar a la industria alimentaria. Entre ellas las de origen vegetal, cuyas características principales y que a diferencia de la proteína animal es que no aportan colesterol y son ricas en fibra (Lee et al., 2020).

La proteína vegetal más estudiada y utilizada ha sido la de soya seguido de las legumbres, cereales, frutos secos y setas (Nagano et al., 1996, Henn et al., 1998). El desarrollo de estas nuevas fuentes

de proteína presenta ventajas como un rendimiento superior, la reducción en los costes de producción, la disminución considerable del impacto ambiental (si las comparamos con sus homólogos procedentes de animales), la solución a uno de los retos más decisivos de la industria: el acceso a alimentos sanos, seguros y comprometidos con el medio ambiente a una población mundial en constante aumento (Lee et al., 2020). Una fuente alimentaria económica, sostenible y de alto rendimiento de biomasa por unidad de superficie es la microalga espirulina (*A. maxima*), el proceso de producción de biomasa es rápido y económico ya que puede ser utilizada para su cultivo agua potable, de río y lluvia etc. (Torres et al., 2020).

La espirulina es una cianobacteria microscópica, multicelular, fotosintética y filamentosa de color verde-azulado (Wan et al., 2016). En la tierra surgió aproximadamente hace 3.6 millones de años por un proceso evolutivo entre las bacterias y las plantas verdes (Zaid et al., 2015). Los aztecas la conocían como “tecuitlatl”-excremento de piedra en náhuatl, y era parte de su dieta básica, su producción natural se realizaba en el Lago de Texcoco, México, un lago alcalino (Ramírez y Olvera, 2006). En cuanto a su composición química contiene proteína (50-60 %) de alto valor biológico y de fácil digestibilidad (García et al., 2017), lo que la hace un candidato viable para la obtención de aislados proteicos. El proceso de producción de un aislado proteínico consiste básicamente en una concentración y/o purificación de la proteína de un 70 al 90%. Para conseguir dicho propósito se realiza una extracción, concentración y deshidratación de la proteína. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue la obtención de un aislado proteico no convencional de espirulina (*A. maxima*), la cual se ha cultivado en zona tropical.

## **1.3 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO**

### **1.3.1 Producción de espirulina**

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México, en el área experimental de cultivo. Se utilizó el medio Jourdan para la producción de la espirulina (*A. maxima*), las sales nutritivas sulfato de magnesio pentahidratado y nitrato de potasio se adquirieron de Fermont (Monterrey, México), el bicarbonato de sodio y fosfato de sodio dibásico de Sigma Aldrich (Toluca, México) y se utilizó agua potable baja en sales. Se utilizaron fotobiorreactores con capacidad de 5 L en condiciones de invernadero con aeración e iluminación solar natural (diseño propio), durante 15 d. La recolección de la biomasa

se realizó mediante un proceso de filtrado (tela de 40 micras, 200 hilos/cm<sup>3</sup>) de un 1/3 del volumen del medio cultivo; posteriormente, la espirulina se lavó con agua potable a fin de retirar el exceso de las sales nutritivas. La biomasa fresca y limpia se sometió a un proceso de deshidratación (Excalibur, 2900ECB, Estados Unidos) a 46 °C durante 4 h y la materia seca obtenida se trituró en un procesador de alimentos (Nutribullet, NB101B; China).

### **1.3.2 Obtención del aislado proteico de *Arthrospira maxima***

La obtención del aislado proteico se llevó a cabo mediante la extracción alcalina de las proteínas solubles presentes seguido de la precipitación ácida cercana a su punto isoeléctrico, de acuerdo con la metodología de Pereira et al. (2018), con ciertas modificaciones.

### **1.3.3 Caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico**

El rendimiento de la espirulina en polvo se obtuvo por diferencias de peso, con base en la siguiente ecuación: % Rendimiento= (Peso del polvo de la espirulina deshidratada / Peso de la biomasa fresca) \*100; donde el peso de la biomasa fresca corresponde al material recolectado después del filtrar el medio de cultivo. La humedad se determinó de acuerdo la metodología propuesta por AOAC (Método 925.09) y se expresó en porcentaje (%), la actividad de agua se analizó con un medidor marca Aqualab (Series 3TE; Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA); para la determinación del color se utilizó un colorímetro Konica Minolta, CR-400 bajo el análisis de los valores L\* (Luminosidad), a\* (rojo-verde) y b\* (amarillo-azul) de la escala CIELab; el contenido de cenizas se realizó según la Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978, % de grasas en base a la norma PROY-NMX-F-615-NORMEX-2018 y la determinación del contenido proteico según la Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980.

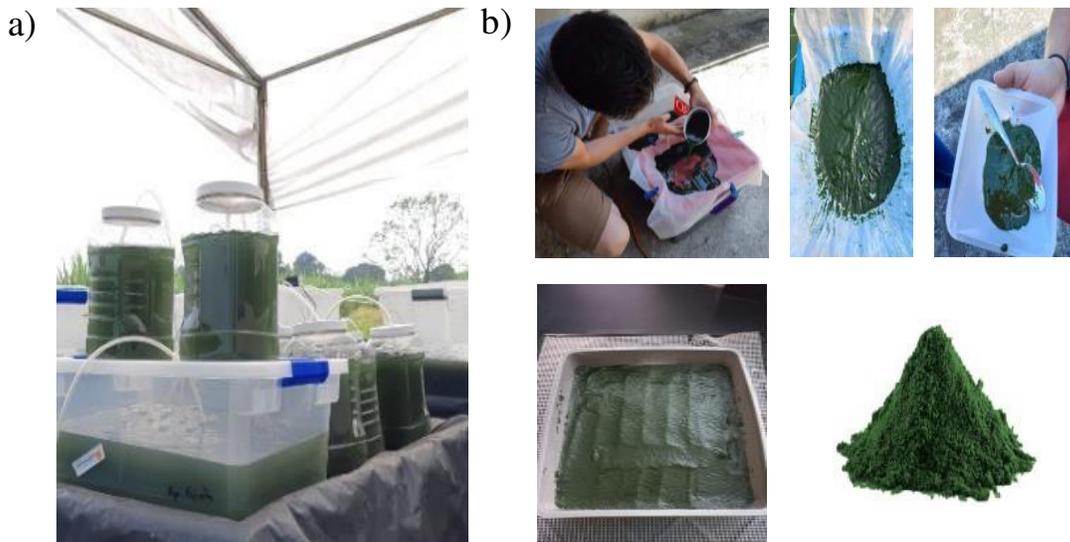
### **1.3.4 Caracterización estructural de la espirulina en polvo y el aislado proteico**

Para la identificación de los grupos funcionales presentes en la espirulina (*A. maxima*) en polvo y el aislado proteico se utilizó un espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) (Bruker, Vertex, Wisconsin, EE.UU.) mediante el método de muestreo de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Los espectros se obtuvieron por triplicado y se promediaron. Se utilizaron 64 barridos con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> en la región espectral de 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Para el análisis de los espectros se utilizó el programa Origin 6.1 (OriginLab Corporation, EE.UU.).

## 1.4 RESULTADOS

### 1.4.1 Producción de espirulina

En la Figura 1-1 a) se muestra el cultivo de la espirulina (*A. maxima*) a cielo abierto en biorreactores con aeración e iluminación solar natural, bajo las condiciones de temperatura entre 18 y 28 °C, ciclo de luz: oscuridad de 12:12 h, aireación continua, pH entre 10 y 11 e intensidad luminosa 40,000 lux. Valores similares han sido reportados por otros autores (Vázquez et al., 2016; Fernández et al., 2020). En la Figura 1-1 b) se muestra el proceso de obtención de biomasa con un periodo de 15 d entre cosecha, con base a la fase estacionaria de la curva de crecimiento celular obtenida en una investigación previa de Fernández et al. (2022). Este proceso consiste en cosechar la biomasa por un método físico (filtración) para posteriormente deshidratarla a una temperatura de 40 °C durante 5 h, una vez deshidratada, la biomasa es triturada y almacenada en frascos de vidrio oscuro en un lugar fresco y seco hasta su análisis.

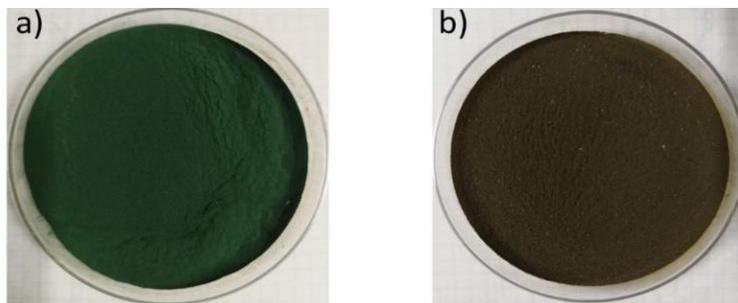


**Figura 1-1.** a) Cultivos de espirulina (*A. maxima*) que se encuentran en el área experimental del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México b) proceso de cosecha de espirulina (*A. maxima*).  
**Fuente:** Propia, (2023).

### 1.4.2 Obtención del aislado proteico de espirulina

En la Figura 1-2 a) se presenta la espirulina en polvo y el aislado proteico obtenido. Para la espirulina en polvo se obtuvo un polvo fino y un rendimiento del 10% peso seco, el cual se asocia con la naturaleza de la espirulina ya que su cultivo se da en condiciones acuosas. La espirulina en

polvo presentó visualmente un color verde que debe su tonalidad a la clorofila, su contenido depende de la etapa de crecimiento en la que se haga la cosecha de la biomasa, obteniendo una cantidad mayor en la fase estacionaria que en la fase exponencial (Hoseini et al., 2013). En la Figura 1-2 b) se presenta el aislado proteico donde se obtuvo un polvo fino visualmente de color café, color similar encontrado en otros aislados proteicos extraídos de guisante, frijol y garbanzo (Subagio, 2006; Kaur y Singh, 2007).



**Figura 1-2.** Imágenes de a) espirulina (*A. maxima*) en polvo y b) aislado proteico de espirulina (*A. maxima*).  
**Fuente:** Propia, (2023).

#### **1.4.4 Caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico**

Los valores de la caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico se presentan en el Cuadro 1-1. Se obtuvo un contenido de humedad para la espirulina en polvo de  $10.719 \pm 0.145\%$  y del aislado de  $8.731 \pm 0.020\%$ , este valor se encuentra dentro de lo reportado por la Norma Mexicana NMX-F-508-1988. Ambos valores de humedad evitan que el producto final sea susceptible a contaminación por microorganismos (Stramarkou et al. 2017). La actividad de agua fue de  $0.406\%$  para la espirulina en polvo y de  $0.350\%$  para el aislado, resultado que favorece a la estabilidad de la espirulina y el concentrado durante almacenamiento. En cuanto al contenido de cenizas en la espirulina en polvo se obtuvo un valor de  $9.637 \pm 0.138\%$  valor que disminuyó en el aislado proteico; sin embargo, se encuentra dentro del valor establecido por la Norma Mexicana NMX-F-508-1988 (valor mínimo del  $2\%$  y máximo del  $9\%$ ). Da Silva et al. (2019) obtuvieron un contenido de cenizas del  $6.2\%$  en base seca y dicho valor lo asocian por su riqueza en minerales. El contenido de proteína en la espirulina en polvo fue de  $60.958 \pm 0.505\%$ . La FAO (2008), menciona que la espirulina tiene alto contenido en proteínas ( $50-60\%$ ), de alto valor biológico y estos resultados son similares a lo reportado por otros autores (Fernández et al. 2022; Marín et al. 2015, García et al. 2003). Para la obtención del aislado proteico, las proteínas se solubilizaron a un pH 11 y se precipitaron a un pH 4.2 (punto isoelectrico de la proteína) y se

obtuvo un valor de  $77.583 \pm 0.505$  % de proteína, el cual aumentó en comparación con el valor de la espirulina en polvo. Pereira et al. (2018), menciona que el método de extracción por precipitación isoelectrica permite conseguir altos rendimientos. La espirulina es un alimento con bajo contenido de grasa menor al 5% y es libre de colesterol (FAO, 2008). La espirulina en polvo presentó un valor de grasa de  $1.283 \pm 0.040$ %, el cual fue mayor al obtenido al aislado. En cuanto a su composición en carbohidratos, la espirulina en polvo presentó un valor por debajo del contenido proteico: sin embargo, forma parte de los componentes mayoritarios, el valor de contenido de carbohidratos en el aislado proteico disminuye. Los aislados proteicos por su naturaleza química resultan de un enriquecimiento del material en su contenido proteínico, mediante una separación paulatina de sus componentes no proteínicos como los lípidos, fibra, carbohidratos, minerales, entre otros (Nazari et al., 2018).

**Cuadro 1-1.** Caracterización fisicoquímica de la espirulina en polvo y del Aislado proteico de *Arthrospira maxima*.

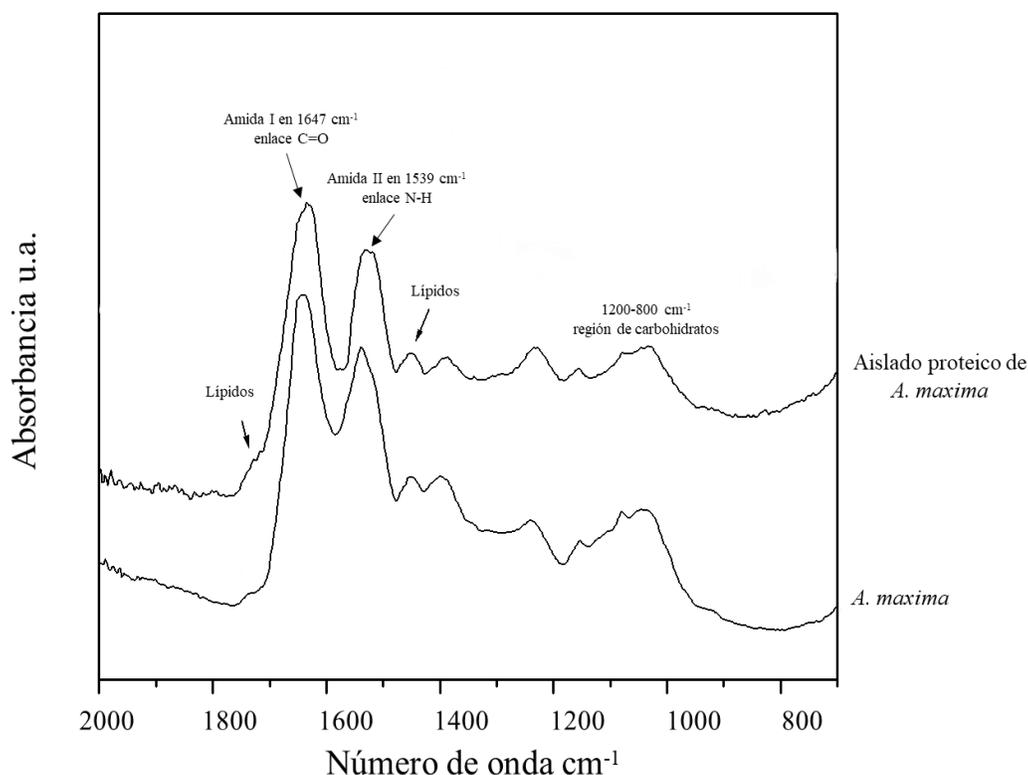
	<b>Humedad</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b>Cenizas</b>	<b>Proteína</b>	<b>Grasa</b>	<b>Carbohidratos</b>	<b>Color</b>	
Biomasa	$10.719 \pm 0.145\%$	$0.460 \pm 0.000$	$9.637 \pm 0.138\%$	$60.958 \pm 0.505\%$	$1.283 \pm 0.040\%$	$28.121 \pm 0.569\%$	L	$8.383 \pm 1.165$
							a*	$-7.433 \pm 0.633$
							b*	$3.580 \pm 0.541$
Aislado	$8.731 \pm 0.020\%$	$0.350 \pm 0.000$	$3.347 \pm 0.170\%$	$77.583 \pm 0.505\%$	$0.713 \pm 0.011\%$	$18.355 \pm 0.379\%$	L	$10.270 \pm 0.280$
							a*	$-0.696 \pm 0.236$
							b*	$4.16 \pm 0.223$

En cuanto al color los resultados mostraron que la luminosidad ( $L^*$ ) es baja; es decir, posee un color característico verde oscuro para la espirulina en polvo y para el aislado un color marrón. En el caso del índice  $a^*$ , los valores negativos son definidos por el contenido de clorofila y las coordenadas de  $b^*$  dentro de parámetros negativos, son resultado del color azul que le confiere la ficocianina y la aloficocianina, de ahí que la espirulina se denominada una alga verde - azulada. Lupatini et al. (2019) reportan parámetros de color del alga en polvo de  $19.73 \pm 0.340$  ( $L^*$ ),  $-7.29 \pm 0.26$  ( $a^*$ ) y  $3.59 \pm 0.09$  ( $b^*$ ) y dichos valores los asocian a la coloración verde - azul del alga por

la presencia del pigmento de ficocianina. El aislado presentó cambio de color derivado de la oxidación de la ficocianina y reacciones de Maillard (Pereira, 2008).

#### 1.4.5 Caracterización estructural de la espirulina en polvo y el aislado proteico por FTIR

Los espectros FTIR de la espirulina en polvo (*A. maxima*) y del aislado proteico se presentan en la Figura 1-3 ambos espectros presentaron similitud en las bandas de absorción de grupos funcionales asociadas a la presencia de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos, sobresaliendo en la región de las proteínas las bandas amida I en  $1647\text{ cm}^{-1}$  asociado al enlace C=O y amida II en  $1539\text{ cm}^{-1}$  enlace N-H. La presencia de carbohidratos se observó en la región de  $1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a los enlaces C-O-C y C-O. La presencia de lípidos se corroboró con las bandas en  $1457$  y  $1747\text{ cm}^{-1}$  asociadas a los enlaces  $\text{CH}_3$  y C=O. Por otra parte, el aislado proteico presentó una disminución de la absorción en la región de los carbohidratos y un aumento en la región de las proteínas, causado por el efecto de aislar las proteínas de los demás componentes de la espirulina en polvo. Estos resultados son similares a los reportados por Lupatini et al., (2019).



**Figura 1-3.** Espectros FTIR de espirulina en polvo y aislado proteico de espirulina (*Arthrospira maxima*) en la región de  $2000$  a  $700\text{ cm}^{-1}$ .

## 1.5 CONCLUSIONES

Este estudio demostró que es posible obtener aislados proteicos de espirulina (*A. maxima*) con un contenido superior al 65 % utilizando el método de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica. El análisis FTIR nos permitió identificar las bandas de absorción de los grupos característicos de la espirulina sobresaliendo la región de las proteínas e identificar un aumento en la absorción de esta región derivado de la concentración de proteínas. Este aislado proteico de fuentes no convencionales tiene potencial como alternativa económica, rápida y de fácil obtención de proteínas sin embargo es necesario evaluar sus propiedades funcionales para determinar su aplicación como ingrediente alimentario.

## 1.6 RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer un estudio electroforético para determinar qué tipo de proteínas se encuentran presentes, así como un perfil de aminoácidos. Por último, el uso de aislados de proteína tiene bastante interés en la industria alimentaria, dada sus cualidades como la capacidad gelificante (formar geles), emulsificación, adherencia, entre otros, los cuales contribuyen al desarrollo de la cremosidad, textura, propiedades que podrían ser aprovechados para obtener una variedad de alimentos.

## 1.7 LITERATURA CITADA

- A.O.A.C: Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (2005). Methods 925.09: Moisture in cassava - airoven methods.
- Alimentos-Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos- Método de prueba. PROY-NMX-F-615-NORMEX2018.
- Da Silva, S.C., Fernandes, I.P., Barros, L., Fernandes, Â., José Alves, M., Calhella, R.C., Pereira, C., Barreira, J.C.M., Manrique, Y., Colla, E., Ferreira, I.C.F.R., and Filomena Barreiro, M. (2019). Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. *J. Funct. Foods.* (60), 103427.
- FAO, (2008). A review on culture, production and use of *Espirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. <http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0424e/i0424e00.pdf>.
- Fernández Corte Baruc, Ríos Corripio M.A., Hernández Cázares Aleida S., Gómez Merino Fernando Carlos, Rodríguez Palacio Mónica C., García Gómez Oscar, Bárcena Vicuña Guadalupe G., Ramírez Hernández Johana. (2020). Desarrollo de un cultivo a cielo abierto

- de alga espirulina en zona tropical como fuente de proteína. Academia Journal 2020. ISBN 978-1-939982-58-2. pp 455460.
- Fernández-Corte B, Hernández-Cázares AS, Gómez-Merino FC, de Cangas R, Rodríguez-Palacio M, García-Gómez O, Ríos Corripio MA. (2022). Effect of NaCl concentration on the production of *Arthrospira maxima* cultivated in the humid tropics. Agrocienca. <https://doi.org/10.47163/agrocienca.v56i2.2735>
- Fernandez-Quintela A, Macarulla MT, Del Barrio AS, Martinez JA. (1997). Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in Northern Spain. *Plant Foods Hum Nutr.* 51, 331–42.
- García J.L, de Vicente M, Galán B. (2017). Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microb Biotechnol. Sep*; 10(5), 1017-1024. doi: 10.1111/1751-7915.12800. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28809450; PMCID: PMC5609256.
- García-Garibay, M. Gómez-Ruiz, L. Cruz-Guerrero, A.E. Barzana, E. (2013). Single Cell protein | Algae. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Suiza: Springer Nature Switzerland.
- Henn, R.L., y Netto, F.M. (1998). Biochemical characterization and enzymatic hydrolysis of different commercial soybean protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3009-3015.
- Hoseini, S. Khosravi-Darani K. & Mozafari, M. (2013). Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 13 (8). 1231 - 1237. doi: 10.2174/1389557511313080009.
- Kaur M, Singh N. (2007). Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chem.* 102, 366–74.
- Lee HJ, Yong HI, Kim M, Choi YS, Jo C. (2020). Status of meat alternatives and their potential role in the future meat market - A review. *Asian-Australas J Anim Sci.* 33(10), 1533-1543. doi: 10.5713/ajas.20.0419. Epub 2020 Jul 28. PMID: 32819080; PMCID: PMC7463075.
- Lupatini, M.A.L., Souza, L.E.S. de, Colla, L.M., Costa, J.A.V., Sehn, E., Bittencourt, P.R. S., Moraes Flores, É.L. de, Canan, C., & Colla, E. (2019). Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. *LWT*, 114, 108267. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108267>.
- Marín-Prida, J. Llopiz-Arzuaga, A. Pavón, N. Pentón-Rol, G. Pardo-Andreu, G. (2015). Aplicaciones de la c-ficocianina: métodos de obtención y propiedades farmacológicas. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias.* 1, 29-43.
- Nagano, T., Fukuda, Y., y Akasaka, T. (1996). Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of b-conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3484-3488.
- Nazari B, Mohammadifar MA, Aliabadi SS, Feizollahi E, Mirmoghtadaie L. (2018). Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrason Sonochem.* 41, 382–388.

- NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
- Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980 Alimentos Determinación de Proteínas.
- Pereira, A. M., Lisboa, C. R., & Costa, J. A. V. (2018). High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 187-194.
- Ramírez, L., y Olvera, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.) *Interciencia* (31), pp. 657–663. Stramarkou M, Papadaki S, Kyriakopoulou K, Krokida M. (2017). Effect of drying and extraction conditions on the recovery of bioactive compounds from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Applied Phycology*. 29, 2947-2960. <https://doi.org/10.1007/s10811-0171181-8>.
- Subagio A. (2006). Characterization of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L. Sweet) seeds from Indonesia and their protein isolate. *Food Chemistry*. 95, 65–70.
- Torres-Tiji Y, Fields FJ, Mayfield SP. (2020). Microalgae as a future food source. *Biotechnol Adv*. 2020 Jul-Aug; 41:107536. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107536. Epub PMID: 32194145.
- Vázquez Pérez, R.N., Hernández Uribe, F., Villegas Aguilera, M.M., Martínez Murillo, R., López García, K.E., Pérez Barragán, C.E. y Arredondo Vega, B.O. (2016). Evaluación del contenido de proteínas de la biomasa de spirulina (*Arthrospira maxima*) cultivada en condiciones ambientales en biorreactores. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol. 1, No.1 333-337.
- Wan, D., Wu, Q., and Kuča, K. (2016). *Spirulina*, in: *Nutraceuticals*. Elsevier, pp. 569–583.
- Zaid, A.A.A., Hammad, D.M., Sharaf, E.M. (2015). Antioxidant and anticancer activity of *spirulina platensis* water extracts. *Int. J. Pharmacol.* (11), 846–851.

## CAPÍTULO II

### EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE UNA PROTEÍNA AISLADO DE ESPIRULINA (*Arthrospira maxima*) Y SU APLICACIÓN EN UN EMBUTIDO CÁRNICO

Acateca-Hernández Mariana Inés<sup>a</sup>, Hernández-Cázares Aleida Selene<sup>a</sup>, Hidalgo-Contreras Juan Valente<sup>a</sup>, Jiménez-Munguía María Teresa<sup>b</sup>, Rios-Corripio María Antonieta<sup>c,\*</sup>

#### 2.1 RESUMEN

La espirulina (*Arthrospira maxima*) es una fuente potencial de proteínas de alto valor biológico ideal para la obtención de componentes funcionales. Se obtuvo una proteína aislado de la biomasa en polvo de espirulina (SpPb), mediante solubilización alcalina (pH 11) y precipitación isoeléctrica (pH 4.2). La proteína aislado de espirulina (SpPI) presentó mayor contenido de proteína (77.58%) y aminoácidos totales (66.39 g/100g) en comparación con SpPb (60.96% y 59.85 g/100g, respectivamente). Se evaluaron las propiedades funcionales de SpPb, SpPI y de la proteína aislado de soya (SPI) como control. El aislamiento de proteínas permitió un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en las propiedades de solubilidad de proteínas, capacidad emulsionante y espumante de SpPI en comparación con SpPb y SPI. Se evaluó la inclusión de SpPI como sustituto parcial al SPI en la formulación de un embutido cárnico, bajo cuatro tratamientos T1 (15% SpPI, 85% SPI), T2 (10% SpPI, 90% SPI), T3 (5% SpPI, 95% SPI) y T4 (0% SpPI, 100% SPI) como control. La inclusión de SpPI afectó significativamente ( $p < 0.05$ ) los parámetros de color ( $L^*$  y  $a^*$ ), contenido de proteínas y carbohidratos de los embutidos cárnicos. El T1 presentó el contenido de proteína más bajo ( $p < 0.05$ ), pero resultó con mayor ( $p < 0.05$ ) contenido de aminoácidos totales, esenciales y no esenciales en comparación con T4. Los resultados demuestran que SpPI tiene el potencial de mejorar la calidad nutricional de los embutidos cárnicos, a través de su contenido de aminoácidos, sin afectar sus atributos de textura.

#### Palabras clave

*Arthrospira maxima*, proteína aislado, propiedades funcionales, embutido cárnico.

## 2.2 INTRODUCCIÓN

Las nuevas tendencias de consumo relacionadas con la sustitución parcial o total de la proteína animal por vegetal exponen la necesidad de explorar nuevas fuentes alternativas y sostenibles de proteínas para la alimentación humana (Nadathur et al., 2017). Las microalgas surgen como una fuente prometedora de proteínas, su potencial se centra en su rápida tasa de crecimiento y su poca competencia con los cultivos convencionales por el uso de tierra y agua, esto permite una producción más sostenible y amigable con el ambiente (de Medeiros et al., 2021). La espirulina (*Arthrospira maxima*) es una microalga fotosintética que hace uso de la energía solar para producir una biomasa de alta calidad nutritiva con un contenido de proteínas (50-60%) que mantienen una composición de aminoácidos completa, con un buen índice de digestibilidad (80-93%) y con proporciones de aminoácidos esenciales que representan el 47% del contenido total de proteína (Jung et al., 2019). Este aspecto refleja el alto potencial de la espirulina para el aislamiento de proteínas como posibles ingredientes funcionales en la industria alimentaria.

Las proteínas aisladas son utilizadas en la industria alimentaria principalmente como retenedores en la formulación de productos cárnicos para emulsionar, dar textura e incrementar rendimiento. Investigaciones previas se han enfocado en el aislamiento de proteínas de la microalga *Arthrospira platensis* y evaluación de sus propiedades funcionales (Benelhadj et al., 2016; Lupatini et al., 2019; Pereira et al., 2018). Así también el uso de microalgas de la especie *Chlorella vulgaris* (Bošković et al., 2023) y *Spirulina* (Marti-Quijal et al., 2019) como ingredientes funcionales sustentables incorporados a salchichas Frankfurt y salchichas frescas de cerdo, respectivamente. No obstante, es necesario evaluar el potencial de la espirulina debido a la variabilidad entre sus propiedades y composición. Por lo que este estudio tiene el objetivo de obtener una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) mediante el método de solubilización y precipitación isoeléctrica, así como evaluar sus propiedades funcionales para su inclusión en un embutido cárnico.

## 2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

La biomasa fresca de espirulina (FbSp) se obtuvo del área experimental del cultivo ubicado en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México. La FbSp se secó en un deshidratador de alimentos (Excalibur, 2900ECB, Estados Unidos) a 41 °C durante 4 h, se trituró en un procesador de alimentos (Nutribullet, NB101B, China) y se almacenó hasta su análisis. Para

la elaboración del embutido cárnico, la carne y grasa dorsal de cerdo se obtuvieron de un comercio local de Córdoba, Veracruz, México; mientras que los ingredientes y aditivos utilizados fueron adquiridos de una casa comercial de insumos e ingredientes de la región.

### **2.3.1 Obtención de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*)**

La obtención de SpPI se llevó a cabo mediante el método de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica, según lo indicado por Pereira et al. (2018), con modificaciones. La extracción alcalina se realizó a un pH de 11, la SpPb se homogenizó por 15 min con agua destilada en proporción 1:20 (p/v) con un turbolicuador de alta velocidad (Rhino, TURLIC-280, México) y se utilizó una solución de 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH para ajustar el pH. Posteriormente se sometió a centrifugación (Eppendorf™, Centrifuge 5810/5810R, México) a 2602 x g, 25 °C, durante 15 min. El sobrenadante se recuperó mediante decantación, el precipitado se resuspendió en agua destilada y se sometió a solubilización alcalina una vez más. Los sobrenadantes obtenidos se ajustaron a un pH de 4.2 utilizando una solución 1 mol L<sup>-1</sup> de HCl y se agitó con un turbolicuador de alta velocidad (Rhino, TURLIC-280, México) durante 15 min. Posteriormente se centrifugó (Eppendorf™, Centrifuge 5810/5810R, México) a 2602 x g, 25 °C, durante 15 min y se eliminó el sobrenadante. La proteína precipitada se secó en un deshidratador de alimentos (Excalibur, 2900ECB, Estados Unidos) a 41 °C durante 4 h, se trituró en un procesador de alimentos (Nutribullet, NB101B, China) y se almacenó hasta su análisis.

#### **2.3.1.1 Rendimiento**

El rendimiento del proceso de obtención de la SpPb se calculó por diferencia de peso entre FbSp y SpPb. El rendimiento del proceso de obtención de SpPI se determinó por diferencia de peso entre SpPb y SpPI, expresados en porcentaje (%).

#### **2.3.1.2 Composición proximal**

El contenido de humedad, grasa, proteína y ceniza de SpPb y SpPI se determinó según los métodos estándar propuestos por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 2000); mientras que el contenido de carbohidratos se calculó por diferencia, expresado en porcentaje (%).

### **2.3.1.3 Caracterización estructural**

Para la identificación de los grupos funcionales presentes se utilizó un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) (ThermoScientific©, iS50, Bruker, Vertex, Wisconsin, EE. UU.) mediante el método de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Para el análisis de los espectros se utilizó el programa Origin 6.1 (OriginLab Corporation, EE. UU.) siguiendo la metodología de Blume et al. (2015), con modificaciones.

### **2.3.1.4 Perfil de aminoácidos**

El perfil de aminoácidos del SpPb y SpPI se determinó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) mediante el método interno INS-SM/US-260 de aminoácidos totales en alimentos, harinas y concentrados proteicos.

## **2.3.2 Propiedades funcionales**

### **2.3.2.1 Solubilidad de proteínas (PS)**

La PS se determinó según lo establecido por Morr et al. (1985), con modificaciones. Muestras de SpPb, SpPI y SPI (0.1 g) se homogenizaron con 20 mL de agua destilada y se agitaron magnéticamente (Thermo Fisher Scientific, SP131325Q Cimarec, Estados Unidos) a 250 rpm durante 10 min a 25 °C. Las soluciones se ajustaron a diferentes valores de pH (1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13) con 0.1 mol L<sup>-1</sup> de HCl o 0.1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. Las muestras se transfirieron a tubos Falcon de 20 mL y se centrifugaron (Eppendorf™, Centrifuge 5810/5810R, México) a 2602 x g durante 15 min a 25 °C. Del sobrenadante se tomó una alícuota de 600 µL para cuantificar el contenido de proteínas solubles. El control se preparó en las mismas condiciones, sin ajustar el pH ni centrifugar. El contenido de proteína soluble (g L<sup>-1</sup>) del sobrenadante de las muestras y del control se determinó según el método establecido por Lowry et al. (1951). La solubilidad de proteínas se expresó en % de acuerdo con la Ec. (1).

$$PS (\%) = (\text{proteína soluble del sobrenadante} / \text{proteína soluble del control}) \times 100 \quad (1)$$

Se utilizó una curva de calibración de albúmina de suero bovino (BSA) (1.5 g L<sup>-1</sup>, pureza > 96%) con la siguiente ecuación lineal  $y = 0.204545 + 0.001008x$ ,  $R^2 = 0.98$ . Las absorbancias se midieron a 750 nm en espectrofotómetro (Jasco Inc., V-730, Tokio, Japón).

### 2.3.2.2 Capacidad de absorción de agua (WAC)

La WAC se determinó utilizando el método descrito por Köhn et al. (2015), con modificaciones. Las muestras de SpPb, SpPI y SPI (0.3 g) se homogenizaron con 10 mL de agua destilada. La solución se ajustó a diferentes valores de pH (1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13) con 0.1 mol L<sup>-1</sup> de HCl o 0.1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH y se agitaron en vórtex (Eppendorf<sup>TM</sup>, México) a 25 °C durante 10 min. Las muestras se dejaron reposar durante 30 min y se centrifugaron (Eppendorf<sup>TM</sup>, Centrifuge 5810/5810R, México) a 2602 × g durante 15 min a 25 °C. El sobrenadante se retiró por decantación y los tubos se secaron en horno de aire forzado durante 25 min a 50 °C. La WAC se calculó con la Ec. (2), y se expresó como g de agua absorbida por 100 g de muestra.

$$\text{WAC (g / 100 g)} = (\text{Agua absorbida / peso inicial de la muestra}) \times 100 \quad (2)$$

### 2.3.2.3 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad emulsionante (ES)

La EC y ES se determinó mediante el método descrito por Yasumatsu et al. (1974), con modificaciones. Muestras de SpPb, SpPI y SPI (0.5 g) se homogenizaron con 50 mL de agua destilada en agitación constante (Thermo Fisher Scientific, SP131325Q Cimarec, Estados Unidos) a 500 rpm durante 30 min a 25 °C. Las soluciones se ajustaron a diferentes valores de pH (1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13) con 0.1 mol L<sup>-1</sup> de HCl o 0.1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. Un volumen de 50 mL de aceite puro de canola se añadió lentamente a las soluciones con agitación constante, con un turbolicuador de alta velocidad (Rhino, TURLIC-280, México) a 20,000 rpm durante 2 min, hasta formar la emulsión de aceite en agua. En tubos de centrífuga (50 mL) se vertieron volúmenes de emulsión fijos (40 mL, volumen total (Tv)) y se centrifugaron (Eppendorf<sup>TM</sup>, Centrifuge 5810/5810R, México) a 2602 x g durante 5 min, se anotó el volumen de la fracción emulsionada (Ev) y la capacidad emulsionante se calculó mediante la Ec. (3).

$$\text{EC (\%)} = (\text{Ev} / \text{Tv}) \times 100 \quad (3)$$

Para la evaluación de la ES, se realizaron emulsiones de aceite en agua como se describió anteriormente. En tubos de centrífuga se vertieron volúmenes fijos de emulsión de 40 mL y se incubaron a 80 °C durante 30 min; posteriormente se centrifugaron (Eppendorf<sup>TM</sup>, Centrifuge 5810/5810R, México) a 525 x g durante 2 min, se anotó el volumen de la fracción emulsionada (Ev) después de la centrifugación. La ES se calculó de acuerdo con la Ec. (3).

#### **2.3.2.4 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma (FS)**

La FC y FS se determinó mediante el método descrito por Coffman y García (1977), con modificaciones. Muestras de SpPb, SpPI y SPI (0.5 g) se homogenizaron con 50 mL de agua destilada. Las soluciones se ajustaron a diferentes valores de pH (1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13) con 0.1 mol L<sup>-1</sup> de HCl o 0.1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. Posteriormente las soluciones se homogenizaron con un turbolicuador de alta velocidad (Rhino, TURLIC-280, México) a 20,000 rpm durante 2 min. Se registraron los volúmenes de espuma (mL) y la FC se calculó de acuerdo con la Ec. (4).

$$FC (\%) = (\text{Volumen de espuma} / \text{Volumen de la solución antes de agitar}) \times 100 \quad (4)$$

La FS se evaluó mediante la medición del volumen de espuma restante después del intervalo de tiempo (FV tiempo t) a los 5, 10, 15, 30 y 60 min a 25°C, de acuerdo con la Ec. (5).

$$FS (\%) = (\text{FV tiempo } t / \text{Volumen de la solución antes de agitar}) \times 100 \quad (5)$$

#### **2.3.2.5 Capacidad de absorción de aceite (OAC)**

La OAC se determinó mediante el método descrito por Lin et al. (1974), con modificaciones. Las muestras de SpPb, SpPI y SPI en proporciones de 0.4%, 0.9%, 2.2%, 3.5%, 4.0%, 6.0%, 8.0% y 10.0% (p/v) se mezclaron con 5 mL de aceite puro de canola. La solución se agitó en vortex (Eppendorf™, México) durante 10 min, se centrifugó a 3000 x g durante 15 min, se decantó el sobrenadante y el residuo se pesó. La OAC se calculó con la Ec. (6), y se expresó como g de aceite retenido por 100 g de muestra.

$$OAC (\text{g} / 100 \text{ g}) = (\text{Aceite retenido} / \text{peso inicial de la muestra}) \times 100 \quad (6)$$

#### **2.3.3 Obtención del embutido cárnico**

El embutido cárnico se elaboró sustituyendo parcialmente el SPI, con base en los siguientes tratamientos: T1 (15% SpPI, 85% SPI), T2 (10% SpPI, 90% SPI), T3 (5% SpPI, 95% SPI) y T4 (0% SpPI, 100% SPI) como control. El proceso de elaboración de las pastas cárnicas se llevó a cabo por tiempos en un procesador de alimentos (Ninja Intelli®, BN801, México), se incorporó inicialmente la carne (previamente molida con un cedazo de 3/8”), condimentos y nitritos (disueltos en 70 g de agua fría), transcurrido 1 min se añadió la grasa, fosfatos (disueltos en 30 g de agua fría), el 50% de los retenedores (SpPI y SPI) y hielo, se procesó durante 1 min, posteriormente se incorporó el 50% restante. El proceso continuó hasta alcanzar un tiempo total

de 5 min. Las pastas cárnicas obtenidas se embutieron en tripas de colágeno (calibre 26 mm) con embudidora manual de salchichas (Estilo Modern, marca 无). La cocción del embutido se realizó en baño María a 80 °C, hasta alcanzar una temperatura interna de 71 °C y se mantuvieron por 15 min. El embutido cárnico se enfrió en baño de agua fría durante 20 min, se empacó y almacenó a 4 °C, los análisis fisicoquímicos se realizaron transcurridas las 24 h en refrigeración.

### 2.3.3.1 Estabilidad de la emulsión (ES) de las pastas cárnicas

La ES de las pastas cárnicas se determinó según el método de Hughes et al. (1997), se estimó el porcentaje de fluido expulsado total (%TEF; Ec. (7)), el porcentaje de grasa liberada (%FR; Ec. (8)) y el porcentaje de agua liberada (%WR; Ec. (9)).

$$\text{TEF} = (\text{Peso del tubo} + \text{muestra}) - (\text{Peso del tubo} + \text{sedimento})$$

$$\% \text{TEF} = \text{TEF} / \text{peso muestra} \times 100 \quad (7)$$

$$\% \text{FR} = (\text{Peso del crisol} + \text{sobrenadante seco}) - (\text{Peso del crisol vacío}) / \text{TEF} \times 100 \quad (8)$$

$$\% \text{WR} = (\text{Peso del crisol} + \text{Muestra}) - (\text{Peso del crisol} + \text{sobrenadante seco}) / \text{TEF} \times 100 \quad (9)$$

### 2.3.3.2 Capacidad de absorción de agua (WAC) de las pastas cárnicas

La WAC de las pastas cárnicas se determinó mediante el método descrito por Lin y Huang (2003), con ligeras modificaciones. Muestras de pastas cárnicas (5 g) se homogeneizaron con 10 mL agua destilada en vortex (Eppendorf<sup>TM</sup>, México) a 1,200 rpm durante 1 min. Posteriormente se centrifugaron (Eppendorf<sup>TM</sup>, Centrifuge 5810/5810R, México) durante 15 min a 717 x g, se decantó el sobrenadante y el residuo final se pesó. La WAC de las pastas cárnicas se calculó con la Ec. (10) y se expresó en g de H<sub>2</sub>O absorbida por g de carne.

$$\text{WAC} = (\text{peso final de la muestra} / \text{peso inicial de la muestra}) / \text{peso inicial de la muestra} \quad (10)$$

### 2.3.3.3 Caracterización fisicoquímica del embutido cárnico

La pérdida y rendimiento de cocción se determinó mediante la metodología descrita por Choi et al. (2010), el embutido cárnico se pesó antes de la cocción ( $W_i$ ), después de la cocción ( $W_f$ ) y almacenamiento a 4 °C durante 24 h ( $W_s$ ). Se calculó la pérdida de peso (Ec. (11)) y el rendimiento (Ec. (12)) de cocción.

$$\text{Pérdida de cocción} = ((W_i - W_f) / W_i) * 100 \quad (11)$$

$$\text{Rendimiento de cocción} = (W_s / W_i) * 100 \quad (12)$$

El color se determinó de acuerdo con el sistema de color CIELab utilizando un colorímetro (Konica Minolta Sensing, Inc., CR-400, Osaka, Japón) en la parte interna del embutido cárnico. Los resultados se expresaron según los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . La actividad de agua ( $a_w$ ) se determinó a 25 °C utilizando un medidor de  $a_w$  (Aqualab Pawkit, USA). Mientras que el pH se determinó con un medidor multiparamétrico de pH Edge® (HANNA® instruments, Costa Rica).

#### **2.3.3.4 Caracterización proximal del embutido cárnico**

La composición proximal se determinó de acuerdo con los métodos oficiales de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 2000). El contenido de humedad se calculó por pérdida de peso mediante secado en estufa a  $103 \pm 2$  °C durante 24 h (método 950.46); el contenido de grasa se determinó a partir del método de extracción Soxhlet utilizando éter de petróleo como disolvente (método 31.4.02). El contenido de proteína se determinó por el método Kjeldahl (método 992.15), empleando un factor de conversión de 6.25. El contenido de cenizas se determinó en horno de mufla a 600 °C (método 923.03). El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia de acuerdo con la Ec. 13.

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - (\text{humedad} + \text{proteína} + \text{grasa} + \text{ceniza}) \% \quad (13)$$

#### **2.3.3.5 Análisis de perfil de textura (TPA) y fuerza de corte**

Los embutidos cárnicos de los diferentes tratamientos se evaluaron transcurridas las 24 h de refrigeración (4 °C) y se mantuvieron a temperatura ambiente (25 °C) 1 h previo a la medición. El TPA se realizó en un texturómetro (EZ Test Texture Analyzer - Shimadzu) con placas de compresión (118 mm de diámetro). Rebanadas cilíndricas (20 x 20 mm) de los embutidos cárnicos se sometieron a una compresión de 2 ciclos hasta el 50% de su altura original, con una velocidad de 2 mm/s y un tiempo de espera de 1 s entre cada compresión con una fuerza de 500 N. Las curvas de deformación en el tiempo y valores para los parámetros del perfil de textura que incluyeron: dureza (N), elasticidad (mm), masticabilidad (N.mm), gomosidad (N) y cohesión se obtuvieron mediante el software TRAPEZIUM2 versión 2.20 (Copyright 1999-2003). Para la determinación de la fuerza de corte, el embutido se cortó en segmentos centrales de 30 mm de largo y 20 mm de diámetro y se utilizó una navaja Warner-Bratzler conectada a la celda de compresión con una fuerza de 500 N, a una velocidad de 2 mm/s y un desplazamiento de 30 mm, la fuerza de corte máxima se consideró como el punto máximo registrado en la gráfica y se expresó en Newtons (N).

### **2.3.3.6 Perfil de aminoácidos de los tratamientos T1 y T4 de los embutidos cárnicos**

El perfil de aminoácidos de los tratamientos T1 y T4 de los embutidos cárnicos se determinó por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) mediante el método interno INS-SM/US-260 de aminoácidos totales en alimentos, harinas y concentrados proteicos.

### **2.3.4 Análisis estadístico**

Para evaluar las propiedades funcionales de SpPb, SpPI y SPI, así como para llevar a cabo la caracterización de las pastas cárnicas y de los embutidos cárnicos se utilizaron diseños completamente al azar (CRD) independientes. Todos los análisis se realizaron por triplicado. La normalidad de los datos fue verificada con una prueba de Shapiro-Wilk la cual permite analizar muestras en un rango de  $3 \leq n \leq 5000$  (Razali y Wah, 2011). Para verificar la homogeneidad de la varianza de los datos, se realizó una prueba estadística de Levene, que permite comparar la homocedasticidad entre grupos para determinar la precisión de un ANOVA (Gastwirth et al., 2009). Se realizaron análisis de varianza multivariante (MANOVA) y análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor para cada una de las variables respuestas evaluadas. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey para un nivel de significancia del 5% ( $p < 0.05$ ). El análisis de datos se realizó utilizando el software estadístico Minitab® 19.

## **2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.4.1 Obtención de la biomasa en polvo de espirulina y de la proteína aislado**

El rendimiento de SpPb (10.13%) se asocia al índice de conversión de biomasa fresca a biomasa seca, debido a la naturaleza de la espirulina que en su totalidad es agua. Por lo tanto, después del secado SpPb presentó un bajo contenido de humedad (10.72%), valor que se encuentra dentro de lo reportado por la Norma Oficial Mexicana NOM-F-508-1988, para la conservación y estabilidad de la espirulina. El método de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica empleado permitió la obtención de SpPI con un rendimiento del 33.37%. Resultados similares fueron reportados por Pereira et al. (2018) en una proteína aislado de espirulina (33%) obtenida mediante extracción química.

### 2.4.1.1 Composición proximal

La composición proximal de SpPb y SpPI se presenta en el Cuadro 2-1, los resultados obtenidos fueron consistentes con los reportados por Lupatini et al. (2019) en biomasa de *Arthrospira platensis* (59.50% proteína, 0.81% grasa, 13.25% cenizas y 26.44% carbohidratos). Sin embargo, la composición proximal de las microalgas puede variar según el género, especie, condiciones de cultivo o ambientales (Bertsch et al., 2021).

**Cuadro 2-1.** Composición proximal de biomasa en polvo de espirulina (SpPb) y de proteína aislado de espirulina (SpPI).

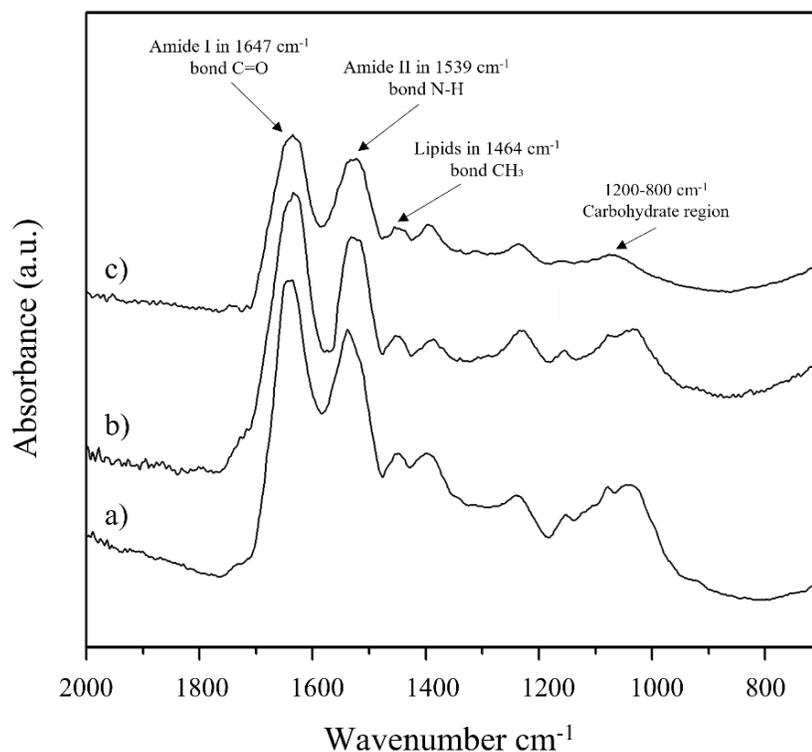
Parámetros proximales (%)	SpPb	SpPI
Rendimiento	10.13 ± 0.32	33.37 ± 1.33
Humedad	10.72 ± 0.15	8.73 ± 0.02
Proteína	60.96 ± 0.51	77.58 ± 0.51
Grasa	1.28 ± 0.04	0.71 ± 0.01
Cenizas	9.64 ± 0.14	3.35 ± 0.17
Carbohidratos	28.12 ± 0.57	18.36 ± 0.38

Cada valor representa la media ± desviación estándar.

El contenido de humedad, grasa, cenizas y carbohidratos de SpPI fue menor respecto a SpPb; mientras que el contenido de proteína de SpPI (77.58%) mostró un aumento del 16.63% en comparación con SpPb (60.96%). El contenido de proteína de SpPI es mayor a lo reportado por Benelhadj et al. (2016) para una proteína aislado de *Arthrospira platensis* (69.62%). La composición proximal de SpPI indica la falta de un pretratamiento de SpPb para eliminar aquellos componentes que logran solubilizarse (carbohidratos y minerales) durante la obtención de la proteína aislado, además de no descartar la posibilidad de que exista poca rotura celular, lo que dificulta la extracción de proteínas (Lupatini et al., 2019).

### 2.4.1.2 Caracterización estructural

En la Figura 2-1 se presentan los espectros FTIR de SpPb, SpPI y SPI, en la región de 2000-700 cm<sup>-1</sup>. Se identificaron las regiones espectrales asociadas a la presencia de proteínas, carbohidratos y lípidos, presentando cierta similitud entre las bandas de absorción.



**Figura 2-1.** Espectros FTIR; a) biomasa en polvo de espirulina (SpPb), b) proteína aislado de espirulina (SpPI) y c) proteína aislado de soya (SPI) en la región de 2000-700  $\text{cm}^{-1}$ .

Se observaron bandas asociadas a amida I en  $1647 \text{ cm}^{-1}$  y amida II en  $1539 \text{ cm}^{-1}$ , inducidas por vibraciones de estiramiento de los enlaces C=O y N-H, reflejando la estructura secundaria de las proteínas. En la región de  $1200\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$  se observó la presencia de carbohidratos asociada a los enlaces C-O-C y C-O, mientras que las bandas en  $1457$  y  $1747 \text{ cm}^{-1}$  confirmaron la presencia de lípidos que corresponden a los enlaces  $\text{CH}_3$  y C=O. Debido a que durante el proceso de obtención de la proteína aislado esta se separa de los compuestos no proteicos, se logró observar un aumento de la absorbancia en la región de las proteínas y una disminución en la región de los carbohidratos para ambas proteínas aisladas (SpPI y SPI). Resultados similares fueron reportados por Lupatini et al. (2019), quienes evaluaron espectros FTIR de la biomasa y de la proteína concentrado de *Arthrospira platensis*.

### 2.4.1.3 Perfil de aminoácidos

Las proteínas de microalgas del género *Arthrospira* presentan una distribución equilibrada de aminoácidos esenciales y no esenciales, clasificándose como una proteína completa por disponer de todos los aminoácidos esenciales (Bashir et al., 2016). El perfil de aminoácidos de SpPI se comparó con SpPb y SPI (Zhang et al., 2022), los resultados se presentan en el Cuadro 2-2.

**Cuadro 2-2.** Perfil de aminoácidos de la biomasa en polvo de espirulina (SpPb) en comparación con la proteína aislado de espirulina (SpPI) y de soya (SPI).

Aminoácidos (g /100 g)	SpPb	SpPI	SPI*
Esenciales			
Valina	3.29 ± 0.00	3.57 ± 0.00	4.20 ± 0.13
Treonina	2.87 ± 0.00	3.07 ± 0.00	3.62 ± 0.15
Isoleucina	3.18 ± 0.00	3.69 ± 0.00	4.29 ± 0.08
Leucina	6.34 ± 0.00	7.38 ± 0.00	7.99 ± 0.27
Lisina	2.09 ± 0.00	2.31 ± 0.00	5.26 ± 0.17
Metionina	0.001 ± 0.00	0.001 ± 0.00	0.75 ± 0.12
Histidina	0.81 ± 0.00	0.92 ± 0.00	2.49 ± 0.05
Fenilalanina	2.61 ± 0.00	3.03 ± 0.00	5.32 ± 0.38
Triptófano	0.01 ± 0.00	0.002 ± 0.00	-
No esenciales			
Glicina	2.47 ± 0.00	2.86 ± 0.00	3.80 ± 0.12
Alanina	6.51 ± 0.00	6.87 ± 0.00	4.01 ± 0.14
Serina	3.12 ± 0.00	3.35 ± 0.00	4.95 ± 0.22
Prolina	4.82 ± 0.00	6.01 ± 0.00	4.86 ± 0.37
Cisteína	0.01 ± 0.00	0.001 ± 0.00	0.15 ± 0.07
Asparagina	0.001 ± 0.00	0.001 ± 0.00	-
Acido aspártico	5.66 ± 0.00	6.37 ± 0.00	4.95 ± 0.22
Glutamina	0.001 ± 0.00	0.001 ± 0.00	-
Acido glutámico	8.01 ± 0.00	8.12 ± 0.00	17.85 ± 0.67
Arginina	5.47 ± 0.00	5.82 ± 0.00	7.36 ± 0.15
Tirosina	2.59 ± 0.00	3.02 ± 0.00	3.49 ± 0.10
Totales	59.85 ± 0.004	66.39 ± 0.001	85.34 ± 3.84
Esenciales	21.19 ± 0.001	23.97 ± 0.00	33.92 ± 2.14
No esenciales	38.66 ± 0.003	42.42 ± 0.001	51.42 ± 4.93
Relación E/NE	0.55 ± 0.00	0.57 ± 0.00	0.66 ± 0.00

Cada valor representa la media ± desviación estándar. \*Zhang et al. (2022).

Los aminoácidos esenciales de SpPb y SpPI registraron altos contenidos de leucina seguido de valina e isoleucina, mientras que metionina y triptófano presentaron los contenidos más bajos. La contribución de aminoácidos esenciales fue comparativamente más alta en SpPI (23.97 g/100 g)

que en SpPb (21.19 g/100 g). En cuanto a los aminoácidos no esenciales, el ácido glutámico seguido de alanina, ácido aspártico y arginina exhibieron los valores más altos mientras que cisteína, asparagina y glutamina presentaron los valores más bajos. Una comparación entre los perfiles de aminoácidos no esenciales mostró contenidos mayores para SpPI (42.42 g/100 g) que para SpPb (38.66 g/100 g). Resultados similares fueron reportados por Bashir et al. (2016) y Lupatini et al. (2019) quienes determinaron que la proteína concentrado de *Spirulina platensis* presentaron mayores contenidos de aminoácidos que la biomasa en polvo. El perfil de aminoácidos de SpPI en comparación con el SPI mostró valores más bajos, a excepción de alanina, prolina y ácido aspártico. Sin embargo, debido a que SpPI contiene todos los aminoácidos esenciales puede considerarse como fuente para proveer estos nutrientes.

#### **2.4.1.4 Propiedades funcionales**

El efecto del pH sobre las propiedades funcionales (PS, WAC, EC y FC) de SpPb, SpPI y SPI se muestran en el Cuadro 2-3. La mínima PS se detectó a un pH 3 para SpPb y SpPI, mientras que para SPI fue a un pH 4, pH que corresponden al punto isoeléctrico (pI) de las proteínas evaluadas, por el contrario, la máxima PS alcanzada se observó a un pH 12. SpPI en comparación con SpPb mostró un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) alcanzando valores comparables a SPI ( $p > 0.05$ ). En general la PS aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) a pH superiores e inferiores al pI respectivo para cada muestra. Benelhadj et al. (2016) encontraron el mismo comportamiento (con valores más bajos de solubilidad) en una proteína aislado de *Arthrospira platensis* obtenida mediante extracción química.

**Cuadro 2-3.** Propiedades funcionales de la biomasa en polvo de espirulina (SpPb), proteína aislado de espirulina (SpPI) y proteína aislado de soya (SPI) en función del pH.

Propiedad funcional (%)	Muestras	pH									
		1	2	3	4	5	7	9	11	12	13
Solubilidad de proteínas (PS)	SpPb	21.88 ± 0.03 <sup>q</sup>	17.81 ± 0.66 <sup>r</sup>	3.20 ± 0.65 <sup>t</sup>	24.99 ± 0.54 <sup>op</sup>	31.28 ± 0.30 <sup>m</sup>	42.83 ± 1.48 <sup>j</sup>	49.83 ± 0.55 <sup>h</sup>	58.39 ± 0.25 <sup>g</sup>	62.25 ± 0.19 <sup>f</sup>	48.82 ± 0.63 <sup>hi</sup>
	SpPI	30.65 ± 0.13 <sup>mn</sup>	22.92 ± 0.14 <sup>pq</sup>	9.13 ± 0.32 <sup>s</sup>	34.60 ± 0.09 <sup>l</sup>	44.45 ± 0.22 <sup>j</sup>	56.64 ± 0.14 <sup>g</sup>	68.50 ± 0.46 <sup>c</sup>	82.87 ± 0.04 <sup>b</sup>	87.78 ± 0.31 <sup>a</sup>	73.81 ± 0.37 <sup>d</sup>
	SPI	50.47 ± 0.60 <sup>h</sup>	45.8 ± 0.89 <sup>ij</sup>	27.95 ± 0.28 <sup>no</sup>	11.60 ± 0.09 <sup>s</sup>	39.06 ± 0.81 <sup>k</sup>	51.01 ± 1.42 <sup>h</sup>	64.65 ± 0.40 <sup>f</sup>	79.60 ± 0.22 <sup>c</sup>	86.05 ± 0.45 <sup>a</sup>	79.72 ± 0.21 <sup>c</sup>
Capacidad de absorción de agua (WAC)	SpPb	224.25 ± 0.63 <sup>t</sup>	284.55 ± 0.45 <sup>p</sup>	167.47 ± 0.57 <sup>v</sup>	184.28 ± 0.78 <sup>w</sup>	218.30 ± 0.67 <sup>u</sup>	306.25 ± 0.46 <sup>o</sup>	339.76 ± 0.69 <sup>m</sup>	361.48 ± 0.71 <sup>k</sup>	400.26 ± 0.82 <sup>j</sup>	334.64 ± 0.43 <sup>n</sup>
	SpPI	273.95 ± 0.49 <sup>q</sup>	363.92 ± 0.46 <sup>k</sup>	219.47 ± 0.73 <sup>u</sup>	260.59 ± 0.64 <sup>f</sup>	276.73 ± 0.40 <sup>q</sup>	357.82 ± 0.69 <sup>l</sup>	513.69 ± 0.65 <sup>i</sup>	679.14 ± 0.44 <sup>g</sup>	828.49 ± 0.48 <sup>e</sup>	636.07 ± 0.29 <sup>h</sup>
	SPI	744.15 ± 0.24 <sup>f</sup>	983.96 ± 0.69 <sup>c</sup>	639.20 ± 0.39 <sup>h</sup>	228.58 ± 0.79 <sup>s</sup>	306.84 ± 0.22 <sup>o</sup>	916.69 ± 0.63 <sup>d</sup>	1121.32 ± 0.94 <sup>b</sup>	1428.75 ± 0.61 <sup>a</sup>	43.71 ± 0.34 <sup>x</sup>	16.88 ± 0.57 <sup>y</sup>
Capacidad (EC) y estabilidad (ES) emulsionante	SpPb	48.25 ± 0.29 <sup>i</sup>	50.17 ± 0.30 <sup>h</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>q</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>q</sup>	50.25 ± 0.29 <sup>h</sup>	59.92 ± 0.36 <sup>c</sup>	56.42 ± 0.22 <sup>d</sup>	47.67 ± 0.30 <sup>ij</sup>	39.33 ± 0.30 <sup>n</sup>	28.04 ± 0.11 <sup>p</sup>
	SpPI	43.75 ± 0.14 <sup>l</sup>	47.96 ± 0.11 <sup>ij</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>q</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>q</sup>	55.08 ± 0.22 <sup>ef</sup>	69.79 ± 0.15 <sup>a</sup>	66.88 ± 0.31 <sup>b</sup>	55.17 ± 0.36 <sup>def</sup>	46.33 ± 0.22 <sup>k</sup>	34.08 ± 0.15 <sup>o</sup>
	SPI	46.79 ± 0.29 <sup>jk</sup>	54.58 ± 0.22 <sup>f</sup>	47.92 ± 0.22 <sup>ij</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>q</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>q</sup>	56.17 ± 0.22 <sup>de</sup>	67.08 ± 0.25 <sup>b</sup>	59.75 ± 0.14 <sup>c</sup>	52.75 ± 0.52 <sup>g</sup>	42.21 ± 0.23 <sup>m</sup>
Capacidad espumante (FC)	SpPb	132.20 ± 1.96 <sup>opq</sup>	122.73 ± 1.57 <sup>qr</sup>	104.98 ± 1.89 <sup>s</sup>	115.69 ± 1.70 <sup>r</sup>	130.00 ± 1.73 <sup>opq</sup>	138.89 ± 1.60 <sup>mno</sup>	148.70 ± 1.58 <sup>klm</sup>	166.67 ± 1.28 <sup>hi</sup>	176.06 ± 1.63 <sup>gh</sup>	152.32 ± 1.28 <sup>jkl</sup>
	SpPI	165.48 ± 2.84 <sup>i</sup>	146.47 ± 1.95 <sup>lmn</sup>	126.40 ± 1.44 <sup>pq</sup>	138.89 ± 1.18 <sup>mno</sup>	158.97 ± 0.32 <sup>ijk</sup>	179.83 ± 2.11 <sup>fg</sup>	192.50 ± 1.44 <sup>de</sup>	226.13 ± 2.08 <sup>b</sup>	238.10 ± 1.25 <sup>a</sup>	214.64 ± 0.98 <sup>c</sup>
	SPI	145.74 ± 1.48 <sup>lmn</sup>	149.40 ± 2.59 <sup>kl</sup>	135.19 ± 2.14 <sup>op</sup>	122.96 ± 2.46 <sup>qr</sup>	137.91 ± 2.29 <sup>no</sup>	147.67 ± 2.33 <sup>lmn</sup>	160.52 ± 2.53 <sup>ij</sup>	187.88 ± 2.64 <sup>def</sup>	194.89 ± 1.64 <sup>d</sup>	183.86 ± 1.61 <sup>efg</sup>

Cada valor representa la media ± error estándar. <sup>abcd</sup>, Diferentes superíndices en las mismas filas de cada propiedad funcional indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

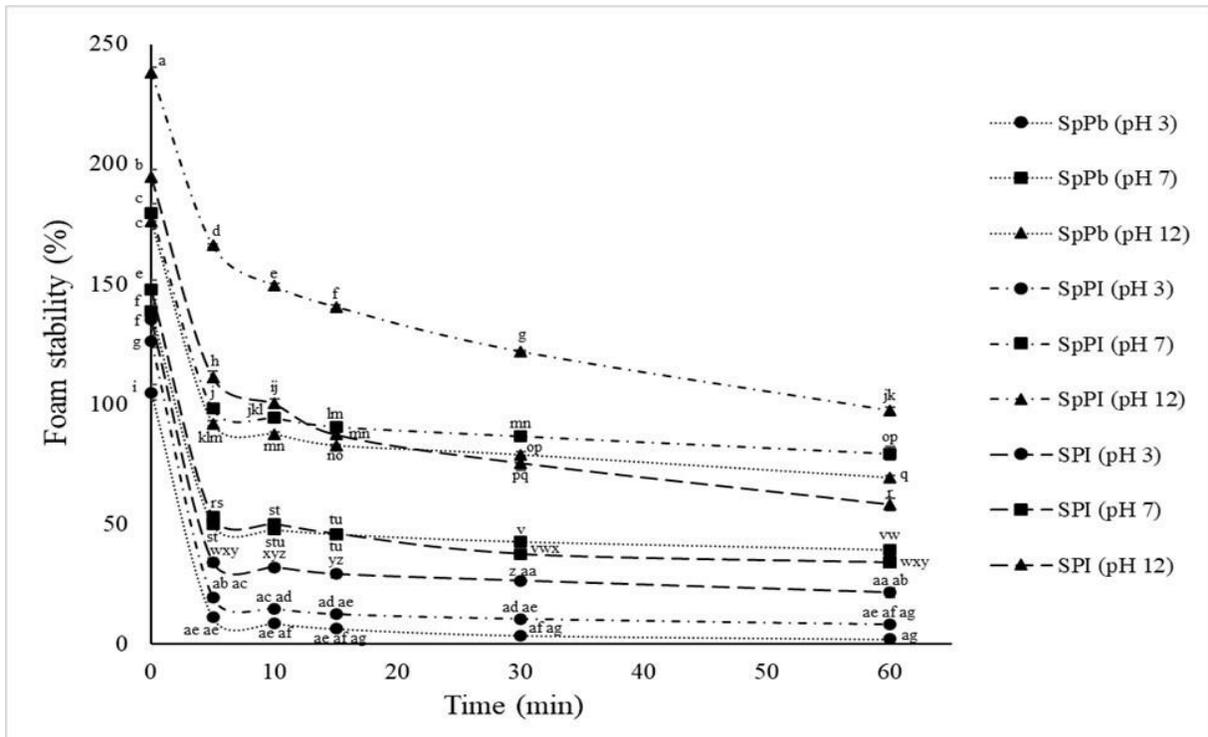
El WAC más alto para SPI se registró a pH 11, mientras que para SpPb y SpPI fue a pH 12 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ), el WAC de SpPI fue más del doble en comparación con SpPb. Este aumento podría atribuirse a numerosos sitios de unión hidrófilos superficiales, debido a que los cambios de pH conducen a la exposición o captura de los sitios de unión al agua (Benelhadj et al., 2023). La mínima WAC se obtuvo a pH 3 para SpPb y SpPI, mientras que para SPI fue a pH 13, cambios de pH cercanos al pI o extremadamente alcalinos afectan la estructura de las proteínas ocasionando el entierro de los sitios de unión hidrófilos (Bertsch et al., 2021).

La máxima EC se registró a pH 7.0 para SpPb y SpPI, mientras que para SPI fue a pH 9, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Mientras que a pH de 4-5 para SPI y a pH de 3-4 para SpPb y SpPI no se formaron las emulsiones, debido a que en estos pH las proteínas presentan su mínima solubilidad por lo que no lograron desplazarse rápidamente a la interfaz agua/aceite. La carga eléctrica de las proteínas disminuyó ocasionando una baja intensidad de las fuerzas repulsivas electrostáticas entre las gotas de aceite que se asociaron formando agregados (Benelhadj et al., 2016; Damodaran, 1996).

En cuanto a la ES al efecto del calor sobre las emulsiones formadas en función al pH (1-13), no se vieron afectadas significativamente ( $p > 0.05$ ) por el tratamiento térmico (80 °C) al cual fueron sometidas durante 30 min. A pH por encima y por debajo del pH isoeléctrico, las emulsiones fueron estables a la formación de crema y floculación. Sin embargo, a pH isoeléctricos no se lograron formar las emulsiones, observándose la separación completa de las fases cuando las muestras fueron centrifugadas. SpPI puede ser aplicado en la industria cárnica por su capacidad de mejorar la formación y estabilidad de las emulsiones cárnicas que se caracterizan por presentar pH de 5.0-7.0, donde la EC de SpPI fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que SPI, ampliamente utilizado en esta propuesta.

La máxima FC se registró a pH 12 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre las muestras evaluadas (Cuadro 2-3). La mayor FC de SpPI (238.095%) obtenida en el presente estudio fue comparable con una proteína concentrado de *Spirulina platensis* (226.460%) a pH 8 (Lupatini et al., 2019). La mínima FC se observó a pH 4 para SPI, mientras que para SpPb y SpPI fue a pH 3. A valores por debajo o por encima del pI de las proteínas evaluadas la FC aumenta, de manera similar a los hallazgos mencionados anteriormente en las propiedades funcionales de PS y

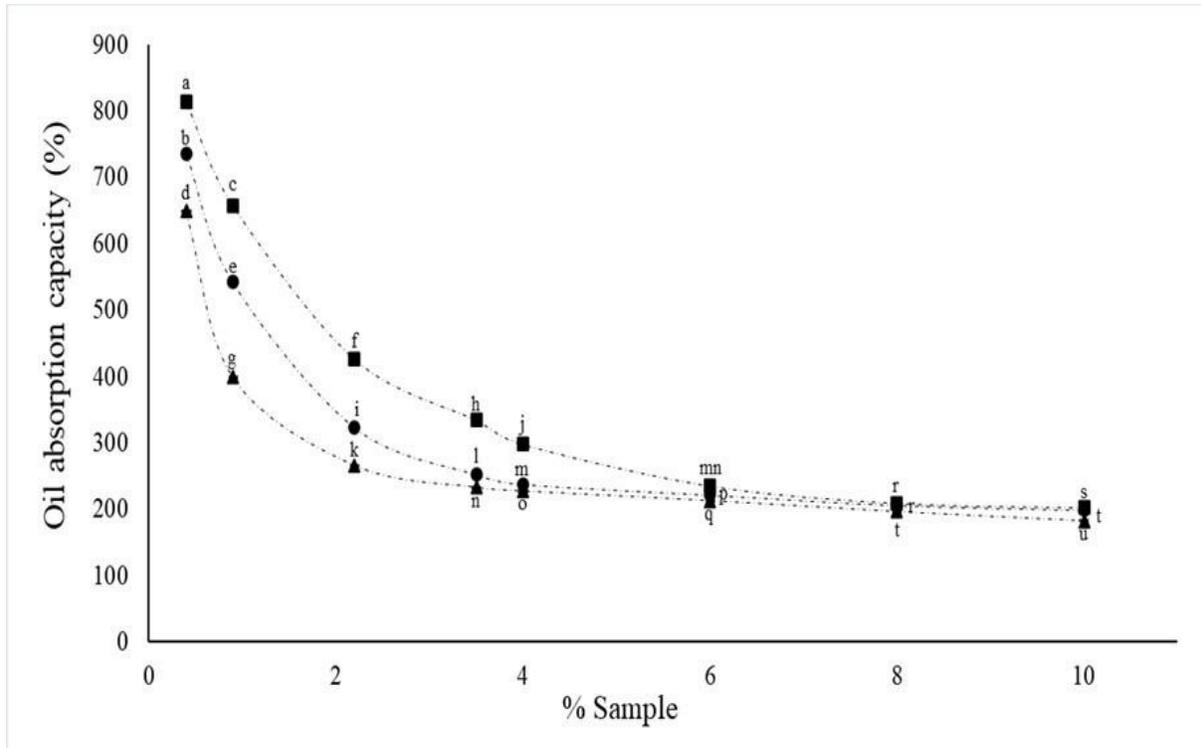
WAC. Este comportamiento se debe al aumento de la carga eléctrica y a la repulsión electrostática ocasionada por las cargas netas de las proteínas que tienden a difundirse con rapidez en la interfaz aire-agua para rodear a las burbujas de aire (Damodaran, 1996). Benelhadj et al. (2016) reportaron que la FC de una proteína aislado de *Spirulina platensis* depende del pH, alcanzando valores mayores al 250% a pH alcalinos. Mientras que los efectos del pH (3,7 y 12) en la FS de SpPb, SpPI y SPI a diferentes tiempos en el rango de 0 a 60 min se muestran en la Figura 2-2. El volumen de espuma registrado después de los 30 min de reposo para las muestras evaluadas fue mayor ( $p < 0.05$ ) a pH 12 en comparación a pH 3.



**Figura 2-2.** Estabilidad de la espuma (FS) de biomasa en polvo de espirulina (SpPb), proteína aislado de espirulina (SpPI) y proteína aislado de soya (SPI). <sup>abcd</sup>, Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

La FS de las muestras evaluadas disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) con el tiempo en cada uno de los pH evaluados, drásticamente a partir de los primeros 5 min donde se redujo alrededor del 100%. La baja FS podría atribuirse a que SpPb, SpPI y SPI no lograron formar películas interfaciales elásticas y densas que permitieran una mayor FS y, por lo tanto, la fuerte tensión superficial del agua ocasionó que las burbujas formadas se rompieran inmediatamente (Benelhadj et al., 2016). Sin embargo, a partir de los 10 min las espumas formadas se conservaron estables durante más tiempo.

En cuanto a la OAC de SpPb, SpPI y SPI se determinó en función a su presencia en diferentes concentraciones en el rango de 0.4 a 10.0% de muestra (Figura 2-3). Los valores de OAC más altos se registraron a 0.4% de SpPb, SpPI y SPI (649.59%, 736.15%, 814.79%, respectivamente), con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). A causa de la mayor disponibilidad de grupos lipofílicos que permitieron la fácil penetración y retención de aceite en la concentración mínima de las muestras evaluadas (Lupatini et al., 2019).



**Figura 2-3.** Capacidad de absorción de aceite (OAC); ▲ biomasa en polvo de espirulina (SpPb), ● proteína aislado de espirulina (SpPI) y ■ proteína aislado de soja (SPI) en el rango de 0.4 a 10.0% de muestra. <sup>abcd</sup>, Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Las diferencias de OAC se deben principalmente a la existencia de aminoácidos con cadenas laterales no polares que presentan mayor afinidad por moléculas lipídicas en cada una de las muestras (Lin et al., 1974). Debido a que, durante la obtención de la proteína aislado, la desnaturalización parcial de las proteínas permite la exposición de las cadenas laterales no polares que interactúan con las cadenas alifáticas de los lípidos, contribuyendo en una mayor absorción de aceite (Mao y Yufei, 2012). Por otro lado, los valores de OAC mínimos se produjeron al 10.0% de las muestras evaluadas, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Lupatini et al. (2019) reportaron resultados similares para una proteína concentrado de *Spirulina platensis*

(75.97% proteína), el OAC máximo (845.77%) se produjo al 0.4%, mientras que el mínimo valor (353.36%) se obtuvo al 4.0%, porcentaje más alto evaluado.

## 2.4.2 Caracterización de las pastas y del embutido cárnico

La estabilidad de la emulsión de las pastas cárnicas antes de la cocción, expresada en parámetros de líquido total liberado, liberación de grasa y agua, es un factor importante que afecta la calidad de los embutidos cárnicos (Jeong y Han, 2019). Como se muestra en el Cuadro 2-4, los tratamientos evaluados mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), T4 presentó los valores más bajos de líquido total liberado, liberación de grasa y agua; mientras que T1 mostró los valores más altos. En cuanto a la WAC de las pastas cárnicas (T1-T4), no se registraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), esto podría deberse al contenido de carbohidratos de SpPI. En un estudio reciente, Bošković et al. (2023) resaltaron la importancia de los carbohidratos en la WAC de las salchichas Frankfurt de cerdo.

**Cuadro 2-4.** Estabilidad de la emulsión (ES) de las pastas cárnicas formuladas con la inclusión de SpPI al 15, 10 y 5%, y pasta cárnica control (100% SPI).

Parámetros de estabilidad	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Líquido total liberado (%)	6.95 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.65 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.22 ± 0.03 <sup>c</sup>	3.51 ± 0.03 <sup>d</sup>
Liberación de grasa (%)	0.66 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.002 <sup>c</sup>	0.13 ± 0.001 <sup>d</sup>
Liberación de agua (%)	6.29 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.27 ± 0.03 <sup>b</sup>	3.99 ± 0.03 <sup>c</sup>	3.37 ± 0.03 <sup>d</sup>
WAC-Pc (g H <sub>2</sub> O absorbida/g carne)	0.20 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.001 <sup>a</sup>

T1: 15% SpPI, 85% SPI; T2: 10% SpPI, 90% SPI; T3: 5% SpPI, 95% SPI; T4: 0% SpPI, 100% SPI; SpPI: proteína aislado de espirulina; SPI: proteína aislado de soya. Cada valor representa la media ± error estándar. <sup>abcd</sup>, Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

En el Cuadro 2-5 se muestra la caracterización fisicoquímica, proximal, el análisis de perfil de textura y fuerza de corte de los embutidos cárnicos con la inclusión parcial de la proteína aislado de espirulina y soya (Figura 2-4). Las pérdidas por cocción y el rendimiento de cocción del embutido cárnico se relacionan principalmente con los parámetros de estabilidad de la emulsión de las pastas cárnicas formuladas durante el tratamiento térmico. Aunque los valores obtenidos no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ), se observó que con el aumento de

la concentración de SpPI las pérdidas por cocción disminuyeron y por consiguiente aumentó el rendimiento de cocción.

**Cuadro 2-5.** Caracterización fisicoquímica, proximal, análisis de perfil de textura y fuerza de corte de embutidos cárnicos con la inclusión de SpPI al 15, 10 y 5%, y embutido cárnico control (100% SPI).

		<b>Tratamientos</b>			
		T1	T2	T3	T4
<b>Parámetros fisicoquímicos</b>					
Pérdida por cocción (%)		$2.79 \pm 0.11^a$	$2.95 \pm 0.11^a$	$3.08 \pm 0.10^a$	$3.25 \pm 0.20^a$
Rendimiento de cocción (%)		$97.290 \pm 0.11^a$	$97.14 \pm 0.11^a$	$97.02 \pm 0.09^a$	$96.86 \pm 0.19^a$
Color	L*	$59.28 \pm 0.48^d$	$67.38 \pm 0.37^c$	$69.80 \pm 0.40^b$	$78.22 \pm 0.31^a$
	a*	$-7.48 \pm 0.16^d$	$-6.20 \pm 0.17^c$	$-4.80 \pm 0.05^b$	$1.00 \pm 0.03^a$
	b*	$18.08 \pm 0.06^a$	$18.48 \pm 0.50^a$	$18.21 \pm 0.20^a$	$18.78 \pm 0.07^a$
$a_w$		$0.99 \pm 0.002^a$	$0.99 \pm 0.002^a$	$0.99 \pm 0.001^a$	$0.99 \pm 0.001^a$
pH		$6.28 \pm 0.002^a$	$6.29 \pm 0.002^a$	$6.29 \pm 0.002^a$	$6.28 \pm 0.002^a$
<b>Parámetros proximales</b>					
Humedad (%)		$65.73 \pm 0.63^a$	$66.18 \pm 0.26^a$	$66.45 \pm 0.14^a$	$66.43 \pm 0.18^a$
Grasa (%)		$13.49 \pm 0.24^a$	$13.17 \pm 0.23^a$	$13.18 \pm 0.18^a$	$13.04 \pm 0.16^a$
Proteína (%)		$12.55 \pm 0.22^d$	$13.79 \pm 0.06^c$	$14.81 \pm 0.06^b$	$16.33 \pm 0.02^a$
Cenizas (%)		$1.89 \pm 0.02^b$	$1.93 \pm 0.01^b$	$1.93 \pm 0.004^b$	$1.99 \pm 0.01^a$
Carbohidratos (%)		$6.34 \pm 0.17^a$	$4.93 \pm 0.07^b$	$3.63 \pm 0.03^c$	$2.22 \pm 0.06^d$
<b>Parámetros de TPA</b>					
Dureza (N)		$21.24 \pm 0.38^a$	$22.544 \pm 0.355^a$	$21.41 \pm 0.29^a$	$21.38 \pm 0.35^a$
Elasticidad (mm)		$1.04 \pm 0.03^a$	$1.034 \pm 0.022^a$	$1.02 \pm 0.01^a$	$1.04 \pm 0.02^a$
Masticabilidad (N)		$8.39 \pm 0.24^a$	$8.415 \pm 0.284^a$	$7.96 \pm 0.12^a$	$8.69 \pm 0.19^a$
Gomosidad (N)		$8.12 \pm 0.25^a$	$8.187 \pm 0.208^a$	$7.79 \pm 0.12^a$	$8.44 \pm 0.41^a$
Cohesión (adimensional)		$0.25 \pm 0.03^a$	$0.352 \pm 0.080^a$	$0.32 \pm 0.02^a$	$0.23 \pm 0.06^a$
<b>Parámetro de WBSF</b>					
Fuerza de corte (N)		$5.23 \pm 0.10^a$	$5.462 \pm 0.062^a$	$5.53 \pm 0.02^a$	$5.28 \pm 0.10^a$

T1: 15% SpPI, 85% SPI; T2: 10% SpPI, 90% SPI; T3: 5% SpPI, 95% SPI; T4: 0% SpPI, 100% SPI; SpPI: proteína aislado de espirulina; SPI: proteína aislado de soya. Cada valor representa la media  $\pm$  error estándar. <sup>abcd</sup>, Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2-4.** Aspecto visual de los embutidos cárnicos formulados **a.** T1 (15% SpPI, 85% SPI), **b.** T2 (10% SpPI, 90% SPI), **c.** T3 (5% SpPI, 95% SPI), **d.** T4 (0% SpPI, 100% SPI). SpPI: proteína aislado de espirulina; SPI: proteína aislado de soya.

La aceptabilidad y calidad de los productos cárnicos están influenciadas por su color. Los parámetros de color ( $L^*$  y  $a^*$ ) de los embutidos cárnicos se vieron afectados significativamente ( $p < 0.05$ ) por la inclusión de SpPI (Cuadro 2-5). Los valores de color  $L^*$  y  $a^*$  más bajos se presentaron en T1 en comparación con T4, que dio como resultado un color más claro y amarillo. Parniakov et al. (2018) reportaron que el reemplazo total de la proteína de soya por proteína de microalgas (*Spirulina* y *Chlorella*) en embutidos cárnicos resultaron en valores más bajos debido a la presencia de pigmentos de clorofila, ficocianina y carotenoides presentes. En el presente estudio la inclusión de SpPI fue parcial por lo que el índice  $b^*$  (niveles de amarillo) no se vio afectado significativamente ( $p > 0.05$ ) en T1, T2 y T3 en comparación con T4, por la ausencia de SpPI.

El pH, la  $a_w$  y humedad de T1, T2 y T3 no fue estadísticamente diferente ( $p > 0.05$ ) de T4. Resultados similares fueron reportadas por Parniakov et al. (2018) quienes evaluaron el impacto de la sustitución de la proteína de soya por proteína de microalgas (*Spirulina* y *Chlorella*) en la formulación de rotti de pollo. Así mismo, la inclusión de SpPI no ejerció efectos estadísticamente significativos ( $p > 0.05$ ) en el contenido de grasa (Cuadro 2-5), como lo indica Marti-Quijal et al. (2019) en salchichas frescas de cerdo elaboradas con proteína de *Spirulina* (13.80%).

El contenido de proteína fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en T4 mientras el más bajo fue en T1. Sin embargo, ninguno de los tratamientos presentó contenidos menores a la cantidad mínima indicada en la Norma Oficial Mexicana (NMX-F-065-1984), que establece el 9.5% de

proteína en salchichas. Parniakov et al. (2018) y Marti-Quijal et al. (2019) indicaron que el contenido proteico de embutidos elaborados con proteína de soja es significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en comparación con diferentes fuentes proteicas como *Spirulina*, *Chlorella*, guisantes, habas y lentejas. El contenido de cenizas en T4 presentó mayor porcentaje ( $p < 0.05$ ) en comparación con el resto de los tratamientos. Mientras que el contenido de carbohidratos incrementó conforme aumentó la concentración de SpPI en los embutidos cárnicos ( $p < 0.05$ ). Contenidos de ceniza similares (1.96-2.04%) fueron reportados por Bošković et al. (2023) en salchichas Frankfurt de cerdo adicionadas con *Chlorella vulgaris* blanca y amarilla, indicando que la adición de estas microalgas incrementó también el contenido de carbohidratos.

Los valores de TPA y fuerza de corte se muestran en el Cuadro 2-5. Todos los tratamientos mostraron valores similares ( $p > 0.05$ ), esto indica que la inclusión parcial de la proteína aislado de espirulina no tuvo ningún efecto sobre las propiedades texturales analizadas en comparación con el T4. Este comportamiento se debe posiblemente a las propiedades funcionales que presentó SpPI, cuya EC evaluada a pH de 6.0 a 7.0 fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en comparación al SPI. Por lo tanto, SpPI a pH de 6.29 en T1, T2 y T3 proporcionó una alta estabilidad emulsionante que permitió mantener la matriz proteica y la fase continua de las emulsiones cárnicas como en T4 (Fernández-López et al., 2019). Resultados similares fueron reportados por Marti-Quijal et al. (2019) en salchichas frescas de cerdo elaboradas con proteína de *Spirulina* (24.49 N, 0.77 mm, 5.38 N.mm, 6.98 N, 0.28) en cuanto a parámetros texturales de dureza, elasticidad, masticabilidad, gomosidad y cohesión, respectivamente.

El Cuadro 2-6 muestra el contenido de aminoácidos de los tratamientos T1 y T4 del embutido cárnico. El contenido de cisteína, metionina, asparagina y triptófano no mostró diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos; sin embargo, presentaron las concentraciones más bajas ( $< 0.002$  g/100 g). Los aminoácidos no esenciales como el ácido glutámico y prolina fueron los aminoácidos de mayor concentración en ambos tratamientos. El ácido glutámico fue significativamente más alto ( $p < 0.05$ ) en T4, mientras que prolina presentó valores más altos en T1. En cuanto a los aminoácidos esenciales, lisina y leucina fueron los aminoácidos predominantes en ambos tratamientos. Lisina presentó valores significativamente altos ( $p < 0.05$ ) en T1, mientras que leucina fue significativamente más alta ( $p < 0.05$ ) en T4. Los valores más altos ( $p < 0.05$ ) de aminoácidos totales, esenciales y no esenciales se presentaron en T1, mientras que T4 mostró

valores más bajos. La relación entre aminoácidos esenciales y no esenciales fue más alta en T4 que en T1. Por lo tanto, la sustitución parcial del SPI por SpPI genera un incremento en el contenido de aminoácidos, presentando valores superiores a los reportados en la literatura (Cofrades et al., 2017).

**Cuadro 2-6.** Composición de aminoácidos (g /100 g) de los embutidos cárnicos con 15% SpPI, 85% SPI (T1) y 100% SPI (T4)

Aminoácidos (g /100 g)	Tratamiento	
	T1	T4
Esenciales		
Valina	4.16 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.99 ± 0.00 <sup>b</sup>
Treonina	2.26 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.20 ± 0.00 <sup>b</sup>
Isoleucina	3.85 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.81 ± 0.00 <sup>b</sup>
Leucina	5.23 ± 0.00 <sup>b</sup>	5.42 ± 0.00 <sup>a</sup>
Lisina	5.86 ± 0.00 <sup>a</sup>	5.75 ± 0.00 <sup>b</sup>
Metionina	<0.001 ± 0.00	<0.001 ± 0.00
Histidina	2.94 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.70 ± 0.00 <sup>b</sup>
Fenilalanina	4.01 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.97 ± 0.00 <sup>b</sup>
Triptófano	0.002 ± 0.00	0.002 ± 0.00
No esenciales		
Glicina	2.66 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.63 ± 0.00 <sup>b</sup>
Alanina	4.72 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.97 ± 0.00 <sup>b</sup>
Serina	2.64 ± 0.00 <sup>b</sup>	2.68 ± 0.00 <sup>a</sup>
Prolina	8.04 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.99 ± 0.00 <sup>b</sup>
Cisteína	<0.001 ± 0.00	<0.001 ± 0.00
Asparagina	<0.001 ± 0.00	<0.001 ± 0.00
Ácido aspártico	5.04 ± 0.00 <sup>a</sup>	4.70 ± 0.00 <sup>b</sup>
Glutamina	0.02 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.03 ± 0.00 <sup>a</sup>
Ácido glutámico	8.49 ± 0.00 <sup>b</sup>	8.60 ± 0.00 <sup>a</sup>
Arginina	5.44 ± 0.00 <sup>a</sup>	5.14 ± 0.00 <sup>b</sup>
Tirosina	2.96 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.75 ± 0.00 <sup>b</sup>
Totales	68.32 ± 0.002 <sup>a</sup>	65.35 ± 0.01 <sup>b</sup>
Esenciales	28.31 ± 0.001 <sup>a</sup>	27.85 ± 0.003 <sup>b</sup>
No esenciales	40.01 ± 0.001 <sup>a</sup>	37.50 ± 0.01 <sup>b</sup>
Relación E/NE	0.71 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.00 <sup>b</sup>

SpPI: proteína aislado de espirulina; SPI: proteína aislado de soya. Cada valor representa la media ± error estándar. <sup>abcd</sup>, Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Diversos autores han reportado que la adición de microalgas (*Spirulina* y *Chlorella*) en bajas concentraciones a productos cárnicos genera un incremento en el contenido de la mayoría de los aminoácidos (Parniakov et al., 2018; Marti-Quijal et al., 2019; Žugčić et al., 2018). El presente estudio demostró que la inclusión de SpPI en la formulación de los embutidos cárnicos proporcionó un mayor contenido de aminoácidos en comparación con SPI. Por lo tanto, este enriquecimiento podría generar importantes beneficios para la salud, principalmente por satisfacer las demandas metabólicas de aminoácidos esenciales del organismo (Cofrades et al., 2017).

## 2.5 CONCLUSIONES

El proceso de extracción de proteínas de espirulina por el método de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica permitió obtener un contenido de proteína aislado del 77.58%. SpPI presentó importantes propiedades funcionales (PS, FC y EC) significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) en comparación con SpPb y SPI, este último aplicado principalmente en la industria cárnica para emulsionar, dar textura e incrementar rendimientos a una amplia variedad de productos cárnicos. La inclusión parcial de SpPI en la formulación de embutidos cárnicos presentó una EC a pH de 6.0 a 7.0 significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en comparación con SPI. Por lo tanto, SpPI a pH de 6.29 en T1, T2 y T3 proporcionó una alta estabilidad emulsionante, y su inclusión a diferentes concentraciones en los embutidos cárnicos no tuvo efectos significativos ( $p > 0.05$ ) sobre las propiedades texturales analizadas. Pese a que T1 tenía la mayor inclusión de SpPI presentó un contenido de proteína más bajo, sin embargo, su contenido de aminoácidos totales fue mayor que T4. Los resultados demuestran que la proteína aislado de espirulina en un 15 % de inclusión tiene gran potencial para mejorar la calidad nutricional de los alimentos, específicamente en los embutidos cárnicos, sin afectar sus atributos sensoriales de textura.

## 2.6 LITERATURA CITADA

- AOAC (2000). Official Method of Analysis, Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA, USA, 17th ed
- Bashir, S., Sharif, M. K., Butt, M. S., & Shahid, M. (2016). Functional properties and amino acid profile of *spirulina platensis* protein isolates. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research Series B Biological Sciences, 59(1), 12-19.
- Benelhadj, S., Douiri, S., Ghouilli, A., Hassen, R. B., Keshk, S. M. A. S., El-kott, A., Attia, H., & Ghorbel, D. (2023). Extraction of *Arthrospira platensis* (Spirulina) proteins via Osborne sequential procedure: Structural and functional characterizations. Journal of Food Composition and Analysis, 115, 104984. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104984>
- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. Food Chemistry, 194, 1056-1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.133>
- Bertsch, P., Böcker, L., Mathys, A., & Fischer, P. (2021). Proteins from microalgae for the stabilization of fluid interfaces, emulsions, and foams. Trends in Food Science & Technology, 108, 326-342. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.014>
- Blume, K., Dietrich, K., Lilienthal, S., Ternes, W. & Drotleff, A.M. (2015). Exploring the relationship between protein secondary structures, temperature-dependent viscosities, and technological treatments in egg yolk and LDL by FTIR and rheology. Food Chemistry, 173, 584–593.
- Bošković, C.M., Glišić, M., Baltić, M., Jovanović, D., Silađi, Č., Simunović, S., Tomašević, I., Raymundo, A. (2023). White and Honey *Chlorella Vulgaris*: Sustainable Ingredients with the Potential to Improve Nutritional Value of Pork Frankfurters without Compromising Quality. Meat Science, 198, 109123. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109123>.
- Choi, Y., Choi, J., Han, D., Kim, H., Lee, M., Kim, H., Lee, J., Chung, H., Kim, C. (2010). Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. Meat Science, 84 (1), 212-218. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.048>.
- Coffman, C.W. & García, V.V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. International Journal of Food Science & Technology, 12(5), 473-484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00132.x>
- Cofrades, S., Benedí, J., Garcimartin, A., Sánchez-Muniz, F.J., Jimenez-Colmenero, F. (2017). A comprehensive approach to formulation of seaweed-enriched meat products: From technological development to assessment of healthy properties. Food Research International, 99, 1084-1094.
- Damodaran, S. (1996). Amino acids, peptides, and proteins. O.R. Fennema (Ed.), Food chemistry (3th ed.), Marcel Dekker Inc, New York.

- de Medeiros, V.P.B., Pimentel, T.C., Sant'Ana, A.S., Magnani, M. (2021). Microalgae in the Meat Processing Chain: Feed for Animal Production or Source of Techno-Functional Ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 37, 125-134. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.014>.
- Fernández-López, J., Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., Haros, C.M., Pérez-Álvarez, J. (2019). Chia (*Salvia Hispanica* L.) Products as Ingredients for Reformulating Frankfurters: Effects on Quality Properties and Shelf-Life. *Meat Science*, 156, 139-145. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.028>.
- Gastwirth, J.L., Gel, Y.R., Miao, W., & Miao, W. (2009). The impact of Levene's test of equality of variances on statistical theory and practice. *Statistical Science*, 24(3), 343-360. <https://doi.org/10.1214/09-STS301>
- General Directorate of Standards. (1988). Mexican Standard NMX-F-508-1988 Food – Spirulina –Specifications. Official Journal of the Federation.
- Hughes, E., Cofrades, S. and Troy, D.J. (1997). Effects of fat level, oat fibre and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. 45(3), 0-281. doi:10.1016/s0309-1740(96)00109-x
- Jeong, Y., and Youngsil, H. (2019). Effect on the Emulsification Stability and Quality of Emulsified Sausages Added with Wanggasi-Chunyuncho (*Opuntia humifusa* f. *jeollaensis*) Fruit Powders. *Food Science of Animal Resources*, 39, 6, 953-65. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e85>.
- Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J.-H. (2019). *Spirulina platensis*, a super food? *Journal of Cellular Biotechnology*, 5(1), 43–54. <https://doi.org/10.3233/JCB-189012>
- Köhn, C.R., Fontoura A.M., Kempka A.P., Demiate I.M., Kubota E.H., Prestes R.C. (2015). Assessment of different methods for determining the capacity of water absorption of ingredients and additives used in the meat industry. *International Food Research Journal*, 22, 356-362.
- Lin, K.-W., & Huang, H.-Y. (2003). Konjac/gellan gum mixed gels improve the quality of reduced-fat frankfurters. *Meat Science*, 65, 749-755.
- Lin, M.J.Y., Humbert, E.S., and Sosulski, F.W. (1974). Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*, 39, 2, 368-70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1974.tb02896.x>.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Lupatini, M.A.L., Souza, L.E.S. de, Colla, L.M., Costa, J.A.V., Sehn, E., Bittencourt, P.R. S., Moraes Flores, É.L. de, Canan, C., & Colla, E. (2019). Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food

- enrichment. *LWT*, 114, 108267. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108267>
- Mao, X., and Yufei H. (2012). Composition, structure and functional properties of protein concentrates and isolates produced from walnut (*Juglans Regia* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 2, 1561-81. <https://doi.org/10.3390/ijms13021561>.
- Marti-Quijal, F.J., Zamuz, S., Tomašević, I., Gómez, B., Rocchetti, G., Lucini, L., Remize, F., Barba, F.J., 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- Food Science and Technology*, 110, 316-323. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.097>.
- Morr, C.V., German, B., Kinsella, J.E., Regenstein, J.M., Buren, J.P.V., Kilara, A., Lewis, B.A., & Mangino, M.E. (1985). A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science*, 50(6), 1715-1718. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10572.x>
- Parniakov, O., Toepfl, S., Barba, F.J., Granato, D., Zamuz, S., Galvez, F. & Lorenzo, J.M. (2018). Impact of the soy protein replacement by legumes and algae based proteins on the quality of chicken rotti. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 7, 2552-2559. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3175-1>.
- Pereira, A. M., Lisboa, C. R., & Costa, J. A. V. (2018). High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 187-194.
- Promotion and industrial development secretary (1984). Mexican Standard NMX-F-065-1984 Foods – Sausage – Specifications. General Directorate of Standards.
- Razali, N.M & Wah, Y.B. (2011). Power Comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling Tests. *Journal of Statistical Modeling Analytics*. 2(1), 21-33.
- Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T., & Ishii, K. (1974). Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agricultural and Biological Chemistry*, 36(5), 719-727. <https://doi.org/10.1080/00021369.1972.10860321>
- Zhang, Q., Long, X., Xie, J., Xue, B., Li, X., Gan, J., Bian, X., & Sun, T. (2022). Effect of d-galactose on physicochemical and functional properties of soy protein isolate during Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 133, 107914. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107914>
- Žugčić, T, Abdelkebir, R., Barba, F.J., Rezek-Jambrak, A., Gálvez, F., Zamuz, S., Granato, D. & Lorenzo, J.M. (2018). Effects of pulses and microalgal proteins on quality traits of beef patties. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 11, 4544-4553. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3390-9>.

## CONCLUSIONES GENERALES

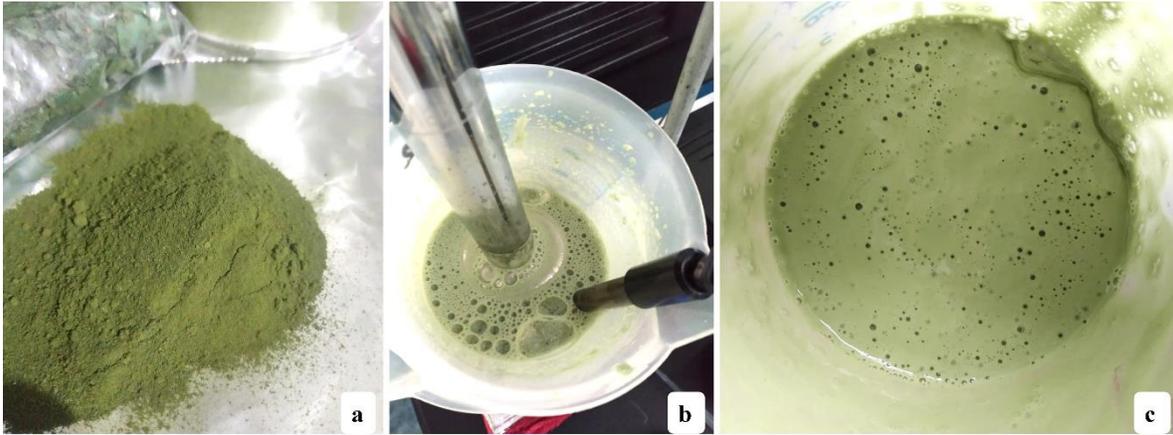
El método de solubilización alcalina (pH 11) y precipitación isoelectrica (pH 4.2) permitió obtener una proteína aislado con un contenido del 77.58% a partir de la biomasa de espirulina (*Arthrospira maxima*). La proteína aislado de espirulina presentó propiedades funcionales (solubilidad de proteínas, capacidad emulsionante y espumante) significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) en comparación con la biomasa en polvo de espirulina y una proteína aislado de soya. La inclusión de la proteína aislado en la formulación de un embutido cárnico mejoró su calidad nutrimental, sin afectar sus atributos de textura. Finalmente, es indispensable realizar más investigación para determinar si el SpPI podría ser utilizado para el reemplazo total del SPI, principalmente utilizado para la formulación de productos cárnicos emulsionados.

## RECOMENDACIONES GENERALES

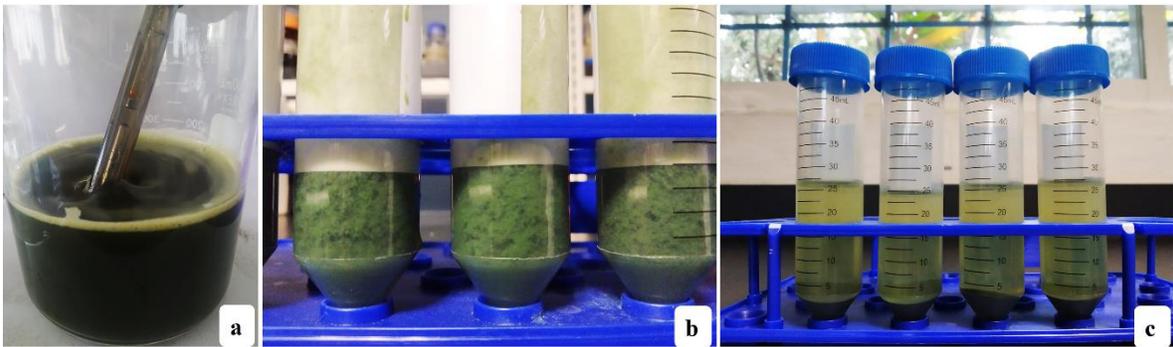
- Llevar a cabo un pretratamiento de la biomasa en polvo de espirulina para eliminar aquellos componentes que lograron solubilizarse (carbohidratos y minerales) durante la obtención de la proteína aislado.
- Llevar a cabo un análisis sensorial de los embutidos cárnicos formulados para determinar la aceptabilidad de los consumidores.
- Evaluar la vida útil y estabilidad de los embutidos cárnicos para determinar el impacto del almacenamiento y obtener información sobre la calidad del producto.
- Explorar nuevas aplicaciones de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) en alimentos, basándose en la información obtenida sobre sus propiedades funcionales. Esto permitiría ampliar su uso en la industria alimentaria y potencialmente mejorar la calidad nutricional de los productos alimenticios.
- Se sugiere evaluar la posible presencia de alérgenos alimentarios en la biomasa en polvo de espirulina (*Arthrospira maxima*) y su proteína aislado, especialmente cuando se utiliza como ingrediente funcional en alimentos con el fin de garantizar la seguridad de los consumidores.



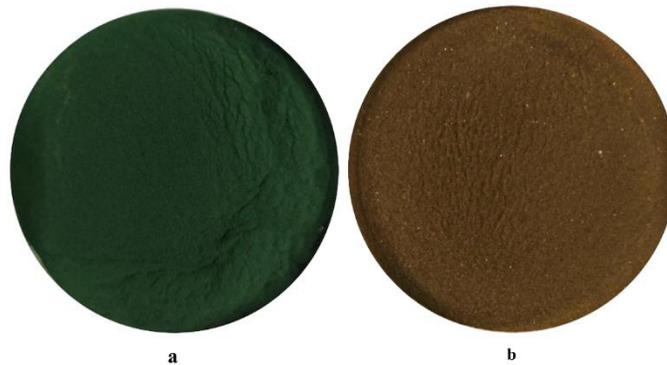
## A2.Objetivo específico I y II



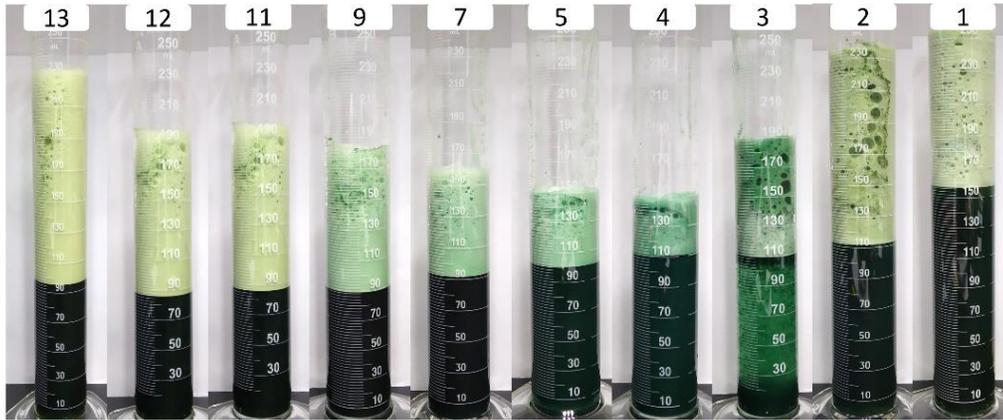
**Figura 1.** Solubilización alcalina para la obtención de una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPI). **a.** Biomasa en polvo de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPb); **b.** Homogenización de SpPb y **c.** Aspecto visual de la mezcla final después de la homogenización.



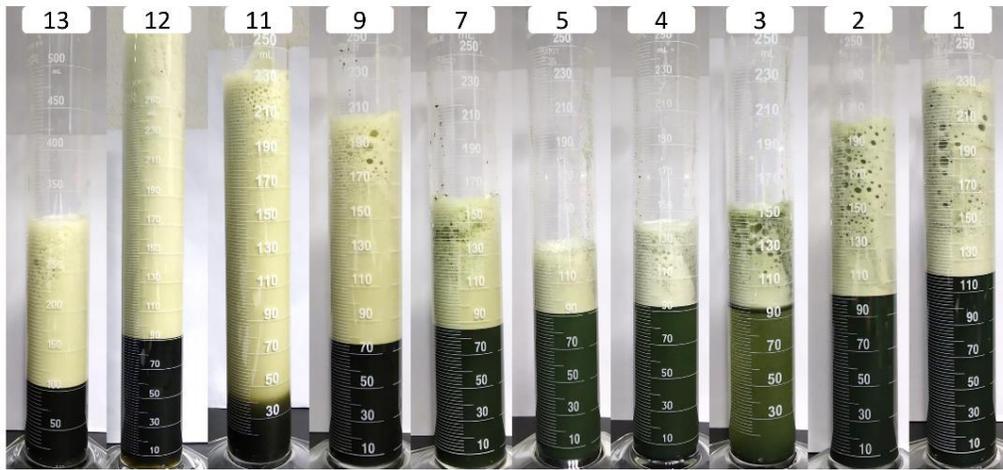
**Figura 2.** Precipitación isoelectrica para la obtención de una proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*). **a.** Ajuste de pH de la mezcla; **b-c.** Precipitación de las proteínas antes y después de la centrifugación.



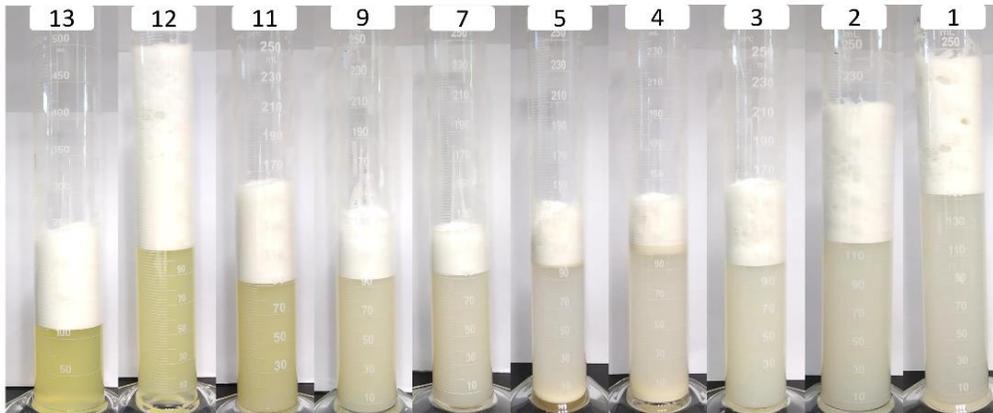
**Figura 3.** Apariencia visual. **a.** Biomasa en polvo de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPb) y **b.** Proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPI).



a

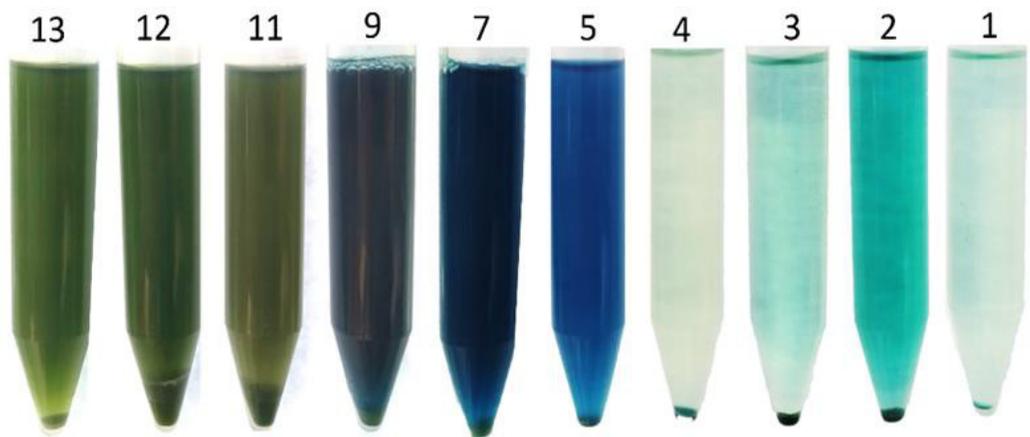


b

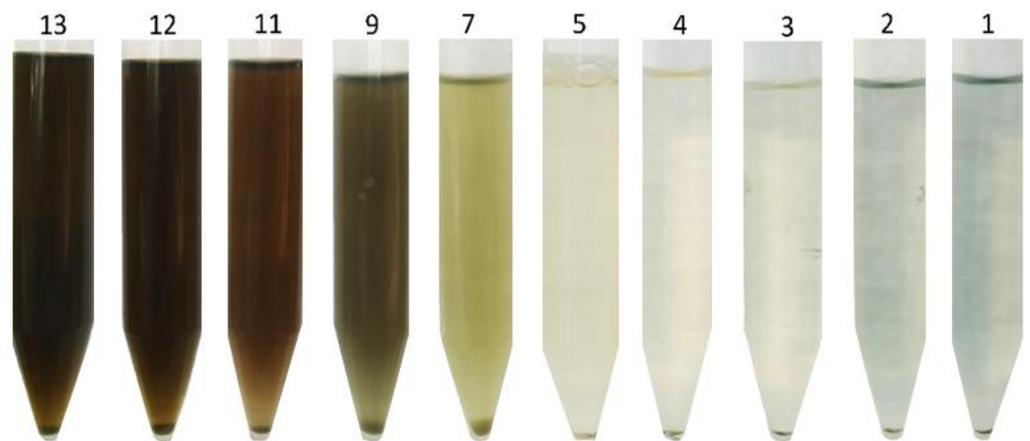


c

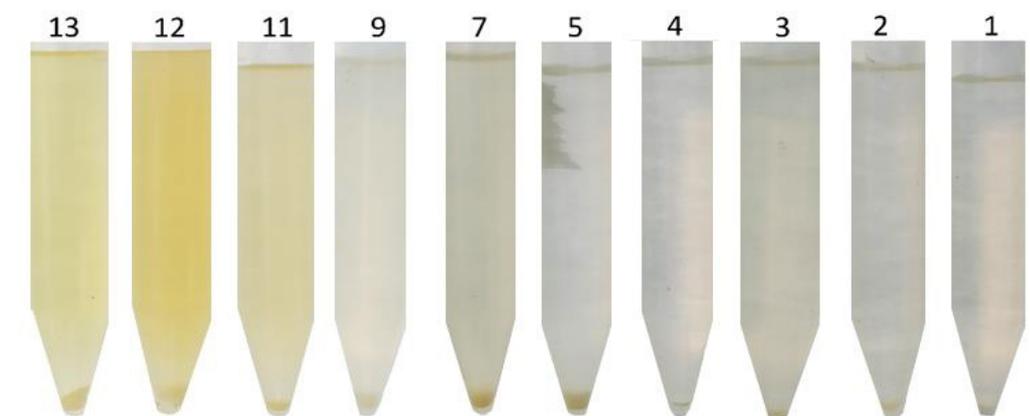
**Figura 4.** Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma (FS) a diferentes valores de pH (13, 12, 11, 9, 7, 5, 4, 3, 2, 1). **a.** Biomasa en polvo de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPb), **b.** Proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPI) y **c.** Proteína aislado de soya (SPI).



**a**

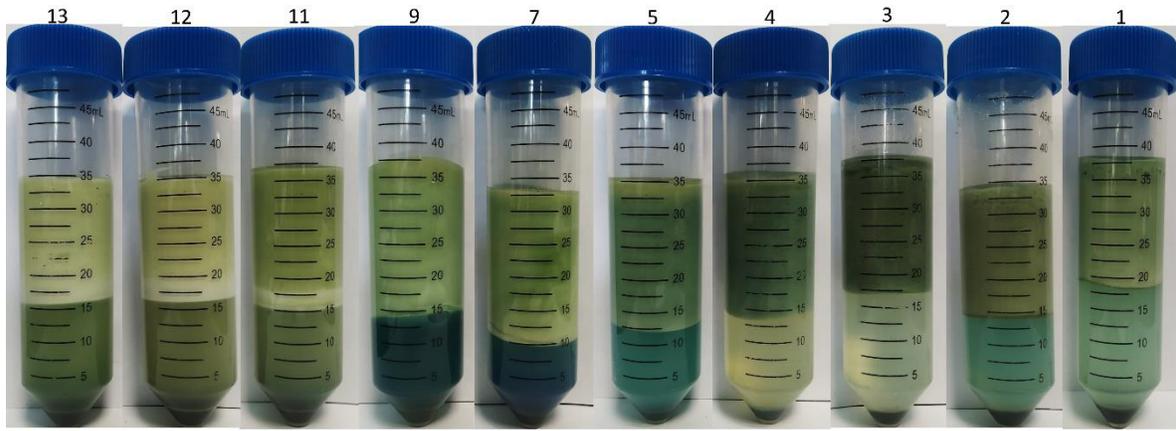


**b**

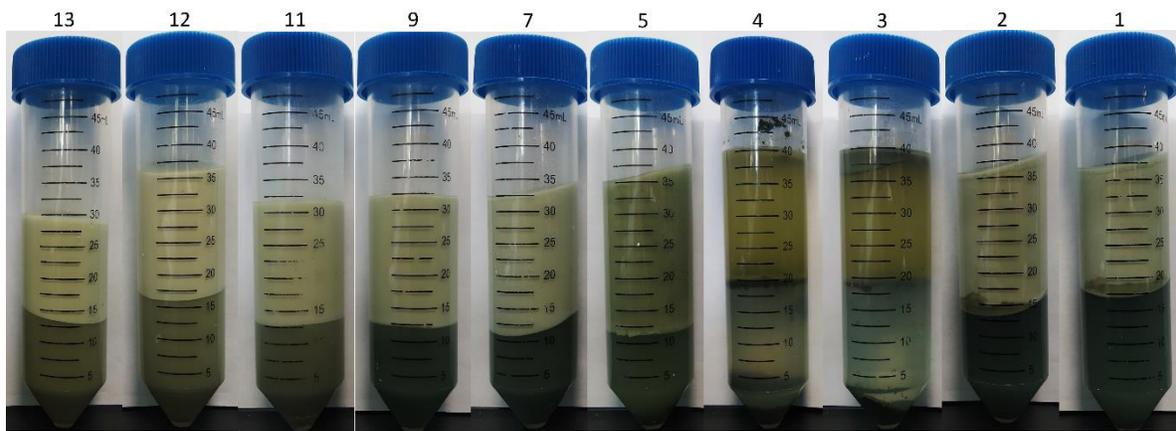


**c**

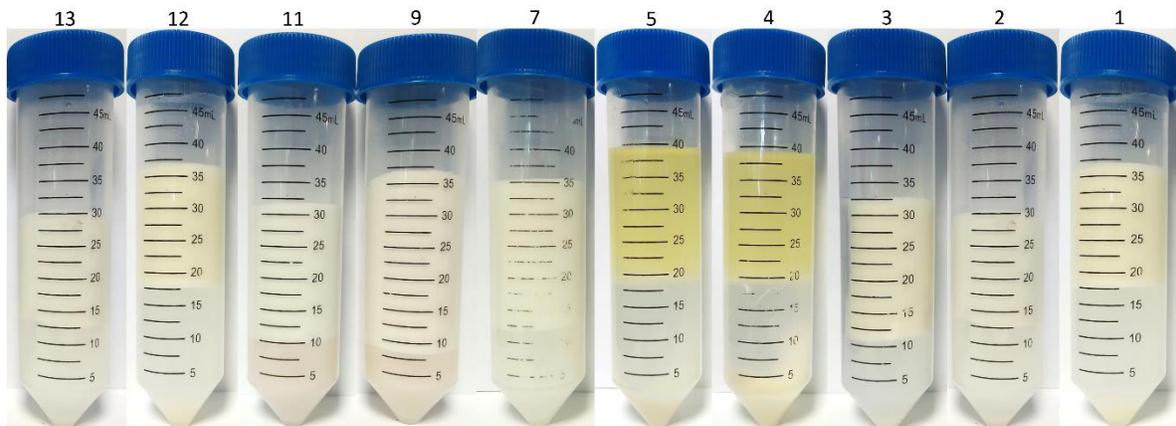
**Figura 5.** Solubilidad de proteínas (PS) en agua a diferentes valores de pH (13, 12, 11, 9, 7, 5, 4, 3, 2, 1). **a.** Biomasa en polvo de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPb), **b.** Proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPI) y **c.** Proteína aislado de soya (SPI).



a



b



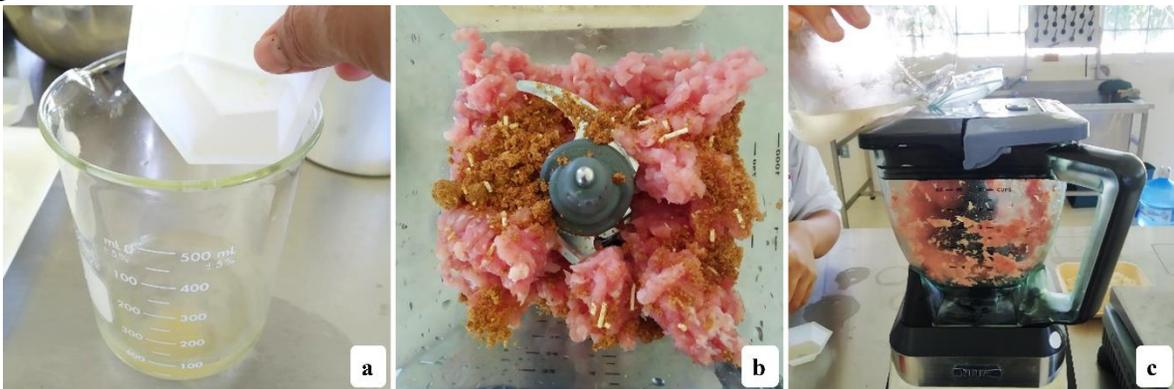
c

**Figura 6.** Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad de la emulsión (ES) a diferentes valores de pH (13, 12, 11, 9, 7, 5, 4, 3, 2, 1). **a.** Biomasa en polvo de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPb), **b.** Proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPI) y **c.** Proteína aislado de soya (SPI).

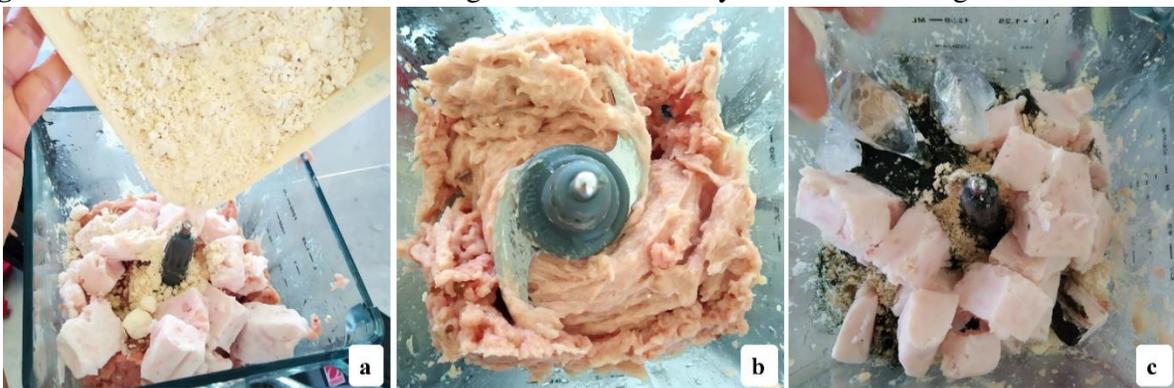
### A3.Objetivo específico III.



**Figura 1.** Elaboración de los tratamientos del embutido cárnico. **a-b.** Selección y pesaje de los ingredientes.



**Figura 2.** **a.** Mezcla de los nitritos en agua fría. **b-c.** Corte y Mezcla de los ingredientes.



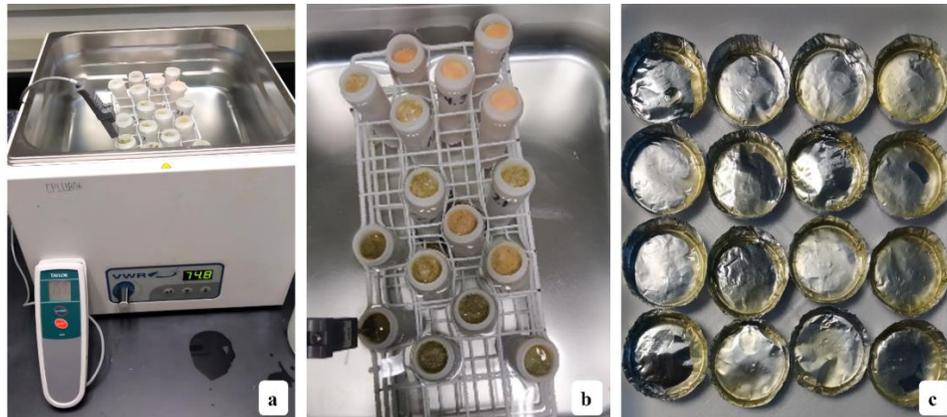
**Figura 3.** Incorporación de los ingredientes. **a.** Lardo de cerdo y Proteína aislado de soya (SPI); **b.** Apariencia visual de la pasta cárnica y **c.** Inclusión de la proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*) (SpPI).



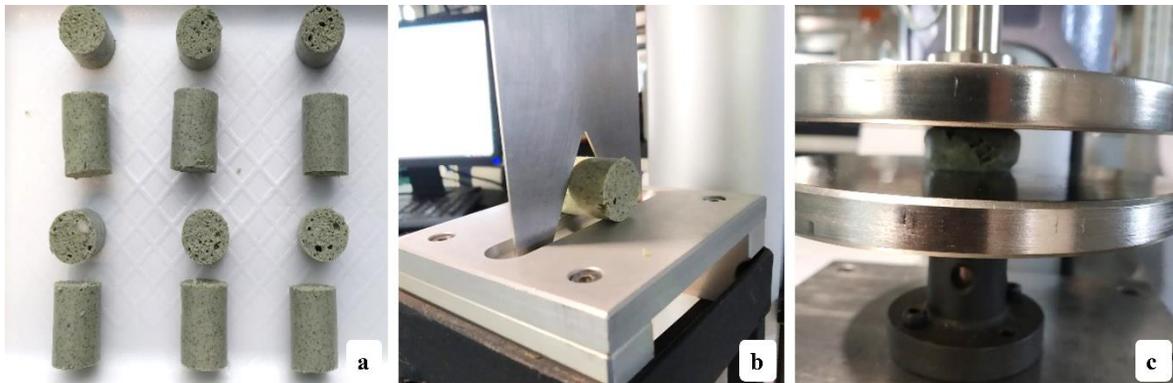
**Figura 4.** a. Embutido de la pasta cárnica. b. Enfriamiento de los embutidos cárnicos c. Apariencia visual del embutido cárnico (T4) después del cocimiento.



**Figura 5.** Aspecto visual de los tratamientos del embutido cárnico a. T1 (15% SpPI, 85% SPI), b. T2 (10% SpPI, 90% SPI), c. T3 (5% SpPI, 95% SPI), d. T4 (0% SpPI, 100% SPI). SpPI: Proteína aislado de espirulina (*Arthrospira maxima*); SPI: Proteína aislado de soya.



**Figura 6.** Análisis de las pastas cárnicas. a-b. Determinación de la estabilidad de la emulsión de las pastas cárnicas.



**Figura 7.** Análisis de las propiedades texturales de las muestras del embutido cárnico. **a.** Muestras del embutido cárnico (T1); **b.** Medición de la fuerza de corte utilizando el método Warner-Bratzler y **c.** Medición de las propiedades físicas de la textura mediante la técnica de Análisis de Perfil de Textura (TPA).



**Figura 8.** Caracterización fisicoquímica de los embutidos cárnicos. **a.** Determinación del contenido de cenizas; **b.** Cuantificación del contenido de grasa y **c.** Medición pH y acidez titulable.

## **B1. Participación en congresos**

- **Academia Journals 2023**

**OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE ESPIRULINA (*Arthrospira maxima*)  
CULTIVADA EN ZONA TROPICAL**



GOBIERNO DE  
MÉXICO

EDUCACIÓN  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO



PRODUCTOS Y SERVICIOS ESTRATÉGICOS  
PARA INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**PYSEIP**  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN

**CONGRESO**  
INTERNACIONAL DE INVESTIGACION  
**ACADEMIA JOURNALS**  
**PUEBLA TECNOM**  
INGENIERÍA PARA LA INNOVACIÓN Y  
DESARROLLO TECNOLÓGICO SOSTENIBLE

# ARTÍCULOS DEL CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN ACADEMIA JOURNALS PUEBLA TECNOM 2023

*Ingeniería para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible*

FEBRERO 22 - 24, 2023

# LAS CIENCIAS DE LA SALUD PARA LA INNOVACIÓN Y DESARROLLO TECNOLÓGICO SOSTENIBLE

TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN DEL CONGRESO  
INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN ACADEMIA  
JOURNALS PUEBLA TECNM 2023

*Ingeniería para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible*

ELIBRO CON ISBN ONLINE 978-1-939982-92-6

**CONGRESO**  
INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN  
ACADEMIA JOURNALS  
**PUEBLA TECNM**  
INGENIERÍA PARA LA INNOVACIÓN Y  
DESARROLLO TECNOLÓGICO SOSTENIBLE

# Título del Libro Electrónico: *Las Ciencias de la Salud para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible*

ISBN 978-1-939982-92-6 online\*

Este libro electrónico (e-book) contiene la colección de los trabajos de investigación presentados en el área de *educación* en el Congreso Internacional de Investigación Academia Journals Puebla TecNM, *Ingeniería para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible*, que fuera organizado los días 22, 23, y 24 de febrero de 2023 por Academia Journals en colaboración con el Instituto Tecnológico de Puebla y Servicios Estratégicos para Investigación y Postgrado (PYSEIP).

## POLÍTICA DE COPYRIGHT

Con el fin de maximizar el valor para los autores de sus publicaciones en AJ, se observan la políticas de copyright aquí descritas. Academia Journals protegerá los intereses de los autores y de las instituciones donde ellos laboran. Como requisito para publicar en AJ, todos los autores y la institución donde ellos laboran transfieren a AJ cualquier derecho de copyright que tengan en su artículo. El copyright se transmite cuando el artículo es aceptado para su publicación. La asignación de copyright es nula y terminada en caso de que el artículo no sea aceptado para publicación. Para corresponder a la transferencia de los derechos de autor, AJ cede a los autores y a las instituciones donde ellos laboran el permiso y derecho de hacer copias del artículo publicado y utilizarlo para fines académicos. El autor retiene siempre los derechos de patentes descritas en el artículo. Después de que el artículo haya sido aceptado para su publicación en AJ, y dado que el copyright ha sido ya transferido, cualquier cambio o revisión al material debe hacerse solamente con la autorización de AJ.

## CONSEJO ACADÉMICO

Dr. Rafael Moras (San Antonio, EEUU)  
MA Ani Alegre (Austin, EEUU)  
Dr. Ángel Esparza (Houston, EEUU)  
Lic. David Moras (San Antonio)  
MC Constantino Moras Sánchez (Orizaba, México)  
Dr. Eloy Mendoza Machain (Morelia, México)  
Dr. Pedro López Eiroá (CDMX, México)  
Dr. Víctor Mendoza (Puebla, México)  
Dr. Albino Rodríguez Díaz (Tepic, México)  
Vicerrector Dante Agatón (Morelia, México)

## DISEÑO Y PUBLICIDAD

contacto@academiajournals.com

## COMENTARIOS Y SUGERENCIAS

contacto@academiajournals.com  
+1 (210) 415-3353  
3760 E. Evans  
San Antonio TX 78259 USA  
www.academiajournals.com

\*El ISBN fue asignado a este libro por la Agencia de ISBN en Estados Unidos. Los números de copyright tienen validez mundial. Para comprobar la validez de un ISBN, favor de visitar la página [bookwire.com](http://bookwire.com).





## Congreso Internacional de Investigación de Academia Journals Puebla TecNM 2023



Ingeniería para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible

# CERTIFICADO

otorgado a

**Ing. Mariana Inés Acateca Hernández**  
**Dra. Aleida Selene Hernández Cázares**  
**Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras**  
**Dra. María Teresa Jiménez Munguía**  
**Ing. Zuemy Hernández Nolasco**  
**Dra. Maria Antonieta Rios Corripio**

por su artículo titulado

### **Obtención de Aislados Proteicos de Espirulina (Arthrospira maxima) Cultivada en Zona Tropical**

(Artículo No. ITP119)

La ponencia correspondiente fue presentada en el congreso desarrollado los días 22, 23, y 24 de febrero de 2023, teniendo como sede las magníficas instalaciones del Instituto Tecnológico de Puebla, institución líder en el sistema TECNM. El artículo está incluido en las siguientes publicaciones: (1) en el portal de Internet AcademiaJournals.com, con ISSN 1946-5351 online, Vol. 15, No. 01, 2023 e indexación en la base de datos [Fuente Académica Plus de EBSCOHOST](#), Massachusetts, Estados Unidos y (2) en libros ebook digitales compilados por área temática, con números ISBN online\*. Se tiene acceso a todas las publicaciones del congreso en el portal de internet de Academia Journals, con acceso libre.

Los organizadores del congreso reconocen la participación de los autores en el congreso, agradeciendo sus contribuciones.

**YEYETZIN SANDOVAL GONZÁLEZ**

Directora  
Instituto Tecnológico de Puebla  
Tecnológico Nacional de México

**DR. RAFAEL MORAS, P.E.**

Director General  
Academia Journals

**DR. PEDRO LÓPEZ EIROÁ**

Director General  
PYSEIP - Productos y Servicios Estratégicos  
para Investigación y Posgrado



\* Las Ciencias Administrativas para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible  
Las Ciencias de la Salud para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible  
Matemáticas y Ciencias Exactas para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible  
Ciencias de la Educación para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible  
Humanidades, Ciencias Sociales y Bellas Artes para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible  
Ingeniería para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Sostenible

978-1-939982-91-9  
978-1-939982-92-6  
978-1-939982-93-3  
978-1-939982-94-0  
978-1-939982-96-4  
978-1-939982-84-1

# Obtención de Aislados Proteicos de Espirulina (*Arthrospira maxima*) Cultivada en Zona Tropical

Ing. Mariana Inés Acateca Hernández<sup>1</sup>, Dra. Aleida Selene Hernández Cázares<sup>2</sup>,  
Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras<sup>3</sup>, Dra. María Teresa Jiménez Munguía<sup>4</sup>, Ing. Zuemy Hernández Nolasco<sup>5</sup> y Dra.  
María Antonieta Ríos Corripio<sup>6</sup>

**Resumen**— Los aislados proteicos (AP) son proteínas extraídas de alimentos enteros; el de soja es el aislado vegetal más conocido y utilizado en la industria alimentaria. Dentro de las fuentes emergentes para la obtención de AP se encuentran las microalgas; el género *Arthrospira maxima* es fuente importante de proteínas con un contenido entre 50-60% en peso, fácil digestión y puede ser cultivada con poca inversión de infraestructura. El objetivo de este trabajo fue obtener espirulina (*A. maxima*) en polvo (EP) de la producción de los cultivos a cielo abierto en una zona tropical de la región de Córdoba, Veracruz, México. La EP presentó un contenido de proteína de  $60.958 \pm 0.505$  %, se utilizó el método de solubilización alcalina y precipitación isoelectrica para la obtención del AP el cual presentó un contenido proteico del  $77.583 \pm 0.505$  %. La EP como el AP se caracterizó fisicoquímicamente, se comparó su estructura química mediante espectroscopia infrarroja FTIR y se observó un aumento en la absorción en la región de las proteínas; lo cual se asocia con un incremento en la concentración de proteínas del AP. Se concluye que el AP de *A. maxima* tiene potencial para ser considerado una fuente de consumo alterna de proteínas animal y vegetal.

**Palabras clave**—Proteínas, aislados proteicos, alimentos, espirulina

## Introducción

Las proteínas son componentes principales de los alimentos, debido a su importancia nutricional y comercial, han sido estudiados con detalle por la industria alimentaria con fines tecnológicos y funcionales (Fernández et al., 1997). Derivado del incremento de la demanda proteínica en el mundo, las proteínas alternativas a la proteína animal han llegado para innovar a la industria alimentaria. Entre ellas las de origen vegetal, cuyas características principales y que a diferencia de la proteína animal es que no aportan colesterol y son ricas en fibra (Lee et al., 2020).

La proteína vegetal más estudiada y utilizada ha sido la de soja seguido de las legumbres, cereales, frutos secos y setas (Nagano et al., 1996, Henn et al., 1998). El desarrollo de estas nuevas fuentes de proteína presenta ventajas como un rendimiento superior, la reducción en los costes de producción, la disminución considerable del impacto ambiental (si las comparamos con sus homólogas procedentes de animales), la solución a uno de los retos más decisivos de la industria: el acceso a alimentos sanos, seguros y comprometidos con el medio ambiente a una población mundial en constante aumento (Lee et al., 2020). Una fuente alimentaria económica, sostenible y de alto rendimiento de biomasa por unidad de superficie es la microalga espirulina (*Arthrospira maxima*), el proceso de producción de biomasa es rápido y económico ya que puede ser utilizada para su cultivo agua potable, de río y lluvia etc. (Torres et al., 2020). La espirulina es una cianobacteria microscópica, multicelular, fotosintética y filamentosa de color verde –azulado (Wan et al., 2016). En la tierra surgió aproximadamente hace 3.6 millones de años por un proceso evolutivo entre las

<sup>1</sup> Ing. María Inés Acateca Hernández es estudiante de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz. [acateca.mariana@colpos.mx](mailto:acateca.mariana@colpos.mx)

<sup>2</sup> Dra. Aleida Selene Hernández Cázares profesora investigadora titular Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz. [aleyse@colpos.mx](mailto:aleyse@colpos.mx)

<sup>3</sup> Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras profesor investigador titular Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz. [jvhidalgo@colpos.mx](mailto:jvhidalgo@colpos.mx)

<sup>4</sup> Dra. María Teresa Jiménez Munguía es directora Académica del Departamento de Ingeniería Química y Alimentos de la Universidad de la Américas Puebla. [mariat.jimenez@udlap.mx](mailto:mariat.jimenez@udlap.mx)

<sup>5</sup> Ing. Zuemy Hernández Nolasco es estudiante de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz. [hernandez.zuemy@colpos.mx](mailto:hernandez.zuemy@colpos.mx)

<sup>6</sup> Dra. María Antonieta Ríos Corripio profesora investigadora Cátedra CONACYT adscrita al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz. [rios.antonietta@colpos.mx](mailto:rios.antonietta@colpos.mx) (autor corresponsal)

bacterias y las plantas verdes (Zaid et al., 2015). Los aztecas la conocían como “tecuitlatl”-excremento de piedra en náhuatl, y era parte de su dieta básica, su producción natural se realizaba en el Lago de Texcoco, México, un lago alcalino (Ramírez y Olvera, 2006). En cuanto a su composición química contiene proteína (50-60 %) de alto valor biológico y de fácil digestibilidad (García et al., 2017), lo que la hace un candidato viable para la obtención de aislados proteicos.

El proceso de producción de un aislado proteínico consiste básicamente en una concentración y/o purificación de la proteína de un 70 al 90%. Para conseguir dicho propósito se realiza una extracción, concentración y deshidratación de la proteína. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue la obtención de un aislado proteico no convencional de espirulina (*A. maxima*), la cual se ha cultivado en zona tropical.

## Descripción del Método

### *Producción de espirulina*

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México, en el área experimental de cultivo de *A. máxima*. Se utilizó el medio Jourdan para la producción de la espirulina *A. maxima*, las sales nutritivas sulfato de magnesio heptahidratado y nitrato de potasio se adquirieron de Fermont (Monterrey, México), el bicarbonato de sodio y fosfato de sodio dibásico de Sigma Aldrich (Toluca, México) y se utilizó agua potable baja en sales. Se utilizaron fotobiorreactores con capacidad de 5 L en condiciones de invernadero con aeración e iluminación solar natural (diseño propio), durante 15 d.

La recolección de la biomasa se realizó mediante un proceso de filtrado (tela de 40 micras, 200 hilos/cm<sup>3</sup>) de un 1/3 del volumen del medio cultivo; posteriormente, la espirulina se lavó con agua potable a fin de retirar el exceso de las sales nutritivas. La biomasa fresca y limpia se sometió a un proceso de deshidratación (Excalibur, 2900ECB, Estados Unidos) a 46 °C durante 4 h y la materia seca obtenida se trituró en un procesador de alimentos (Nutribullet).

### *Obtención del aislado proteico de *Arthrospira maxima**

La obtención del aislado proteico se llevó a cabo mediante la extracción alcalina de las proteínas solubles presentes seguido de la precipitación ácida cercana a su punto isoeléctrico, de acuerdo con la metodología de Pereira et al. (2018), con ciertas modificaciones.

### *Caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico*

El rendimiento de la espirulina en polvo se obtuvo por diferencias de peso, con base en la siguiente ecuación: % Rendimiento= (Peso del polvo de la espirulina deshidratada / Peso de la biomasa fresca) \*100; donde el peso de la biomasa fresca corresponde al material recolectado después del filtrar el medio de cultivo. La humedad se determinó de acuerdo la metodología propuesta por AOAC (Método 925.09) y se expresó en porcentaje (%), la actividad de agua se analizó con un medidor marca Aqualab (Series 3TE; Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA); para la determinación del color se utilizó un colorímetro Konica Minolta, CR-400 bajo el análisis de los valores L\* (Luminosidad), a\*(rojo-verde) y b\* (amarillo-azul) de la escala CIELab; el contenido de cenizas se realizó según la Norma Mexicana NMX-F-066-S-1978, % de grasas en base a la norma PROY-NMX-F-615-NORMEX-2018 y la determinación del contenido proteico según la Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980.

### *Caracterización estructural de la espirulina en polvo y el aislado proteico por FTIR*

Para la identificación de los grupos funcionales presentes en la espirulina en polvo y el aislado proteico se utilizó un espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) (Bruker, Vertex, Wisconsin, EE.UU.) mediante el método de muestreo de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Los espectros se obtuvieron por triplicado y se promediaron. Se utilizaron 64 barridos con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> en la región espectral de 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Para el análisis de los espectros se utilizó el programa Origin 6.1 (OriginLab Corporation, EE.UU.).

## Comentarios Finales

### Resumen de resultados

#### Producción de espirulina

En la Figura 1 a) se muestra el cultivo de la espirulina (*A. maxima*) a cielo abierto en biorreactores con aeración e iluminación solar natural, bajo las condiciones de temperatura entre 18 y 28 °C, ciclo de luz: oscuridad 12:12h, aireación continua, pH entre 10 y 11 e intensidad luminosa 40,000 lux. Valores similares han sido reportados por otros autores (Vázquez et al., 2016; Fernández et al., 2020). En la Figura 1 b) se muestra el proceso de obtención de biomasa con un periodo de 15 d entre cosecha, con base a la fase estacionaria de la curva de crecimiento celular obtenida en una investigación previa de Fernández et al. (2022). Este proceso consiste en cosechar la biomasa por un método físico (filtración) para posteriormente deshidratarla a una temperatura de 40 °C durante 5 h, una vez deshidratada, la biomasa es triturada y almacenada en frascos de vidrio oscuro en un lugar fresco y seco hasta su análisis.

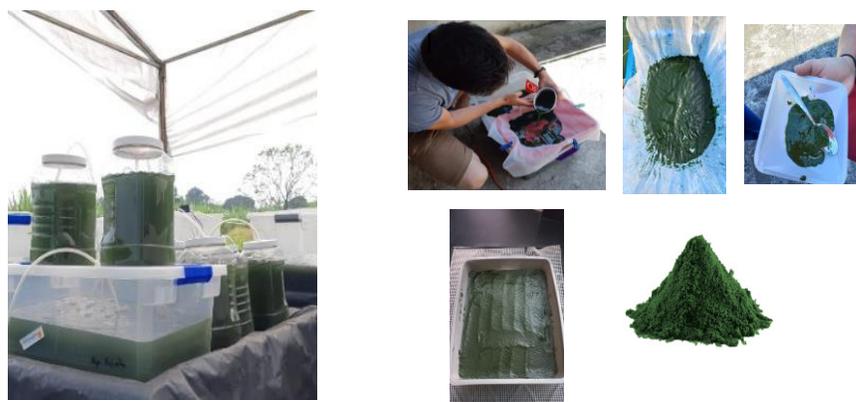


Figura 1. a) Cultivos de espirulina (*A. maxima*) que se encuentran en el área experimental del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Veracruz, México b) proceso de cosecha de espirulina *A. maxima*  
Fuente: Propia (2023)

#### Obtención del aislado proteico de espirulina

En la Figura 2 a) se presenta la espirulina en polvo y el aislado proteico obtenido. Para la espirulina en polvo se obtuvo un polvo fino y un rendimiento del 10 % peso seco, el cual se asocia con la naturaleza de la espirulina ya que su cultivo se da en condiciones acuosas, presentó visualmente un color verde que debe su tonalidad a la clorofila, su contenido depende de la etapa de crecimiento en la que se haga la cosecha de la biomasa, obteniendo una cantidad mayor en la fase estacionaria que en la fase exponencial (Hoseini et al., 2013). En la Figura 2 b) se presenta el aislado proteico donde se obtuvo un polvo fino visualmente de color café, color similar encontrado en otros aislados proteicos extraídos de guisante, frijol y garbanzo (Subagio, 2006; Kaur y Singh, 2007).

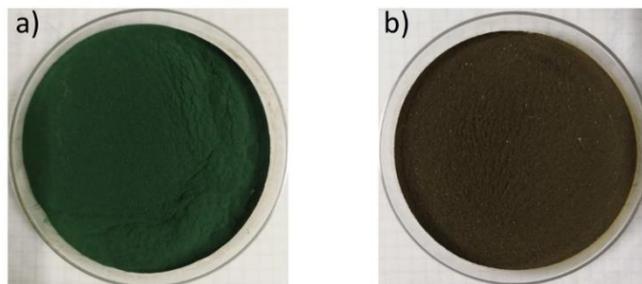


Figura 2. Imágenes de a) espirulina (*A. maxima*) en polvo y b) aislado proteico de espirulina (*A. maxima*)

*Caracterización física y química de la espirulina en polvo y el aislado proteico*

Los valores de la caracterización física y químicas de la espirulina en polvo y el aislado proteico se presentan en el Cuadro 1. Se obtuvo un contenido de humedad para la espirulina en polvo de  $10.719 \pm 0.145$  % y del aislado de  $8.731 \pm 0.020$ , este valor se encuentra dentro de lo reportado por la Norma Mexicana NMX-F-508-1988. Ambos valores de humedad evitan que el producto final sea susceptible a contaminación por microorganismos (Stramarkou et al. 2017). La actividad de agua fue de 0.406% para la espirulina en polvo y de 0.350 % para el aislado, resultado que favorece a la estabilidad de la espirulina y el concentrado durante almacenamiento. En cuanto al contenido de cenizas en la espirulina en polvo se obtuvo un valor de  $9.637 \pm 0.138$  % valor que disminuyo en el aislado proteico; sin embargo, se encuentra dentro del valor establecido por la Norma Mexicana NMX-F-508-1988 (valor mínimo del 2 % y máximo del 9%). Da Silva et al. (2019) obtuvieron un contenido de cenizas del 6.2% en base seca y dicho valor lo asocian por su riqueza en minerales. El contenido de proteína en la espirulina en polvo fue de  $60.958 \pm 0.505$  %. La FAO, (2008) menciona que la espirulina tiene alto contenido en proteínas (50-60 %), de alto valor biológico y estos resultados son similares a lo reportado por otros autores (Fernández et al. 2022; Marín et al. 2015, García et al. 2003). Para la obtención del aislado proteico, las proteínas se solubilizaron a un pH 11 y se precipitaron a un pH 4.2 (punto isoeléctrico de la proteína) y se obtuvo un valor de  $77.583 \pm 0.505$  % de proteína, el cual aumento en comparación con el valor de la espirulina en polvo. Pereira, (2018) menciona que el método de extracción por precipitación isoeléctrica permite conseguir altos rendimientos. La espirulina es un alimento con bajo contenido de grasa menor al 5 % y es libre de colesterol (FAO, 2008). La espirulina en polvo presentó un valor de grasa de  $1.283 \pm 0.040$  %, el cual fue mayor al obtenido al aislado. En cuanto a su composición en carbohidratos, la espirulina en polvo presentó un valor por debajo del contenido proteico: sin embargo, forma parte de los componentes mayoritarios, el valor de contenido de carbohidratos en el aislado proteico disminuye. Los aislados proteicos por su naturaleza química resultan de un enriquecimiento del material en su contenido proteínico, mediante una separación paulatina de sus componentes no proteínicos como los lípidos, fibra, carbohidratos, minerales, entre otros (Nazari et al., 2018).

Cuadro 1. Valores de la caracterización fisicoquímica de la espirulina en polvo y del Aislado proteico de *Arthrospira maxima*

	Humedad	<i>a<sub>w</sub></i>	Cenizas	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Color	
Biomasa	10.719 ± 0.145 %	0.460	9.637 ± 0.138 %	60.958 ± 0.505 %	1.283 ± 0.040 %	28.121 ± 0.569 %	L	8.383 ± 1.165
							a*	-7.433 ± 0.633
							b*	3.580 ± 0.541
Aislado	8.731 ± 0.020 %	0.350	3.347 ± 0.170 %	77.583 ± 0.505 %	0.713 ± 0.011 %	18.355 ± 0.379 %	L	10.270 ± 0.280
							a*	-0.696 ± 0.236
							b*	4.16 ± 0.223

En cuanto al color los resultados mostraron que la luminosidad (L\*) es baja; es decir, posee un color característico verde oscuro para la espirulina en polvo y para el aislado un color marrón. En el caso del índice a, los valores negativos son definidos por el contenido de clorofila y las coordenadas de b dentro de parámetros negativos, son resultado del color azul que le confiere la ficocianina y la aloficocianina, de ahí que la espirulina se denominada una alga verde – azulada. Lupatini et al. (2019) reportan parámetros de color del alga en polvo de  $19.73 \pm 0.340$  (L \*),  $-7.29 \pm 0.26$  (a \*) y  $3.59 \pm 0.09$  (b \*) y dichos valores los asocian a la coloración verde – azul del alga por la presencia del pigmento de ficocianina. El aislado presentó cambio de color derivado de la oxidación de la ficocianina y reacciones de Maillard (Pereira, 2008).

### Caracterización estructural de la espirulina en polvo y el aislado proteico por FTIR

Los espectros FTIR de la espirulina en polvo de *A. maxima* y del aislado proteico se presentan en la Figura 3 ambos espectros presentaron similitud en las bandas de absorción de grupos funcionales asociadas a la presencia de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos, sobresaliendo en la región de las proteínas las bandas amida I en  $1647\text{ cm}^{-1}$  asociado al enlace C=O y amida II en  $1539\text{ cm}^{-1}$  enlace N-H. La presencia de carbohidratos se observó en la región de  $1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a los enlaces C-O-C y C-O. La presencia de lípidos se corroboró con las bandas en  $1457$  y  $1747\text{ cm}^{-1}$  asociadas a los enlaces  $\text{CH}_3$  y C=O. Por otra parte, el aislado proteico presentó una disminución de la absorción en la región de los carbohidratos y un aumento en la región de las proteínas, causado por el efecto de aislar las proteínas de los demás componentes de la espirulina en polvo. Estos resultados son similares a los reportados por Lupatini, (2019).

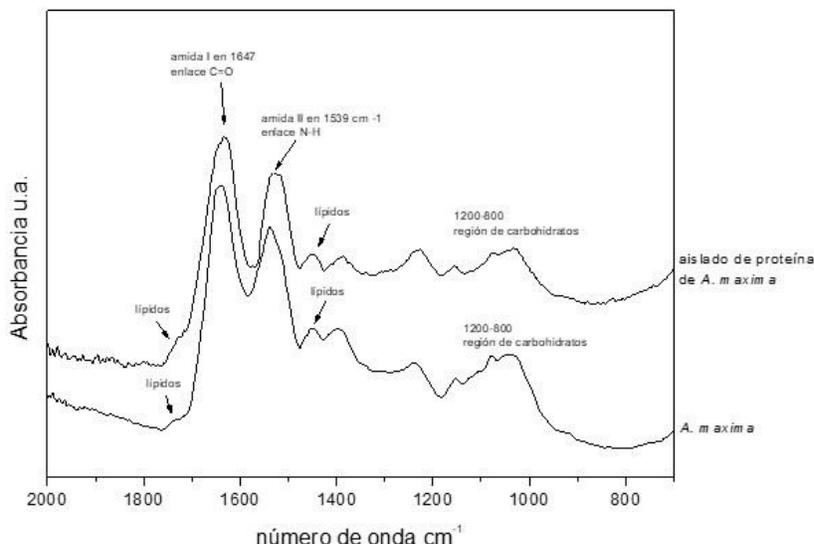


Figura 3. Espectros FTIR de espirulina en polvo y aislado proteico de espirulina (*Arthrospira maxima*) en la región de  $2000$  a  $700\text{ cm}^{-1}$

### Conclusiones

Este estudio demostró que es posible obtener aislados proteicos de espirulina *Arthrospira maxima* con un contenido superior al 65 % utilizando el método de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica. El análisis FTIR nos permitió identificar las bandas de absorción de los grupos característicos de la espirulina sobresaliendo la región de las proteínas e identificar un aumento en la absorción de esta región derivado de la concentración de proteínas. Este aislado proteico de fuentes no convencionales tiene potencial como alternativa económica, rápida y de fácil obtención de proteínas sin embargo es necesario evaluar sus propiedades funcionales para determinar su aplicación como ingrediente alimentario.

### Recomendaciones

Se recomienda hacer un estudio electroforético para determinar qué tipo de proteínas se encuentran presentes, así como un perfil de aminoácidos. Por último, el uso de aislados de proteína tiene bastante interés en la industria alimentaria, dada sus cualidades como la capacidad gelificante (formar geles), emulsificación, adherencia, entre otros, los cuales contribuyen al desarrollo de la cremosidad, textura, propiedades que podrían ser aprovechados para obtener una variedad de alimentos.

## Referencias

- A.O.A.C: Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (2005). Methods 925.09: Moisture in cassava - airoven methods.
- Alimentos-Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos- Método de prueba. PROY-NMX-F-615-NORMEX-2018.
- Da Silva, S.C., Fernandes, I.P., Barros, L., Fernandes, Â., José Alves, M., Calhelha, R.C., Pereira, C., Barreira, J.C.M., Manrique, Y., Colla, E., Ferreira, I.C.F.R., and Filomena Barreiro, M. (2019). Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. *J. Funct. Foods.* (60) 103427.
- FAO, (2008). A review on culture, production and use of *Espirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. En: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0424e/i0424e00.pdf>.
- Fernández Corte Baruc, Ríos Corripio M.A., Hernández Cázares Aleida S., Gómez Merino Fernando Carlos, Rodríguez Palacio Mónica C., García Gómez Oscar, Bárcena Vicuña Guadalupe G., Ramírez Hernández Johana. (2020). Desarrollo de un cultivo a cielo abierto de alga espirulina en zona tropical como fuente de proteína. *Academia Journal* 2020. ISBN 978-1-939982-58-2. pp 455-460.
- Fernández-Corte B, Hernández-Cázares AS, Gómez-Merino FC, de Cangas R, Rodríguez-Palacio M, García-Gómez O, Ríos Corripio MA. (2022). Effect of NaCl concentration on the production of *Arthrospira maxima* cultivated in the humid tropics. *Agrociencia* <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i2.2735>
- Fernandez-Quintela A, Macarulla MT, Del Barrio AS, Martinez JA. (1997). Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in Northern Spain. *Plant Foods Hum Nutr.* 51:331–42.
- García JL, de Vicente M, Galán B. (2017). Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microb Biotechnol. Sep;* 10(5):1017-1024. doi: 10.1111/1751-7915.12800. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28809450; PMCID: PMC5609256.
- García-Garibay, M. Gómez-Ruiz, L. Cruz-Guerrero, A.E. Barzana, E. (2013). SingleCell protein | Algae. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition). Suiza: Springer Nature Switzerland.
- Henn, R.L., y Netto, F.M. (1998). Biochemical characterization and enzymatic hydrolysis of different commercial soybean protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3009-3015.
- Hoseini, S. Khosravi-Darani K. & Mozafari, M. (2013). Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 13 (8). 1231 - 1237. doi: 10.2174/1389557511313080009
- Kaur M, Singh N. (2007). Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chem.*102:366–74.
- Lee HJ, Yong HI, Kim M, Choi YS, Jo C. (2020). Status of meat alternatives and their potential role in the future meat market - A review. *Asian-Australas J Anim Sci.* 33(10):1533-1543. doi: 10.5713/ajas.20.0419. Epub 2020 Jul 28. PMID: 32819080; PMCID: PMC7463075.
- Lupatini-Menegotto AL, de Souza LES, Colla LM, Costa JAV, Sehn E, Bittencourt PRS, de Moraes Flores ÉL, Canan C, Colla E. (2019). Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. *Journal of Food Science Technology* 114: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108267>.
- Marín-Prida, J. Llópez-Arzuaga, A. Pavón, N. Pentón-Rol, G. Pardo-Andreu, G. (2015). Aplicaciones de la c-ficocianina: métodos de obtención y propiedades farmacológicas. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias.* 1: 29-43
- Nagano, T., Fukuda, Y., y Akasaka, T. (1996). Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of b-conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 44, 3484-3488.
- Nazari B, Mohammadifar MA, Aliabadi SS, Feizollahi E, Mirmoghtadaie L. (2018). Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrason Sonochem.* 41:382–8.
- NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Normas Mexicanas. Dirección general de normas.
- Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980 Alimentos Determinación de Proteínas.
- Pereira, A. M., Lisboa, C. R., & Costa, J. A. V. (2018). High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies,* 47, 187-194.
- Ramírez, L., y Olvera, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.) *Interciencia* (31), pp. 657–663.
- Stramarkou M, Papadaki S, Kyriakopoulou K, Krokida M. (2017). Effect of drying and extraction conditions on the recovery of bioactive compounds from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Applied Phycology* 29: 2947-2960. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1181-8>.
- Subagio A. (2006). Characterization of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L. Sweet) seeds from Indonesia and their protein isolate. *Food Chem.*95:65–70.
- Torres-Tiji Y, Fields FJ, Mayfield SP. (2020). Microalgae as a future food source. *Biotechnol Adv.* 2020 Jul-Aug;41:107536. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107536. Epub PMID: 32194145.
- Vázquez Pérez, R.N., Hernández Uribe, F., Villegas Aguilera, M.M., Martínez Murillo, R., López García, K.E., Pérez Barragán, C.E. y Arredondo Vega, B.O.(2016). Evaluación del contenido de proteínas de la biomasa de spirulina (*Arthrospira maxima* cultivada en condiciones ambientales en biorreactores. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos.* Vol. 1, No.1 333-337.
- Wan, D., Wu, Q., and Kuča, K. (2016). *Spirulina*, in: *Nutraceuticals.* Elsevier, pp. 569–583.
- Zaid, A.A.A., Hammad, D.M., Sharaf, E.M. (2015). Antioxidant and anticancer activity of spirulina platensis water extracts. *Int. J. Pharmacol.* (11) 846–851.