

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



**Efecto de la cantidad de biomasa algal y tiempo de secado por
ventana refractante sobre sus características fisicoquímicas de
Spirulina sp. deshidratada**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

IBONNY DIANA BARRIOS SALAZAR

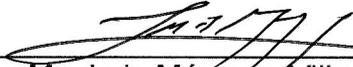
TRUJILLO, PERU

2017

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



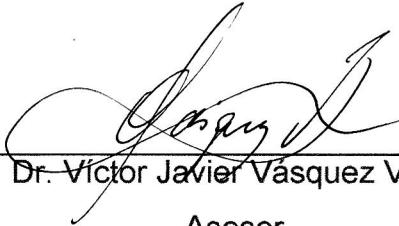
Ing. Dr. Fernando Rodríguez Ávalos
Presidente



Ing. Ms. Luis Márquez Villacorta
Secretario



Ing. Ms. Carla Pretell Vásquez
Vocal



Ing. Dr. Víctor Javier Vásquez Villalobos
Asesor

DEDICATORIA

A mis padres Rafaela y Roger porque ellos han dado razón a mi vida, por sus consejos, su apoyo incondicional y su paciencia, todo lo que hoy soy es gracias a ellos.

A mis hermanas, Esther y Milagritos del Pilar por su preocupación, consejos y cariño, porque ustedes me motivan a ser mejor.

A mis maestros que siempre estuvieron ahí para despejar mis dudas.

AGRADECIMIENTO

Un especial agradecimiento a Dios, por su amor infinito; por darme la fortaleza y perseverancia que necesitaba para sobrellevar cada obstáculo presentado a lo largo de mi formación profesional, permitiéndome llegar a esta etapa de mi vida.

A mis padres, quienes me han heredado el tesoro más valioso que pueda dársele a un hijo; amor. Ellos que no escatimaron esfuerzo alguno, y sacrificaron gran parte de su vida para formarme y educarme. Quiénes su ilusión más grande ha sido convertirme en una persona de provecho. A quiénes nunca podré pagar desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo, por esto y más, gracias...

A mi asesor, al Dr. Víctor Javier Vasquez Villalobos por ser más que un asesor, un amigo, por su paciencia, tolerancia; apoyarme incondicionalmente, quien en forma desinteresada me brindó y compartió sus conocimientos en la realización de esta tesis.

A los miembros del jurado: Dr. Fernando Rodríguez Ávalos, Ing. Ms. Luis Márquez Villacorta, Ing. Ms. Carla Pretell Vásquez; por sus observaciones y sugerencias en la evaluación de esta investigación.

A todos ellos, desde lo más profundo de mi corazón gracias eternamente; asimismo expreso mi gratitud a todos mis profesores por estos años compartidos en las aulas.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
CARÁTULA	i
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA.....	3
2.1. <i>Spirulina</i> sp.....	3
2.1.1. Habitat.....	4
2.1.2. Reproducción y ciclo de vida.....	5
2.1.3. Requerimientos para su cultivo	5
2.1.4. Composición bioquímica	6
2.1.5. Importancia	13
2.2. secado por ventana refractante.....	15
2.3. Metodología de superficie de respuesta.....	17
2.4. Diseño central compuesto rotacional.....	20
2.5. Software estadístico R.....	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Lugar de ejecución	23
3.2. Materiales.....	23
3.3. Reactivos.....	23
3.4. Equipos e Instrumentos.....	24
3.5. Metodología experimental	26

3.6. Esquema experimental.....	27
3.7. Secuencia del proceso	29
3.6. Metodos de análisis.....	32
3.7. Análisis estadístico	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
4.1. Evaluación de la humedad de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante.	34
4.2. Evaluación del contenido de proteína de <i>Spirulina</i> sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante	41
4.3. Evaluación del contenido de ceniza de <i>Spirulina</i> sp. en funcion a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante.	47
4.4. Optimización de las condiciones de operación con humedad de 5% para <i>Spirulina</i> sp. deshidratada por ventana refractante.....	52
4.5. Validación del modelo matemático para el secado de <i>Spirulina</i> sp. por ventana refractante.	53
V. CONCLUSIONES.....	55
VI. RECOMENDACIONES	56
VII. BIBLIOGRAFÍA	57
VIII. ANEXOS	66

INDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Especies de <i>Arthrospira</i>	3
Cuadro 2. Contenido de aminoácidos en la <i>Spirulina</i> sp.	6
Cuadro 3. Contenido proteico de diferentes alimentos	7
Cuadro 4. Composición vitamínica de <i>Spirulina</i> sp.....	9
Cuadro 5. Pigmentos en <i>Spirulina</i> sp.	11
Cuadro 6. Valores utilizados en el diseño central compuesto rotacional para las variables independientes	26
Cuadro 7. Matriz para obtención de los datos experimentales empleando metodología de superficie de respuesta.....	27
Cuadro 8. Variación de la humedad de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante.....	35
Cuadro 9. Análisis de varianza para la evaluación de la humedad de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	37
Cuadro 10. Coeficientes estimados de humedad con variables codificados de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	38
Cuadro 11. Respuesta observada y predicha para el contenido de humedad de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	39
Cuadro 12. Variación de proteína de <i>Spirulina</i> sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante..	42
Cuadro 13. Análisis de varianza para la evaluación de proteína de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada..	43
Cuadro 14. Coeficientes estimados de proteína con variables codificadas de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada	44
Cuadro 15. Respuesta observada y predicha para el contenido de proteína de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	45

Cuadro 16. Variación del contenido de ceniza de <i>Spirulina</i> sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempos de secado por ventana refractante.....	47
Cuadro 17. Análisis de varianza para la evaluación del contenido de ceniza de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	48
Cuadro 18. Coeficientes estimados del contenido de ceniza con variables codificadas de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	49
Cuadro 19. Respuesta observada y predicha para el contenido de ceniza de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.	50
Cuadro 20. Validación de los resultados experimentales en la región de interés.....	54

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Representación y construcción del diseño central compuesto rotacional para $k = 2$ factores	21
Figura 2. Esquema experimental para la investigación sobre el efecto de la cantidad de biomasa algal y el tiempo de secado por ventana refractante de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.....	28
Figura 3. Diagrama de flujo para la obtención de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada	29
Figura 4. Superficie de respuesta (a) y superficie de contornos (b) de la humedad de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado.....	40
Figura 5. Superficie de respuesta (a) y de contornos (b) de la relación de cantidad de biomasa algal (X_1) y tiempo de secado (X_2) en proteína de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada...	46
Figura 6. Superficie de respuesta (a) y de contornos (b) de la relación de cantidad de biomasa algal (X_1) y tiempo de secado (X_2) en el contenido de ceniza de <i>Spirulina</i> sp. deshidratada.....	51
Figura 7. Superposición de superficies de contornos.....	53

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pag.
Anexo 1. Determinación de humedad por el método gravimétrico indirecto por desecación.....	66
Anexo 2. Determinación de ceniza por el método gravimétrico.....	66
Anexo 3. Vistas fotográficas del desarrollo experimental	67

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la cantidad de la biomasa algal de *Spirulina* sp. cosechada (10 a 30 g) y el tiempo de secado (10 a 30 min) por ventana refractante, fijándose como el mejor contenido de humedad aproximadamente 5%, con el mayor contenido de proteína y un adecuado contenido de ceniza, que no sobrepasen de 10%. Se utilizó un Diseño Compuesto Central Rotacional y Metodología de Superficie de Respuesta para once tratamientos experimentales. El cultivo se realizó en un fotobiorreactor de canal de bucle cerrado-abierto a la atmosfera iluminado con luz LED con fotoperiodo 12 h de luz/12 h de oscuridad. El secado en ventana refractante se realizó a 97 ± 2 °C, con una lámina refractante Mylar Poliester de 0.1 mm de espesor. Se obtuvieron tres modelos estadísticos cuadráticos ($p < 0.05$) para el contenido de humedad, contenido de proteína y de ceniza, con coeficientes de determinación R^2 y R^2 -ajustado, superiores a 0.85 y 0.75, respectivamente. Se optimizó por superposición de contornos una humedad de 5.09%, proteína de 63.16% y ceniza de 7.89% con la cantidad de la biomasa algal y el tiempo de secado de 23.65 g y 22.03 min, respectivamente.

ABSTRACT

The effect of the quantity of the algal biomass of *Spirulina* sp. harvested (10 - 30 g) and drying time (10 - 30 minutes) by refractance window (RW), was investigated setting approximately 5% as lower moisture content, a higher percentage of protein and less than 10% of ashes. A Rotational Central Composite Design (RCCD) and Response Surface Methodology (RSM) were used for eleven experimental treatments. The cultivation was performed in a closed-loop channel photobioreactor open to the atmosphere (CL-CPOA) illuminated with LED light in a photoperiod of 12 hours of light/ 12 hours of darkness. The drying in RW was performed at 97 ± 2 °C, with of a 0.1 mm thick Mylar Polyester refracting film. Three quadratic statistics models were obtained ($p < 0.05$) for moisture content, protein and ash, with a coefficient of determination R^2 y R^2 -adjusted superior to 0.85 and 0.75, severally. A moisture content of 5.09%, 63.16% protein and 7.89% ash were optimized by an overlap of contours with the algal biomass and drying time of 23.65 g y 22.03 minutes respectively.

I. INTRODUCCIÓN

La microalga *Spirulina* sp. es un producto de fácil producción, que contiene un alto porcentaje en proteínas, vitaminas, minerales, ácidos grasos esenciales y además tiene un nulo impacto ambiental. Favoreciendo a reducir la desnutrición a nivel mundial, con la creación de nuevos cambios de hábitos alimenticios (Rodríguez y Triana, 2006).

La *Spirulina* sp. es una cianobacteria filamentosa, su hábitat preferencial son aguas alcalinas, se cultiva para consumo humano debido a su valor nutritivo. Se atribuye a su biomasa deshidratada diversos efectos beneficiosos en la alimentación y nutrición, que han determinado considerarlo un alimento “promotor de la salud” o “nutraceútico” (Ramírez y Olvera, 2006). Debido a que posee un importante contenido de proteínas; rica en aminoácidos esenciales: leucina 10.9%, valina 7.5%, isoleucina 6.8%, lisina 2.6 – 3.3%, fenilalanina 2.6 – 3.3%, metionina 1.3 – 2.0%, triptófano 1.0 – 1.6%; por lo que se considera en un buen referente para elaborar productos alimenticios nutritivos (Romero, 2010).

La aplicación de *Spirulina* sp. es como complemento nutritivo y terapéutico (Belay, 2002). También se ha realizado investigaciones sobre la utilización de *Spirulina* sp. para la desnutrición (Hug y von der Weid, 2011). Estos aspectos que caracterizan a la *Spirulina* sp. son importantes, en este sentido, se justifica realizar investigaciones para obtener biomasa deshidratada, con un contenido significativo en proteínas y tecnología sencilla, en favor del segmento de la población con problemas de desnutrición.

Los métodos de secado tradicionales incurren en mucho consumo de energía con alto costo e inversión, lo que encarece la obtención de la biomasa deshidratada de *spirulina* sp.

Un sistema de secado por ventana refractante (VR) es una alternativa en el rubro alimentario, debido a que mantiene la calidad de los productos, al conservar aproximadamente el 94% de sus características, además, de tener una buena capacidad de reducción microbiana, mantener un corto tiempo de secado, una alta eficiencia térmica y bajo costo de capital, en este sentido se ha planteado el siguiente problema:

¿Cuál será el efecto de la cantidad de biomasa algal (10 a 30 g) y el tiempo de secado (10 a 30 min) por ventana refractante sobre el contenido de humedad, proteína y ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada?

Los objetivos propuestos para la investigación fueron:

Evaluar el efecto de la cantidad de biomasa algal (10 - 30 g) y el tiempo de secado (10 – 30 min) por ventana refractante en el contenido de humedad, contenido de proteína y el contenido de ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada.

Determinar la cantidad de biomasa algal y el tiempo de secado por ventana refractante para obtener el mejor contenido humedad, el mayor contenido de proteína y un adecuado contenido de ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada.

II. REVISIÓN DE LA BIBLIOGRAFÍA

2.1. *Spirulina* sp.

Es una cianobacteria microscópica filamentosa, autótrofa, azul-verdosa, una de las primeras manifestaciones de vida en el planeta. Su antigüedad se calcula entre los 3100 y 3500 millones de años. Pertenece al género *Arthrospira* (Cuadro 1) siendo; *A. platensis*, la especie con mayor importancia en la economía y en la industria de productos alimenticios (Habib y otros, 2008).

Cuadro 1. Especies de *Arthrospira*

Especies	Primera descripción
<i>A. fusiformis</i>	Estepa siberiana, Rusia, lago Tunatan
<i>A. gomontiana</i>	América del Norte, agua estancada
<i>A. indica</i>	Madurai, India, estanque natural
<i>A. jenneri</i>	Europa, agua estancada
<i>A. khannae</i>	Rangoon, Myanmar, estanque natural
<i>A. massartii</i>	Luxemburgo, agua de manantial
<i>A. maxima</i>	Oakland, California, poza salina
<i>A. platensis</i>	Montevideo, Uruguay, agua estancada
<i>A. spirulinoides</i>	Pakistan, agua de lluvia estancada
<i>A. tenuis</i>	Bengala. India, estanque artificial

Fuente: Habib y otros (2008)

La *Spirulina* sp. posee células cilíndricas y tienen un ancho de 3 - 12 milimicrones, alcanzando a veces hasta 16 milimicrones. Sus filamentos presentan un esquema en forma de hélice abierta y llegan a medir entre 100 y 200 milimicrones. Las condiciones de esta hélice y sus medidas dependerán de las condiciones ambientales (Rodríguez y Triana, 2006).

En el 2010, se estimó que la producción mundial de *Spirulina sp.* fue de 2000 Kg por año; en la actualidad, a nivel mundial, existen 500 instalaciones que producen 9000 Kg de *Spirulina sp.* al año. El 70% se usa como suplemento alimenticio, el 20% como aditivo y materia prima de alimentos y bebidas y el 10% para productos cosméticos (Sasson, 2009).

La *Spirulina sp.*, generalmente, es consumida en cápsulas, pero, actualmente, se promociona en presentaciones para diferentes aplicaciones: para conservarlo, almacenarlo y uso como nueva alternativa de consumo (Rodríguez y Triana, 2006).

2.1.1. Hábitat

Según Habib y otros (2008) y Miranelly (2010) la *Spirulina sp.* se diferencia del resto de las cianobacterias, en su particular nicho ecológico, ya que estos microorganismos proliferan en aguas extremadamente alcalinas. El desarrollo de la *Spirulina sp.*, en este tipo de medios se debe a dos fenómenos:

- Al consumir los bicarbonatos de su medio, la *Spirulina sp.* tiende a aumentar la alcalinidad del líquido llegando incluso a 11.5 de pH.
- Como son altamente pigmentadas y a menudo flotantes, los filamentos de *Spirulina sp.* forman una pantalla muy eficaz, que priva de luz solar a las algas raras que se pueden alojar a su medio de cultivo.

2.1.2. Reproducción y ciclo de vida

Show y otros (2013) mencionan que el aspecto fundamental del ciclo de vida de la *Spirulina sp.* influye su taxonomía y condiciones ambientales de cultivo.

La reproducción de la *Spirulina sp.* se da por bipartición, donde las tres etapas fundamentales son: fragmentación de tricomas, proceso de

maduración y alargamiento del tricoma (toma su forma típica helicoidal) (Madigan y otros, 2003).

El tricoma maduro se divide en varios filamentos pequeños, debido a las llamadas células de necridio, que se caracterizan por tomar un aspecto granuloso. La ruptura celular ocurre por zonas conocidas como disyuntores (Nutan, 2013).

2.1.3. Requerimientos para su cultivo

La *Spirulina* sp. se desarrolla en ambientes con concentración salina de 2 a 270 g de bicarbonato por L de agua, con pH superior a 9 y temperaturas de 25 a 35 °C; requiere luz (natural o artificial) con un régimen de luz/oscuridad considerándose estos dos últimos factores los más importantes debido a que limitan la productividad de la biomasa. El flujo turbulento en el cultivo representa un medio práctico para mejorar la distribución de la energía solar. Cuando la turbulencia es insuficiente se convierte en flujo laminar, con disminución de la eficacia de la utilización solar. La turbulencia también aumenta las tasas de intercambio de nutrientes y metabolitos entre las células y su medio de crecimiento. Se ha demostrado que aumentando el flujo turbulento en los cultivos de *Spirulina* sp. en estanques, se incrementa la productividad, así como la densidad (Miranelly, 2010).

Vásquez-Villalobos y otros (2014), desarrollaron un medio de cultivo con agua de mar, con una salinidad de 1.35% y 0.8 g/L de bicarbonato; obtuvieron una alta producción de biomasa de *Spirulina* sp. Estos aspectos son importantes debido a que, por un lado, se utiliza el agua de mar (3.5% de salinidad) en reemplazo de agua dulce, un recurso que es escaso y, por otro lado, utilizan un nivel bajo de bicarbonato.

2.1.4. Composición bioquímica

A. Proteína

La *Spirulina* sp. tiene 55 - 70% de proteínas de un importante valor biológico (Cuadro 2). En el Cuadro 2, se muestra el contenido de aminoácidos en la *Spirulina* sp.

Cuadro 2. Contenido de aminoácidos en la *Spirulina* sp.

Compuesto	Contenido *
Proteína (g)	55-70
Aminoácido esenciales	
Leucina (g)	10.9
Valina (g)	7.5
Isoleucina (g)	6.8
Lisina (g)	2.6-3.3
Fenilalanina (g)	2.6-3.3
Metionina (g)	1.3-2.0
Triptófano (g)	1.0-1.6
Aminoácidos no esenciales	
Acido glutámico (mg)	7.3-7.8
Acido aspártico (mg)	5.2-5.6
Cisteína (mg)	0.5-0.7

(*): en 100 g de *Spirulina* sp.

Fuente: Romero (2010)

Las proteínas en la *Spirulina* sp. son de fácil digestión; debido a que carece de celulosa en la pared celular, la cual está cubierta de mureina. Este hecho explica la buena digestibilidad de sus proteínas en el ser humano (Muniz y otros, 2011); por lo tanto, ofrece proteínas más digeribles que otros microorganismos propuestos como fuentes de proteínas (levaduras, *Chlorella*, *Scenedesmus*, etc.) (Romero, 2010).

En comparación con otros alimentos la *Spirulina* en polvo es el que contiene un mayor contenido de proteína como se observa en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Contenido proteico de diferentes alimentos

Tipo de alimento	Proteína (%)
<i>Spirulina</i> en polvo	63
Huevo entero seco	47
Levadura de cerveza	45
Leche en polvo	37
Soya entera en harina	34
Queso tipo parmesano	34
Germen de trigo	27
Maní	26
Pollo	24
Pescado	22
Carne de res	22

Fuente: Sánchez y otros 2003

Dreckmann y otros (2013) mencionan que la mureína es conocido también como peptidoglicano, cuya estructura química está conformada por cadenas largas de polisacáridos paralelas entre sí, formando una secuencia alternante de N-acetil-glucosamina (NAG) y el ácido N-acetilmurámico (NAM), estos dos carbohidratos se enlazan por uniones glucosídicas. Un compuesto frágil que facilita al ser humano asimilar fácilmente los nutrientes (entre el 80 y el 85% de digestibilidad de las proteínas); debido a la ruptura de los enlaces glucosídicos entre NAG y NAM, los cuales son hidrolizados por la enzima lisozima (enzima que se segrega en la saliva).

B. Vitaminas

La *Spirulina* sp. es una importante fuente de vitaminas del complejo B y de B₁₂. Además, aporta β-carotenos (provitamina A) (Zambrano, 2005). El Cuadro 4 muestra la composición vitamínica de la *Spirulina* sp.

Cuadro 4. Composición vitamínica de *Spirulina* sp.

Vitaminas	Cantidad *
Provitamina A (g)	0.11 - 0.20
Niacina B ₃ (mg)	0.014
Tiamina B ₁ (mg)	3.00 – 4.00
Riboflavina B ₂ (mg)	2.50 - 3.50
Cobalamina B ₁₂ (mg)	0.15 - 0.25
Vitamina K (mg)	2.20
Vitamina E (mg)	5.00 – 7.00
Ácido fólico B ₉ (mg)	4.00 – 5.00
Ácido pantoténico B ₅ (mg)	0.50 - 0.80
Biotina B ₇ (μm)	5.00

(*): en 100 g de *Spirulina* sp.

Fuente: Zambrano (2005)

C. Minerales

La *Spirulina* sp. es el alimento más rico en hierro, contiene diez veces más que las espinacas y es asimilable por nuestro organismo un 60% más que los productos farmacéuticos ricos en hierro; esto se debe por ir junto a la proteína Ferredoxina (Sasson, 2009).

El selenio defiende al organismo de la oxidación y su función más importante es la de ser constituyente esencial de la enzima glutatión

peroxidasa selenio dependiente, que se encarga de la eliminación de los radicales libre. El déficit de selenio provoca un incremento en la generación de radicales libres (Sasson, 2009).

El zinc también ejerce una función antioxidante protegiendo los grupos sulfhidrilos frente al daño oxidativo, y su deficiencia incrementa los radicales libres, con afectación en la estructura y función de las membranas (Bustamante, 2011; Sasson, 2009).

D. Pigmentos fotosintéticos

La *Spirulina* sp. contiene clorofila y como pigmentos accesorios posee a las ficobiliproteínas y a los carotenoides, los cuales sirven para captar energía lumínica y conducirla al pigmento primario, quien se encargara de iniciar las reacciones de fotosíntesis (Marín-Prida y otros, 2015).

La clorofila actúa como antiséptico y desintoxicante, además de obrar sinérgicamente en la captación y asimilación del hierro (García y otros, 2013).

La *Spirulina* sp. produce tres ficobiliproteínas: aloficocianina, la ficoeritrina y en particular más del 50% de sus ficobiliproteínas las constituyen el pigmento azul ficocianina (Vazquez-Sanchez y otros, 2009). Son de importancia debido a que poseen propiedades farmacológicas como: actividad antioxidante, hepatoprotectora, antiinflamatoria y en el tratamiento de cáncer de colon; además de mejorar el perfil lipídico y la glucemia (Jensen y otros, 2015). Por la composición la ficobiliproteínas, su alta eficiencia fluorescente y su solubilidad en agua son usadas en la industria de alimentos como colorante natural, la reemplazo de los colorantes sintéticos (Ramírez-Moreno y Olvera-Ramírez, 2009).

Dentro de los carotenoides se destaca el β -caroteno. Este compuesto incrementa la respuesta inmune en los seres humanos (Cohen, 2010). La protección contra el cáncer ha sido atribuida a su actividad antioxidante, al estar implicado en el sistema de defensa contra los radicales libres (Chamorro y otros, 2002).

La disponibilidad de los carotenoides en la *Spirulina* sp., ha sido demostrada tanto en ratones como en pollos (Tarko, 2012). Algunos estudios clínicos han comprobado la excelente utilización en el ser humano: un trabajo efectuado con 5000 niños indios, en edad pre-escolar, demostró la eficiencia de suministrar 1g/día de *Spirulina* sp., en el tratamiento de la deficiencia crónica de vitamina A. Después de 5 meses de tratamiento, la proporción de niños gravemente deficientes de vitamina A, cambio de 80 a 10%. Este estudio demostró que son suficientes dosis pequeñas de *Spirulina* sp., para reducir considerablemente los riesgos de ceguera y daños neurológicos consecuentes con la deficiencia de vitamina A en el infante.

En el Cuadro 5, se muestra el contenido de pigmentos en la *Spirulina* sp.

Cuadro 5. Pigmentos en *Spirulina* sp.

Pigmento	Cantidad (%)*
Clorofila	2.8 - 3.5
Ficocianina	16.0 – 20.0
β -caroteno	15.0
No identificados	16.0 - 20.0

(*): Del total de pigmentos

Fuente: García y otros (2013)

Los β -carotenos producidos a partir de microalgas tienen un costo de 1000 US\$/kg, comparado con 500 US\$/kg para su equivalente sintético, siendo el β -caroteno preferido en el mercado de la salud debido a su mezcla de isómeros cis y trans, con propiedades anticancerígenas; en tanto que el isómero cis, raramente se expresa en un producto sintético (Downham y Collins, 2000).

E. Exopolisacáridos

La *Spirulina* sp., posee estructuras superficiales adicionales tales como vainas, cápsulas o mucílago disperso, compuestos principalmente de polisacáridos y que durante el crecimiento de las células en cultivos son liberados al medio, lo que causa que se vuelva más viscoso. Se ha sugerido diferentes aplicaciones en biomedicina y en la industria cosmética y de alimentos, como agentes emulsificantes, estabilizantes o espesantes (Chamorro y otros, 2002). Particularmente, de *Arthrospira* se ha aislado el polisacárido sulfatado llamado Ca-SP, que inhibe la replicación del VIH, *Herpes simplex*, virus de la influenza A, paperas y sarampión (Chamorro y otros, 2002). También, desde 1992, en el Japón, se produce continuamente los exopolisacáridos de esta cianobacteria como sustitutos del agar-agar (Ramírez-Moreno y Olvera-Ramírez, 2009).

F. Lípidos

El contenido de lípidos en *Spirulina* sp. es 6 - 13%, de los cuales la mitad son ácidos grasos, en su mayor proporción son los ácidos palmítico, γ -linoleico (GLA), linolenico y oleico; pero el que más importancia tiene es el GLA, un ácido graso insaturado, esencial, que rara vez está presente en la dieta diaria. Entre las fuentes que contienen GLA, *Spirulina* sp. es la que lo contiene en mayor concentración (298 mg en un cantidad de 10 g) , además, el GLA y

el ácido graso linoleico son precursores de algunas de las prostaglandinas (PGE 1, PGE2 y PGE3), hormonas encargadas del control de funciones primordiales del organismo, como: la regulación de la presión arterial, la síntesis del colesterol y la división celular (Sasson, 2009).

G. Hidratos de carbono

La *Spirulina* sp. contiene entre un 15 - 25% de azúcares, lo cual proporciona energía sin sobrecargar el páncreas ni desencadenar hipoglucemia. Entre estos glúcidos se destaca la presencia de un azúcar natural (ramnosa) que favorece el metabolismo de la glucosa y posee un efecto favorable en la diabetes (Belay, 2002).

2.1.5. Importancia

El valor de la *Spirulina* sp. radica en su variedad de macronutrientes y micronutrientes. Muchas de sus propiedades son consecuencia de la presencia de pigmentos como las ficobiliproteínas y los carotenoides, así como, polisacáridos, ácidos grasos (destacando el ácido γ -linoleico) proteínas, vitaminas y minerales (Ramírez-Moreno y Olvera-Ramírez, 2009).

Por otro lado, se ha estudiado los efectos que *Spirulina* sp. tiene sobre algunos roedores y en el ser humano: inmuno-regulación, antioxidantes, anticancerígenos, antivirales, antitóxicos y contra la hiperlipidemia y la hiperglicemia (Belay, 2002). Se ha comprobado, a nivel experimental, *in vivo* e *in vitro*, su efectividad en el tratamiento de algunos tipos de alergias, anemia y leucemia, en la reducción de hepatotoxicidad, en enfermedades virales y cardiovasculares, diabetes, obesidad, inmunodeficiencia y procesos inflamatorios (Chamorro y otros, 2002).

Varias de las propiedades antes mencionadas se debe a los ácidos grasos poliinsaturados (omega-3 y omega-6), el β -caroteno, α -tocoferol,

ficocianina, compuestos fenólicos y un complejo aislado recientemente, el Ca-Spirulan (Ca-SP) que tiene actividad antiviral (Sasson A. 2009).

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

Protege contra el desarrollo de alergias, se ha demostrado en ratas que disminuye las reacciones anafilácticas. Bloquea la liberación de la histamina y el factor de necrosis tumoral (TNF- α) inducida por la inmunoglobulina (IgE). Asimismo, la *Spirulina* sp. incluida en la dieta de ratas a una concentración del 45% (equivalente al 22% de proteína) proporcionada, sola o en combinación con gluten de trigo durante la primera semana de gestación y lactancia, aumentó el contenido de hierro y hemoglobina más que la caseína y gluten de trigo juntos. El estudio mostró un buen potencial hematológico de *Spirulina* sp. durante la gestación y lactancia (Rodríguez y Triana, 2006).

Administración de *Spirulina* sp. en dosis de 800 mg/kg a ratones albinos Swiss, con acetato de plomo, aumentó su tiempo de supervivencia protegiéndolos del efecto del metal (Chamorro y otros, 2002). También se ha observado que en la intoxicación con este metal, el ácido 5-aminolevulínico genera radicales libres de oxígeno, que conducen a muerte celular y por otro lado disminuye la síntesis del DNA. Al ser la *Spirulina* sp.

una fuente rica en antioxidantes y capaz de aumentar su síntesis, protege y evita el daño causado por este metal (Belay, 2002).

2.2. Secado por ventana refractante

El secado es uno de los métodos más antiguos para conservar alimentos a través de la reducción del contenido de humedad, la que consiste en la eliminación del agua libre de un sólido, permitiendo la reducción de las reacciones químicas e inhibiendo el crecimiento microbiano; permite prolongar la vida útil y aumentar su valor agregado. Comparados con productos conservados por otros métodos, los alimentos deshidratados tienen una vida útil casi ilimitada y sustancialmente bajos costos de transporte, manejo y almacenamiento (García y otros, 2013).

Esta tecnología es un método novedoso y rápido en la deshidratación de alimentos. Utiliza agua a temperaturas relativamente bajas como principal medio de transferencia de calor para transmitir energía, principalmente por radiación térmica. El proceso permite que la radiación proveniente del agua caliente pase a través de una película que literalmente está flotando en la superficie del agua, de esta forma, la radiación térmica llega al producto, provocando la evaporación de agua contenida en el alimento, como consecuencia, se genera una rápida deshidratación del alimento a presión atmosférica. Esta tecnología de VR ha surgido como una alternativa interesante, debido a que es una técnica relativamente simple de bajo costo con excelente retención de calor, sabor y nutrientes de los alimentos, en comparación, con otros procesos de deshidratación (Ochoa-Martínez y otros, 2012; Morales y Vélez-Ruiz, 2014).

Durante el secado por VR, tres mecanismos de transferencia de calor ocurren en el agua: conducción, convección y radiación. La transferencia de energía térmica del producto fresco al medio ambiente es principalmente por convección y por evaporación del agua del alimento. Esta evaporación

es muy intensa y constituye la mayor parte del consumo de energía en el secado de VR al inicio del proceso. En la última fase del secado cuando el producto está casi seco, la transferencia de calor por conducción es la predominante y la tasa de transferencia de calor al producto es más lenta a medida que el producto se seca. Si una lámina se pone sobre la superficie de agua entonces la pérdida de energía solo puede tomar lugar por principios de conducción. Sin embargo, si se coloca un material húmedo en la superficie de esta lámina puede ocurrir transferencia radiante. Esto permite que el calor irradiado pase desde el agua hacia el interior del material húmedo. Este se comporta como una “ventana” dispuesta a transferir energía desde el agua hacia el material a ser deshidratado, de esta manera se induce una rápida evaporación de la humedad. En la medida en que el material pierde humedad, dicha “ventana” se va cerrando y la transferencia de calor por radiación disminuye hasta desaparecer. Así el proceso tiene un auto-regulador el cual contribuye a la fijación del sabor y a mantener altos estándares de calidad en los productos (Clarke, 2004).

La VR permite convertir los alimentos líquidos y otros biomateriales en polvo, hojas u hojuelas con valor agregado. En este sistema, purés o jugos preparados a partir de frutas, verduras o hierbas son secadas en corto tiempos, normalmente de 3 - 5 min (Nindo y Tang, 2007).

Para el secado de una cantidad similar de producto, el costo de un equipo de VR es alrededor de un tercio del costo de un secador por liofilización, en tanto que la energía consumida por un equipo de VR es menos que de la mitad que la energía consumida por liofilización (Nindo y Tang, 2007).

La mayoría de los estudios sobre la técnica de deshidratación por VR se han llevado a cabo con frutas y verduras en puré o jugo, sin embargo, esta técnica es también atractiva para el secado de rodajas de fruta y vegetales (Nindo y Tang, 2007).

Entre los estudios de aplicación con VR se encuentran: carotenoides en zanahorias y ácido ascórbico y color en fresas (Abonyi y otros, 2001); color y actividad antioxidante de espárragos (Nindo y otros, 2003) y de aloe (Nindo y otros, 2006); sabor, color, carotenoides, capsaicinoides, actividad equivalente de retinol (RAE) y unidad de calor Scoville (SHU) de pimentón (Topuz y otros, 2011); aromas encapsulados en aceite de naranja (Cadwallader y otros, 2010); compuestos antioxidantes (ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides totales y licopeno) de tomates (Abul Fadl y Ghanem, 2011) , de papas coloreadas (Nayak y otros, 2011) y compuestos bioactivos también en papas coloreadas (Kaspar y otros, 2012).

2.3. Metodología de superficie de respuesta

La (MSR) es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas útiles en el modelado y el análisis de problemas, en los que una respuesta de interés, recibe la influencia de diversas variables y donde el objetivo es la optimización (Montgomery, 2011).

La superficie de respuesta (SR) se define como la representación geométrica de la función objetivo (relación entre la variable dependiente y las independientes consideradas en la investigación) o más propiamente dicho del modelo matemático obtenido (Montgomery, 2011).

La MSR tiene varias ventajas comparada con los experimentos clásicos y métodos de optimización, ya que permite obtener una gran cantidad de información a partir de un número pequeño de experimentos. Con el uso de los métodos clásicos, se consume mayor cantidad de tiempo y son necesarios mayor número de experimentos para explicar el comportamiento del sistema (Montgomery, 2011). Además, se puede observar el efecto de la interacción de los parámetros que podrían ser más críticos, así como: el sinergismo, antagonismo y adición (Montgomery, 2011).

Para ayudar a visualizar la forma de una superficie de respuesta, con frecuencia, se grafican los contornos de la superficie de respuesta. En la gráfica de contornos se trazan las líneas de respuesta constante en el plano x_1, x_2 . Cada contorno corresponde a una altura particular de la superficie de respuesta (Montgomery, 2011).

En la mayoría de los problemas de MSR, la forma de la relación entre la respuesta y las variables independientes es desconocida. Por lo tanto, el primer paso de la MSR es encontrar una aproximación adecuada de la verdadera relación funcional entre “y” y el conjunto de variables independientes. Por lo general, se emplea un polinomio de orden inferior en alguna región de las variables independientes. Si la respuesta está bien modelada por una función lineal de las variables independientes, entonces la función de aproximación es el modelo de primer orden:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon$$

Si hay curvatura en el sistema, entonces debe usarse un polinomio de orden superior, tal como el modelo de segundo orden (diseño central compuesto rotacional):

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum_{ii} \beta_{ii} x_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

En casi todos los problemas MSR usa uno de estos modelos o ambos. Es probable que un modelo polinomial, sea una aproximación razonable de la verdadera relación funcional, en el espacio completo de las variables independientes; pero para una región relativamente pequeña suelen funcionar bastante bien (Montgomery, 2011).

El método de mínimos cuadrados, se usa para estimar los parámetros de los polinomios de aproximación. Después, se realiza el análisis de la superficie de respuesta utilizando la superficie ajustada. Si la superficie

ajustada es una aproximación adecuada de la verdadera función de la respuesta, entonces el análisis de la superficie ajustada será un equivalente aproximado del análisis del sistema real (Montgomery, 2011).

2.4. Diseño central compuesto rotacional (DCCR)

Se llaman diseños de segundo orden, aquéllos que permiten ajustar un modelo de segundo orden para así estudiar, además de los efectos lineales y de interacción, los efectos cuadráticos o de curvatura pura. Por consiguiente, estos diseños se emplean cuando se quiere explorar una región que se espera sea más compleja o cuando se cree que el punto óptimo ya se encuentra dentro de la región experimental (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

Según Gutiérrez y de la Vara (2008), el DCCR es el más utilizado en la etapa de búsqueda de segundo orden; debido a su flexibilidad, se puede construir a partir de un diseño factorial completo 2^k o fraccionado 2^{k-p} , agregando puntos sobre los ejes y al centro, además de otras propiedades deseables. Este diseño se compone de tres tipos de puntos:

- a. Una réplica de un diseño factorial en dos niveles, completo o fraccionado. A esta parte del DCCR se le llama porción factorial.
- b. n_0 puntos o repeticiones al centro del diseño, con $n_0 \geq 1$.
- c. Dos puntos sobre cada eje a una distancia "a" del origen. Estos puntos se llaman porción axial. La manera en que se ensamblan y el DCCR resultante se muestran en Figura 1, para el caso de dos *factores*.

Puntos al centro + puntos axiales + porción factorial = diseño central compuesto

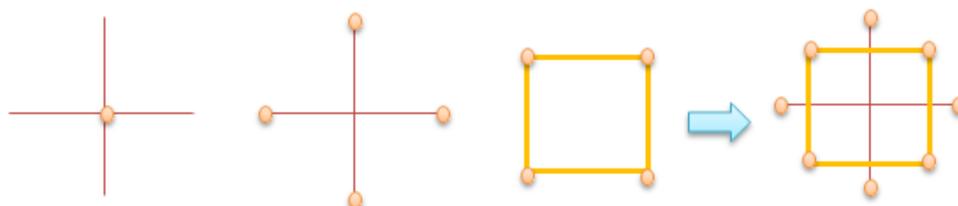


Figura 1. Representación y construcción del DCCR para $k = 2$ factores

Fuente: Gutiérrez y de la Vara (2008).

Con k factores, el número total de corridas experimentales es $N = 2k + 2k + n_0$. El número de corridas al centro y la distancia de los puntos axiales (α) deben escogerse de manera adecuada, lo que depende de las propiedades que se quieren en el DCCR. Para que el diseño sea rotatable, se toma α igual a $\alpha = (F)^{1/4}$, donde F es el número de puntos en la parte factorial (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

La Optimización en los diseños de experimentos factoriales y axiales, sirven para seleccionar factores más relevantes que afectan el desempeño del proceso. El paso siguiente es la optimización del proceso, o la búsqueda de las condiciones de operación para las variables del proceso que lo optimicen. Muchos problemas de SR incluyen el análisis de varias respuestas. La consideración simultánea de las respuestas múltiples requiere construir, primero, un modelo de SR adecuado para cada respuesta y después encontrar un conjunto de condiciones de operación que optimice en cierto sentido todas las respuestas o que, al menos, las mantenga en los rangos deseados. Un enfoque relativamente directo para optimizar varias respuestas que funciona bien cuando, solo hay pocas variables en el proceso, es la superposición de graficas de contorno de cada respuesta (Montgomery, 2011).

2.5. Software estadístico R

La Fundación R (2017), menciona que el software R es un lenguaje y un entorno para la informática estadística y gráfica. Es un proyecto GNU, similar al lenguaje S y el entorno que fue desarrollado en Bell Laboratories por John Chambers y colegas. R puede considerarse como una implementación del lenguaje de programación S.

R proporciona una variedad de modelos estadísticos (modelos lineales y no lineales, pruebas estadísticas clásicas, análisis de series de tiempo, clasificación, agrupación, etc.) y técnicas gráficas, y es muy extensible. El lenguaje S es, a menudo, el vehículo de elección para la investigación en metodología estadística, y R proporciona una ruta de código abierto a la participación en esa actividad. Una de las fortalezas de R es la facilidad con la que se pueden producir gráficos de calidad de publicación bien diseñada, incluyendo símbolos matemáticos y fórmulas donde sea necesario. Se ha tenido mucho cuidado con los valores predeterminados de las opciones de diseño menores en gráficos, pero el usuario mantiene el control total.

R está disponible como software libre bajo los términos de la Free Software Foundation's (Licencia Pública General de GNU en forma de código fuente). Compila y ejecuta en una amplia variedad de plataformas UNIX y sistemas similares (incluyendo FreeBSD y Linux), Windows y MacOS (Fundación R, 2017).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Las pruebas experimentales y los análisis se realizaron en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego y en el Laboratorio de Biomoléculas del Departamento de Ciencias Agroindustriales de la Universidad Nacional de Trujillo.

3.2. Materiales

- *Spirulina* sp., proporcionada por el Laboratorio de Biomoléculas del Departamento de Ciencias Agroindustriales de la Universidad Nacional de Trujillo.
- Film Poliéster (Mylar) de 0.10 mm espesor. Marca Imcetron.

3.3. Reactivos

- Medio líquido estándar Zarrouck para mantención de la cepa (g/L: K_2HPO_4 : 0.5; Fe_2SO_4 : 0.01; $NaNO_3$: 2.5; $NaHCO_3$: 16.8; K_2SO_4 : 1.0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.2; $CaCl_2$: 0.04; EDTA: 0.08; $NaCl$: 1.0; H_3BO_3 : 2.86; $MnCl_2$: 1.81; $ZnSO_4$: 0.222; Na_2MoO_4 : 0.01777; $CuSO_4$: 0.079) (Zarrouk, 1966).
- Medio con agua de mar para un volumen de operación de 2.5 L del fotobiorreactor de canal bucle cerrado-abierto a la atmósfera (g/L): (K_2HPO_4 : 0.175; Fe_2SO_4 : 0.0125; $NaNO_3$: 0.25; KNO_3 : 0.25; $NaHCO_3$: 4.0; Agua de mar: 825 mL; agua ozonificada: 1425 mL) (Vásquez-Villalobos y otros, 2017).

- Hidróxido de sodio al 50%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido clorhídrico de 0.1 N.
- Ácido bórico concentrado.
- Sulfato de cobre al 5%.
- Cloruro de sodio al 23%.
- Solución indicadora (rojo de metilo + verde de bromo cresol)

3.4. Equipos e instrumentos

- Balanza analítica Mettler Toledo. Capacidad 0-210 g, sensibilidad de 0.0001 g.
- Termómetro digital Multi- Thermometer. Rango 50-200 °C, precisión ± 0.01 °C.
- Estufa. Marca Mermert. Modelo UNE300. Volumen interior 39 L. Precisión de ajuste 0.5 °C.
- Horno de mufla. Marca Acequilabs. Modelo MF-2004. Rango 800 °C – 1200 °C.
- Equipo Kjeldahl. Modelo RS-1.
- Balones de digestión
- Buretas
- Erlenmeyer
- Cronómetro.
- Cocina a gas propano.
- Secador por VR (área de secado 13 cm x 8 cm = 104 cm²); constituido por un recipiente de acero inoxidable con un volumen de agua de 1450 mL. Termómetro de 50 a 200 °C. Calentamiento con gas propano para mantener aproximadamente a 97 °C. Film Poliéster (Mylar) colocado sobre la superficie del agua conteniendo biomasa húmeda de *Spirulina* sp.
- Fotobiorreactor de laboratorio (FBL) de 7 L de capacidad máxima y 4.5 L de volumen de operación.

- Fotobiorreactor de canal de bucle cerrado-abierto a la atmósfera (FB-BCAA) de PVC (policloruro de vinilo) de 2.5 L de capacidad máxima con un área de iluminación de 867.6 cm² (construido de tubería PVC de 2" de diámetro comercial (Vásquez-Villalobos y otros, 2017).
- Compresor de aire automático de 1.5 HP presión máxima 116 psi.
- Soplador de aire (blower) 0.24 kW, 0.32 HP, 3330 min⁻¹.
- Fotómetro AEMC Instruments Modelo CA813.
- Luminarias LED Philips de 10W-57mA 220-240V/50-60 Hz de color blanco que suministraron a los biorreactores 2.7±1.2 klx.
- Timer ALION AHC 15^a para el control de luz LED, fotoperiodo de 12/12 h (luz/oscuridad).
- Microscopio óptico 40X Leica (mod CME).
- Cámara Neubauer (1/10 mm deep, bright line-Boeco, Germany).
- pH metro Mettler Toledo con electrodo inlab 43.
- Crisoles o cápsulas de porcelana
- Moldes de acrílico regulables para delimitar el área de secado de 1.3 mm de espesor.
- Manguera flexible transparente.
- Mortero.
- Espátula acrílica para esparcir la biomasa húmeda.
- Bomba de vacío. Capacidad 20" Hg. Marca GAST.
- Botellas de vidrio de 250 ml (trampas)
- Papel whatman de 0.47 µm.
- Placas de Petri.
- Desecadores.
- Laptop HP core i5, IntelR, con el programa: software libre R 3.4.1. de GNU.

3.5. Metodología experimental

Se utilizó un diseño compuesto central rotacional (DCCR) (Cuadro 6) tipo factorial completo 2^2 , incluido 2×2 puntos axiales ($\alpha = 1.41$) y 2 repeticiones en el punto central, estableciéndose un diseño experimental con 11 ensayos (Cuadro 7), para generar la superficie de respuesta utilizando el Software Libre R de GNU.

Cuadro 6. Valores utilizados en el DCCR para las variables independientes

Variables independientes	$-\sqrt{2}$	-1	0	+1	$+\sqrt{2}$
X ₁ : Cantidad de biomasa algal (g)	10.0	12.9	20.0	27.1	30.0
X ₂ : Tiempo de secado (min)	10.0	12.9	20.0	27.1	30.0

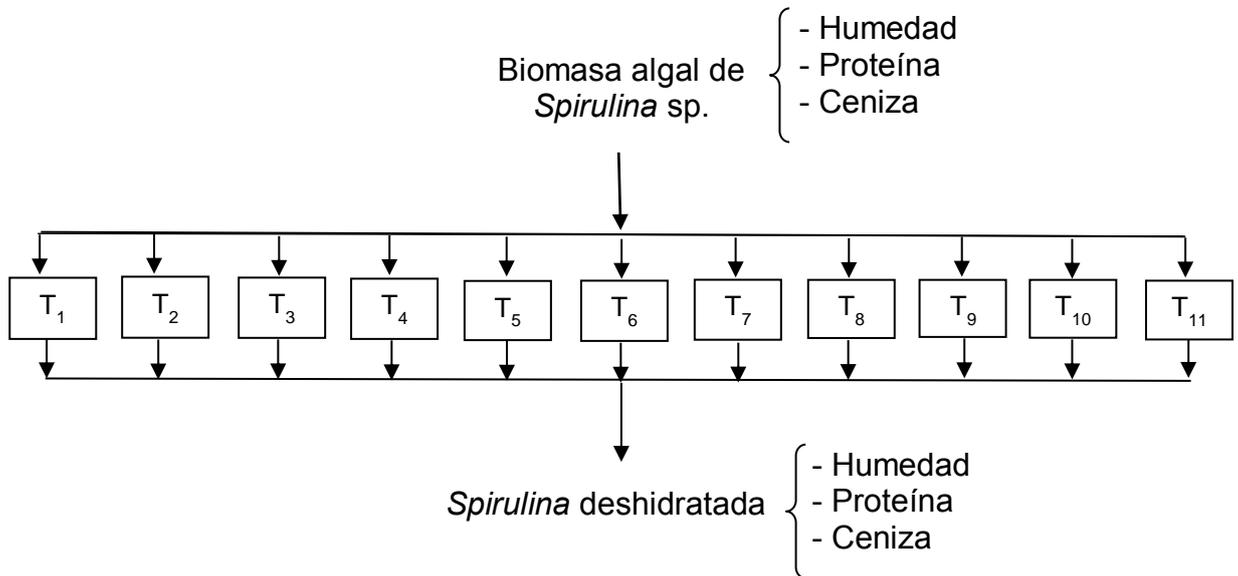
Se optimizó el proceso de deshidratación con un contenido de humedad de aproximadamente el 5%. De acuerdo con Mejía y otros (1985) en producción a nivel semiindustrial de microalgas se ha reportado niveles promedio de humedad de $3.4 \pm 1.3\%$ (Sausal-Perú), habiéndose fijado un valor de 5% a fin de garantizar una buena preservación y almacenamiento del producto. Una descomposición se pronostica si la humedad excede el 10%. Un contenido de humedad excesivamente baja no es conveniente debido a la utilización de mayores niveles de energía, lo que podría conducir a la destrucción de compuestos sensibles como vitaminas, reacciones de Maillard de los aminoácidos y carbohidratos en el polvo algal. Asimismo es conveniente empacar el polvo algal inmediatamente después del secado en bolsas de aluminio sellados herméticamente, los cuales deben de protegerlo de la luz para evitar el blanqueo de los pigmentos de la clorofila y la destrucción de vitaminas sensibles a la luz. De acuerdo con los referidos autores, otros valores de humedad han sido reportados entre 4 a 8% en Dortmund- Alemania, $3.6 \pm 1.5\%$ en Bangkok (Tailandia), entre 5 a 7% en Mysore (India), 3.0% en Japón y 7.9% en México.

Cuadro 7. Matriz para la obtención de los datos experimentales empleando metodología de superficie de respuesta (MSR)

Ensayo	Variable Codificada		Variable Independiente		Variable Dependiente		
	X_1	X_2	X_1	X_2	Y_1	Y_2	Y_3
1	-1	-1	12.9	12.9	Y11	Y21	Y31
2	1	-1	27.1	12.9	Y12	Y22	Y32
3	-1	1	12.9	27.1	Y13	Y23	Y33
4	1	1	27.1	27.1	Y14	Y24	Y34
5	$-\sqrt{2}$	0	10.0	20.0	Y15	Y25	Y35
6	$\sqrt{2}$	0	30.0	20.0	Y16	Y26	Y36
7	0	$-\sqrt{2}$	20.0	10.0	Y17	Y27	Y37
8	0	$\sqrt{2}$	20.0	30.0	Y18	Y28	Y38
9	0	0	20.0	20.0	Y19	Y29	Y39
10	0	0	20.0	20.0	Y110	Y210	Y310
11	0	0	20.0	20.0	Y111	Y211	Y311

3.6. Esquema experimental

La secuencia experimental desarrollada se muestra en la Figura 2, donde la biomasa húmeda cosechada del fotobiorreactor fue deshidratada en secador por VR, con una temperatura del medio de calentamiento (agua) a 97 ± 2 °C, biomasa algal dosificada (cantidad) entre 10 a 30 g, deshidratada en rango de tiempo de 10 a 30 min, por lo que se utilizó un diseño compuesto central rotacional (DCCR), en el que las variables independientes fueron: X_1 , cantidad de biomasa húmeda (g) y X_2 , tiempo de secado (min) y las variables dependientes: Y_1 , contenido de humedad (%), Y_2 , contenido proteico (%) e Y_3 , contenido de ceniza (%).



Leyenda:

- T₁: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (12.9 g, 12.9 min)
- T₂: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (27.1 g, 12.9 min)
- T₃: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (12.9 g, 27.1 min)
- T₄: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (27.1 g, 27.1 min)
- T₅: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (10.0 g, 20.0 min)
- T₆: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (30.0 g, 20.0 min)
- T₇: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (20.0 g, 10.0 min)
- T₈: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (20.0 g, 30.0 min)
- T₉: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (20.0 g, 20.0 min)
- T₁₀: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (20.0 g, 20.0 min)
- T₁₁: Tratamiento: biomasa algal, tiempo (20.0 g, 20.0 min)

Figura 2. Esquema experimental para la investigación del efecto de la cantidad de biomasa algal y el tiempo de secado por ventana refractante de *Spirulina* sp. deshidratada

3.7. Diagrama de flujo para la obtención de *Spirulina* sp.

En la Figura 3, se observa el diagrama de flujo para la obtención de *Spirulina* sp. deshidratada, cuyos detalles se describen a continuación.

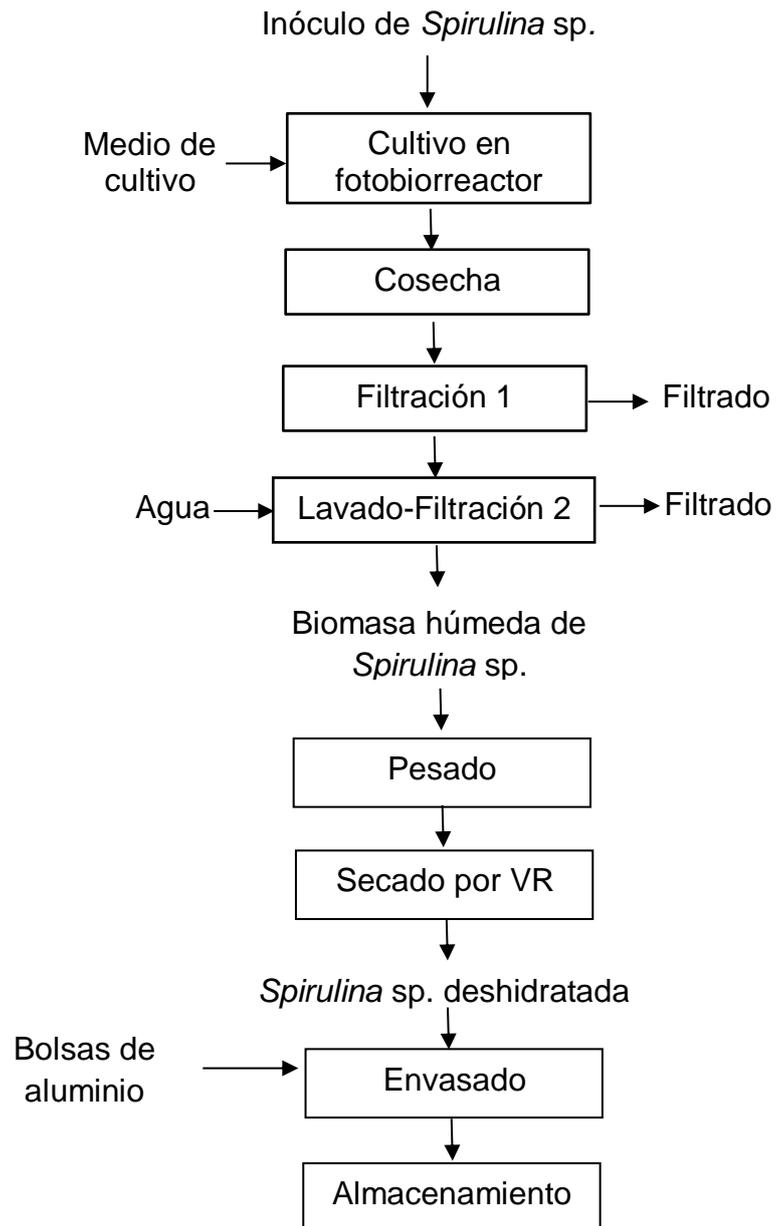


Figura 3. Diagrama de flujo para la obtención de *Spirulina* sp. deshidratada

Inóculo para el cultivo

El inóculo (cultivo madre) se mantuvo en medio Zarrouk con una iluminación de 5.0 klux, con un fotoperiodo de 12/12 h Luz/Oscuridad, con constante dosificación de aire proveniente de la compresora (caudal promedio: 0.86 ± 0.09 L/s); asimismo se burbujeó el aire a través de tres (trampas): A sulfato de cobre al 5%, B cloruro de sodio al 23% y C agua destilada, para evitar la contaminación del cultivo. A cada fotobiorreactor cerrado de laboratorio se instaló un ducto de salida de aire.

Cultivo en fotobiorreactor

La producción de biomasa de *Spirulina* sp. en fotobiorreactor de canal bucle cerrado abierto a la atmósfera (FB-BCAA) (Anexo 3, Figura B) se realizó en un fotoperiodo de 12/12 h Luz/Oscuridad, controlada con un timer, para lo cual se instalaron tres focos LED de 12 vatios, separados entre sí 28.9 ± 0.50 cm, a una distancia del fondo en la línea longitudinal central de 6.6 ± 0.50 cm, que permitió obtener una iluminación de 22.0 klux. El volumen del cultivo de microalgas fue de 2.5 L; en el que se empleó 250 mL de inóculo y 2250 mL del medio de agua de mar, el cual fue mezclado y agitado en el canal de bucle cerrado por movimiento generado por elevación de aire (air-lift), producido por la aspersion de burbujas, proveniente de un soplador de aire (blower). La cuantificación de las células de *Spirulina* sp. se realizó cada 12 h empleando cámara Neubauer (Anexo 3, Figura D) cuyos datos se introdujeron al modelo matemático de Gompertz ($YA = \phi * \exp(-\exp(b - c * TA))$), donde YA es el log N/N_0 (donde N es número de células en el biorreactor a un tiempo determinado y N_0 es número de células al inicio del experimento) y TA es el tiempo en horas, (b) y (c): constantes (Vásquez-Villalobos y otros 2014); Asimismo, se controló el pH, la temperatura y el nivel de evaporación.

Obtención de la biomasa húmeda

Cosecha

La cosecha se realizó cuando la *Spirulina* sp. llegó a su fase de crecimiento de máxima estacionaria (producción máxima de biomasa de *Spirulina* sp.) la cual fue determinada con el modelamiento matemático de Gompertz. Se realizó 6 cosechas para obtener 220 g de biomasa húmeda de *Spirulina* sp. para los once ensayos.

Filtración 1

Los 2.5 L fueron filtrados en un kitasato de 500 mL en papel whatman de 0.47 μm de diámetro, utilizando una bomba de vacío (20" Hg) (Anexo 3), para acelerar el proceso. El peso de la muestra obtenida fue de aproximadamente 37 g.

Lavado – Filtración 2

El lavado se realizó con agua ozonificada (270 - 290 mL) para eliminar las sales en la biomasa algal de *Spirulina* sp.; a la vez que se le adicionaba el agua ozonificada se iba filtrando ya que se contaba con el mismo montaje del equipo montado en la filtración 1.

Pesado

Se taró en la balanza la lámina de Mylar conjuntamente con el molde confeccionado de láminas de acrílico; posteriormente, se prosiguió a pesar las muestras de biomasa algal húmeda (10 - 30 g) dentro del área del molde, esparciéndose con una espátula de vidrio.

Secado por ventana refractante

Las muestras colocadas sobre la lámina de Mylar; fueron deshidratadas a 97 ± 2 °C, el tiempo de secado fue de 10 a 30 min (Anexo 3, Figura G). Al final se retiró la biomasa deshidratada sin ninguna dificultad.

Envasado

Las muestras deshidratadas fueron envasadas en bolsas de aluminio con cremallera (10 x 8 cm²).

Almacenamiento

Las muestras se almacenaron a no más que 30 °C, por 48 h en desecadores y en oscuridad.

3.8. Métodos de análisis

3.8.1. Determinación de humedad

Se pesó la placa Petri en una balanza analítica y se anotó el peso. Se adicionó 2 g. de muestra, se anotó el peso, luego se colocó en la estufa a 105 °C por un tiempo de 5 h. Posteriormente se colocaron en un desecador hasta que enfrié y se pesó en la balanza analítica. Se estableció la diferencia del peso respecto al peso inicial obteniendo la humedad (AOAC, 2000).

3.8.2. Determinación de proteínas

Se pesó 0.3 g. de muestra (en papel de seda), luego se agregó 1 g. de catalizador, para acelerar la reacción, se agregó 1.5 mL de ácido sulfúrico concentrado y se colocó el balón en la cocina de digestión, está terminó cuando el contenido del balón es completamente cristalino.

Se colocó la muestra digerida en el aparato de destilación, se agregó 10 mL. de hidróxido de sodio con fenoftaleína hasta que vire (rojo carmín) para que se produzca la destilación. Se conectó el refrigerante y se recibió el destilado en un Erlenmeyer que contenga 30 mL. de solución indicadora. La destilación termina cuando ya no pasa más amoníaco y hay viraje del indicador, luego se

procede a la titulación con ácido clorhídrico valorado 0.1N; se formularon los resultados como proteína ($N \times 6.25$) (AOAC, 2000).

3.8.3. Determinación de ceniza

Se pesó 2.5 g de Spirulina deshidratada por VR y se calculó como el peso remanente después de haber sido calcinada la muestra en la mufla a 550 °C durante 3.5 h hasta que aparezca ceniza blanca. Luego, se procedió a calcular la diferencia de peso (AOAC 2000).

3.9. Análisis estadístico

Se usó un diseño compuesto central rotacional (DCCR) que permitió establecer los rangos máximos y mínimos experimentales y una matriz experimental de metodología de superficie de respuesta. Para las variables predictoras: concentración de biomasa algal y tiempo de secado, se tuvieron ocho (8) combinaciones más 3 réplicas en el punto central (Cuadro 7). Se aplicó el análisis de varianza para determinar el modelo más adecuado, además, se determinó el coeficiente de determinación R^2 y R^2 -ajustado, debiendo ser iguales o superiores al 85 y 75%, respectivamente, con la finalidad de garantizar que el modelo represente adecuadamente el comportamiento del fenómeno en estudio (humedad, proteína y ceniza) (Montgomery, 2011). Para verificar la consistencia del modelo se replicó por duplicado para obtener la humedad deseada (5%), cuyo valor sirvió para ubicar por superposición de imágenes en la superficie de contornos, el área más adecuada del contenido proteico (%) y el contenido de ceniza (%). Se utilizó el software libre R 3.4.1. de GNU.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Evaluación de la humedad de *Spirulina* sp. deshidratada en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante

En el Cuadro 8, se presenta la matriz del desarrollo experimental constituido por once ensayos, los que tuvieron como respuesta el porcentaje de humedad de la biomasa de *Spirulina* sp. (Y_1). Se observa que en los ensayos 3, 5, 8 y los puntos centrales se obtienen los niveles de humedad menores al 5%. Ochoa Martinez y otros (2012) obtuvieron usando la técnica de secado por VR, también un contenido de humedad con rodajas de mango por debajo de 5%, en un tiempo de 30 min, con rodajas de espesor de 1 mm, a una temperatura de 95 °C. Existiendo diferencia en el presente experimento ya que se utilizó una temperatura de 97 ± 2 °C y un espesor de 1.3 mm con las muestras de biomasa de *Spirulina* sp., siendo estos factores influyentes en la variación de los tiempos de secado. Los ensayos centrales constituyeron las repeticiones, las que se plantearon (9 al 11) con el propósito de evaluar la bondad del modelo estadístico MSR-DCCR.

Bajo estas condiciones, la cantidad de biomasa algal y tiempo de secado, fueron muy importantes en la obtención de la variable respuesta (humedad). Apreciando que; a mayor cantidad de biomasa algal y menor tiempo de secado se obtienen humedades mayores al 5%, como es el caso del ensayo 2 (27.07 g/12.93 min), ensayo 6 (30 g/ 20 min) y el ensayo 7 (20 g/ 10 min) obteniendo humedades del 26.81%, 14.27% y 17.69% respectivamente; siendo los menos recomendables para ser destinadas al consumo ya que las humedades elevadas no proveerían: estabilidad microbiológica y vida útil adecuada, debido a que la humedad acelera las reacciones de deterioro químico (Rattii, 2008).

Cuadro 8: Variación de la humedad de *Spirulina* sp. deshidratada en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por Ventana Refractante

Ensayo	Variable codificada		Variable independiente		Variable dependiente
	X ₁	X ₂	Cantidad de biomasa (g)	Tiempo de secado (min)	Humedad (%)
1	-1	-1	12.93	12.93	7.48
2	1	-1	27.07	12.93	26.81
3	-1	1	12.93	27.07	3.43
4	1	1	27.07	27.07	7.40
5	-1.4142	0	10.00	20.00	4.06
6	1.4142	0	30.00	20.00	14.27
7	0	-1.4142	20.00	10.00	17.69
8	0	1.4142	20.00	30.00	2.56
9	0	0	20.00	20.00	3.63
10	0	0	20.00	20.00	3.66
11	0	0	20.00	20.00	3.64

Asimismo, se observa en el Cuadro 8 que a mayor tiempo de secado (30 min), se obtiene la menor humedad (2.56%) como se muestra en el ensayo 8. El objetivo fue llegar a humedades muy próximas al 5%, debido a que este valor asegura una mayor estabilidad (Mejía y otros, 1985). En este sentido su análisis es importante en el control de calidad del producto (Sierra, Morante, y Pérez, 2007). De acuerdo con la norma del CODEX para leche en polvo y nata (crema) en polvo; la cual indica una humedad máxima del 5% (CODEX STAN 207-1999); del mismo modo exige cumplir con la misma especificación para huevo deshidratado (NMX-F-330-S-1979).

En la deshidratación de alimentos en general, es necesario el control de la cantidad, así como, también del tiempo de secado; que permitan la remoción del agua contenida en ella y en el caso específico de productos sensibles al calor, como es el caso de la biomasa de *Spirulina* sp. se debe procurar utilizar condiciones no severas para evitar pérdida de nutrientes (Abonyi y otros, 2002; Nindo y otros, 2003) y para estar acorde con ello, en el presente trabajo se evaluó la influencia de la cantidad de biomasa algal empleando experimentalmente 10 - 30 g y tiempo de secado de 10 - 30 min con el propósito de evaluar once resultados experimentales de humedad (Cuadro 8), permitiendo ubicar una zona con la mejor condición de operación, de aproximadamente el 5%, lo que permite conservar adecuadamente la biomasa deshidratada de *Spirulina* sp. (AOAC, 2000).

Analizando los resultados generados en base a la MSR utilizada, mostrados en el Cuadro 8, el menor contenido de humedad en la biomasa de *Spirulina* sp. deshidratada hallada en esta investigación, se produjo a nivel de los tratamientos centrales del diseño planteado, dadas por las combinaciones de 20 g de biomasa algal dosificada y 20 min de tiempo de secado por VR, habiéndose obtenido 3.63%, 3.66% y 3.64% humedad en los ensayos 9, 10 y 11 respectivamente, siendo ligeramente inferiores a lo reportado por Oliveira y otros (2009) quienes caracterizaron el secado de *Spirulina* sp. en capa delgada utilizando flujo de aire perpendicular, con valores de humedad de 7 a 10%. Gamboa y otros (2014) reportaron en secado de pulpa de lúcuma usando VR, una humedad de 9.82%; de igual manera Gamarra (2016) reportó haciendo uso del mismo método de secado, con biomasa de *Candida utilis* var. major C.E.C.T 1430 una humedad de 5%.

En el Cuadro 9, se presenta el análisis de varianza del modelo estadístico para la evaluación de la humedad de *Spirulina* sp. deshidratada, donde se observa que el modelo estadístico (cuadrático) fue significativo ($p < 0.05$), asimismo, los coeficientes de determinación R^2 y R^2 -ajustado fueron de 97.41 y 94.24%

(valores superiores al 85 y 75%, respectivamente), lo que indica un razonable ajuste del modelo a los datos experimentales.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la evaluación de la humedad de *Spirulina* sp. Deshidratada

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	p
Modelo	5	589.460	117.892	37.545	0.003
Residual	5	15.700	3.140		
Total	10	605.160			
R ²		97.41%	R ² - Ajustado		94.24%

Los coeficientes estimados (Cuadro 10) en términos lineales: X_1 y X_2 , términos cuadrático: X_1^2 , X_2^2 e interacción X_1 con X_2 (fueron significativos) tuvieron efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la humedad de *Spirulina* sp. deshidratada. A partir de los coeficientes estimados (obtenidas con las variables predictoras codificadas) se generó la regresión, siendo posteriormente transformada a unidades naturales (Ecuación 1), utilizando el software libre R 3.4.1. de GNU, la cual se muestran a continuación, con la cual se obtuvo las respuestas predichas, las que fueron comparadas con los valores experimentales (observados), de cuya diferencia se obtuvo el porcentaje de variación, para cada una de las unidades experimentales, siendo en su mayoría menores al 10% a excepción de los ensayos 3, 5, 6 y 8 los cuales se encuentran en un rango de 10% al 20% (Cuadro 11), por lo que el modelo puede ser considerado como razonablemente reproducible (Gutiérrez y de la Vara, 2009).

Cuadro 10. Coeficientes estimados de humedad con variables codificados de *Spirulina* sp. deshidratada

Factor	Coeficientes estimados	Error estándar	t(5)	p
Intercepto	3.693	1.023	3.611	0.015
Cantidad: X_1	4.718	0.626	7.532	0.002
Tiempo: X_2	-5.607	0.626	-8.951	0.001
$X_1 * X_2$	-3.840	0.886	-4.335	0.007
X_1^2	3.145	0.746	4.218	0.008
X_2^2	3.624	0.746	4.861	0.005

Los coeficientes de regresión permitieron establecer un modelo estadístico cuadrático en unidades naturales:

$$Y_1 = 29.634 - 0.312X_1 + 0.063X_1^2 - 2.156X_2 + 0.072X_2^2 - 0.077X_1 \cdot X_2 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Y_1 : % Humedad

X_1 : Cantidad de biomasa algal (g)

X_2 : Tiempo de secado (min)

El modelo estadístico, fue usado para generar la superficie de respuesta (Figura 4a), presentando el valor mínimo un color rojo intenso y la superficie de contornos presentando el valor mínimo un color verde intenso (Figura 4b), en la humedad (Y_1) de *Spirulina* sp. deshidratada. Observándose (Figura 4a) un menor contenido de humedad en la zona de 1 - 6% cuando la cantidad de biomasa algal húmeda fue del rango de 16 - 25 g y el tiempo de secado de 19 a 27 min. Pudiéndose afirmar que estas combinaciones permiten un secado adecuado. Camacho-Morales (2006) realizó secado de *Spirulina* sp. utilizando liofilizador, un método de secado costoso; en el que

empleó 18 g de biomasa algal y un tiempo de secado de 75 min; obteniendo como menor humedad un 10%. En la presente investigación se obtuvo un rango de humedad de 1 a 6%, encontrándose el óptimo dentro del rango estimado. Este resultado concuerda con lo citado por Márquez y otros (2007) y Salamanca y otros (2009) quienes afirman que la fracción húmeda se remueve desde un 90 a 95 % de humedad inicial hasta 3 a 10%, al secar alimentos por la técnica de VR.

Cuadro 11. Respuesta observada y predicha para el contenido de humedad de *Spirulina* sp. Deshidratada

Variables naturales		Humedad (%)			
X_1	X_2	Observado	Predicho	Residual	Desvió (%)
12.93	12.93	7.48	7.51	-0.03	0.42
27.07	12.93	26.81	24.63	2.18	8.14
12.93	27.07	3.43	3.98	-0.55	16.02
27.07	27.07	7.40	5.73	1.67	22.51
10.00	20.00	4.06	3.31	0.75	18.45
30.00	20.00	14.27	16.65	-2.38	16.69
20.00	10.00	17.69	18.87	-1.18	6.69
20.00	30.00	2.56	3.01	-0.45	17.61
20.00	20.00	3.63	3.69	-0.07	1.80
20.00	20.00	3.66	3.69	-0.03	0.83
20.00	20.00	3.79	3.69	0.10	2.52

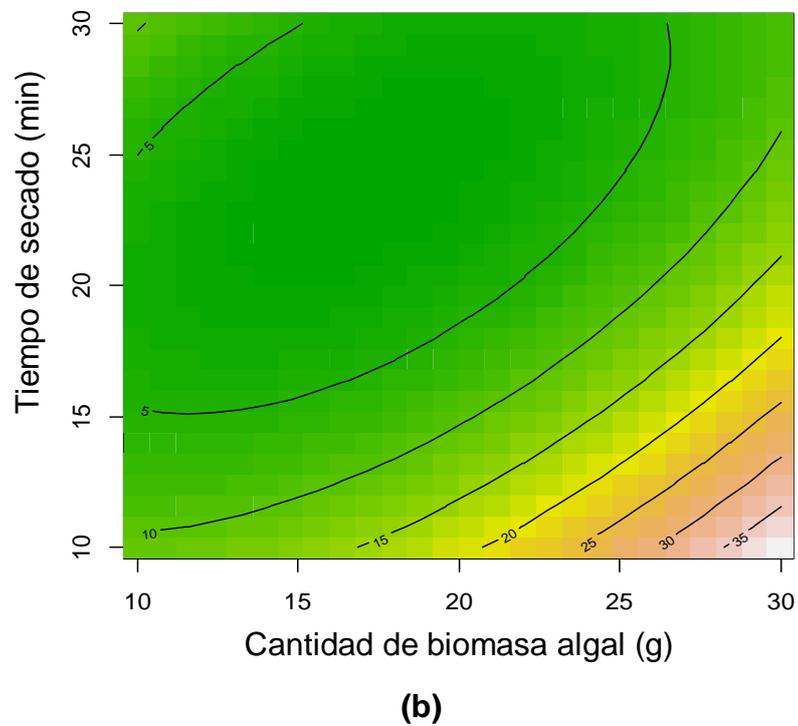
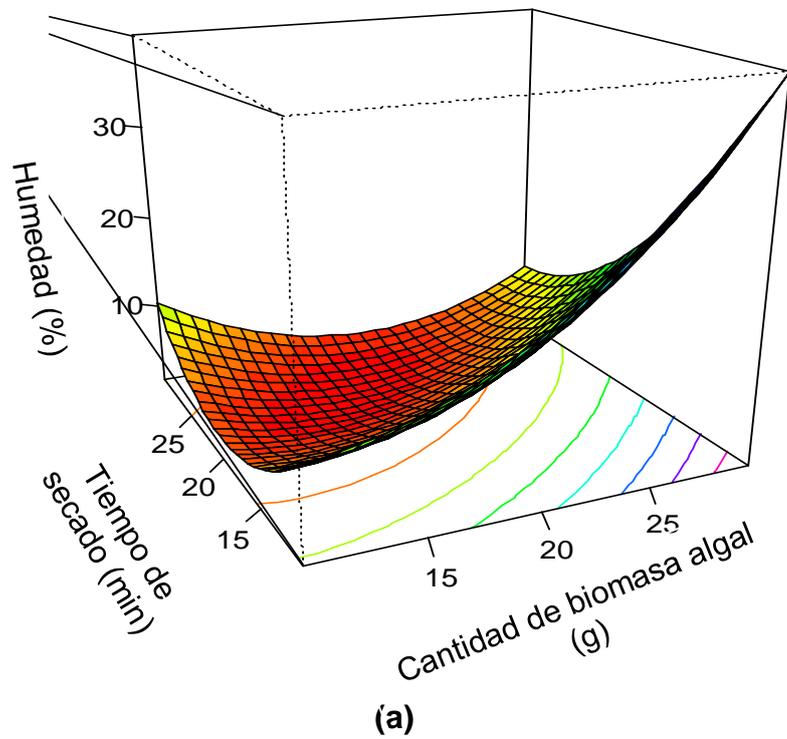


Figura 4. Superficie de respuesta (a) y superficie de contornos (b) de la humedad de *Spirulina* sp. deshidratada en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado

4.2. Evaluación del contenido de proteína de *Spirulina* sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempos de secado por ventana refractante

En el Cuadro 12, se muestra la evaluación de la calidad nutricional de *Spirulina* sp. deshidratada por la técnica de secado de VR, reportado en función al componente nutricional proteína, expresado en porcentaje (%).

En la matriz del desarrollo experimental constituido por once ensayos (Cuadro 12), se observa como respuesta la composición porcentual (%) de proteína de la biomasa de *Spirulina* sp., (Y_2); esta variable de respuesta es inversamente proporcional al porcentaje de humedad, reflejada que a menor porcentaje de humedad es mayor el porcentaje de proteína; (Cuadros 8 y 12), los cuales muestran que en el ensayo de menor humedad (ensayo 8), se obtuvo el mayor porcentaje de proteína (64.84%). En estas condiciones existe inestabilidad de las ficobiliproteínas, originando la pérdida de su eficiencia fluorescente, aspecto que depende de dos factores; temperatura y tiempo de secado, los cuales no deben exceder de 97 °C por un tiempo no mayor a 20 min (Marín-Prida, 2015); excediéndose en este caso el ensayo 8 con respecto al factor tiempo de secado (30 min), es por ello que no se recomienda una humedad menor al 5% a pesar que se obtenga un mayor contenido de proteína (%).

Según el Cuadro 12, las combinaciones 3, 8 y 9 y las dos réplicas del punto central 10 y 11 fueron los que arrojaron el mayor porcentaje de proteína, con un promedio de 64.28%. Mejía y otros (1985) reportan un valor de 63.9% de proteína para *Spirulina* sp. Ayala y otros (1985) reportan un valor de 50.0 a 60.1% de proteína con una humedad de 6.1% debido a que utilizaron deshidratación solar.

Cuadro 12: Variación de proteína de *Spirulina* sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempo de secado por ventana refractante

Ensayo	Variable codificada		Variable Independiente		Variable Dependiente
	X ₁	X ₂	Cantidad de biomasa (g)	Tiempo de secado (min)	Proteína (%)
1	-1	-1	12.93	12.93	61.57
2	1	-1	27.07	12.93	48.71
3	-1	1	12.93	27.07	64.27
4	1	1	27.07	27.07	61.62
5	-1.4142	0	10.00	20.00	63.85
6	1.4142	0	30.00	20.00	57.05
7	0	-1.4142	20.00	10.00	54.78
8	0	1.4142	20.00	30.00	64.84
9	0	0	20.00	20.00	64.13
10	0	0	20.00	20.00	64.11
11	0	0	20.00	20.00	64.03

El contenido de proteína de la biomasa de *Spirulina* sp. deshidratada, tiene relación con las condiciones del cultivo, Brenan (2010) y Miranelly (2010) mencionan que para obtener una biomasa algal con un buen contenido proteico, debe manejarse adecuadamente la alcalinidad del medio, el pH, la temperatura, la disponibilidad y concentración de nutrientes, la intensidad y tipo de luz, la densidad celular del cultivo y la contaminación o depredación por otros organismos. En la presente investigación el pH y la temperatura estuvieron entre 9.7 - 10.4 y 28 - 30 °C, respectivamente. Wen-Qing y otros (2016) reportan un pH y temperatura óptimos para el crecimiento de *Spirulina* sp. de 9.5 a 10.0 y 30 °C, habiendo superado

ligeramente el valor óptimo de pH y con una temperatura que no supero lo recomendado. La iluminación estuvo entre 8.5 y 22 klux.

Al respecto Kebede y Ahlgren (1996) han reportado en *Spirulina* sp. condiciones óptimas a 27.5 klux. Carvalho y otros (2011) y Pedrosa-Bezerra y otros (2012), mencionan que una excesiva intensidad de iluminación de 41.7 klux puede conducir a la foto-oxidación, mientras que bajos niveles como 1.25 klux son limitadores de crecimiento de las microalgas.

En la Cuadro 13, se presenta el análisis de varianza contenido de proteína de *Spirulina* sp. deshidratada, donde se observa que el modelo estadístico cuadrático fue significativo ($p < 0.05$), asimismo, los coeficientes de determinación R^2 y R^2 -ajustado fueron de 97.86 y 94.78% (valores superiores al 85 y 75%, respectivamente), lo que indica un razonable ajuste del modelo a los datos experimentales

Cuadro 13. Análisis de varianza para la evaluación de proteína de *Spirulina* sp. deshidratada

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	p
Modelo	5	260.925	52.185	37.538	0.001
Residual	5	6.951	1.390		
Total	10	267.876			
R^2		97.86%	R^2 -ajustado		94.78%

Se obtuvieron los coeficientes estimados de los factores codificados (Cuadro 14); los cuales tuvieron efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la proteína en *Spirulina* sp. deshidratada; expresándose dichos factores en

términos lineales (X_1 , X_2), términos cuadráticos (X_1^2 , X_2^2) e interacción (X_1 con X_2).

Cuadro 14. Coeficientes estimados de proteína con variables codificadas de *Spirulina* sp. deshidratada

Factor	Coeficientes estimados	Error estándar	t(5)	p
Intercepto	64.0900	0.6808	94.1452	0.0001
Cantidad: X_1	-3.1408	0.4169	-7.5342	0.0007
Tiempo: X_2	3.7296	0.4169	8.9466	0.0003
$X_1 * X_2$	2.5525	0.5896	4.3296	0.0075
X_1^2	-2.0919	0.4962	-4.2159	0.0084
X_2^2	-2.4119	0.4962	-4.8609	0.0046

Con los coeficientes estimados (obtenidas con las variables predictoras codificadas) se generó la regresión, siendo posteriormente transformada a unidades naturales como se muestra en la Ecuación 2 (Y_2):

$$Y_2 = 46.826 + 0.208X_1 - 0.042X_1^2 + 1.435X_2 - 0.048X_2^2 + 0.051X_1 \cdot X_2 \text{ (Ecuación 2)}$$

Y_2 : Proteína (%)

X_1 : Cantidad de biomasa algal (g)

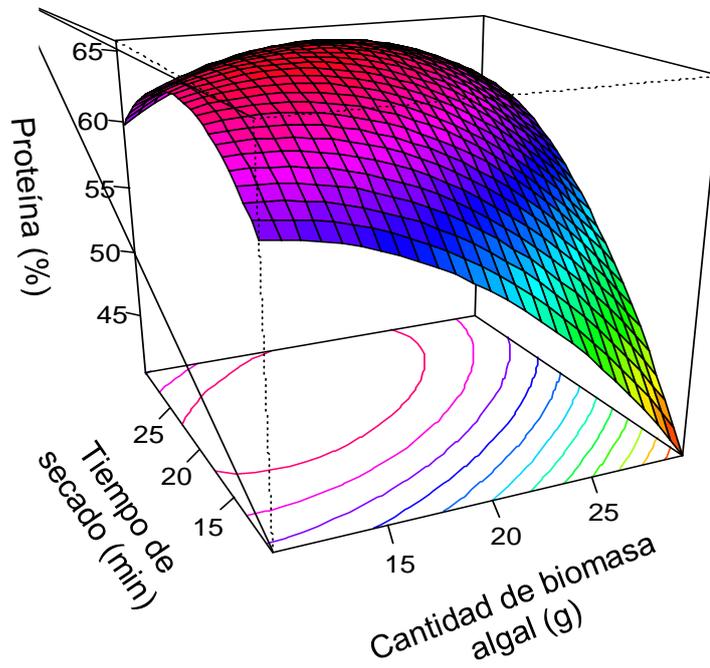
X_2 : Tiempo de secado (min)

Con la ecuación 2 (Y_2) se obtuvo las respuestas predichas, las cuales fueron comparadas con los valores experimentales (observados), de cuya diferencia se obtuvo el porcentaje de variación, para cada una de las unidades experimentales, siendo estos menores al 10% (Cuadro 15), por lo que el modelo puede ser considerado como razonablemente reproducible (Gutiérrez y de la Vara, 2009).

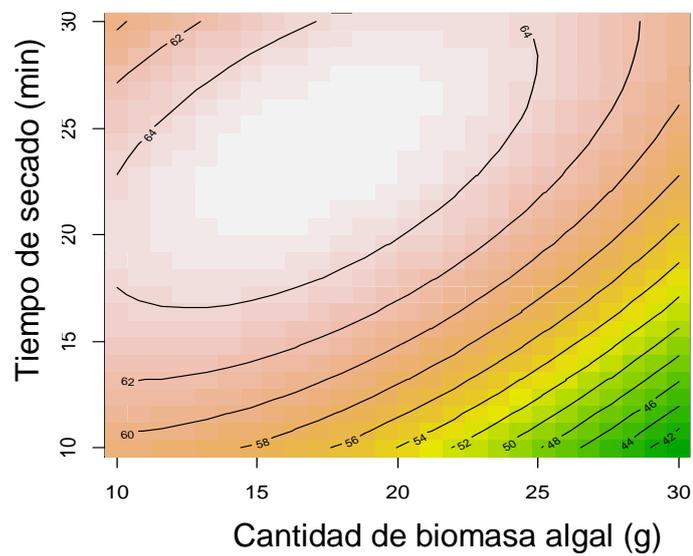
Cuadro 15. Respuesta observada y predicha para el contenido de proteína de *Spirulina* sp. deshidratada

Variables naturales		Proteína (%)			
X_1	X_2	Observado	Predicho	Residual	Desvió (%)
12.93	12.93	61.57	61.55	0.02	0.03
27.07	12.93	48.71	50.16	-1.45	2.98
12.93	27.07	64.27	63.90	0.37	0.57
27.07	27.07	61.62	62.73	-1.11	1.80
10.00	20.00	63.85	64.34	-0.50	0.78
30.00	20.00	57.05	55.46	1.59	2.78
20.00	10.00	54.78	53.99	0.79	1.44
20.00	30.00	64.84	64.54	0.30	0.46
20.00	20.00	64.13	64.09	0.04	0.07
20.00	20.00	64.11	64.09	0.02	0.03
20.00	20.00	64.03	64.09	-0.06	0.10

Se construyó la superficie de respuesta (el valor mínimo se muestra en color rojo intenso) y la superficie de contorno (mostrando el valor mínimo en color melón claro) mostrados en la Figura 5a y la Figura 5b respectivamente apreciando el mutuo efecto de la cantidad de la biomasa algal (10 – 30 g) como el tiempo de secado (10 – 30 min) en la proteína de *Spirulina* sp. deshidratada, permitiendo ubicar la zona con mayor contenido de proteína (62 – 64%); cuando la cantidad de biomasa estuvo en el rango de 16 a 24 g y tiempo de secado de 19 - 27 min; encontrándose dicho rango dentro de lo establecido por el autor Romero (2010); quien menciona que: la *Spirulina* sp. tiene un 55 – 70% de proteínas de un importante valor biológico (Cuadro 2) lo que está directamente relacionado con el tipo de aminoácidos esenciales que contiene esta alga, del total de aminoácidos: leucina (10.9%), valina (7.5%) e isoleucina (6.8%).



(a)



(b)

Figura 5. Superficie de respuesta (a) y de contornos (b) de la relación de cantidad de biomasa algal (X_1) y tiempo de secado (X_2) en proteína de *Spirulina* sp. deshidratada

4.3. Evaluación del contenido de ceniza de *Spirulina* sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempos de secado por ventana refractante

En la matriz en la que se evalúa el contenido de ceniza (Cuadro 16), se trabajó con los once ensayos; sin variar las variables codificadas ni las variables naturales, obteniendo a partir de ellas la variable respuesta (% ceniza, Y_3); observándose en el ensayo 2, un menor porcentaje de contenido de ceniza (6.09%) con una cantidad de biomasa algal (27.07 g) y un tiempo de secado (12.93 min); mientras que el ensayo 8, con una cantidad de biomasa algal de 20 g y un tiempo de secado de 30 min, se obtuvo el mayor contenido de ceniza (8.10%), siendo este valor no muy lejano del ensayo 3 y de los ensayos 9, 10 y 11 (puntos centrales).

Cuadro 16. Variación del contenido de ceniza de *Spirulina* sp. en función a la cantidad de biomasa y tiempos de secado por ventana refractante

Ensayo	Variable codificada		Variables Independiente		Variable Dependiente
	X_1	X_2	Cantidad de biomasa (g)	Tiempo de secado (min)	Ceniza (%)
1	-1	-1	12.93	12.93	7.69
2	1	-1	27.07	12.93	6.09
3	-1	1	12.93	27.07	8.03
4	1	1	27.07	27.07	7.70
5	-1.4142	0	10.00	20.00	7.98
6	1.4142	0	30.00	20.00	7.13
7	0	-1.4142	20.00	10.00	6.84
8	0	1.4142	20.00	30.00	8.10
9	0	0	20.00	20.00	8.01
10	0	0	20.00	20.00	8.06
11	0	0	20.00	20.00	8.02

En la Cuadro 17, se presenta el análisis de varianza para contenido de ceniza en *Spirulina* sp. deshidratada, donde se observa que el modelamiento estadístico cuadrático fue significativo ($p = 0.005$) siendo $p < 0.05$, asimismo, los coeficientes de determinación R^2 y R^2 -ajustado fueron de 97.45 y 94.91% (valores superiores al 85 y 75%, respectivamente), lo que indica un razonable ajuste del modelo a los datos experimentales.

Cuadro 17. Análisis de varianza para la evaluación del contenido de ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	p
Modelo	5	4.066	0.813	38.256	0.005
Residual	5	0.106	0.021		
Total	10	4.172			
R^2		97.45%	R^2 -ajustado		94.91%

Los coeficientes estimados (Cuadro 18) en términos lineales: (X_1 , X_2), términos cuadráticos: (X_1^2 , X_2^2) e interacción: (X_1 con X_2), tuvieron efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el contenido de ceniza en *Spirulina* sp. deshidratada. A partir de los coeficientes estimados (obtenidas con las variables predictoras codificadas) se generó la regresión, siendo posteriormente transformada a unidades naturales (Ecuación 3), con la cual se obtuvo las respuestas predichas, las cuales fueron comparadas con los valores experimentales (observados), de cuya diferencia se obtuvo el porcentaje de variación, para cada una de las unidades experimentales, siendo estos menores al 10% (Cuadro 19), por lo que el modelo se consideró como razonablemente reproducible (Gutiérrez y de la Vara, 2009).

Cuadro 18. Coeficientes estimados del contenido de ceniza con variables codificadas de *Spirulina* sp. deshidratada

Factor	Coeficientes estimados	Error estándar	t(5)	p
Intercepto	8.007	0.084	95.119	0.001
Cantidad: X_1	-0.392	0.052	-7.595	0.002
Tiempo: X_2	0.466	0.052	9.050	0.001
$X_1 * X_2$	0.318	0.073	4.355	0.007
X_1^2	-0.260	0.061	-4.231	0.008
X_2^2	-0.302	0.061	-4.924	0.004

El modelado estadístico para los coeficientes de la regresión cuadrática en unidades originales o naturales, fue:

$$Y_3 = 5.851 + 0.026X_1 - 0.005X_1^2 + 0.179X_2 - 0.006X_2^2 + 0.006X_1 \cdot X_2 \text{ (Ecuación 3)}$$

Y_3 : Ceniza (%)

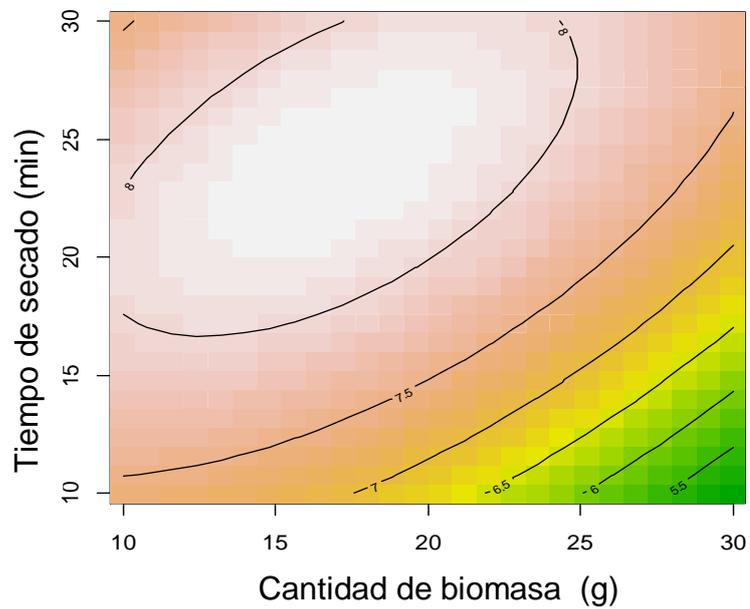
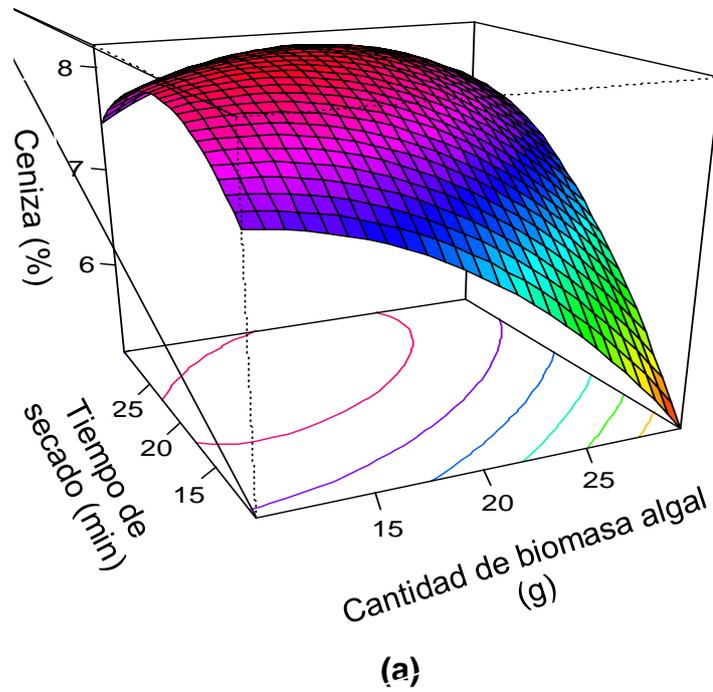
X_1 : Cantidad de biomasa algal (g)

X_2 : Tiempo de secado (min)

El modelo cuadrático, fue usado para generar la superficie de respuesta (Figura 6a), el valor mínimo se muestra en color rojo intenso y superficie de contornos su valor mínimo se muestra en color melón claro (Figura 6b) en el contenido de ceniza (Y_3) de *Spirulina* sp. deshidratada. Ubicándose en la superficie de contornos (Figura 6b) el mejor contenido de ceniza (7.5 a 8%) cuando la cantidad de biomasa algal estuvo en un rango de 13.5 a 24 g y tiempo de secado de 19 a 27 min; pudiéndose afirmar que estas combinaciones son las que logran un mejor secado. Mejía y otros (1985) reportan para *Spirulina* 5.8%, y Ayala y otros (1985) de 7.1% a 14.9%. Mejía y otros (1985) menciona que el límite es de 10%.

Cuadro 19. Respuesta observada y predicha para el contenido de ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada

Variables naturales		Ceniza (%)			
X_1	X_2	Observado	Predicho	Residual	Desvió (%)
12.93	12.93	7.69	7.69	0.00	0.03
27.07	12.93	6.09	6.27	-0.18	2.98
12.93	27.07	8.03	7.98	0.05	0.57
27.07	27.07	7.70	7.84	-0.14	1.80
10.00	20.00	7.98	8.04	-0.06	0.78
30.00	20.00	7.13	6.93	0.20	2.78
20.00	10.00	6.84	6.75	0.10	1.44
20.00	30.00	8.10	8.06	0.04	0.46
20.00	20.00	8.01	8.01	0.01	0.07
20.00	20.00	8.01	8.01	0.00	0.03
20.00	20.00	8.00	8.01	-0.01	0.10



(b)

Figura 6. Superficie de respuesta (a) y de contornos (b) de la relación de cantidad de biomasa algal (X_1) y tiempo de secado (X_2) en el contenido de ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada

4.4. Optimización de las condiciones de operación con humedad de 5% para *Spirulina* sp. deshidratada por ventana refractante

Optimizar al 5% del contenido de humedad de *Spirulina* sp. deshidratada es un aspecto muy importante para garantizar una buena preservación y almacenamiento del producto, evitándose el deterioro y contaminación microbiológica quedando detenidas en su mayoría las reacciones químicas y enzimáticas evitando cambios indeseables durante su almacenamiento. Una descomposición se pronostica si la humedad excede el 10% (By Maarten Van der Heijden y Haan, 2012; Sausal-Perú, 1985). No siendo conveniente una humedad menor al 5%; debido a la utilización de mayores niveles de energía, lo que podría conducir a la destrucción de compuestos sensibles como vitaminas, reacciones de Maillard de los aminoácidos y pigmentos como clorofila y ficocianinas (Ponce y Salas, 2008). De acuerdo con Mejía y otros (1985) en producción a nivel semiindustrial de microalgas se ha reportado niveles promedio de humedad de $3.4 \pm 1.3\%$, en Dortmund (Alemania) reportaron valores de humedad entre 4 a 8%, en Bangkok (Tailandia) $3.6 \pm 1.5\%$, en Mysore (India) entre 5 a 7%, en Japón 3.0% y en Mexico 7.9%. En esta investigación se optimizó las condiciones de operación obteniendo una humedad del 5.09%, el cual se estimó por la superposición de superficies de contornos (Figura 7), la cantidad de biomasa algal de 23.65 g y tiempo de secado de 22.03 min.

Mejía y otros (1985) reportan un valor de 63.9% de proteína para *Spirulina*. Ayala y otros (1985) reportan un valor de 50.0 a 60.1% de proteína; en tanto que Romero (2010) reporta 55 - 70% de proteínas de un importante valor biológico (Cuadro 2) lo que está directamente relacionado con el tipo de aminoácidos esenciales, obtenido en la superposición de superficies de contornos (Figura 7) un 63.16% de proteína, porcentaje que se encuentra dentro lo establecido. Sánchez y otros, 2013 mencionan que la *Spirulina* sp. es el alimento con mayor porcentaje de proteína (63%) que cualquier otro

alimento natural; más que el pescado (22%), soya (34%), leche en polvo (37%), maní (26%), huevo entero seco (47%) entre otros.

La cantidad de ceniza que se obtenga mediante incineración no deberá exceder del 10% (Codex Alimentarius, 2007; Mejía y otros, 1985) reportan para *Spirulina* 5.8% (Mejía y otros, 1985) de 7.1% a 14.9% (Ayala y otros, 1985); encontrándose las muestras de *Spirulina* sp. deshidratada dentro de lo permitido como se puede observar en la Figura 7.

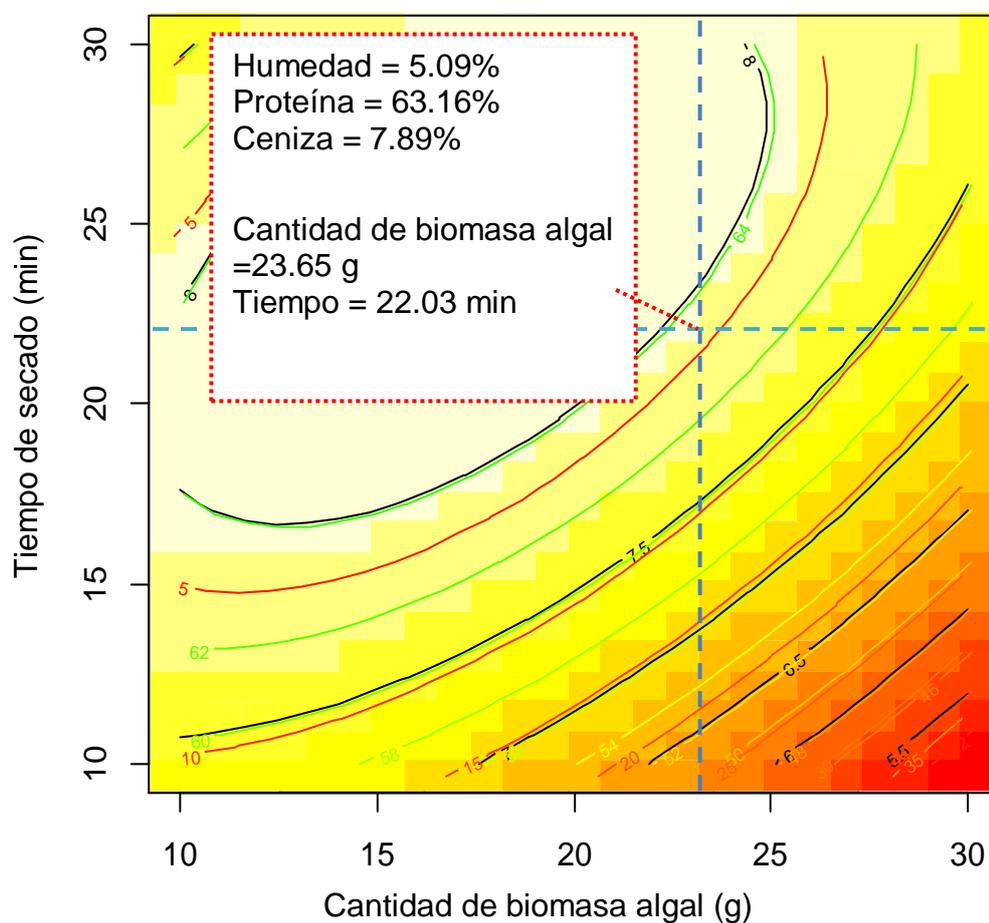


Figura 7. Superposición de superficies de contornos

4.5. Validación para el secado de *Spirulina* sp. por ventana refractante

La gráfica de superposición de superficies de contornos permitió definir las regiones de interés y diseñar el experimento adicional para verificar la zona de mejores condiciones de operación de secado por VR, conservando las mejores características fisicoquímicas durante su almacenamiento. En este sentido se realizó tres (3) repeticiones, para verificar la consistencia del modelo, tanto para el contenido de humedad, proteínas y ceniza (Cuadro 20), en la que se reporta un valor de desvío para el contenido de humedad de 2.58%, proteína 2.98% y de ceniza 6.08%; siendo dicho desvío menor al 10%, por lo que se confirma de manera experimental lo obtenido por el modelo planteado, referido a una cantidad de biomasa algal (23.65 g) y tiempo de secado (22.03 min) de biomasa de *Spirulina* sp.

Cuadro 20. Validación de los resultados experimentales en la región de interés

Respuesta	Predicho	Observado	Desvío (%)
Humedad (%)	5.09	5.22 ±0.03	2.55
Proteína (%)	63.16	61.28 ±0.34	2.44
Ceniza (%)	7.89	7.41 ±0.02	6.97

Desv.<10% excelente, 11<Desv.<20% aceptable, 21<Desv.<30% moderadamente aceptable, Desv.>30% inaceptable

V. CONCLUSIONES

Existió efecto significativo, es decir, el $p < 0.05$ de la cantidad de biomasa algal y tiempo de secado por ventana refractante en el contenido de humedad, proteína y ceniza de *Spirulina* sp. deshidratada.

El modelo cuadrático representó el comportamiento del contenido de humedad, proteína y ceniza con R^2 de 97.41%, 97.86% y 97.45%, respectivamente, de *Spirulina* sp. deshidratada.

Por consiguiente se concluye que a una cantidad de biomasa algal de 23.65 g y un tiempo de secado de 22.03 min por ventana refractante nos permitió optimizar el contenido de humedad (5.09%), contenido de proteína (63.16%) y contenido de ceniza (7.89%) en *Spirulina* sp. deshidratada.

VI. RECOMENDACIONES

Investigar la vida útil de *Spirulina* sp. empleando isotermas de adsorción y junto a ello la digestibilidad proteica.

Investigar la aceptación de la biomasa de *Spirulina* sp. deshidrata en polvo en diferentes productos alimenticios.

VII. BIBLIOGRAFIA

Abonyi, B., Feng, H., Tang, J., Edwards, C., Chew, B., Mattinson, D. y Fellman, J. 2001. Quality retention in strawberry and carrot purees dried with Refractance Window™ system. *Journal of Food Science*, 67(3): 1051–1056.

Abul-Fadl, M. y Ghanem, T. 2011. Effect of Refractance Window (RW) drying method on quality criteria of produced tomato powders as compared to the convection drying method. *World Applied Sciences Journal*, 15(7): 953-965.

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2000. Association of Official Analytical Chemist. Virginia, USA.

Ayala, F., Díaz, M. y Bravo, R. (1985). Microalgae in salt-water media. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol*, 20(3):53-61.

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

Brenan, M. y Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extraction of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 557-577.

By Maarten van der Heijden. y D. de Haan, S. F. 2012. Optimización de la Humedad del Alimento Manteniendo su Calidad. *Medellín*, 24: 93–154.

Bustamante, J. 2011. Elaboración de una barra energética con cereales como: avena, cebada y trigo, adicionando *Spirulina* y ciruela pasa. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. Universidad Tecnológica Equinoccial. Sambrano Food, 2(1): 35-42.

Cadwallader, K., Moore, J., Zhang, Z. y Schmidt, S. 2010. Flavor Encapsulation and Flavor Release. Comparison of spray drying and Refractance Window™ drying technologies for the encapsulation of orange oil.

Camacho-Morales, S. 2016. Producción de *spirulina*: aislamiento, optimización de cultivo y secado. Preservación *Arthrospira (spirulina)*. Repositorio Institucional del ITESO. Jalisco, México, 5(1): 89-105.

Cárdenas, J., Díaz, M. y Vizcaíno, M. 2012. Industrialización del alga *Spirulina*. Universidad del Valle Cali. Colombia, 4(1): 25-38.

Carvalho, A., Silva, S., Baptista, J. y Malcata, F. 2011. Light requirements in microalgae photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. Appl Microbiol Biotechnol, 89:1275-1288.

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

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

CODEX ALIMENTARIUS. (2007). Cereales, legumbres, leguminosas y productos proteínicos vegetales. Primera edición. Roma, Italia, 102 – 105.

CODEX STAN 207-1999. Norma del CODEX para las leches en polvo y nata (crema) en polvo.

Cohen, Z. 2010. The chemicals of *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell-biology and biotechnology. Londres, RU, 2:175-203.

Dreckmann, K., Sentíes, A. y Núñez, M. 2013. Biología de Algas. Revista: Facultad de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa, México.

Díaz, M., Semprun, A. y Gualtieri, M. 2011. Producción de proteína unicelular a partir de desecho de vinaza. Revista de la Facultad de Farmacia. Departamento de Ingeniería Química. Universidad Nacional Experimental Politécnica. Venezuela, 45(2): 87-95.

Downham, A. y Collins, P. 2000. Coloring our foods in the last and next millennium. Int. J. Food Sci. Technol, 35:5-22.

Fundación R. 2017. What is R, introduction to R. Estados Unidos de Norteamérica. Recuperado de: <https://www.r-project.org/foundation/>

García, M., Cortez, M. y Rodríguez, E. 2013. Evaluación del Secado de Perejil Aplicando Técnicas de Deshidratación Osmótica Como Pretratamiento. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín, 63: 5693–5705.

Gamarra, N. 2016. Optimización de la cinética de crecimiento de *Candida utilis* y evaluación de la calidad nutricional de la biomasa deshidratada por ventana refractante. Universidad Nacional De Trujillo. Trujillo, Perú, 25-83.

Gamboa, D., Ibáñez, D., Meléndez, M., Paredes, E. y Siche, R. 2014. Secado de lúcumo (*Pouteria obovata*) empleando la técnica de Ventana Refractante. Scientia Agropecuaria. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú, 5: 103-108.

Gutiérrez, H. y de la Vara, R. 2008. Análisis y diseño de experimentos. 2^{da} Edición. Editorial Mc Graw Hill Educación. México, D.F.

Gutiérrez, H. y de la Vara, R. 2009. Control estadístico de la calidad y seis sigma. 2^{da} Edición. Editorial Mc Graw Hill Educación. México, D.F.

Habib, M., Parvin, M., Huntington, T. y Hasan, M. 2008. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular. Rome.

Hug, C. y Von der Weid, D. 2011. *Spirulina* in the fight against malnutrition. Assessment and prospects. Antenna Research for progress.

Jensen, S., Attridge, V., Beaman, J. y Benson, K. 2015. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of an Aqueous Cyanophyta Extract Derived from *Arthrospira Platensis*: Contribution to Bioactivities by the Non-Phycocyanin Aqueous Fraction. Journal of medicinal food.

Kaspar, K., Park, J., Mathison, B., Brown, C., Massimino, S. y Chew, P. 2012. Processing of pigmented-flesh potatoes (*Solanum tuberosum L.*) on the retention of bioactive compounds. International Journal of Food Science and Technology, 47: 376–382.

Kebede, E. y Ahlgren, G. 1996. Optimum growth conditions and light utilization efficiency of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) (*Cyanophyta*) from Lake Chitu, Ethiopia. Hydrobiologia, 32(2): 99-109.

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

Liang, S., Liu, X., Chen, F. y Chen, Z. 2004. Hidrobiología, 512: 45-48.

Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. 2003. Biología de los microorganismos. Southern Illinois University Carbondate: Pearson, Prentice Hall.

Marquez, C., Otero, C. y Cortés, M. 2007. Cambios fisiológicos, texturales, fisicoquímicos y micro-estructurales del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en poscosecha, 14(2): 9-16

Marín-Prida, J., Llopiz-Arzuaga, A., Pavón, N., Pentón-Rol, G. y Pardo-Andreu G. 2015. Aplicaciones de la C-Ficocianina: Métodos de obtención y propiedades farmacológicas. Revista de ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, 1(1):29-43.

Mejía, E., Merino, F., Moya, R. y Heussler, P. 1985. Quality of *Scenedesmus* poder produced at Sausal (Peru) and some factors affecting it. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol, 20:181-189.

Miranelly, A. 2010. Mass culture of Spirulina outdoors: *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell-biology and biotechnology. London, England, 131-158.

Montgomery, D. 2011. Diseño y análisis de experimentos (2^{da} ed.). Limusa. México.

Morales, P. y Vélez-Ruiz, J. 2014. Deshidratación de frutas y hortalizas por Ventana Refractiva. Editorial Reciteia, 13: 69–75.

Muniz, L., Silva, A., Garcez, C., Silva, R. y Almeida, L. 2011. Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Spirulina platensis*. African Journal of Food Science, 5(15): 799-805.

Nayak, B., Berrios, J., Powers, J., Tang, J. y Ji, Y. 2011. Colored potatoes (*Solanum tuberosum* L.) dried for antioxidant-rich valueadded foods. Journal of Food Processing and Preservation, 35: 571-580.

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

Nindo, C., Tang, J., Cakir, E. y Powers, J. 2006. Potential of Refractance Window Technology for Value Added Processing of Fruits and Vegetables in Developing Countries. ASABE Annual International Meeting Sponsored. Portland, Oregon.

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

NMX-F-330-S-1979. Huevo entero deshidratado o en polvo. Dehydrated or powdered whole egg. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

Nutan, R., Khandual, S., Gutierrez-Mora, A., Gallardo-Valdéz, J., Rodríguez-Garay, B., Ibarra-Montoya, J. y Vega-Valero, G. 2013. Isolation, Identification and germplasm preservation of different native *Spirulina* species from Western Mexico. American Journal of Plant Sciences, 1(4): 65-71.

Ochoa-Martínez, C., Quintero, P., Ayala, A. y Ortiz, M. 2012. Drying characteristics of mango slices using the Refractance Window™ technique. Journal of Food Engineering, 109: 69-75.

Oliveira, E., Rosa, G., Moraes, M. y Pinto, L. 2009. Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. Bioresource Technology. School of Chemistry and Food. Federal University of Rio Grande. Rio Grande, Brazil, 1297-1303.

Pedrosa-Bezerra, R., Chuei-Matsudo, M., Sato, S., Perego, P., Converti, A. y Monteiro de Carvalho, J. 2012. Effects of photobioreactor configuration, nitrogen source and light intensity on the fed-batch cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. Bioenergetic aspects. Biomass and Bioenergy, 37: 309-317.

Ponce, C. y Salas, E. 2008. Design of Neuronal Network to Control *Spirulina* Aquaculture ICINCO-ICSO, 1(4):289-292.

Ramírez-Moreno, L. y Olvera-Ramírez, R. 2009. Uso tradicional y actual de la *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). Interciencia, 31(9): 657-663.

Rattii, C. 2008. Hot air and freeze-drying of high-value foods-A review. Journal of Food Engineering, 49:311–319.

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

Romero, J. 2010. Utilización de subproductos industriales: Melaza de caña y suero de leche como sustratos alternativos para el cultivo de *Spirulina*. Licenciatura en Sicoanálisis. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.

Salamanca, G., Martínez, P. y Osorio, M. 2009. Efecto de la temperatura y condiciones de entorno en la estabilidad cromática del puré de aguacate (*Persea americana* var. Choquette). III Congreso Latinoamericano de Aguacate. Medellín.

Sánchez, M., Bernal, J., Rozo, C. y Rodríguez, I. 2003. *Spirulina* (*Arthrospira*): An edible microorganism: A review. Universitas Scientiarum, 8(1): 11-12.

Sasson, A. 2009. Cultivation of *Spirulina*. En Microalgal biotechnologies: recent developments and prospects for developing countries. Algal Biotechnol. Phuket, Tailandia, 11-31.

Sierra, I., Morante, S. y Pérez, D. 2007. Experimentación en química analítica. Madrid. Dykinson, 540 - 598.

Show, K., Lee, D. y Chang, J. 2013. Algal biomass dehydration. *Bioresource Technology*, 720-729.

Tarko, T. 2012. Influence of Growth Medium Composition on Synthesis of Bioactive Compounds and Antioxidant Properties of Selected Strains of *Arthrospira Cyanobacteria*. *Czech Journal Food Science*, (30): 258–267.

Topuz, A., Dincer, C., Özdemir, K., Feng, H. y Kushad, M. 2011. Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika. *Food Chemistry*, 129: 860–865.

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

Vazquez-Sanchez, J., Ramon-Gallegos, E., Mojica-Villegas, A., Madrigal-Bujaidar, E., Perez, P. y Chamorro-Cevallos, G. 2009. *Spirulina* sp. and its protein extract protect against hydroxyurea-teratogenic insult in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 47 (2): 2785-2789.

Vasquez-Villalobos, V., Vergaray, D., Mendez, J., Barrios, I., Baquedano, R., Caldas, C., Cruz, J., Gamboa, J. y Rivera, I. 2017. Efecto de la intensidad de diodos electroluminosos y fotoperiodo en la optimización de la producción de biomasa de *Spirulina* (*Arthrospira*). *Scientia Agropecuaria*, 8(1): 43 – 55.

Zambrano, C. 2005. Producción de biomasa y contenido de ácidos grasos en *Spirulina* bajo diferentes concentraciones de fosforo reactivo soluble (FRS) y fotoperiodo. Tesis Maestría. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, 52-57.

Wen-Qing, S., Si-Dong, L., Gao-Rong, L., Wen-Hua, W., Qing-Xiang, C., Yong-Qiang, L. y Xu-Wei, L. 2016. Investigation of main factors affecting

the growth rate of *Spirulina*. *Optik – International Journal for Light and Electron Optics*, 127(16): 6688-6694.

Zarrouk, C. 1966. Contribution a l'étude d'une cyanobactérie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler. University of Paris, France.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Determinación de humedad por el método gravimétrico indirecto por desecación

Se colocaron 2 g de *Spirulina* sp. deshidratada por VR en una placa petri y se introdujeron en la estufa a 105 °C por 5 h hasta peso constante. Para calcular el contenido de humedad se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(B - A) - (C - A)}{B - A} \times 100$$

Donde:

A = Peso de la luna de reloj a peso constante (g)

B = Peso de la luna de reloj a peso constante con muestra (g)

C = Peso del vidrio de reloj con muestra seca (g)

Anexo 2. Determinación de ceniza por el método gravimétrico

Se pesó 2.5 g de *Spirulina* sp. deshidratada por VR y se introdujeron a la mufla a una temperatura de 550 °C por 3.5 h, hasta obtener ceniza blanca. Para calcular el contenido de ceniza se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ ceniza} = \frac{(A - B)}{C} \times 100$$

Donde:

A = Peso de crisol a peso constante con muestra seca (g)

B = Peso de crisol con ceniza (g)

C = Peso de muestra seca (g)

Anexo 3. Modelo Matemático de Gompertz

Alternativamente se planteó el modelo corregido de Gompertz, de acuerdo a:

$$YA = \varnothing * \exp[-\exp(b - c * t)]$$

Dónde $YA = \log(N_{(t)}/N_0)$: recuento microbiano al tiempo t [células/mL]; N_0 : recuento inicial en el tiempo inicial [células/mL]; \varnothing : valor máximo de la biomasa; b y c : parámetros del modelo; t : tiempo [h]; λ (tiempo de latencia) = $(B-1)/M$ [h]; $\mu_{(max)}$ (velocidad específica de crecimiento) = $\varnothing * c$ [h⁻¹]; G (tiempo de generación) = $\ln(2)/\mu_{(max)}$ [h].

En la Figura A se muestra los parámetros de la cinética de crecimiento, modelados con la ecuación de Gompertz.

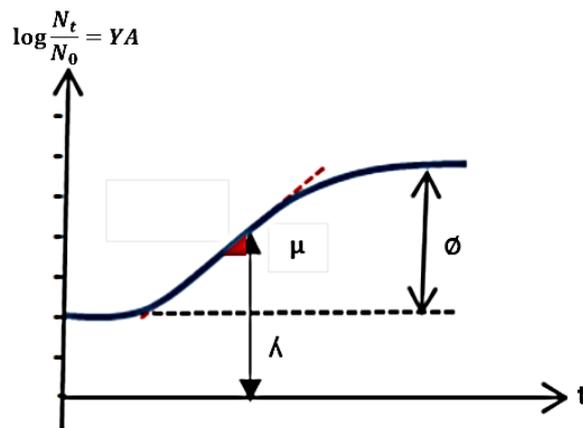


Figura A: Parámetros de la cinética de crecimiento, modelados con la ecuación de Gompertz

En el Cuadro S se muestra los parámetros de la cinética de crecimiento de la *Spirulina* sp. en FB-BCAA con $8,3\pm 1,9$ klux de intensidad lumínica, modelados con la ecuación de Gompertz (Figura B).

Cuadro S. Parámetros de la cinética de crecimiento de *Spirulina* sp. en FB-BCAA

Parámetros	Fotoperiodo 12/12 h L/O
Producción de biomasa (ϕ) (N/N_0)	0.72
Fase de adaptación (λ) h	4.62
Velocidad específica de crecimiento (μ_{max}) h^{-1}	0.033
Tiempo de generación (G) h	20.81

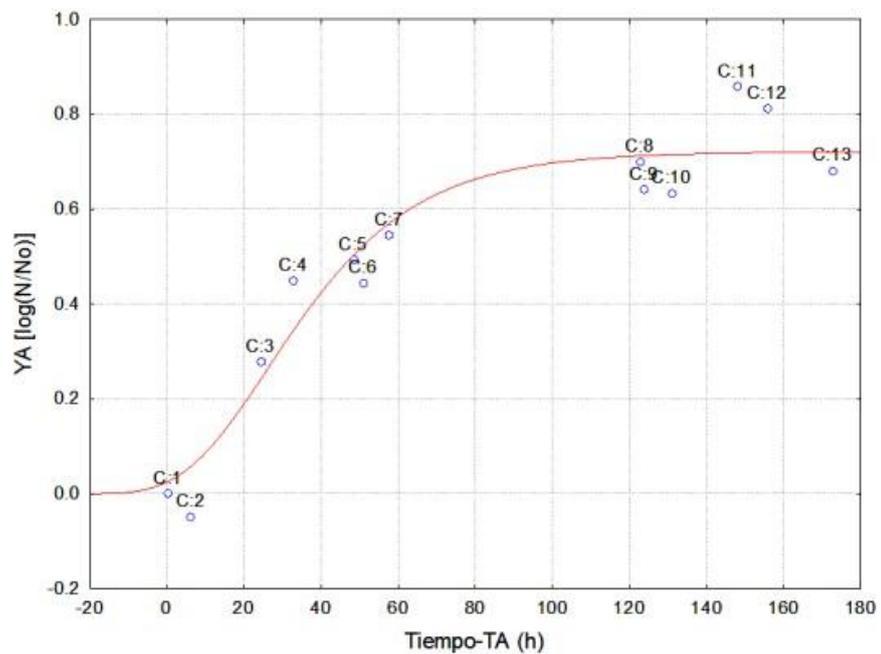


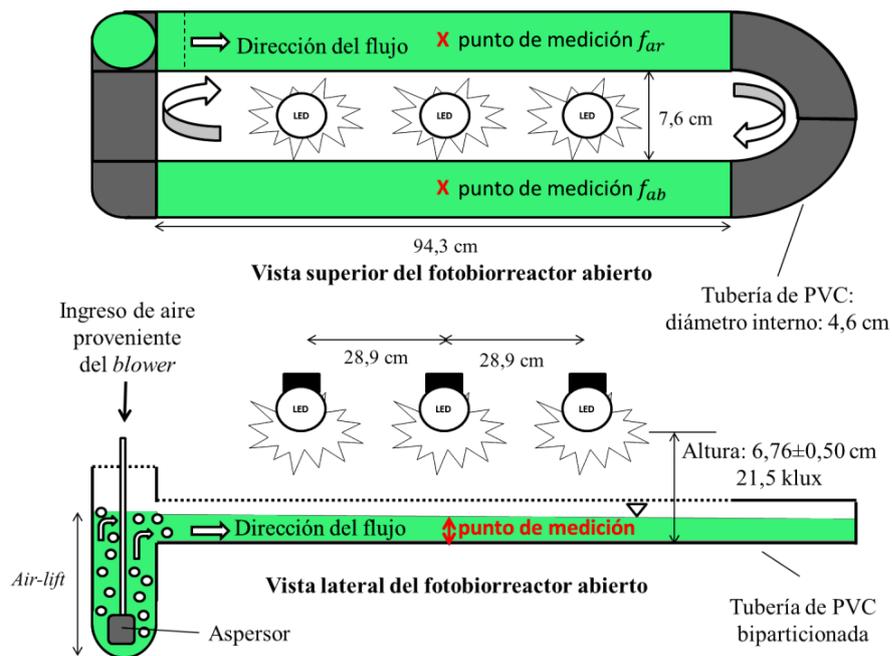
Figura B. Cinética de crecimiento de *Spirulina* sp. con $8,3\pm 1,9$ klux en FB-BCAA en fotoperiodo 12/12 h L/O

Anexo 4. Vistas fotográficas del desarrollo experimental**(a)****(b)**

Figura C. Cultivo del inóculo de *Spirulina* sp. en fotobiorreactor de laboratorio (a) Laboratorio de ingeniería de Alimentos de la Escuela Profesional de ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego (b) Laboratorio de Biomoléculas de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Trujillo



(a)



(b)

Figura D. Cultivo de *Spirulina* sp. en fotobiorreactor de canal de bucle cerrado-abierto a la atmosfera en el (a) Laboratorio de ingeniería de Alimentos de la Escuela Profesional de ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego. (b) Vista lateral y superior del (FB-BCAA) indicando la posición de los LED, ingreso de aire y puntos de medición



Figura E. Medición de pH y temperatura del cultivo de *Spirulina* sp.



Figura F. Recuento microscópico con cámara Neubauer de la *Spirulina* sp.



Figura G. obtención de la biomasa de *Spirulina* sp. por filtración al vacío

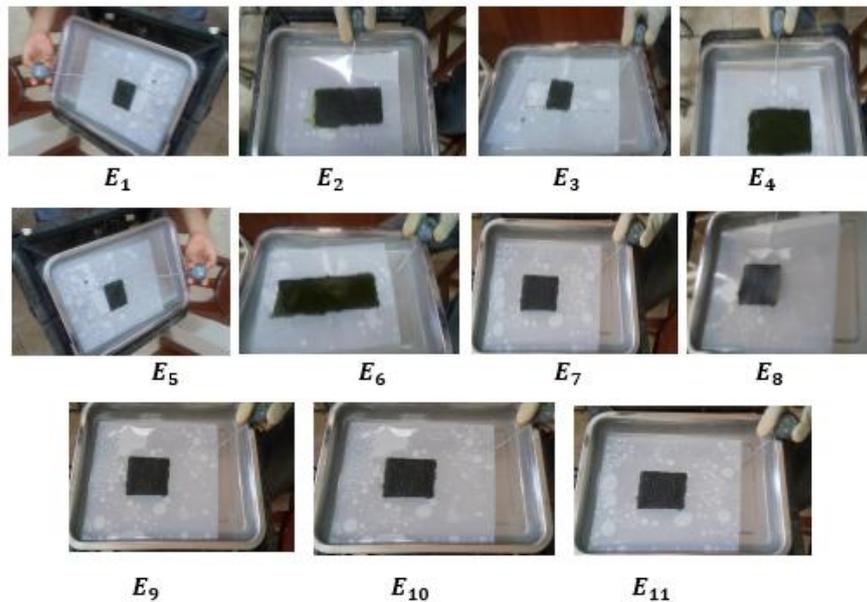


Figura H. Secado por ventana refractante de los 11 ensayos de la *Spirulina* sp.

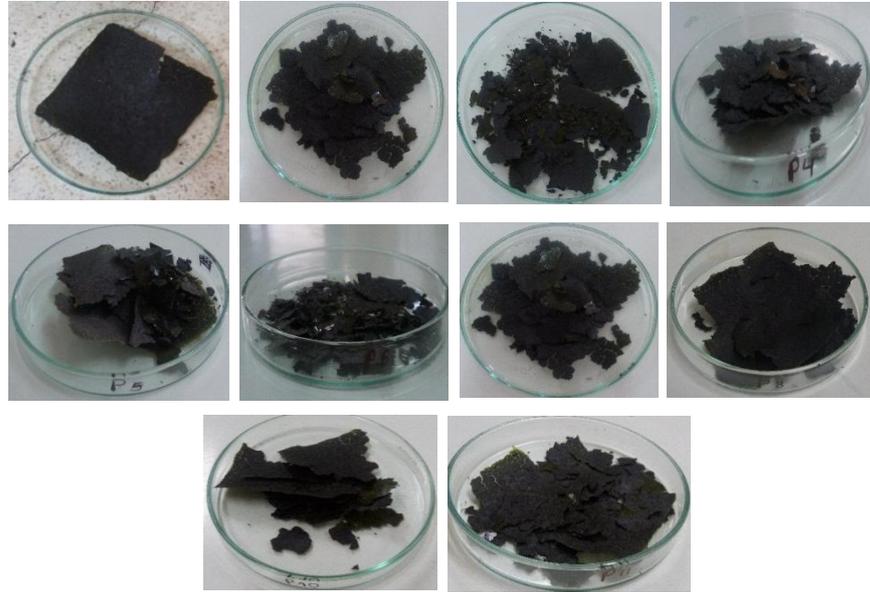


Figura I. *Spirulina* sp. deshidrata por ventana refractante