

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**  
**Facultad de Ciencias Agropecuarias**  
**Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera**

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO EN LA  
DISPONIBILIDAD DE S.O.D. EN ESPIRULINA  
(*Arthrospira platensis*) CULTIVADA  
EN LABORATORIO**

**TESIS**

**Presentada por:**

**Bach. EDITH JAQUELINE CHAMBILLA MAMANI**

**Para optar el Título Profesional de:  
INGENIERO PESQUERO**

**TACNA – PERÚ**

**2026**

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera

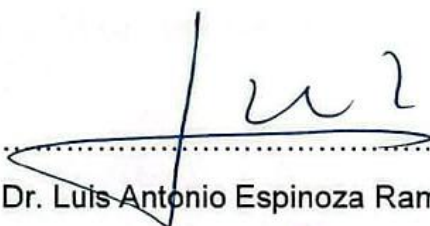
TESIS

“EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO EN LA  
DISPONIBILIDAD DE S.O.D. EN ESPIRULINA (*Arthrospira  
platensis*) CULTIVADA EN LABORATORIO”

Tesis sustentada y aprobada el 28 de marzo del 2025 estando el jurado  
calificador y asesor integrado por:

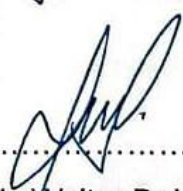
Presidente

:

  
.....  
Dr. Luis Antonio Espinoza Ramos

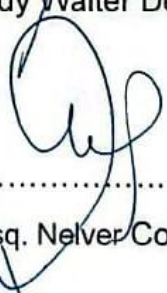
Secretario

:

  
.....  
Dr. Freddy Walter Delgado Cabrera

Vocal

:

  
.....  
Blgo. Pesq. Nélver Coronel Flores

Asesor

:

  
.....  
Dr. Julio César Isique Calderón

### CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Julio César Isique Calderón, en mi condición de ASESOR(A) acredito con Resolución de Facultad y/o Posgrado N°6184-2020-FCAG del 28 de setiembre del 2020, del trabajo de Tesis (Trabajo Informe; Trabajo académico, Trabajo de Suficiencia Profesional, Examen Profesional) titulado: "EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO EN LA DISPONIBILIDAD DE S.O.D. EN ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*) CULTIVADA EN LABORATORIO"; presentado por el (la) Bachiller Edith Jaqueline Chambilla Mamani, para optar el título profesional de Ingeniero Pesquero.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento original que, según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual TURNITIN, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 12% por lo que CERTIFICO LA SIMILARIDAD de la tesis y/o trabajo enunciado líneas arriba, la cual está expedita para continuar con los trámites para optar el Título profesional de Ingeniero Pesquero, según corresponda para su publicación en el Repositorio Institucional.

Tacna, 28 de noviembre del 2025

  
FIRMA DEL ASESOR

Dr. Julio César Isique Calderón

DNI: 00491790



  
FIRMA AUTOR

Bach. Edith Jaqueline Chambilla Mamani

DNI: 46770299



## **DEDICATORIA**

A mi madre, a la mujer que con su entereza me enseñó lo que es vivir, que con su amor y consejo me dio el impulso para salir adelante. A ella que supo ser madre y amiga, aunque hubo momentos difíciles, siempre conté con su apoyo incondicional. Gracias a ti hoy veo convertirse en realidad una de mis metas, meta que sin ti no lo hubiera logrado, fuiste mi principal fuente de apoyo, mi aliento cuando desmayaba y pensar que no lo lograría. Nunca podré pagar todo tu sacrificio ¡Gracias madre mía!

A mi hijo, que es una de las personas más importantes en mi vida, motor y motivo de lucha diaria, quien ha sido mi mayor inspiración para nunca rendirme a pesar de las mil adversidades y poder llegar a ser un ejemplo para él. Que este logro sirva de herramienta para poder guiar cada uno de tus pasos.

A mi papá por su ejemplo de perseverancia, constancia y valentía, que me ha inculcado “jamás debemos rendirnos, luchar hasta el final, si caemos tenemos que levantarnos” tus palabras están grabadas en mi mente y siempre las repito cada vez que quiero rendirme. Gracias por tu paciencia y apoyo, mil gracias por tu comprensión en todo este tiempo.

## **AGRADECIMIENTO**

A ti señor, mi Dios, por ser el camino, la verdad y la vida. Por regalarme tu bendición en este largo viaje, soportando todas las adversidades y contigo lo he logrado. Gracias por tu luz y por tu amor.

Mi agradecimiento al Dr. Julio Cesar Isique Calderón asesor del presente trabajo de investigación, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento, así como también por haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante el desarrollo de la tesis.

Un agradecimiento especial a la Blga Julissa Naquiche Calero y al Blgo Heber Ramirez por su generosidad y paciencia al compartir su conocimiento, que fue fundamental para el desarrollo de la parte metodológica de esta tesis.

A la Escuela de Ingeniería Pesquera y a mis profesores por la formación académica profesional que me brindaron en estos años de estudio haciéndome Ingeniero Pesquero.

Al VIIN, e ININ quienes gestionaron y apoyaron esta tesis de investigación con Fondos canon, sobre canon y regalías mineras ; Resolución: N° 8782 - 2021 - UNJBG, cuya ayuda financiera, logística contribuyó a los logros buscados.

## INDICE GENERAL

|                                                |           |
|------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                            | <b>1</b>  |
| <b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>  | <b>3</b>  |
| 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA   | 3         |
| 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA                  | 5         |
| 1.2.1. Interrogante general                    | 5         |
| 1.2.2. Interrogantes secundarias               | 5         |
| 1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA               | 6         |
| 1.4. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS                  | 9         |
| 1.4.1. Objetivo general                        | 9         |
| 1.4.2. Objetivos específicos                   | 9         |
| 1.5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS                  | 9         |
| 1.5.1. Hipótesis general                       | 9         |
| 1.5.2. Hipótesis específica                    | 9         |
| <b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>              | <b>11</b> |
| 2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO                  | 11        |
| 2.1.1. Antecedentes Internacionales            | 11        |
| 2.1.2. Antecedentes Nacionales                 | 14        |
| 2.2. BASES TEÓRICAS                            | 16        |
| 2.2.1. Cianobacterias                          | 16        |
| 2.2.1.1. Espirulina                            | 17        |
| 2.2.1.2. Clasificación Taxonómica              | 19        |
| 2.2.1.3. Morfología y crecimiento              | 19        |
| 2.2.1.4. Requerimientos para su cultivo        | 20        |
| 2.2.1.5. Composición química y características | 21        |
| 2.2.1.6. Usos generales                        | 23        |

|                      |                                                 |           |
|----------------------|-------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.2.               | Secado                                          | 23        |
| 2.2.3.               | La enzima Superóxido Dismutasa (SOD)            | 26        |
| 2.3.                 | DEFINICIÓN DE TÉRMINOS                          | 32        |
| 2.3.1.               | Espirulina                                      | 32        |
| 2.3.2.               | Secado                                          | 32        |
| 2.3.3.               | Enzimas Oxidoreductoras                         | 33        |
| 2.3.4.               | Actividad Enzimática                            | 33        |
| 2.3.5.               | Actividad Enzimática Específica                 | 34        |
| 2.3.6.               | Rendimiento de la extracción de SOD             | 34        |
| 2.3.7.               | Superoxido Dismutasa (SOD)                      | 34        |
| <b>CAPÍTULO III:</b> | <b>MARCO METODOLÓGICO</b>                       | <b>36</b> |
| 3.1.                 | LUGAR DE EJECUCIÓN                              | 36        |
| 3.2.                 | TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN           | 36        |
| 3.3.                 | OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES                 | 37        |
| 3.3.1.               | Variable independiente                          | 37        |
| 3.3.2.               | Variable dependiente                            | 37        |
| 3.4.                 | POBLACIÓN Y MUESTRA                             | 38        |
| 3.4.1.               | Población                                       | 38        |
| 3.4.2.               | Muestra                                         | 38        |
| 3.5.                 | EQUIPOS E INSTRUMENTOS                          | 39        |
| 3.5.1.               | Instrumentos de laboratorio                     | 39        |
| 3.5.2.               | Equipos acondicionamiento de cepario            | 39        |
| 3.5.3.               | Equipos y materiales para el secado             | 40        |
| 3.5.4.               | Equipos de análisis enzimático                  | 40        |
| 3.6.                 | METODOLOGÍA                                     | 40        |
| 3.6.1.               | Implementación y conducción del experimento     | 40        |
| 3.6.2.               | Proceso de cultivo                              | 43        |
| 3.6.3.               | Secado y obtención de extracto crudo enzimático | 44        |

|                                   |                                                                                                             |           |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.6.4.                            | Determinación de actividad enzimática SOD                                                                   | 45        |
| 3.6.6.                            | Efecto de la temperatura de secado sobre la disponibilidad de SOD                                           | 51        |
| 3.7.                              | TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS                                                            | 51        |
| 3.8.                              | MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.                                                | 51        |
| <b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b>    |                                                                                                             | <b>52</b> |
| 4.1.                              | Secado de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> )                                                       | 52        |
| 4.2.                              | Obtención del extracto crudo                                                                                | 55        |
| 4.3.                              | Efecto de la temperatura de secado sobre la disponibilidad SOD                                              | 55        |
| 4.4.                              | Comparación con una muestra comercial                                                                       | 57        |
| 4.5.                              | Análisis proximal de la espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) deshidratada, cultivada en laboratorio. | 59        |
| <b>CAPITULO V: DISCUSIÓN</b>      |                                                                                                             | <b>61</b> |
| <b>CONCLUSIONES</b>               |                                                                                                             | <b>64</b> |
| <b>RECOMENDACIONES</b>            |                                                                                                             | <b>66</b> |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> |                                                                                                             | <b>67</b> |
| <b>ANEXOS</b>                     |                                                                                                             | <b>74</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> Clasificación de la espirulina                                                  | 19 |
| <b>Tabla 2.</b> Propiedades físicas de la espirulina                                            | 22 |
| <b>Tabla 3.</b> Operacionalización de variables                                                 | 38 |
| <b>Tabla 4.</b> Preparación de la solución de trabajo WST para 1 y 30 reacciones.               | 46 |
| <b>Tabla 5.</b> Preparación de solución de Xantina oxidasa, por 1 y 30 posillos.                | 46 |
| <b>Tabla 6.</b> Preparación de la solución de trabajo SOD                                       | 47 |
| <b>Tabla 7.</b> Preparación de reactivos Lowry 2x en relación 3:1:1                             | 49 |
| <b>Tabla 8.</b> Preparación de la curva de calibración de BSA para cuantificación de proteínas. | 50 |
| <b>Tabla 9.</b> Datos de tiempo y peso para secado de espirulina a 30°C.                        | 52 |
| <b>Tabla 10.</b> Datos de tiempo y peso para secado de espirulina a 40°C.                       | 53 |
| <b>Tabla 11.</b> Datos de tiempo y peso para secado de espirulina a 50°C.                       | 53 |
| <b>Tabla 12.</b> Actividad enzimática de los extraídos enzimáticos de la espirulina.            | 55 |
| <b>Tabla 13.</b> Actividad de SOD como datos de entrada para ANOVA.                             | 56 |
| <b>Tabla 14.</b> Análisis de varianza de la media actividad SOD de los tratamientos de secado.  | 56 |
| <b>Tabla 15.</b> Grupos homogéneos del promedio de temperaturas de secado de la espirulina.     | 56 |
| <b>Tabla 16.</b> Rendimiento de la SOD por biomasa de espirulina.                               | 58 |
| <b>Tabla 17.</b> Análisis Próximo de la espirulina <i>Arthrospira platensis</i> .               | 59 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Cianobacterias filamentosas fijadora de nitrógeno.                                                         | 17 |
| <b>Figura 2.</b> Ciclo de vida de <i>Arthrospira platensis</i>                                                              | 20 |
| <b>Figura 3.</b> Propiedades físicas y composición bromatológica                                                            | 22 |
| <b>Figura 4.</b> Configuración típica de un secador de horno.                                                               | 24 |
| <b>Figura 5.</b> Arreglo Típico de un secador de Bandejas.                                                                  | 25 |
| <b>Figura 6.</b> Atomizador rotativa                                                                                        | 26 |
| <b>Figura 7.</b> Localización intracelular de la SOD de células.                                                            | 31 |
| <b>Figura 8.</b> Esquema de la distribución de la SODs en los diferentes tipos de organismos.                               | 32 |
| <b>Figura 9.</b> Adaptación e instalación de equipos en el Laboratorio de Control de Calidad para el cultivo de espirulina. | 41 |
| <b>Figura 10.</b> Cultivo de espirulina en Biorreactor de 50L de capacidad.                                                 | 41 |
| <b>Figura 11.</b> Secador de bandejas, controlado por computador.                                                           | 42 |
| <b>Figura 12.</b> Laboratorio de Investigación Biotecnología Enzimática.                                                    | 42 |
| <b>Figura 13.</b> Curva de secado para los tratamientos según peso y tiempo.                                                | 54 |
| <b>Figura 14.</b> Temperatura vs. tiempo de secado de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).                          | 54 |
| <b>Figura 15.</b> Diagrama de caja para la actividad enzimática de SOD agrupada por tratamientos                            | 58 |

## INDICE DE ANEXOS

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Anexo 1.</b> Matriz de consistencia.                                                                        | 74 |
| <b>Anexo 2.</b> Diagrama de flujo del cultivo de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).                  | 75 |
| <b>Anexo 3.</b> Diagrama de flujo del secado y obtención de SOD en espirulina ( <i>Athrospira platensis</i> ). | 76 |
| <b>Anexo 4.</b> Certificado de Análisis Próximo de la espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).             | 77 |
| <b>Anexo 5.</b> Evidencia fotográfica de cepa de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).                  | 79 |
| <b>Anexo 6.</b> Instalación y adaptación en el laboratorio de control de calidad ESIP.                         | 80 |
| <b>Anexo 7.</b> Preparación de biorreactores para cultivo.                                                     | 83 |
| <b>Anexo 8.</b> Nutrientes ya preparados para agregar medio de crecimiento.                                    | 83 |
| <b>Anexo 9.</b> Cuadro de preparación de alimento, crecimiento y cosecha.                                      | 84 |
| <b>Anexo 10.</b> Preparación de medio de crecimiento en función al volumen.                                    | 84 |
| <b>Anexo 11.</b> Cultivo de la microalga espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).                          | 85 |
| <b>Anexo 12.</b> Evidencias fotográficas del secado.                                                           | 86 |
| <b>Anexo 13.</b> Cuadro lectura de curva de calibración de proteínas a 750nm.                                  | 87 |
| <b>Anexo 14.</b> Gráfica de curva de calibración de proteínas.                                                 | 87 |
| <b>Anexo 15.</b> Cuadro de lectura de curva de calibración de SOD a 450nm.                                     | 88 |
| <b>Anexo 16.</b> Gráfica de curva de calibración de SOD                                                        | 88 |
| <b>Anexo 17.</b> Volúmenes de reacción para muestra, estándar y blancos SOD.                                   | 89 |
| <b>Anexo 18.</b> Volúmenes para determinar la curva estándar SOD.                                              | 89 |
| <b>Anexo 19.</b> Empaque de espirulina comercial de INTIPACHA de la marca Qori willka.                         | 90 |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Anexo 20.</b> Empaque de espirulina comercial de “Spirulina organica – BioEsencial” | 90 |
| <b>Anexo 21.</b> Certificado de Analisis de Cepa utilizada en el cultivo               | 91 |
| <b>Anexo 22.</b> Constancia de Análisis de actividad enzimática SOD                    | 93 |

## RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la temperatura de secado en la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en espirulina (*Arthrospira platensis*), utilizando muestras deshidratadas a temperaturas de 30°C, 40°C y 50°C. Cada tratamiento incluyó 3 réplicas, y la humedad final de las muestras fue del 7,5%. La actividad enzimática de SOD se midió en U/mL utilizando un kit comercial de Sigma-Aldrich, y el rendimiento de SOD se determinó en U/g. También se cuantificaron las proteínas totales mediante el método de Lowry. Los resultados se analizaron con un diseño completamente al azar (DCA) y una significancia del 5%. Los tratamientos mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), destacando que el secado a 30°C conservó la mayor actividad de SOD con 37,21 U/mL, mientras que a 50°C se redujo a 8,04 U/mL. Los tiempos de secado fueron de 16 horas para 30°C y 11 horas para 50°C. El análisis proximal de la espirulina reveló un contenido de proteínas de 50,8 g/100 g, carbohidratos de 35,5 g/100 g y lípidos de 0,4 g/100 g. Comparado con muestras comerciales como Qori Willka y Spirulina Orgánica. Los resultados finales indican que la temperatura de secado influye significativamente en la conservación de la actividad SOD, siendo el secado a 30°C el más efectivo para mantener una mayor disponibilidad de la enzima. Además, las diferencias en la composición nutricional sugieren que cada fuente de espirulina puede ofrecer beneficios específicos según el tipo de consumo o suplemento requerido.

**Palabras claves:** temperatura de secado, espirulina, superóxido dismutasa disponible.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of drying temperature on the availability of the superoxide dismutase (SOD) enzyme in spirulina (*Arthrospira platensis*) using samples dehydrated at temperatures of 30°C, 40°C, and 50°C. Each treatment included 3 replicates, and the final moisture content of the samples was 7,5%. SOD enzyme activity was measured in U/mL using a commercial kit from Sigma-Aldrich, and SOD yield was determined in U/g. Total proteins were also quantified using the Lowry method. Results were analyzed using a completely randomized design (CRD) with a significance level of 5%. Treatments showed significant differences ( $p < 0,05$ ), highlighting that drying at 30°C (T1) retained the highest SOD activity with 37,21 U/mL, while at 50°C (T3) it was reduced to 8,04 U/mL. Drying times were 16 hours at 30°C and 11 hours at 50°C. Proximate analysis of the spirulina revealed a protein content of 50,8 g/100 g, carbohydrates of 35,5 g/100 g, and lipids of 0,4 g/100 g. Compared with commercial samples such as Qori Willka and Organic Spirulina, the research sample had a lower protein content, but more carbohydrates and fewer lipids. The results indicate that drying temperature significantly influences the preservation of SOD activity, with drying at 30°C being the most effective at maintaining greater enzyme availability. Furthermore, differences in nutritional composition suggest that each spirulina source may offer specific benefits depending on the type of consumption or supplementation required.

**Keywords:** drying temperature, spirulina, available superoxide dismutase.

## INTRODUCCIÓN

La espirulina (*Arthrospira platensis*) ha ganado popularidad en los últimos años, debido a sus notables propiedades nutricionales y su alto potencial en varios sectores industriales (Ughetti et al., 2024). Estas cianobacterias son microorganismos que producen oxígeno por fotosíntesis y contienen moléculas con capacidad antioxidante (Uribe, 2016). La espirulina es una microalga que se cultiva industrialmente en varios lugares del mundo debido a su excepcional composición nutricional. En el año 2000 se estimó que la producción mundial de espirulina llegaba a las 2 000 toneladas por año, en la actualidad a nivel mundial existen 500 plantaciones que producen 6 000 toneladas de espirulina 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 (Farinango, 2014). Conocida por sus grandes bondades nutricionales, aceptado mundialmente por las organizaciones internacionales: En el año 1974 la Organización de las Naciones Unidas (ONU) en la Conferencia Mundial de Alimentos la anunciaron como “el mejor alimento para la humanidad”. En ese mismo año la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) declaró a la espirulina como “El mejor alimento para el mañana”. En 1992 la Organización Mundial de la Salud (OMS) introduce la espirulina como “El producto sano para el siglo XXI”. China declaró a la espirulina “Alimento Nacional en el año 1992 (Schawars, 2009).

La espirulina proporciona una gran cantidad de enzimas, pero su gran poder se debe a su alto contenido de sustancias que estimulan a las enzimas de nuestro organismo.

La superóxido dismutasa SOD, es una de varias enzimas que se encuentran en la espirulina, que actúa como defensa contra los radicales libres y en el retraso del envejecimiento (Biasotti, 2014).

La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima antioxidante muy potente que está presente en organismos vivos, comúnmente en los aeróbicos, y juega un papel central en el metabolismo de los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno (Posadas, 2003). Esta enzima cumple un rol importante como biocatalizador que activa y estimula el metabolismo celular, pero estas pueden llegar a ser afectadas por diversos factores, como es la temperatura, pH y concentración.

Actualmente existen distintos métodos de conservación de alimentos, las más conocidas y practicadas por las grandes empresas en el secado de la espirulina es por pulverización y la liofilización, en donde no solo buscan conservarlos sino aprovecharlos en la elaboración de distintos productos, con mejores características. El secado de la espirulina por cualquier método permite su conservación, disminuyendo la facilidad de que se contamine con cuerpos extraños u olores, y a su vez debe mantener sus componentes bioactivos.

La disponibilidad de la SOD en el secado de la espirulina depende de varios factores ambientales, uno de los principales es la temperatura, tema de hipótesis y desarrollo de esta tesis.

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA**

La espirulina es una microalga que se cultiva industrialmente en varios lugares del mundo debido a su excepcional composición nutricional. son utilizadas para obtener biomasa en alimentos y acuicultura, en colorantes, antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados, enzimas, polímeros, además de ser usadas en el tratamiento de aguas residuales, remoción de metales pesados, bioindicadores, en la producción de biocombustibles y también en la absorción del CO<sub>2</sub> (Farinango, 2014).

Los elementos nutricionales esenciales que se encuentran en la espirulina hicieron de esta cianobacteria un producto alimenticio potencial para el uso de las tripulaciones espaciales. Después del cultivo y la cosecha, la espirulina debe secarse, generalmente por pulverización en las grandes granjas de la Tierra. Sin embargo, el polvo obtenido no cumple con todos los criterios para utilizar la espirulina como alimento para el consumo humano (Desmorieux y Hernandez, 2004).

La deshidratación es una técnica ampliamente utilizada para la conservación de alimentos; son muy conocidas las ventajas de deshidratación, ya que al reducir el contenido de humedad de los productos alimenticios se previene el crecimiento de microorganismo y se minimiza las demás reacciones bioquímicas de los mismos (Martin, 2015).

La espirulina comercialmente se deshidrata utilizando diferentes métodos, que pueden afectar su calidad nutricional y antioxidante como es por pulverización, aspersión o atomización, métodos comúnmente utilizados en la producción comercial de espirulina, secados a alta temperatura, generalmente 160 a 180°C. Este proceso destruye parte de los nutrientes esenciales frágiles al calor, como las vitaminas o los antioxidantes (Mazurier, 2021). Así mismo (Esquivel, 2015), menciona temperatura de entrada del método de aspersión es típicamente 150 a 220°C, la evaporación ocurre instantáneamente y cada polvo seco será expuesto a una temperatura de salida moderada de (50 a 80°C).

Un secado suave puede conservar propiedades antioxidantes y otros de la espirulina (secado suave, inferior a 40°C), (Mazurier, 2021)

Todas las enzimas, tanto en vegetales como en animales, son afectadas cuando el producto se empieza a someter a temperaturas de secado a más de 40°C pierden mucho su viabilidad por que se desnaturalizan. La aplicación de alta temperatura de secado reduce la capacidad antioxidante debido a la descomposición de los compuestos antioxidantes (Osorio, 2024).

Las enzimas son muy sensibles a la temperatura (Timberlake, 2013). Las temperaturas afectan de una forma general e inespecífica a la actividad enzimática. El efecto de la temperatura, es doble, la conformación funcional del enzima es estable dentro de un cierto rango de temperaturas, fuera del cual se produce su desnaturalización (Zalduegui, 1975).

Mientras mayor sea la temperatura mayor será el número de choques y mayor la velocidad de reacción. Pero a partir de un valor determinado de

temperatura comienza la desnaturalización de la proteína enzimática y de este modo la pérdida de la actividad (Migue y Isela, 2019).

Por otro lado, se conoce que la empresa INTI PACHA, en la ciudad de Ica produce espirulina (Ver Anexo), secada a más de 40°C, desconociéndose cuanto de SOD de esa espirulina es dañada por el empleo de dicha temperatura.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

Frente a la problemática evaluada y descrita en el párrafo anterior, se plantearon las siguientes interrogantes.

### **1.2.1. Interrogante general**

¿Cuál será el efecto de la temperatura de secado en la disponibilidad de la enzima superoxido dismutasa (SOD) de espirulina (*Arthrospira platensis*) cultivada en laboratorio?

### **1.2.2. Interrogantes secundarias**

¿Cuál será la temperatura adecuada para mantener los niveles de superoxido dismutasa (SOD) en espirulina (*Arthrospira platensis*) durante el secado a 30, 40 y 50°C, en relación con la muestra fresca?

¿Cuál será la actividad enzimática de la superoxido dismutasa (SOD) antes y después del secado?

¿Cuál será la composición químico proximal de la espirulina (*Arthrospira platensis*) deshidratada?

### 1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El desarrollo de la presente investigación se justificará bajo los siguientes criterios:

La presente investigación está relacionada con nuestra carrera de Ingeniería Pesquera, buscando ver el efecto que podría tener la temperatura en el secado de un recurso hidrobiológico de extraordinaria importancia nutricional; como es la espirulina (*Arthrospira platensis*) y ver la consecuencia que podría producirse en cuanto a la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa, término estandarizado en la comunidad científica como SOD.

Las distintas tecnologías en producción de secado deben estar orientadas a mantener los niveles de SOD en la espirulina ya que ésta es una de las enzimas más importantes e influye en su calidad. que actúa indirectamente al disminuir la velocidad de las reacciones generadoras por los radicales libres (Belay, 2002).

#### a) Justificación Teórica

El desarrollo del presente estudio de investigación se ha basado en estudios casi similares, desarrollados por instituciones de investigación científica, correspondiente a la actividad antioxidante, entendiéndose que la actividad antioxidante está en función directa a actividad enzimática, es decir no habrá acción antioxidante si la enzima es dañada por el efecto de la temperatura. Es importante mencionar que la información sobre el efecto de las altas temperaturas de secado en la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en la espirulina es muy limitada. Este estudio podrá contribuir al conocimiento existente sobre la teoría del secado y como ella puede afectar en dicha enzima, proporcionando datos valiosos que podrían contribuir a optimizar los procesos de secado y

mejorar la conservación de sus propiedades bioactivas. En la presente investigación se empleó distintas temperaturas hasta obtener un peso constante de la biomasa de espirulina.

#### **b) Justificación Practica**

La deshidratación de la espirulina es fundamental para su conservación. Cuanto más fuerte sea el secado (más alta temperatura), más dañino podrá ser para sus propiedades nutricionales y funcionales. Los nutrientes más frágiles como las vitaminas, los antioxidantes, los ácidos grasos esenciales, las enzimas, son muy sensibles al calor y quedan desnaturalizados u oxidados según las moléculas. De ser así, ya no son beneficiosos al organismo (Mazurier, 2021). Temperaturas altas podrían afectar en la disponibilidad de enzimas presentes en la espirulina; en cambio, un secado moderado permite preservar un máximo de propiedades de la espirulina, la mayoría de los nutrientes contenidos en la biomasa fresca son preservados ya que simplemente se trata de una deshidratación de calidad para una conservación óptima (Mazurier, 2021).

El 99% de la espirulina que hay en el mercado procede de grandes industrias de este recurso y utilizan un secado por pulverización a temperaturas muy elevadas lo que podría deteriorar su estructura (Mazurier, 2021).

#### **c) Justificación metodológica**

La presente investigación se enfocó en evaluar el efecto de la temperatura de secado y desnaturalización de la enzima superóxido dismutasa de la espirulina, destinado para el consumo humano directo,

esta microalga es caracterizada por contener una excepcional composición nutricional y contar con dicha enzima que es una de las más de 2 000 enzimas que se encuentran en la espirulina (Mote et al., 2024). En la presente investigación se buscó la temperatura adecuada para el secado de la espirulina por aire caliente, este método cuenta con las mejores condiciones experimentales para dicho proceso.

#### **d) Relevancia social**

La presente investigación tiene como propósito Indagar, a nivel de laboratorio, que sucede con la enzima SOD, cuando se deshidrata a temperaturas relativamente altas que pueden dañarla. Mediante dicha investigación se pretende como alternativa a empresas que se inician en producción de espirulina, para poder determinar la temperatura de secado que sea beneficiosa para la salud, ya que a causa de las altas temperaturas en las industrias que se inician utilizando métodos, temperaturas y tiempos no adecuados y esto hace que pueda perderse poco o todos sus beneficios tanto funcionales como farmacéuticos estando consumiendo la espirulina (*Arthrospira platensis*) de baja calidad nutricional.

Con la presente investigación podremos brindar información basada científicamente a la sociedad para que pueda conocer los efectos benéficos de temperatura en el momento de secado de la espirulina.

Los resultados del presente proyecto de investigación, podrán ser una contribución a las aplicaciones industriales y biotecnológicas en la producción de secado de la espirulina (*Arthrospira platensis*).

## **1.4. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS**

### **1.4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de la temperatura de secado en la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) posterior al secado de espirulina (*Arthrospira platensis*).

### **1.4.2. Objetivos específicos**

Determinar la temperatura adecuada para mantener los niveles de superóxido dismutasa (SOD) durante el secado, entre 30; 40 y 50 °C, en relación con la muestra fresca.

Evaluar la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) antes y después del secado.

Determinar la composición química proximal de la espirulina (*Arthrospira platensis*) deshidratada.

## **1.5. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

### **1.5.1. Hipótesis general**

La espirulina (*Arthrospira platensis*) a temperaturas superiores de 30°C se verá afectada su actividad enzimática, disminuyendo el nivel de SOD en comparación con la fresca.

### **1.5.2. Hipótesis específica**

El secado en la producción de espirulina (*Arthrospira platensis*) por encima de 30°C afecta significativamente la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD)

La actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) se verá significativamente afectada por el proceso de secado, mostrando una disminución en su actividad antes y después del secado.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO**

#### **2.1.1. Antecedentes Internacionales**

- Fox et al., 2024) en su investigación “Efecto de la temperatura de secado sobre los compuestos polifenólicos y actividad antioxidante de las hojas de *Piper aduncum* L.” El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la temperatura de secado sobre los compuestos polifenólicos y actividad antioxidante de las hojas de *Piper aduncum* L. Las hojas fueron recolectadas en la ciudad de Puyo, sector El Paico, ubicado en la Amazonía de la provincia de Pastaza, Ecuador. Se utilizó la técnica de extracción asistida por ultrasonido para obtener los extractos acuosos. Los polifenoles totales fueron determinados mediante el método de análisis de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante fue evaluada utilizando los métodos FRAP y ABTS. Se evaluó el efecto de tres niveles de temperatura de secado (45, 50 y 55 °C) sobre los compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante de las hojas de matico. Se usó el software Design Expert versión 10, para evaluar la significancia del factor de estudio sobre la respuesta experimental ( $P < 0,05$ ). Se realizó el análisis ANOVA para valorar la influencia que tuvo la temperatura sobre las variables de respuesta. La temperatura de secado tuvo un efecto negativo sobre los compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante en las hojas de *P. aduncum*. Los mayores valores se obtuvieron a 45 °C (79,92 mg eq. de ácido gálico·100 g<sup>-1</sup> de biomasa seca) para polifenoles totales, (74 898,90 y 508,07 µg eq. de TROLOX·g<sup>-1</sup> de biomasa seca), para actividad antioxidante mediante las técnicas FRAP y ABTS, respectivamente, por lo que es recomendable realizar el secado a esta

temperatura, previo a cualquier utilización o procesamiento posterior con vista a preservar sus propiedades como antioxidante natural.

- Beşliu, Chiselița, Chiselița, Efremova, y Chiriac, (2023) en la investigación “Evaluación de la composición bioquímica y actividad antioxidante de un preparado a base de pigmentos extraídos de la biomasa remanente de *Arthrospira platensis*”, El objetivo de este trabajo fue evaluar la composición bioquímica y la actividad antioxidante de un preparado a base de pigmentos obtenidos de la biomasa remanente de espirulina (*Arthrospira platensis*). Los resultados obtenidos permitieron establecer que el preparado se caracteriza por un alto contenido de  $\beta$  caroteno, luteína, pigmentos clorofílicos y polisacáridos sulfatados. Por su composición, el preparado también posee una alta actividad antioxidante y de las enzimas catalasa y superóxido dismutasa. Estos hallazgos ponen de relieve el alto valor biológico del nuevo preparado y su enorme potencial de aplicación en la medicina, el sector ganadero la industria alimentaria y cosmética. El valor reportado de  $195,94 \pm 9,15\%$  de inhibición de la preparación demuestra su fuerte capacidad para neutralizar radicales libres y especies oxidativas. La CAT y la SOD son enzimas antioxidantes cruciales en las algas, conocidas por su papel en la defensa contra la actividad de peroxidación y el mantenimiento del estado redox. En este estudio, se evaluó la actividad enzimática de la CAT y la SOD. La actividad de la CAT en las muestras experimentales fue de  $1235 \pm 30,59$  mmol/min por mg de proteína, mientras que la actividad de la SOD fue de  $618 \pm 2,6$  U/mg de proteína. Los resultados demuestran un alto nivel de eficiencia de la enzima CAT para descomponer el peróxido de hidrógeno dañino en agua y oxígeno, previniendo el daño celular causado por las especies reactivas del oxígeno.

- En la investigación Luo et al.,2024 “Proceso de fabricación, valor nutricional y aplicaciones alimentarias versátiles de la microalga espirulina”, en la revista *Frontiers in Nutrition*, China.

En el proceso de secado puede producirse la desnaturalización de algunas proteínas y la pérdida de la actividad enzimática, lo que afecta al contenido y la actividad de estos nutrientes en el polvo de espirulina. La actividad de la superóxido dismutasa no se detecta en el polvo de espirulina, mientras que su unidad de actividad es de 167,7 U/g en la espirulina fresca.

- En la investigación de Hassanen et al., 2015 “Efectos bioquímicos de la espirulina platensis frente al estrés oxidativo provocado por la doxorubicina”, publicado en la revista *Médica Veterinaria Benha*, Egipto.

La espirulina contiene una importante enzima, la superóxido dismutasa (SOD) (1 700 unidades/g de masa seca), que actúa indirectamente al disminuir la velocidad de las reacciones generadoras de radicales de oxígeno.

En la investigación de Kuma et al.,2022 “Actividad antioxidante y fitonutrientes de espirulina platensis”, publicado en la revista *Nexus 6 de Energía*, India.

El aumento del consumo de sustancias naturales ha incrementado la demanda de fuentes biológicas como la espirulina platensis. El estudio investiga cuantitativamente el potencial antioxidante y el contenido de fitonutrientes en agua y extractos de etanol de espirulina. La espirulina se recolectó de una granja local de Pondicherry y se cultivó en masa. En su laboratorio de investigación se evaluaron el potencial antioxidante de la biomasa de espirulina, es decir, la catalasa, la SOD, GPx, vitamina C, vitamina E y GSH reducido; contenidos de fitonutrientes como fenol total,

flavonoides, taninos, carbohidratos y proteínas en extractos acuosos y etanólicos de espirulina. Importante efecto antioxidante enzimático. Se observó mayor actividad en el extracto etanólico. Sin embargo, los extractos acuosos fueron más altos para la catalasa, la SOD (4,735 U/mg) y la GPx. actividad. La misma tendencia se observó para las actividades no enzimáticas. Contenido total de fenoles, flavonoides y taninos Se observaron niveles altos de extracto acuoso. Sin embargo, el contenido de proteínas y carbohidratos fue mayor en el extracto etanólico. Extracto. Observamos un cambio significativo en la actividad antioxidante y el contenido de fitonutrientes en el extracto etanólico. que en extractos acuosos. La fuerte propiedad antioxidante y el mayor contenido de fitonutrientes de la espirulina pueden jugar un papel vital en la complementación dietética y en la lucha contra la desnutrición.

### **2.1.2. Antecedentes Nacionales**

- Marín, 2019, en su investigación “Efecto de tres niveles de temperaturas de secado en la actividad antioxidante y contenido de polifenoles totales presentes en hojas de guanábana (*Annona muricata*)”, se determinó el efecto de la temperatura de secado en la actividad antioxidante de las hojas de guanábana, y contenido de polifenoles totales en hojas de guanábana (*Annona muricata*). Los resultados fueron analizados mediante un diseño completamente al azar (DCA) a un nivel de significancia del 5%, teniendo como tratamientos de estudio: T1: Secado a 45 °C, T2: Secado a 50 °C, T3: Secado a 55 °C. Cada unidad experimental está constituida por 60 g de hojas de guanábana con un estado vegetativo joven que fueron recolectadas del fundo “Rosita” – Shirambari, ubicado en el distrito de Yarinacocha - Pucallpa. Las hojas fueron seleccionadas de la parte media del árbol, por tamaño y

color, lavadas y desinfectadas para su posterior secado según tratamientos. Las muestras tratadas fueron analizadas para determinar su actividad antioxidante, contenido de polifenoles totales y características fisicoquímicas (pH, humedad, ceniza). Los resultados muestran diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, por lo que se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ); siendo el T1: Secado a 45 °C el mejor tratamiento ya que presenta mayor actividad antioxidante con respecto al radical DPPH con 0,022g mM TEAC/ 100 muestra seca, mayor contenido de polifenoles con valores de 2,207g EAG/ 100 g muestra secas, degradándose a medida que la temperatura de secado aumentó y presentó mejores características fisicoquímicas pH 5,29, humedad 9,38 y cenizas 6,36.

- Gómez, 2020, en su investigación “Efecto de la temperatura de secado y evaluación de la capacidad antioxidante de la hoja de achiote (bixa orellana L.), para la utilización en la elaboración de filtrante en la provincia de coronel portillo” El objetivo de la investigación fue aprovechar satisfactoriamente las hojas de achiote, debido a que estas no son utilizadas brindándole un valor agregado. Por tal motivo se pretende elaborar filtrantes para obtener una infusión beneficiosa para la salud por el antioxidante que contendrá. Al mismo tiempo brindando al consumidor final, ciertas características benéficas por ser esta una hoja medicinal. Para obtener el filtrante característico como resultado final, las hojas de achiote se sometieron a un proceso de secado, en tres diferentes temperaturas: 30 °C, 35 °C y 40 °C, cada una con sus respectivas tres repeticiones; para posteriormente proceder a las operaciones unitarias como son la molienda y el tamizado, para obtener el filtrante, el cual cada paquetito será envasado en papel termosellables, con un peso de 1g. La infusión obtenida a partir de los tres

tratamientos realizados para el filtrante elaborado, fueron sometidas, a los análisis de pH, acidez titulable, humedad, análisis sensorial (color, olor y sabor), polifenoles mediante el método de folin - ciocalteau, y evaluación de su capacidad antioxidante mediante el método DPPH (1,1-diphenyl2-picrilhydrazil); dando como el mejor tratamiento al T1, con una temperatura de 30 °C, con un tiempo de secado de 43 horas, cuyo contenido de polifenoles totales fue de 0.08 mg/ml en ácido gálico y en cuanto a antioxidante fue de 0.42 mg/ml en equivalente de trolox.

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Cianobacterias**

Las cianobacterias, también conocidas como algas verdes-azules, son un grupo de bacterias muy especiales que, hace 3 600 millones de años, inventaron la fotosíntesis y cambiaron drásticamente la evolución de la vida (Ventura, 2010).

Las cianobacterias son organismos desprovistos de membrana nuclear y mitocondrias; difieren de otros procariotas en la composición de sus ácidos grasos, ya que frecuentemente presentan ácidos grasos no saturados con dos o más enlaces dobles (Farinango, 2014).

*Cianobacterias filamentosas fijadora de nitrógeno.*



La espirulina es una microalga azul-verde que constituye una de las primeras manifestaciones de vida en el planeta. Su antigüedad puede calcularse entre los 3 100 y 3 500 millones de años, de modo que se ubica en la base absoluta de las cadenas alimentarias que se construyeron a partir de ella. Tiene forma de filamentos espiralados microscópicos como un tirabuzón aunque son apreciables, además, formaciones rectas (Farinango, 2014).

17

protección radiológica y obesidad. Las actividades antioxidantes de la espirulina se demostraron en una gran cantidad de estudios preclínicos. Los antioxidantes previenen muchas enfermedades humanas. Resultados de este estudio demostró que la espirulina puede utilizarse como fuente de antioxidantes (Asghari et al., 2016).

También contiene tres pigmentos sumamente importantes: la Ficocianina, de color azul; la Clorofila, de color verde; y los carotenoides, de color rojo-naranja. La Ficocianina estimula enormemente la actividad linfocitaria, participando, a través de enfatizar el sistema inmunitario, en la prevención de lesiones malignas, como el cáncer, inhibiendo su crecimiento o recurrencia (Farinango, 2014).

La espirulina tiene efectos protectores bien documentados contra infecciones virales y bacterianas, cáncer, alergias, diabetes, inflamación e hiperlipidemia; además, debido a su nutrición concentrada, la espirulina fue recomendada tanto por la Administración Nacional de Aeronáutica y del Espacio (NASA) como por la Agencia Espacial Europea (ESA) como uno de los alimentos principales durante las misiones espaciales de larga duración. La espirulina también se puede aprovechar para la producción de diversas enzimas, especialmente enzimas antioxidantes. Tiene una cantidad muy alta de la enzima superóxido dismutasa (sic), que es una enzima importante para eliminar los radicales libres. Los mecanismos de defensa incluyen enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPx) y la catalasa, así como antioxidantes no enzimáticos como el betacaroteno, el glutatión, la vitamina E, etc. Protección radiológica que ofrece la espirulina (Asghari et al., 2016).

### 2.2.1.2. Clasificación Taxonómica

El género *Arthrospira* incluye el conjunto de cianobacterias alimentarias vendidas comercialmente bajo el nombre de espirulina (*spiruline* en francés y *spirulina* en inglés). Los nombres cianobacterias, algas verdes azules o cianofíceas, se consideran términos compatibles. El primero se refiere a la relación taxonómica y filogenética, mientras el segundo representa la correlación ecológica y biológica. Así, según la revisión actual para este microorganismo (Farinango, 2014).

**Tabla 1.**

*Clasificación de la espirulina*

|                 |                 |
|-----------------|-----------------|
| <b>Dominio:</b> | Bacteria        |
| <b>Clase:</b>   | Cyanobacteria   |
| <b>Orden:</b>   | Oscillatoriales |
| <b>Familia:</b> | Oscilatoriaceae |
| <b>Género:</b>  | Spirulina       |

Nota: Farinango, (2014).

### 2.2.1.3. Morfología y crecimiento

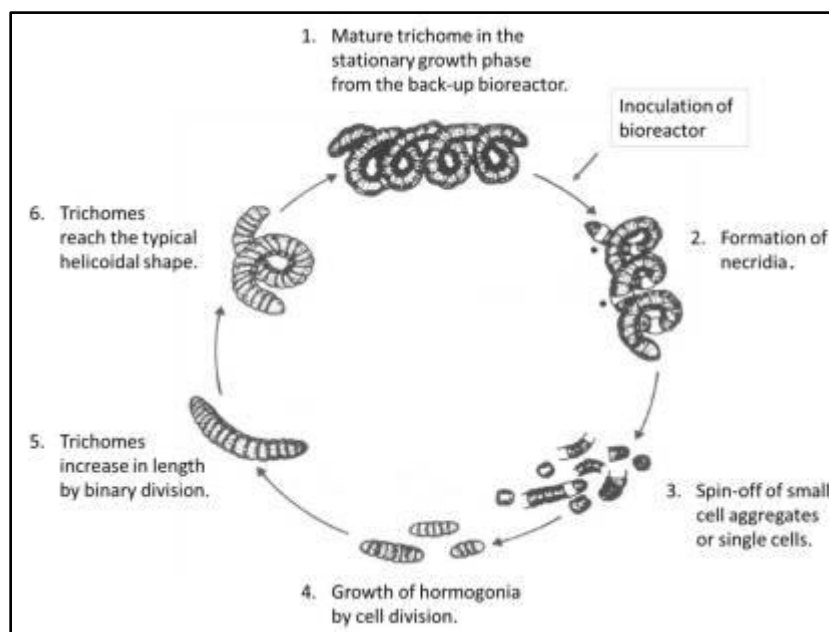
La espirulina observada bajo la luz del microscopio presenta filamentos verdes azulados de células cilíndricas situadas en varias filas helicoidales, sin ramificación. Los filamentos se mueven sobre el axil. Las filas de las células cuentan con un diámetro de 1 a 3  $\mu\text{m}$  en las especies de menor dimensión y de 3 a 12  $\mu\text{m}$  en las de mayor dimensión según Caiza, 2021 señalado por Puetate et al., 2021.

Las cianobacterias suelen llevar a cabo la fotosíntesis oxigénica con agua como donante de electrones y utilizan el dióxido de carbono como fuente de carbono. Esta cianobacteria (a menudo llamada alga verdeazulada) crece como tricomas filamentosos y helicoidales, realiza la fotosíntesis (Jung et al., 2021).

El conocimiento de su fisiología es esencial para comprender su estado de crecimiento. Los principales factores para el crecimiento de AP (*Arthrospira platensis*) son la luz y el CO<sub>2</sub> o HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, respectivamente. El ciclo de vida de la PA (ver Figura 2) fue descrito por primera vez por Ciferri.

**Figura 2.**

*Ciclo de vida de Arthrospira platensis*



Nota: Jung et al., (2021).

#### 2.2.1.4. Requerimientos para su cultivo

La epirulina (*Arthrospira platensis*) 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 espirulina sp. en estanques, se incrementa la productividad, así como la densidad (Salazar, 2017).

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 (Salazar, 2017).

#### **2.2.1.5. Composición química y características**

Al estar agrupada como cianobacteria, la espirulina, posee un tipo de pared celular característica que logra favorecer su digestibilidad; adicionalmente sus constituyentes son perfectamente asimilables sin necesidad de cocción, ni de cualquier otro tipo de tratamientos. De esta manera, incluso los constituyentes más frágiles (vitaminas, ácidos grasos esenciales, etc.) están disponibles sin degradación alguna. Todos los datos están basados en *espirulina platensis* y máxima (Farinango, 2014).

**Tabla 2.**

*Propiedades físicas de la espirulina*

| PROPIEDADES FÍSICAS |                                             |
|---------------------|---------------------------------------------|
| APARIENCIA          | Polvo fino                                  |
| COLOR               | Verde oscuro                                |
| OLOR Y SABOR        | Fuerte; semeja a plantas marinas. Sin sabor |
| DENSIDAD            | 0,5 gramos/litro                            |
| TAMAÑO DE PATÍCULA  | 9 – 25 m de diámetro medio                  |

Nota: (Farinango, 2014).

**Figura 3.**

Propiedades físicas y composición bromatológica

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>PROPIEDADES FÍSICAS</b><br>Composición: 100% micro-alga spirulina<br>Apariencia: polvo fino y uniforme<br>Color: Azul verde oscuro<br>Olor: medio - fuerte<br>Sabor: muy suave<br>Densidad aparente: 0,35 - 0,55 kg/litro                                                                                                                                                                          |  | <b>COMPOSICIÓN GRAL</b> (en 10g. de spirulina)<br>Proteínas 55-70%<br>Carbohidratos 15-25%<br>Lípidos 4-7%<br>Minerales 7-13%<br>Humedad 3-7%<br>Fibras 4-7%                                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |
| <b>VITAMINAS (Cantidades x 10 g)</b><br>Beta-caroteno 14 mg<br>(Pro vitamina A) 23000 UI<br>Vitamina E (alfa-tocoferol) 1,00 mg<br>Vitamina B1 (tiamina) 0,35 mg<br>Vitamina B2 (riboflavina) 0,40 mg<br>Vitamina B3 (niacina) 1,40 mg<br>Vitamina B6 (piridoxina) 80 mcg<br>Vitamina B12 320 mcg<br>Inositol 6,40 mg<br>Folacina (Ácido fólico) 1 mg<br>Biotina 0,50 mcg<br>Ácido Pantoténico 10 mcg |  | <b>AMINO-ÁCIDOS (Cantidades x 10 g)</b><br>Alanina 470 mg<br>Arginina 430 mg<br>Ácido Aspártico 610 mg<br>Cisteína 60 mg<br>Ácido Glutámico 910 mg<br>Glicina 320 mg<br>Histidina 100 mg<br>Isoleucina 350 mg<br>Leucina 540 mg<br>Lisina 290 mg<br>Metionina 140 mg<br>Fenilalanina 280 mg<br>Prolina 270 mg<br>Serina 320 mg<br>Treonina 320 mg<br>Tryptófano 90 mg<br>Tirosina 300 mg<br>Valina 400 mg<br><b>Total Aminoácidos</b> 6,20 g |  |
| <b>MINERALES</b><br>Calcio 100 mg<br>Fósforo 80 mg<br>Fósforo 40 mg<br>Magnesio 15 mg<br>Hierro 90 mg<br>Sodio 140 mg<br>Potasio 300 mcg<br>Zinc 120 mcg<br>Cobre 500 mcg<br>Manganeso 60 mcg<br>Germanio 10 mcg<br>Selenio                                                                                                                                                                           |  | <b>ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES</b><br>Linoleico 80 mg<br>Gamma-lineolénico 100 mg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  |
| <b>ACTIVIDAD ENZIMÁTICA</b><br>Superóxido dismutasa: 15000 unidades                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  | <b>PIGMENTOS</b><br>Ficocianina (azul) 1500 mg<br>Clorofila (verde) 110 mg<br>Carotenoides (naranja) 37 mg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  |

Nota: (Argento, 2016)

#### **2.2.1.6. Usos generales**

El valor de la espirulina (*Arthrospira platensis*) 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  $\gamma$ -linoleico) proteínas, vitaminas y minerales. Por otro lado, se ha estudiado los efectos que espirulina sp. tiene sobre algunos roedores y en el ser humano: inmuno regulación, antioxidantes, anticancerígenos, antivirales, antitóxicos y contra la hiperlipidemia y la hiperglicemia según 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 (Farinango, 2014).

#### **2.2.2. Secado**

Se trata de una operación unitaria que consiste “en separar pequeñas cantidades de agua u otro líquido de un material sólido con el fin de reducir el contenido del líquido residual hasta un valor aceptablemente bajo” (Farinango, 2014).

“El secado es una operación en la que se produce transferencia de energía para evaporar el líquido y transferencia de masa de contacto gas sólido, donde la humedad contenida en el sólido se transfiere por evaporación hacia la fase gaseosa, en base a la diferencia entre la presión de vapor ejercida por el sólido húmedo y la presión parcial de vapor de la corriente gaseosa. Cuando estas dos presiones se igualan, se dice que el sólido y el gas están en equilibrio y el proceso de secado cesa” (Farinango, 2014).

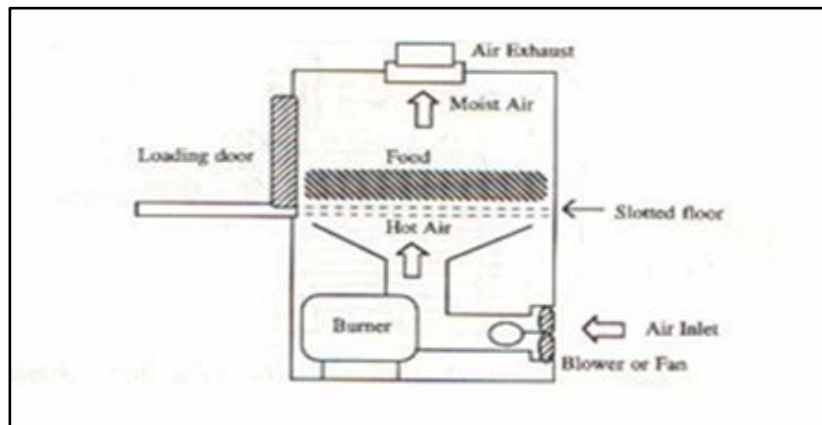
A continuación, se describen de manera simplificada algunos tipos de secadores que se utilizan en procesos de secado (Barbosa, 1996).

➤ **Secador de Horno**

Granos, frutas y vegetales pueden ser procesados usando este tipo de secador. Este consiste en una construcción de dos secciones con un piso con ranuras que separa la sección de secado con la sección de calefacción. La figura 4. muestra un ejemplo de un secador de este tipo. El producto es colocado sobre la placa ranurada y el aire caliente es llevado de la sección baja hacia la sección de secado a través de la placa (Barbosa, 1996).

**Figura 4.**

Configuración típica de un secador de horno.



Nota : (Barbosa, 1996).

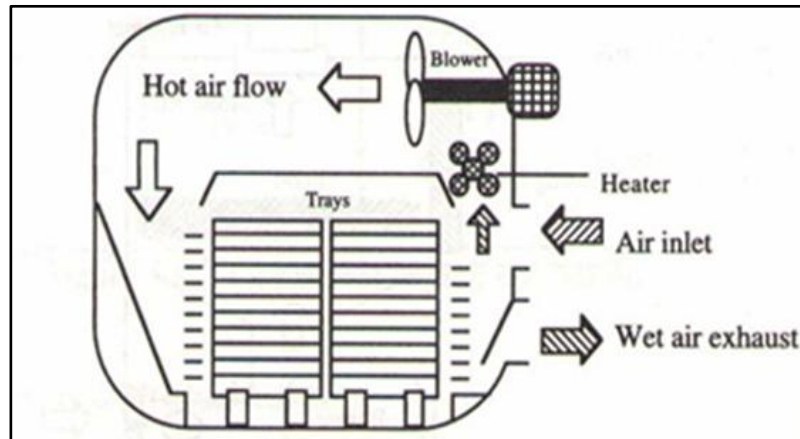
➤ **Secador de Cabina o Bandeja**

Este tipo de secador se caracteriza por tener una serie de bandejas en donde es colocado el alimento. Las bandejas se colocan dentro de un compartimiento del secador en donde es expuesto al aire caliente. El secador cuenta con un ventilador y una serie de resistencias eléctricas a la entrada

que permiten generar aire caliente el cual es llevado a través de la sección de bandejas (Barbosa, 1996).

**Figura 5.**

Arreglo Típico de un secador de Bandejas.



Nota : (Barbosa, 1996).

#### ➤ **Secado por pulverización**

El secado por pulverización es una operación continua unitaria para producir polvos secos a partir de un líquido, una emulsión, una suspensión o una pasta de baja viscosidad mediante la pulverización del alimento en un medio de secado gaseoso caliente, generalmente aire (HO et al., 2017).

Para secar un líquido atomizado hasta convertirlo en polvo, el método habitual de secado por pulverización que se utiliza hoy en día utiliza aire calentado a 400 °F o unos 200 °C. Cuando los componentes líquidos delicados e inflamables se exponen a altas temperaturas, se produce una degradación molecular que afecta negativamente la solubilidad, la estabilidad y el carácter de sabor del polvo. Aunque un secador por pulverización puede secar una amplia variedad de productos, no todos los materiales son adecuados para el secado por pulverización. Algunos ejemplos de estos productos son los geles (los productos altamente viscosos

pueden no atomizarse bien, lo que provoca la obstrucción de la boquilla de pulverización), los alimentos con alto contenido de azúcar o sal, los productos con alta sensibilidad al calor (algunas vitaminas y enzimas), las pastas (el mismo problema que los geles) y los productos altamente reactivos. (Dedert, 2023).

**Figura 6.**

Atomizador rotativo



Nota : (Dedert, 2023)

### **2.2.3. La enzima Superóxido Dismutasa (SOD)**

La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima antioxidante poderosa que se encuentra en las células de casi todos los seres vivos que dependen del oxígeno. La SOD neutraliza los radicales libres de oxígeno, protegiendo las mitocondrias y el ADN mitocondrial del daño oxidativo. La espirulina es una fuente excepcional de SOD, ya que contiene entre 1 000 y 10 000 veces más SOD que otros alimentos y su SOD se absorbe instantáneamente sin pérdida durante la digestión (Arnston, 2024).

La superóxido dismutasa (SOD) se considera un antioxidante primario que defiende contra las especies reactivas de oxígeno inducidas por el estrés ambiental (Ismaiel et al., 2014).

La superóxido dismutasa (SOD) es una de las enzimas antioxidantes más importantes del cuerpo. La SOD actúa como un mecanismo maestro de defensa de las células, atrapando los radicales libres y previniendo enfermedades. Específicamente, la SOD convierte el radical libre superóxido en peróxido de hidrógeno, un radical libre menos dañino. Esta enzima es crucial para proteger el ADN y otras estructuras celulares del daño oxidativo (Río, 2023).

Las superóxido dismutasas (SOD) son metaloproteínas ubicuas que catalizan la dismutación del anión superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. Actúan como primera línea de defensa, evitando oxidaciones biológicas indeseables por las ROS generadas durante el metabolismo celular (Esquivel, 2015).

Esta enzima restringe el sistema enzimático del grupo de oxidantes biológicos en el cuerpo, que puede responder eficazmente al estrés oxidativo celular, el metabolismo de los lípidos, la inflamación y la oxidación. Algunos estudios publicados han demostrado que las enzimas SOD podrían mantener un equilibrio dinámico entre la producción y la eliminación de oxidantes biológicos en el cuerpo y prevenir los efectos tóxicos de los radicales libres, y han demostrado ser eficaces en estudios antitumorales, antirradiación y antienviejecimiento (Zheng et al., 2023).

La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima antioxidante crucial que se encuentra en casi todos los organismos aeróbicos, desde bacterias hasta humanos. Su función principal es proteger las células de los efectos dañinos de los radicales libres, especialmente el radical superóxido, que es altamente reactivo y puede causar daño celular. Esta enzima es esencial para la supervivencia de las células aeróbicas, ya que cataliza la conversión del radical superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Descubierta en 1969 por McCord y Fridovich, la SOD juega un papel vital en la mitigación del estrés oxidativo en animales y plantas, ayudando a prevenir enfermedades relacionadas con la acumulación de especies reactivas de oxígeno (Puig, 2023).

➤ **Características de la superóxido dismutasa**

Según Pui, 2023, menciona lo siguiente:

- Función antioxidante. Su principal función es neutralizar los radicales libres, específicamente el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), una especie altamente reactiva y potencialmente dañina que se genera durante los procesos metabólicos normales, respondiendo a situaciones de estrés.
- Reacción enzimática. Cataliza la conversión del radical superóxido en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno molecular ( $O_2$ ). Esta reacción es esencial para eliminar el superóxido, que de otro modo causaría daño a células y tejidos.
- Coordinación con otras enzimas antioxidantes. Trabaja con otras enzimas antioxidantes, como la catalasa y la glutatión peroxidasa, para neutralizar diferentes especies reactivas de oxígeno y proteger las células contra el estrés oxidativo.

- Ubicación celular. Se encuentra en diversas ubicaciones celulares, incluyendo el citosol, las mitocondrias y el espacio extracelular. Su presencia en diferentes compartimentos celulares destaca la importancia de su función para proteger del estrés oxidativo en diversas áreas de la célula.
- Regulación. Su actividad puede regularse en respuesta a las condiciones celulares y ambientales. Se ha observado que su expresión se incrementa al responder al estrés oxidativo para contrarrestar sus efectos negativos.
- Importancia en enfermedades. La disfunción en su actividad se ha asociado con diversas enfermedades, incluyendo enfermedades neurodegenerativas y trastornos relacionados con el estrés oxidativo.
- Variantes. Hay varias formas de superóxido dismutasa, incluyendo la SOD1 (citoplasmática), la SOD2 (mitocondrial) y la SOD3 (extracelular). Cada forma tiene una localización específica en la célula y una función adaptada a su entorno. Dos de estas isoformas poseen átomos de cobre y de zinc en sus centros catalíticos y difieren entre sí en cuanto a su ubicación: intracelular (citosólico, SOD1 o Cu/Zn-SOD) o con elementos extracelulares (EC-SOD o SOD3). La isoforma SOD2 o Mn-SOD, a diferencia de las dos anteriores, tiene un átomo de manganeso como cofactor y su ubicación parece restringida a las mitocondrias de las células aeróbicas.

#### ➤ **Estructura de la superóxido dismutasa**

Las isoenzimas superóxido dismutasas en los humanos pueden diferir entre sí en cuanto a ciertos aspectos estructurales (Puig, 2023).

- Peso molecular. Por ejemplo, la isoenzima SOD1 tiene 32 kDa de peso molecular, mientras que la SOD2 y la SOD3 son homotetrámeros de 95 y 135 kDa de peso molecular, respectivamente.

- Estructura. El otro grupo de superóxido dismutasas, las Fe-SOD presentes en plantas y otros organismos distintos a los mamíferos, son enzimas diméricas de subunidades idénticas, es decir, son homodímeros.
- Secuencias. En algunas plantas, estas Fe-SOD contienen una secuencia señal N-terminal putativa para el transporte hacia el interior de los cloroplastos y otras contienen una secuencia C-terminal tripeptídica de transporte hacia los peroxisomas, por lo que se presume que su distribución subcelular se restringe a ambos compartimentos.
- Estructura molecular. La estructura molecular de los tres tipos de enzimas superóxido dismutasa está conformada, en esencia, por hélices alfa y láminas B-plegadas (Puig, 2023).

#### ➤ **Funciones de la superóxido dismutasa**

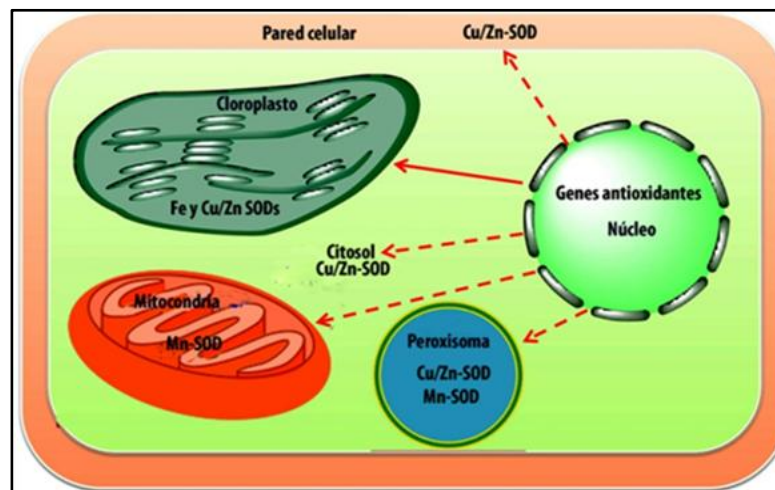
- Neutralización del radical superóxido. Su función principal es catalizar la conversión del radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno molecular ( $O_2$ ). El superóxido es una especie altamente reactiva y tóxica que se produce durante procesos metabólicos normales y puede causar daño a las células.
- Protección contra el estrés oxidativo. El estrés oxidativo sucede cuando hay un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad del sistema antioxidante para neutralizarlos. La SOD ayuda a mantener este equilibrio al eliminar el superóxido, previniendo el daño oxidativo de células y tejidos.
- Colaboración con otras enzimas antioxidantes. Trabaja en conjunto con otras enzimas antioxidantes, como la catalasa y la glutatión peroxidasa.

Estas enzimas colaboran para neutralizar diferentes formas de ROS, aportando defensa antioxidante completa.

- Protección de las mitocondrias. La variante mitocondrial de la SOD (SOD2) está específicamente en las mitocondrias, orgánulos celulares fundamentales para la producción de energía. Esta variante desempeña un papel crucial en la protección de las mitocondrias contra el estrés oxidativo, ya que son una fuente importante de especies reactivas de oxígeno.
- Participación en la respuesta inflamatoria. Puede influir en la respuesta inflamatoria al modular la generación de ROS durante procesos inflamatorios. Esto puede ayudar a prevenir el daño tisular asociado con la inflamación crónica.
- Regulación del ciclo redox. Su actividad contribuye a mantener el equilibrio redox en células y tejidos. Este equilibrio es esencial para el funcionamiento adecuado de las células y la prevención de daños oxidativos(Puig, 2023).

### Figura 7.

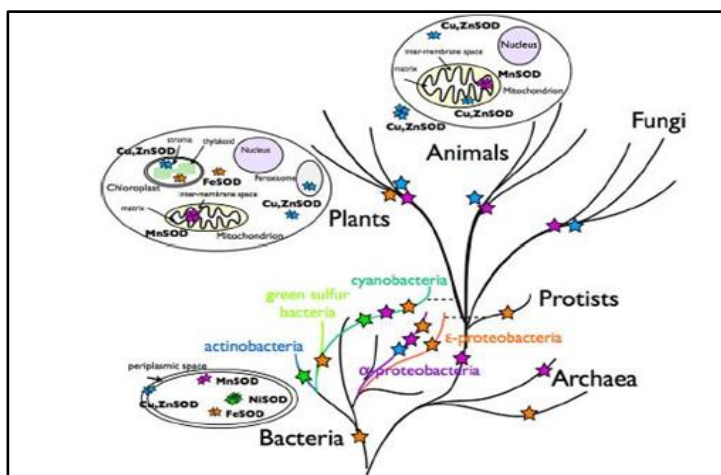
Localización intracelular de la SOD de células.



Nota : (Esquivel, 2016).

**Figura 8.**

*Esquema de la distribución de la SODs en los diferentes tipos de organismos.*



Nota : (Álvaro Martínez, 1994).

## 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

### 2.3.1. Espirulina

Es una cianobacteria microscópica filamentosa, autótrofa, azul- verdosa, una de las primeras manifestaciones de vida en el planeta. Su antigüedad se calcula entre los 3 100 y 3 500 millones de años. Pertenece al género *Arthrospira* siendo; *A. platensis*, la especie con mayor importancia en la economía y en la industria de productos alimenticios (Salazar, 2017).

### 2.3.2. Secado

El secado de las microalgas es un paso importante para optimizar su uso en numerosos sectores industriales, ya que reduce el contenido de humedad y conserva los componentes vitales. La temperatura es uno de los factores más importantes que afectan la actividad enzimática durante el secado, a

temperaturas superiores a 50°C (sic), la estructura terciaria de las enzimas puede destruirse, causando una pérdida de actividad enzimática. Las enzimas existen en un rango de temperaturas ambientales, pero temperaturas más altas que su 'rango normal' pueden desnaturalizar (desplegar) la enzima, dejándola inactiva, mientras que aquellas por debajo de ese rango pueden ralentizar su velocidad de reacción. Por tanto, cada enzima tiene una temperatura óptima donde alcanza la mayor actividad enzimática (Ricardo, 2020).

### **2.3.3. Enzimas Oxidoreductoras**

Las enzimas son proteínas biológicas que actúan como catalizadores en las reacciones químicas dentro de los organismos vivos, acelerando las reacciones sin ser consumidas en el proceso. Cada enzima tiene una estructura tridimensional específica que le permite unirse a su sustrato y facilitar la conversión química. Dentro de este amplio grupo, las enzimas oxidoreductoras son aquellas que catalizan reacciones de óxido-reducción, es decir, transferencias de electrones entre moléculas. Estas enzimas son fundamentales para la regulación de los procesos redox en las células. Un ejemplo clave es la superóxido dismutasa (SOD), que cataliza la conversión del radical superóxido ( $O_2^-$ ) en oxígeno y peróxido de hidrógeno, protegiendo así a las células del daño causado por los radicales libres.

### **2.3.4. Actividad Enzimática**

La actividad enzimática catalítica se refiere a la capacidad de una enzima para acelerar una reacción química específica. Esta actividad depende de la afinidad de la enzima por su sustrato y de la eficiencia con la que puede transformar el sustrato en productos. Se puede medir en términos de unidades de actividad,

generalmente expresadas como moles de sustrato convertidos por unidad de tiempo.

#### **2.3.5. Actividad Enzimática Específica**

La actividad enzimática específica se refiere a la cantidad de actividad enzimática presente por cantidad de proteína en una muestra. Es una medida de la eficiencia de la enzima en catalizar una reacción dada, y se utiliza para comparar la actividad entre diferentes fuentes de enzimas o bajo distintas condiciones experimentales.

#### **2.3.6. Rendimiento de la extracción de SOD**

El rendimiento enzimático en la extracción de la Superóxido Dismutasa (SOD) se refiere a la cantidad de esta enzima obtenida a partir de un proceso de extracción por cada gramo de espirulina utilizado como materia prima. Este rendimiento se expresa generalmente en unidades de actividad enzimática por gramo de espirulina (U/g) o en masa de enzima extraída por unidad de peso de material (mg/g). El rendimiento enzimático es un indicador clave de la eficiencia del proceso de extracción y de la cantidad de enzima activa recuperada de la fuente biológica.

#### **2.3.7. Superoxido Dismutasa (SOD)**

La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima antioxidante crucial que protege las células del daño causado por los radicales libres, especialmente el radical superóxido. Esta enzima es esencial para la supervivencia de las células aeróbicas, ya que cataliza la conversión del radical superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (Puig, 2023).

La SOD (SOD) presente en las algas espirulina es 1000 veces más concentrada que cualquier otro alimento o suplemento fuente de SOD (Arnston, 2024).

## **CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO**

### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

El presente trabajo de investigación se realizó en los siguientes Laboratorios de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna:

- Laboratorio de Control de Calidad – Escuela profesional de Ingeniería pesquera
- Laboratorio de Acuicultura – Escuela profesional de ingeniería pesquera
- Laboratorio de Procesos Unitarios y refrigeración - Escuela profesional de Ingeniería Pesquera
- Laboratorio de Biotecnología Enzimática – Facultad de ciencias (anexo 22).

### **3.2. TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

La presente investigación es de tipo exploratorio según Galvis, 2006, es aquella que sirven para familiarizarnos con fenómenos relativamente desconocidos, obtener información sobre la posibilidad de llevar a cabo una investigación más completa sobre un contexto particular de la vida real, con nivel de investigación básica, cuantitativo.

Respecto al diseño de investigación se enmarca a un diseño de nivel Experimental. Según Fidias Arias (2015), autor del libro “El Proyecto de Investigación” la investigación experimental es un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos en determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o

reacciones que se producen (variable dependiente)”; citado por (Alban et al., 2020).

### **3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

#### **3.3.1. Variable independiente**

Temperatura de secado: 30 °C, 40°C y 50°C.

#### **3.3.2. Variable dependiente**

Disponibilidad de SOD en espirulina seca

Indicadores:

- Actividad enzimática de SOD en el extracto crudo medido en U/mL
- Rendimiento de la extracción de SOD medido en U/g biomasa.

**Tabla 3.**

Operacionalización de variables para estudio del efecto de la temperatura de secado en la Disponibilidad de SOD en espirulina (*Arthrospira platensis*) cultivada en laboratorio.

| VARIABLE                                                 | DEFINICIÓN CONCEPTUAL                                                                                                                                                                                                                                                      | DIMENSIONES | INDICADORES                        | UNIDAD DE MEDIDA |
|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------------------------|------------------|
| V.D<br>Disponibilidad del SOD en la espirulina desecada. | El número y el tipo de enzima varía dependiendo del tiempo y tipo de secado. (Hernandez, 2016)<br><br>La enzima S.O.D. en el secado estará disponible en función de la temperatura y tiempo empleado para el secado de espirulina.                                         | Biológica   | <i>Actividad enzimática S.O.D.</i> | U/g<br>U/mg      |
| V.I<br>Temperatura de secado                             | La temperatura es una medida del calor dentro de un sistema y es expresado en °C en la escala de Celsius o en K en la escala de Kelvin. Altas temperaturas resultan en la desnaturalización de las proteínas, el deterioro enzimas y membranas celulares. (Espinoza, 2017) | física      | T1 = 30<br>T2 = 40<br>T 3 =50      | °C               |

Nota: Elaboración propia

### 3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

#### 3.4.1. Población

La población estuvo constituida por todo el conjunto de cepas de espirulina (*Arthrospira platensis*), según refiere la empresa *INTIPACHA* con un volumen 11000 L aproximadamente en la planta piloto donde se obtuvo (Anexo 5).

#### 3.4.2. Muestra

Para estudiar el efecto de la temperatura de secado sobre la disponibilidad de SOD, se tomaron muestras dirigidas de un cultivo obtenido bajo condiciones establecidas (pH entre 10 y 11.5, temperatura entre 26 y 30°C, y 12 horas de luz). Las muestras consistieron en un conjunto de células de espirulina

deshidratadas (*Arthrospira platensis*), correspondientes a tres tratamientos con tres réplicas, a las cuales se les evaluó la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD).

Para comparar la disponibilidad de SOD entre las muestras, se utilizó la misma cepa cultivada fresca y un grupo de muestra comercial “Spirulina Orgánica – BioEsencial” deshidratada, ambas tratadas bajo las mismas condiciones de extracción de SOD.

### **3.5. EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

#### **3.5.1. Instrumentos de laboratorio**

- Vaso de precipitado 200mL- 500mL de capacidad marca Pyrex.
- Tubos de ensayo 150mL de capacidad marca PYREX con labio.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Probetas 250mL, 500mL y 1L.
- Termómetro digital Tbt-10 h Rango de medida de 10 a 90°C.
- Pipetas de 5; 10; 20; 100; 200; 1000uL
- Matraz erlenmeyer graduado de 500mL de capacidad, marca Pyrex
- Calentadores de agua, de 50 W, de 30 a 90 °C
- Lámina porta objetos
- Lámina cubreobjetos
- Placas petri
- Microplacas 96 pocillos pureGrade.
- Amicon Ultra-4, Millipore 100kDa.

#### **3.5.2. Equipos acondicionamiento de cepario**

- Blowers de laboratorio (oxigenador), de 35 W, MODELO ACQ-003.

### **3.5.3. Equipos y materiales para el secado**

- Secador de bandejas, controlado por computador (PC) marca SBANC
- Balanza digital capacidad máxima de 1kg
- Malla de filtro de 40 micras de 200hilos/cm<sup>2</sup>
- Disco cechi
- Lámparas fluorescentes de 36 w.
- Estanque fibra de vidrio tubular para cultivo capacidad 50L. Diámetro 40
- Estantes metálicos de 0,40 x 1, 60 x 2,20 m

### **3.5.4. Equipos de análisis enzimático**

- Lector de placas equipado con un filtro de 450nm (440-460nm)
- Centrifuga refrigerada
- Sonicador
- Bortex
- Microscopio Serie B-380 (Optika).
- Balanza Mecánica capacidad 5 kg.

## **3.6. METODOLOGÍA**

### **3.6.1. Implementación y conducción del experimento**

Dada la importancia de estas tareas para el éxito del experimento, se llevó a cabo el acondicionamiento, la implementación y la operación de equipos y materiales en el Laboratorio de Control de Calidad (Anexo 6), así como en el Cepario (Figura 9). Esta fue la etapa inicial para la obtención de la biomasa de espirulina.

**Figura 9.**

*Adaptación e instalación de equipos en el Laboratorio de Control de Calidad para el cultivo de espirulina.*

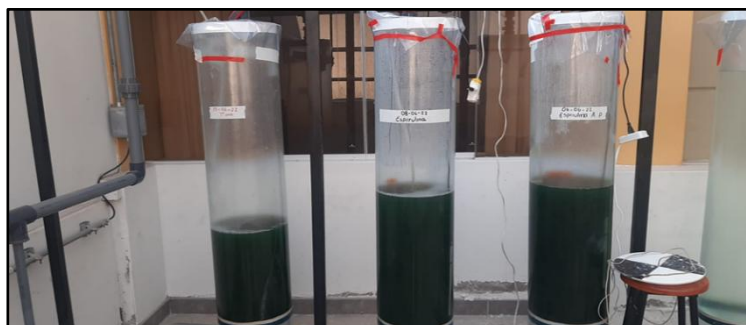


Nota: Elaboración propia

Asimismo, se llevó a cabo el acondicionamiento de los biorreactores (Anexo 7) de 50 L de capacidad, ubicados en el Laboratorio de Acuicultura de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera (ESIP) (ver Figura 10). El objetivo de este proceso fue recopilar y obtener la biomasa necesaria para las pruebas de secado, de acuerdo con el diseño experimental.

**Figura 10.**

*Cultivo de espirulina en Biorreactor de 50L de capacidad.*



Nota: Elaboración propia.

Después del cultivo y la obtención de la biomasa mediante prefiltrado, filtrado, lavado y prensado, se procedió al proceso de deshidratación (secado de la muestra obtenida ver Anexo 12). Este proceso se llevó a cabo en el Laboratorio de Procesos Unitarios y Refrigeración de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, utilizando un secador computarizado (ver Figura 11).

**Figura 11.**

*Secador de bandejas, controlado por computador.*



Nota: Elaboración propia.

Se acondicionaron las muestras deshidratadas de espirulina y se prepararon para la determinación de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa en el Laboratorio de Investigación en Biotecnología Enzimática (ver figura 12).

**Figura 12.**

*Laboratorio de Investigación Biotecnología Enzimática.*



Nota: Elaboración propia.

### 3.6.2. Proceso de cultivo

Para el procedimiento de cultivo, se siguieron las recomendaciones de (INTIPACHA, 2022).

- a) **Fase ceparia:** Las microalgas en fase ceparia fueron adquiridas del laboratorio procedente de la ciudad de Ica INTI PACHA; posteriormente fueron enviadas en frascos de vidrio de 200mL tapa rosca al laboratorio de Control de Calidad de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
- b) **Separación de muestras:** Estas fueron adecuadas para su adaptación en tubos de ensayo de 150; 500 mL; trasladados a botellas de 1; 5; 10L y posteriormente a biorreactores de 50L (anexo 11).
- c) **Cosecha:** La cosecha se realizó cuando la espirulina llegó a su fase de crecimiento máxima estacionaria (producción máxima de biomasa). Se extrajo la microalga del biorreactor llegando a 2cm. de transparencia (medidos con disco cechi); con la menor concentración de agua posible y libre de sales para su posterior filtrado y prensado. La biomasa se lavó con agua clorada 1ppm CLR (2 gotas de cloro en 1 L de agua), después de la cosecha para eliminar la contaminación de gérmenes.
- d) **Filtrado:** Se utilizó una malla sintética de poliéster de aproximadamente 40  $\mu\text{m}$  (0,04 mm de diametro). La recolección se realizó con esta malla para dejar en reposo el cultivo y esperando que las microalgas se acerquen a la superficie.
- e) **Evaluación de SOD:** La disponibilidad de SOD se evaluó a través de dos indicadores principales: la actividad enzimática en U/mL, medida en el extracto crudo, y el rendimiento de SOD después de la extracción, expresado en U/g. Para evaluar cómo la temperatura de secado influye en

la disponibilidad de SOD, se determinó la actividad enzimática (U/mL) antes y después del secado utilizando el método colorimétrico, a través del kit comercial Superoxide Dismutase, SOD, Activity Assay (Cat. CS0009-1KT, Sigma – Aldrich). Además, para comparar la disponibilidad de SOD en muestras frescas y secas, se empleó el rendimiento de SOD en U/g. Ambos parámetros ofrecen información crucial sobre la cantidad y la eficiencia de la SOD extraída de la espirulina. La actividad enzimática en U/mL mide la cantidad de actividad de SOD por volumen en el extracto crudo. A mayor actividad, mayor es la disponibilidad de SOD en la materia prima, lo que sugiere además, que el proceso de extracción fue capaz de liberar una mayor cantidad de enzima. Por otro lado, el rendimiento en U/g indica la cantidad de SOD extraída por cada gramo de espirulina. A mayor rendimiento, mayor es la disponibilidad de SOD en la materia prima, además, refleja la eficiencia del proceso de extracción en términos de la cantidad de enzima obtenida. Un rendimiento alto indica un proceso eficiente, capaz de recuperar una cantidad significativa de SOD de la espirulina.

Diagrama de flujo del cultivo de espirulina ver en anexo 2.

### **3.6.3. Secado y obtención de extracto crudo enzimático**

- a) Secado:** Una vez prensada las muestras de espirulina fueron colocadas en el secador de bandejas computarizado, a temperaturas de 30; 40 y 50°C, con 3 repeticiones cada una, con velocidad de aire de 8,5 m/s y humedad final de alrededor 7,5%. El tiempo de secado vario por las diferentes temperaturas empleadas.
- b) Molienda:** Esta etapa se redujo el tamaño del extrusado de espirulina deshidratada, pulverizando al máximo con la ayuda de un mortero de laboratorio.

- c) **Resuspensión:** Se preparó una solución de tampón fosfato de potasio salino (PBS) 0,1M a pH 7,2. Las muestras de espirulina (0,25 g de muestra deshidratada y 0,54 g de muestra fresca) se resuspendieron en 5 mL de PBS utilizando un vortex.
- d) **Lisis celular:** La disrupción celular se hizo mediante sonicación, con 25% de amplitud, 2 ciclos de 3 minutos de pulso intermitente y 1 minuto de descanso. Durante todo el procedimiento se mantuvo la cadena de frío evitando su calentamiento.
- e) **Centrifugación:** El lisado se centrifugó a 6 000 rpm por un periodo de 40 minutos a 10°C para eliminar restos celulares particulados.
- f) **Separación del extracto crudo enzimático:** El sobrenadante obtenido se dispensó en tubos Falcón de 15 mL y se almacenó en congelación a -20°C.
- g) **Eliminación parcial de pigmentos:** Posterior a la obtención del extracto crudo de SOD, se eliminaron los pigmentos mediante dispositivos de ultrafiltración tangencial (Cat. UFC810008, Amicon Ultra-4, Millipore) con membrana de tamaño de corte de 100 kDa. El extracto crudo se pasó por el dispositivo Amicón mediante centrifugación por un tiempo de 40 min a 6 000 rpm a 4°C utilizando centrifuga refrigerada. Las fracciones de extraído crudo reducido en pigmentos colectados fueron almacenadas en refrigeración para la determinación de actividad enzimática de SOD.

Diagrama de flujo del secado y obtención de SOD en la espirulina (*Arthrospira platensis*) ver anexo 3.

#### 3.6.4. Determinación de actividad enzimática SOD

La actividad de SOD se determinó en la fracción reducida en pigmentos utilizando kit comercial CS0009-1KT de Sigma – Aldrich (Sigma-Aldrich, 2022), de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

**a) Preparación de reactivos para la determinación de actividad SOD**

- Solución de trabajo (WST):

Se preparó la solución de trabajo WST de acuerdo con la Tabla 4. Se requirió 160ul de solución de trabajo WST para cada reacción (pocillo).

**Tabla 4.**

*Preparación de la solución de trabajo WST para 1 y 30 reacciones.*

| WST, CS0009D (frasco marrón; 80×) | Tampón CS0009A | Volumen final | Reacciones |
|-----------------------------------|----------------|---------------|------------|
| 2μL                               | 158μL          | 160μL         | 1          |
| 60 μL                             | 4,40μL         | 4,80μL        | 30         |

Nota: Elaboración propia.

- Solución de trabajo de xantina oxidasa:

Se preparó la solución de trabajo de xantina oxidasa de acuerdo con la Tabla 5. requiriendo 20μL de solución de trabajo de xantina oxidasa para cada reacción (pocillo). Se modificó los volúmenes en la Tabla 5, según el número de pocillos del ensayo.

**Tabla 5.**

*Preparación de solución de Xantina oxidasa, por 1 y 30 posillos.*

| Xantina oxidasa, CS0009E (tapa verde; 100×) | Tampón de dilución CS0009B | Volumen final | Reacciones |
|---------------------------------------------|----------------------------|---------------|------------|
| 0,2μl                                       | 19.8μl                     | 20μl          | 1          |
| 6μl                                         | 594μl                      | 600μl         | 30         |

Nota: Elaboración propia.

- Preparación de solución de trabajo de SOD:

Se diluyó la enzima SOD 50 veces en tampón de dilución hasta una concentración final de 6 unidades/mL, según tabla 6.

**Tabla 6**

*Preparación de la solución de trabajo SOD*

| <b>Enzima<br/>SOD,<br/>CS0009C</b> | <b>Dilución<br/>Buffer,<br/>CS0009B</b> | <b>Volumen<br/>final</b> | <b>conc. Final<br/>SOD</b> |
|------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| 3mL                                | 147ml                                   | 150mL                    | 6 U/mL                     |

Nota: Elaboración propia.

**b) Medición de actividad**

- Se agregó 20 µL de muestra a cada pocillo de muestra y/o estandar.
- Asimismo 20 µL de tampón de dilución (CS0009B) a los pocillos “Sin XO” (si es necesario) y “Sin SOD”. Agregue 40 µL de tampón de dilución (CS0009B) a pocillos de “blancos”.
- Se agregó 160µL de solución de trabajo WST a cada pocillo de muestra, estándar, control (no XO)(no SOD) y blanco.
- Se inició la reacción agregando 20µl de solución de trabajo de xantina oxidasa a cada muestra y/o estándar, y a los pocillos de control "Sin SOD".
- Posterior se incubó la placa a 20 - 25 °C durante 30 minutos.
- Leer la absorbancia a 450nm usando un lector de microplacas.

En el anexo 17, se describe un resumen de la configuración de la reacción de la medición de SOD.

### **c) Preparación de curva estándar SOD**

La curva estándar permite medir la actividad de SOD en U/mL, con un rango lineal de 0,3 a 6 U/mL, según el kit comercial CS0009-1KT de Sigma-Aldrich. Para generar la curva, se añadieron 0; 1; 2; 3; 5; 10 y 20  $\mu$ L de la solución de trabajo de SOD en una placa de 96 pocillos, obteniendo concentraciones de 0 (sin SOD, con absorbancia máxima), 0,3; 0,6; 0,9; 1,5; 3 y 6 U/mL. En el anexo 18 se presenta una tabla detallada que incluye estos volúmenes, junto con los otros componentes necesarios para preparar la curva de calibración, así mismo se observa en el anexo 15, cuadro de lectura de curva de calibración.

#### **3.6.5. Cuantificación de proteínas**

La cuantificación de proteínas se realizó mediante el método de Lowry modificado (Experimental Biosciences, 2015). El reactivo de Lowry se preparó mezclando tres soluciones en una proporción de 3:1:1 (reactivo de cobre, SDS al 1% (p/v) y NaOH 1M, respectivamente), según lo indicado en la Tabla 7, con medición de absorbancia a 750 nm. Este análisis se llevó a cabo en las fracciones del extracto crudo de SOD reducido en pigmentos. Así mismo en el anexo 13. Se presenta el cuadro de lectura de la curva de calibración de proteínas.

**Tabla 7.***Preparación de reactivos Lowry 2x en relación 3:1:1*

| <b>Reactivo Cobre</b>               |       |                          |      |
|-------------------------------------|-------|--------------------------|------|
| Carbonato de sodio                  | 2g    | H <sub>2</sub> O tipo II | 26mL |
| CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O | 0,04g | H <sub>2</sub> O tipo II | 2mL  |
| Tartrato NaK                        | 0,02g | H <sub>2</sub> O tipo II | 2mL  |
| <b>SDS 1%</b>                       |       |                          |      |
| Dodecil sulfato sódico              | 0,1g  | H <sub>2</sub> O tipo II | 10mL |
| <b>NaOH 1M</b>                      |       |                          |      |
| Hidróxido de sodio                  | 0,4g  | H <sub>2</sub> O tipo II | 10mL |

Nota : (Experiental Biosciences, 2015)

**a. Medición de proteínas**

Se tomaron 100 µL del extracto y/o estándar crudo enzimático libre de pigmentos y se añadieron 100 µL del reactivo Lowry 2x. Las muestras se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Luego, se agregó 50 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 0,2 N, se agitó rápidamente y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las absorbancias se midieron en un lector de microplacas a 750 nm. (Experiental Biosciences, 2015).

**b. Curva de calibración proteínas**

La curva de calibración del ensayo se elaboró utilizando una solución patrón de Albúmina de Suero Bovino (BSA) a 1 mg/mL, disuelta en Buffer Fosfato de Potasio (PBS) 0,1M. En la Tabla 8 se detallan los volúmenes de BSA y PBS utilizados para la construcción de la curva de calibración así mismo se puede observar la gráfica en el anexo 14.

**Tabla 8.**

*Preparación de la curva de calibración de BSA para cuantificación de proteínas.*

| Nº tubo | V. patrón BSA | V. Buffer (uL) | V. final (uL) | Concentración final (mg/mL) |
|---------|---------------|----------------|---------------|-----------------------------|
| 0       | 0             | 200            | 200           | 0,000                       |
| 1       | 5             | 195            | 200           | 0,025                       |
| 2       | 10            | 190            | 200           | 0,050                       |
| 3       | 15            | 185            | 200           | 0,075                       |
| 4       | 20            | 180            | 200           | 0,100                       |
| 5       | 25            | 175            | 200           | 0,125                       |
| 6       | 30            | 170            | 200           | 0,150                       |
| 7       | 25            | 165            | 200           | 0,175                       |
| 8       | 40            | 160            | 200           | 0,200                       |
| 9       | 45            | 155            | 200           | 0,225                       |
| 10      | 50            | 150            | 200           | 0,250                       |
| 11      | 75            | 125            | 200           | 0,375                       |
| 12      | 100           | 100            | 200           | 0,500                       |
| 13      | 125           | 75             | 200           | 0,625                       |
| 14      | 150           | 50             | 200           | 0,750                       |
| 15      | 175           | 25             | 200           | 0,875                       |
| 16      | 200           | 0              | 200           | 1,000                       |

Nota: Elaboración propia.

\*V. : volumen

### **c. Cálculos**

Se determinó la curva de calibración de absorbancia vs proteínas [mg/mL] (concentración de BSA de cada dilución) mediante un ajuste lineal de los datos por el método de mínimos cuadrados. El contenido de proteínas de cada una de las muestras se determinó por interpolación de la absorbancia medida sobre la curva de calibración.

### **3.6.6. Efecto de la temperatura de secado sobre la disponibilidad de SOD**

Se diseñó un experimento completamente al azar (DCA) para evaluar el impacto de diferentes temperaturas de secado sobre la disponibilidad de SOD. Las temperaturas de 30°C, 40°C y 50°C fueron asignadas como tratamientos para el secado de la biomasa fresca. Posteriormente, se tomaron muestras secas y se procesaron para la extracción de SOD. Se realizaron tres réplicas para cada tratamiento, y la determinación de la actividad enzimática (U/mL) se realizó por triplicado. Los promedios obtenidos se utilizaron para el análisis estadístico.

### **3.7. TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS**

La observación de los hechos se registró utilizando como instrumento la ficha de recolección de datos, complementada con cámara fotográfica e instrumentos de laboratorio. En cuanto a la validez y confiabilidad de los análisis, la determinación de la actividad enzimática se realizó en el Laboratorio de Investigación en Biotecnología Enzimática de la Facultad de Ciencias, mientras que el análisis químico proximal se llevó a cabo en el Laboratorio La Molina – Lima. El análisis de los datos se realizó con el apoyo de los programas Microsoft Excel 365 y STATISTICA 10, utilizando además gráficos y tablas de clasificación en Microsoft Excel 2016.

### **3.8. MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.**

Para la presentación de datos se empleó la estadística descriptiva a fin de detallar las características y comportamiento de las variables en forma gráfica. Para el contraste de hipótesis se utilizó la estadística inferencial mediante análisis de varianza.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Secado de espirulina (*Arthrospira platensis*)

La biomasa fresca se secó hasta alcanzar valores constantes de peso en gramos (ver Tablas 9, 10 y 11). Además, se elaboraron curvas de secado para cada tratamiento, las cuales se muestran en la figura 13.

**Tabla 9.**

*Datos de tiempo y peso para secado de espirulina a 30°C (Tratamiento 1).*

| Tiempo<br>(horas) | Peso<br>(R1)<br>g | Peso<br>(R2)<br>g | Promedio<br>g | %CV** |
|-------------------|-------------------|-------------------|---------------|-------|
| 0                 | 95                | 95                | 95,00         | 0,00  |
| 1                 | 63                | 64                | 63,50         | 1,11  |
| 2                 | 51                | 50                | 50,50         | 1,40  |
| 3                 | 45                | 45                | 45,00         | 0,00  |
| 4                 | 39                | 35                | 37,00         | 7,64  |
| 5                 | 37                | 36                | 36,50         | 1,94  |
| 6                 | 35                | 33                | 34,00         | 4,16  |
| 7                 | 34                | 33                | 33,50         | 2,11  |
| 8                 | 31                | 32                | 31,50         | 2,24  |
| 9                 | 29                | 31                | 30,00         | 4,71  |
| 10                | 29                | 30                | 29,50         | 2,40  |
| 11                | 28                | 28                | 28,00         | 0,00  |
| 12                | 28                | 27                | 27,50         | 2,57  |
| 13                | 27                | 27                | 27,00         | 0,00  |
| 14                | 25                | 26                | 25,50         | 2,77  |
| 15                | 25                | 26                | 25,50         | 2,77  |
| 16                | 25                | 26                | 25,50         | 2,77  |

Nota: Elaboración Propia.

%CV\*\* (Porcentaje de coeficiente de variación)

R1, R2, R3: Réplicas de secado

**Tabla 10.***Datos de tiempo y peso para secado de espirulina a 40°C (Tratamiento 2).*

| <b>Tiempo</b>  | <b>Peso(R1)</b> | <b>Peso(R2)</b> | <b>Peso(R3)</b> | <b>promedio</b> |               |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|
| <b>(horas)</b> | <b>g</b>        | <b>g</b>        | <b>g</b>        | <b>g</b>        | <b>% CV**</b> |
| 0              | 98              | 100             | 101             | 99,67           | 1,53          |
| 1              | 46              | 51              | 51              | 49,33           | 5,85          |
| 2              | 35              | 38              | 39              | 37,33           | 5,58          |
| 3              | 32              | 32              | 36              | 33,33           | 6,93          |
| 4              | 30              | 31              | 34              | 31,67           | 6,57          |
| 5              | 29              | 30              | 34              | 31,00           | 8,53          |
| 6              | 29              | 29              | 32              | 30,00           | 5,77          |
| 7              | 28              | 27              | 29              | 28,00           | 3,57          |
| 8              | 27              | 27              | 27              | 27,00           | 0,00          |
| 9              | 27              | 26              | 26              | 26,33           | 2,19          |
| 10             | 26              | 25              | 26              | 25,67           | 2,25          |
| 11             | 26              | 25              | 26              | 25,67           | 2,25          |
| 12             | 26              | 25              | 26              | 25,67           | 2,25          |

Nota: Elaboración propia.

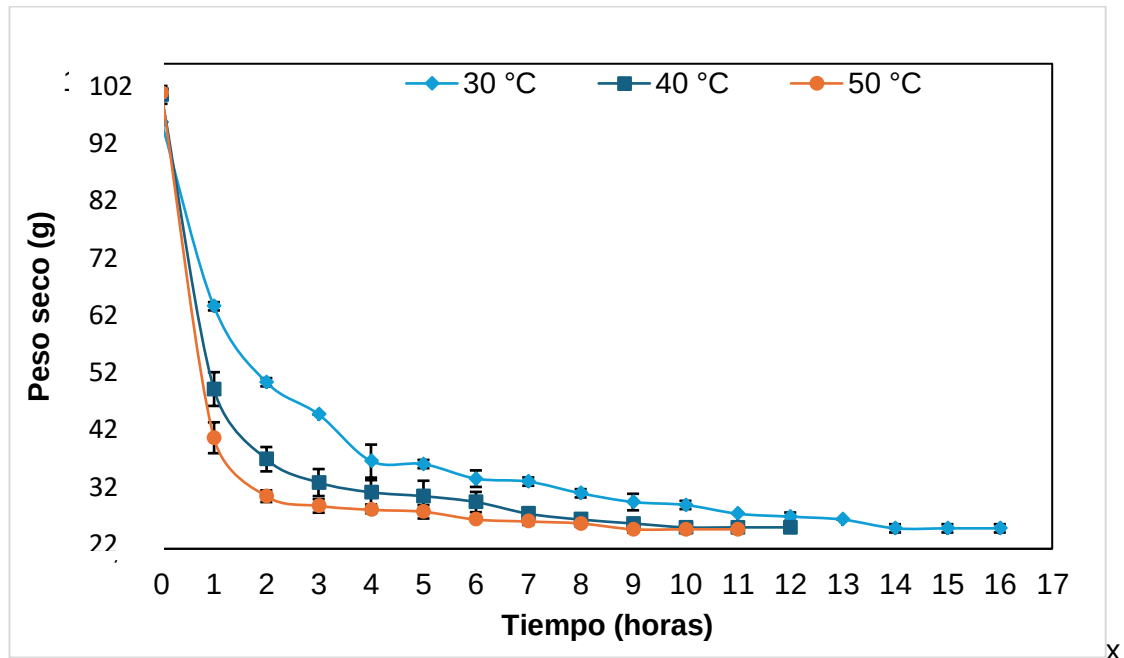
**Tabla 11.***Datos de tiempo y peso para secado de espirulina a 50°C (Tratamiento 3).*

| <b>Tiempo</b>  | <b>Peso(R1)</b> | <b>Peso(R2)</b> | <b>Peso(R3)</b> | <b>promedio</b> |             |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------|
| <b>(horas)</b> | <b>g</b>        | <b>g</b>        | <b>g</b>        | <b>g</b>        | <b>% CV</b> |
| 0              | 100             | 100             | 100             | 100,00          | 0,00        |
| 1              | 43              | 42              | 38              | 41,00           | 6,45        |
| 2              | 32              | 31              | 30              | 31,00           | 3,23        |
| 3              | 30              | 30              | 28              | 29,33           | 3,94        |
| 4              | 29              | 29              | 28              | 28,67           | 2,01        |
| 5              | 29              | 29              | 27              | 28,33           | 4,08        |
| 6              | 27              | 27              | 27              | 27,00           | 0,00        |
| 7              | 26              | 27              | 27              | 26,67           | 2,17        |
| 8              | 26              | 27              | 26              | 26,33           | 2,19        |
| 9              | 25              | 26              | 25              | 25,33           | 2,28        |
| 10             | 25              | 26              | 25              | 25,33           | 2,28        |
| 11             | 25              | 26              | 25              | 25,33           | 2,28        |

Nota: Elaboración propia.

**Figura 13.**

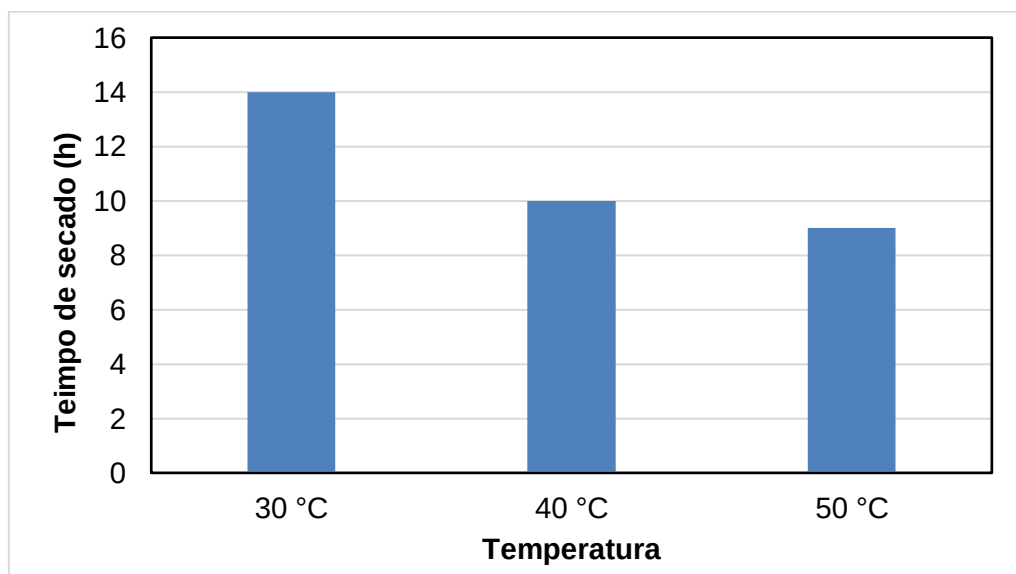
Curva de secado para los tratamientos de espirulina (*Arthrospira platensis*) según peso y tiempo.



Nota: Elaboración propia.

**Figura 14**

Temperatura vs. tiempo de secado de espirulina (*Arthrospira platensis*).



Nota: Elaboración propia.

#### 4.2. Obtención del extracto crudo

Las muestras secas se resuspendieron, se sometieron a sonicación y se extrajeron parcialmente los pigmentos, antes de utilizarlas para la determinación de la actividad enzimática de SOD (Tabla 12). Además, se midió la concentración total de proteínas (Tabla 16).

**Tabla 12.**

*Actividad enzimática de los extraídos enzimáticos de la espirulina.*

| Muestras  | Promedio (450nm) | Dilución | Vm (uL) | SOD (pocillo) | SOD U/ml |
|-----------|------------------|----------|---------|---------------|----------|
| T30       | 0,115            | 4        | 20      | 1,129         | 45,176   |
| T30       | 0,17             | 6        | 20      | 0,581         | 34,869   |
| T30       | 0,18             | 6        | 20      | 0,527         | 31,595   |
| T40       | 0,166            | 4        | 20      | 0,605         | 24,214   |
| T40       | 0,213            | 4        | 20      | 0,391         | 15,657   |
| T40       | 0,207            | 4        | 20      | 0,412         | 16,494   |
| T50       | 0,322            | 4        | 20      | 0,164         | 6,574    |
| T50       | 0,287            | 4        | 20      | 0,215         | 8,584    |
| T50       | 0,282            | 4        | 20      | 0,224         | 8,969    |
| Comercial | 0,306            | 4        | 20      | 0,185         | 7,41     |
| Fresca    | 0,072            | 10       | 20      | 2,763         | 276,349  |

Nota: Elaboración propia.

#### 4.3. Efecto de la temperatura de secado sobre la disponibilidad SOD

Las medias de actividad de SOD en las muestras secadas a 30, 40 y 50 °C presentan diferencias significativas, ya que el valor  $p$  ( $< 0,05$ ) indica que se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ), aceptándose la hipótesis alternativa ( $H_1$ ). De acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA) presentado en la Tabla 14, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de actividad de SOD para las diferentes temperaturas de secado utilizadas.

**Tabla 13.**

*Actividad enzimática de SOD en espirulina como datos de entrada para el ANOVA.*

| Tratamientos | R1     | R2     | R3     | Ȳ SOD (U/mL) | DE    | CV    |
|--------------|--------|--------|--------|--------------|-------|-------|
| 30 °C        | 45,176 | 34,869 | 31,595 | 37,213       | 7,088 | 0,190 |
| 40 °C        | 24,214 | 15,657 | 16,494 | 18,788       | 4,717 | 0,251 |
| 50 °C        | 6,574  | 8,584  | 8,969  | 8,042        | 1,286 | 0,160 |

Nota: Elaboración propia.

**Tabla 14.**

*Análisis de varianza de la media de actividad SOD en los tratamientos de secado de la espirulina.*

|                  | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios |          |          |
|------------------|--------------------|-------------------|------------------|----------|----------|
| Fuente           | GL                 | SS                | MS               | F        | p        |
| Intercepto       | 1                  | 4101,642          | 4101,642         | 165,9597 | 0,000013 |
| Temperatura (°C) | 2                  | 1305,917          | 652,958          | 26,4199  | 0,001060 |
| Error            | 6                  | 148,288           | 24,715           |          |          |
| Total            | 8                  | 1454,205          |                  |          |          |

Nota: Elaboración propia.

### Prueba de comparación múltiple de Tuckey

De acuerdo con la prueba de Tuckey (Tabla 15), existen dos grupos homogéneos entre los cuales existe diferencia significativa con un 95% de confianza.

**Tabla 15.**

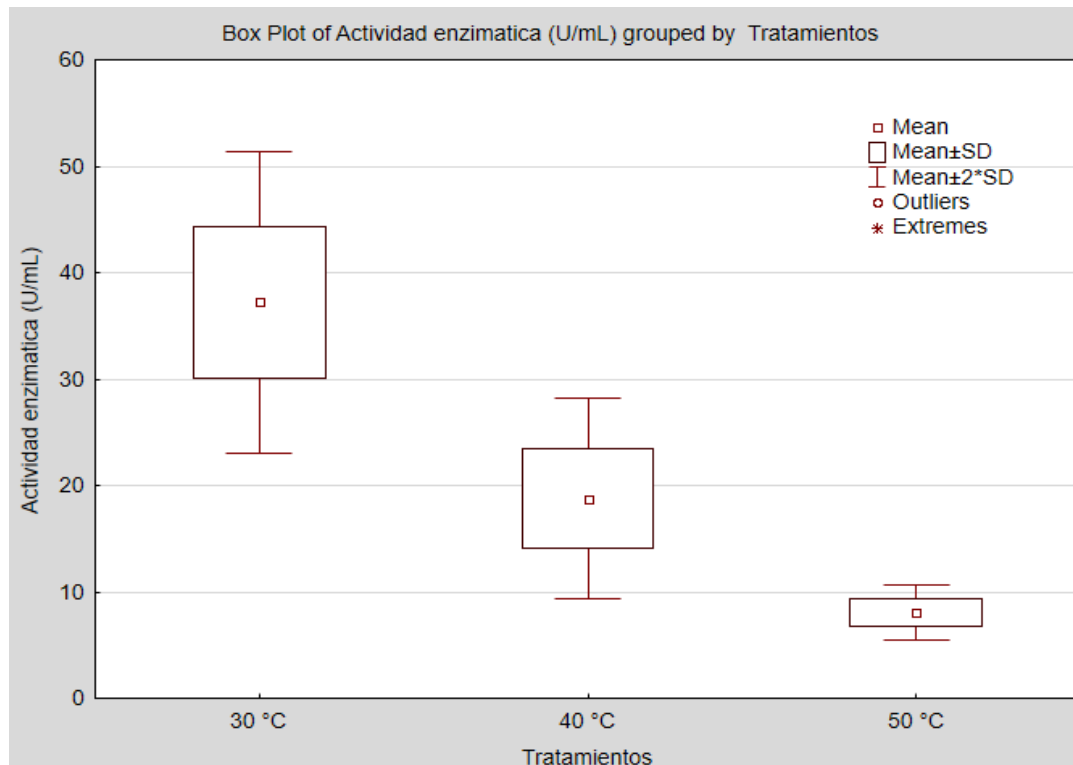
*Grupos homogéneos del promedio de temperaturas de secado de la espirulina.*

| Temperatura (°C) | Media    | Grupo 1 | Grupo 2 |
|------------------|----------|---------|---------|
| 50               | 8,04231  | ****    |         |
| 40               | 18,78831 | ****    |         |
| 30               | 37,21344 |         | ****    |

Nota: Elaboración propia.

**Figura 15**

*Diagrama de caja para la actividad enzimática de SOD agrupada por tratamientos*



Nota: Elaboración propia.

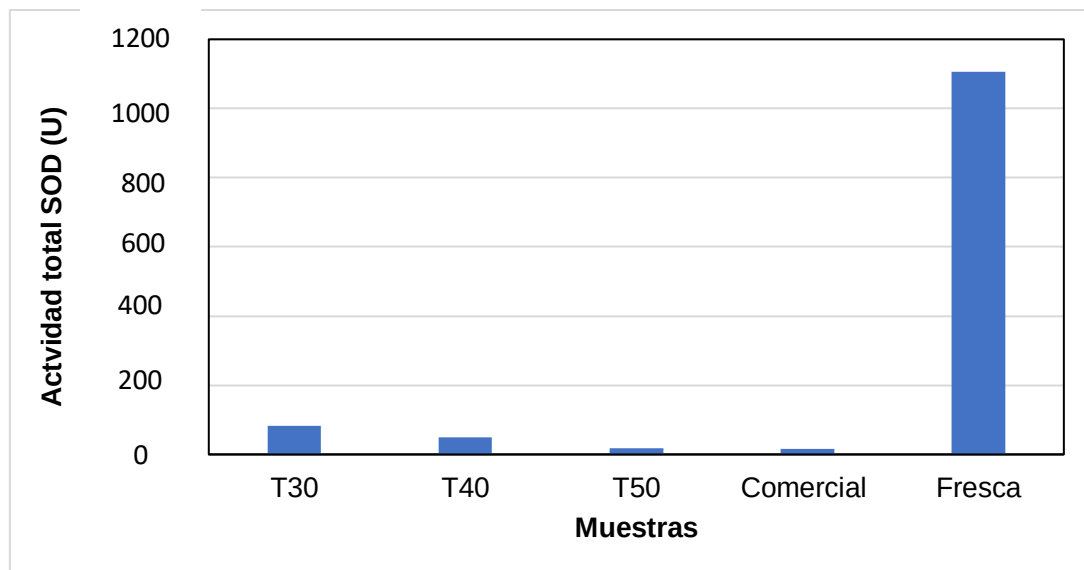
#### 4.4. Comparación con una muestra comercial

Se compararon el rendimiento (Tabla 16), la actividad específica, la concentración de proteínas, la actividad total, el volumen total del ultrafiltrado y la actividad enzimática en U/mL de SOD para evaluar las diferencias. En cuanto al rendimiento (U/g de biomasa), el secado a 30 °C permitió preservar una mayor cantidad de enzima SOD en comparación con las temperaturas de secado de 40 y 50 °C. Además, se observó que el proceso de secado reduce la cantidad de enzima disponible (Figura 16).

**Tabla 16.***Rendimiento de la SOD por biomasa de espirulina.*

| Muestras              | Masa (g) | Actividad (U/mL) | Volumen total del ultrafiltrado (mL) | Actividad total (U) | Conc. proteína (mg/mL) | Actividad específica (U/mg) | Rendimiento (U/g biomasa) |
|-----------------------|----------|------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| T1 (30°C)             | 0,25     | 37,213           | 2,20                                 | 81,87               | 2,117                  | 17,58                       | 327,783                   |
| T2 (40°C)             | 0,25     | 18,788           | 2,60                                 | 48,85               | 1,813                  | 10,36                       | 195,398                   |
| T3 (50°C)             | 0,25     | 8,0423           | 2,30                                 | 18,50               | 1,975                  | 4,07                        | 73,989                    |
| Comercial BioEsencial | 0,25     | 7,408            | 2,20                                 | 16,30               | 2,650                  | 2,80                        | 65,192                    |
| Fresca                | 0,54     | 276,349          | 4,00                                 | 1105,40             | 0,550                  | 502,72                      | 2047,031                  |

Nota: Elaboración propia.

**Figura 16.***Esquema de Actividad enzimática SOD según muestras con mayor actividad.*

Nota: Elaboración propia.

#### 4.5. Análisis proximal de la espirulina (*Arthrospira platensis*) deshidratada, cultivada en laboratorio.

El análisis proximal de la espirulina deshidratada se llevó a cabo en el laboratorio "La Molina Calidad Total" de la Universidad Nacional Agraria La Molina (I.C.I.E.) (anexo 4). Los resultados obtenidos se compararon con los análisis proximales de dos muestras comerciales: "Spirulina Orgánica – Bio Escencial" y "QORI WILLKA – INTIPACHA" (también deshidratadas) ver en anexos 19 y 20.

**Tabla 17.**

Análisis proximal de la espirulina (*Arthrospira platensis*), en comparación con otras muestras comerciales.

| Parámetros<br>(g/100 g de muestra original) | Muestra de<br>investigación | QORI<br>WILLKA | Spirulina<br>Orgánica |
|---------------------------------------------|-----------------------------|----------------|-----------------------|
| Cenizas                                     | 5,8                         | -              | -                     |
| Proteínas                                   | 50,8                        | 65             | 70                    |
| Lípidos                                     | 0,4                         | 6,15           | 0,7                   |
| Carbohidratos                               | 35,5                        | 12             | 25                    |
| Humedad                                     | 7,5                         | 7,66           | 7                     |

Nota: Elaboración propia.

Un dato relevante que se observa en la tabla es la diferencia significativa en los niveles de proteínas entre las muestras. La muestra de investigación de espirulina (*Arthrospira platensis*) presenta un 50,8% de proteínas, lo que es considerablemente menor en comparación con las muestras comerciales, "QORI WILLKA" y "Spirulina Orgánica", que tienen un 65% y 70%, respectivamente. Esta diferencia podría deberse a las condiciones de cultivo y el procesamiento de las muestras, que influyen la concentración de proteínas en la espirulina. Además, se observa que la muestra de investigación tiene un contenido más bajo en lípidos (0,4%) en comparación con "QORI WILLKA" (6,15%) y "Spirulina

Orgánica" (0,7%), lo que podría reflejar variaciones en las fuentes y el tipo de espirulina utilizada, así como las condiciones de su secado y almacenamiento.

## **CAPITULO V:**

### **DISCUSIÓN**

En el presente trabajo de investigación, los valores de disponibilidad de SOD a diversas temperaturas de secado (30°C, 40°C, 50°C) y en la muestra fresca fueron: 327,478 U/g, 195,398 U/g, 73,989 U/g y 2047,31 U/g, respectivamente. Se observaron variaciones significativas en la disponibilidad de la enzima, lo que indica que a mayor temperatura de secado, la actividad de SOD disminuye considerablemente, reduciéndose a solo un 3,6 % del valor inicial. Estos resultados pueden compararse con los obtenidos por Luo et al. (2024), quienes no detectaron SOD en muestras deshidratadas, mientras que la actividad enzimática en la espirulina fresca alcanzó 167,7 U/g. La falta de disponibilidad de SOD en las muestras deshidratadas de su estudio podría estar relacionada con el uso de temperaturas altas durante el secado, aunque Luo et al. (2024) no especifican la temperatura utilizada en su proceso. El uso de temperaturas elevadas podría desnaturalizar o degradar proteínas y enzimas sensibles al calor, como la SOD, lo que resultaría en una pérdida de actividad y contenido de la enzima en el polvo de espirulina, como lo señala Belay (2002). En contraste, la espirulina fresca conservó mejor estos nutrientes, presentando 2047,31 U/g de biomasa seca.

Por otro lado, Belay (2002) reportó que la espirulina contiene aproximadamente 1700 U/g de SOD por gramo de masa seca. Las diferencias entre nuestros resultados y los de Belay podrían deberse a varios factores, como las variaciones en las condiciones de cultivo y procesamiento de la espirulina, las cuales pueden influir significativamente en la concentración de SOD. Belay no especifica las temperaturas de secado utilizadas en su estudio, lo que dificulta una comparación directa. El secado a temperaturas más bajas, como las empleadas en nuestro estudio, preserva la disponibilidad de la actividad enzimática de la SOD. Además, la variabilidad genética entre cepas de espirulina podría ser un factor importante en las diferencias observadas, ya que la cepa utilizada en el

presente estudio podría tener una capacidad intrínseca menor para producir SOD en comparación con la cepa utilizada por Belay. Finalmente, también es relevante considerar las diferencias en los métodos de análisis, ya que nuestro estudio empleó el kit comercial CS0009-1KT (Sigma-Aldrich), mientras que Belay pudo haber utilizado un método diferente, lo que podría explicar las discrepancias en los resultados obtenidos.

Asimismo, se realizó una extracción acuosa de SOD, siguiendo estudios previos que comparan las extracciones con solventes orgánicos, los cuales reportan una menor actividad de SOD con estos métodos (Kuma et al., 2022). En dicho estudio, se obtuvo una actividad de 4,735 U/mg en el extracto acuoso, mientras que la actividad de SOD en un extracto etanólico fue de 2,009 U/mg. Estos resultados respaldan la elección de la extracción acuosa en el presente estudio, ya que este método permite obtener una mayor disponibilidad de SOD.

Por otro lado, los resultados obtenidos en este estudio (ver Figura 15) muestran que, a menor temperatura de secado, se conserva una mayor actividad antioxidante de SOD. Este hallazgo coincide con lo señalado por Mazurier (2021), quien afirma que un secado suave (por debajo de 40 a 45°C) preserva mejor la actividad antioxidante, compuesta por polisacáridos, previene la oxidación y protege el contenido intracelular, manteniendo así los beneficios antioxidantes.

En la investigación de Beşliu et al. (2023), se observó que la espirulina deshidratada a una temperatura de  $50 \pm 5^\circ\text{C}$  presentó una actividad de SOD de  $618 \pm 2,6$  U/mg de proteína. En el presente estudio, se encontraron variaciones significativas en la actividad enzimática de SOD en espirulina deshidratada a diferentes temperaturas. Los valores obtenidos fueron: 17,58 U/mg a  $30^\circ\text{C}$ , 10,36 U/mg a  $40^\circ\text{C}$ , 4,07 U/mg a  $50^\circ\text{C}$  y 502 U/mg en la muestra fresca. A pesar de que Beşliu et al. (2023) también utilizaron una temperatura de  $50^\circ\text{C}$ , nuestra investigación arrojó una menor actividad de SOD. Es importante considerar las diferencias en los métodos analíticos empleados para

cuantificar la SOD. En este estudio se utilizó el kit comercial CS0009-1KT de Sigma-Aldrich, mientras que Beşliu et al. (2023) emplearon un método basado en la inhibición de la reducción del nitroazul de tetrazolio (NBT) en presencia de riboflavina. Estas diferencias metodológicas podrían explicar las discrepancias en los resultados. Además, se puede afirmar que en este estudio se obtuvo una mayor actividad de SOD en comparación con los resultados reportados por Kuma et al. (2022).

Asimismo, al comparar los resultados obtenidos con los de la muestra comercial de espirulina tratada, que presentó una unidad de actividad de 65,192 U/g de biomasa seca, se observó que los tratamientos de secado en el presente estudio, especialmente el tratamiento a 30°C, resultaron en una mayor actividad, con 327,478 U/g de biomasa seca, lo que refleja una mayor disponibilidad de SOD. Esta diferencia puede deberse a varios factores, como la falta de información sobre el método de secado utilizado en el estudio comercial, la temperatura aplicada durante el secado y las condiciones del cultivo. Según Puig et al. (2023), diversos factores pueden influir en la actividad enzimática, como la concentración de enzimas, la concentración de sustrato, el pH, la salinidad y, especialmente, la temperatura. Estos factores pueden modificar el funcionamiento de las enzimas, desnaturalizarlas o afectar la velocidad de la reacción enzimática. En este contexto, la diferencia en la actividad enzimática de la espirulina comercial podría estar relacionada con estos factores, especialmente con la temperatura de secado, que es clave para preservar la integridad de las enzimas.

Por otro lado, en la Tabla 17 se presentan los resultados comparativos del análisis químico proximal de las muestras: tratadas en la investigación, QORI WILLKA (INTIPACHA) y Spirulina Orgánica. Como se observa, existe variación en la cantidad de nutrientes, lo cual podría estar relacionado con las condiciones de cultivo (luz, oxígeno, temperatura, pH) durante la etapa de cultivo de la espirulina. Estos resultados concuerdan con la información reportada por IMARPE, 2019 y Pérez et al., 2014.

## CONCLUSIONES

Las altas temperaturas de secado afectaron negativamente la disponibilidad de la Superóxido Dismutasa (SOD) en los extractos de *Arthrospira platensis*, evidenciando que temperaturas superiores a 30°C provocaron una disminución significativa en la actividad enzimática de la enzima.

El estudio identificó que el secado a 30°C fue la temperatura más adecuada para conservar los niveles de SOD, ya que permitió mantener la mayor disponibilidad de actividad enzimática en comparación con los tratamientos a 40°C y 50°C, los cuales mostraron una mayor pérdida de SOD.

La evaluación del rendimiento de la extracción de SOD antes y después del secado mostró que la muestra fresca presentó rendimiento de 2047,030 U/g. En comparación, los tratamientos a 30°C, 40°C y 50°C resultaron en valores de 327,478 U/g, 195,398 U/g y 73,989 U/g, respectivamente, lo que evidenció una pérdida significativa de actividad enzimática durante el proceso de secado. Al comparar estos resultados con los de la muestra fresca (sin tratamiento), se observó que la cantidad de SOD disponible era considerablemente mayor en la muestra fresca. Estos hallazgos demuestran que una mayor cantidad de SOD se pierde tras el secado, y que una temperatura de secado más baja, como la de 30°C, resulta más efectiva para preservar y mantener una mayor disponibilidad de SOD.

El análisis proximal de la espirulina (*Arthrospira platensis*) deshidratada reveló una composición química caracterizada por un alto contenido de proteínas (50,8 g/100 g) y carbohidratos (35,5 g/100 g), con una baja proporción de grasas (0,4 g/100 g), humedad (7,5 g/100 g), cenizas (5,8 g/100 g) y fibra (2,6 g/100 g). Al comparar estos valores con otras muestras comerciales, como la de Qori Willka y la Spirulina Orgánica, se observa que la muestra de investigación tiene un contenido de proteínas inferior al de la Spirulina

Orgánica (70 g/100 g) y Qori Willka (65 g/100 g), pero presenta un mayor porcentaje de carbohidratos en comparación con ambas (12 g/100 g y 25 g/100 g, respectivamente). Además, la muestra de investigación tiene un contenido de lípidos considerablemente más bajo en comparación con Qori Willka (6,15 g/100 g), lo que sugiere una composición nutricional distinta y posiblemente beneficiosa en función de las necesidades dietéticas. Estos resultados destacan las diferencias en la composición nutricional de las diversas fuentes de espirulina y sugieren que cada una puede ofrecer ventajas según el tipo de consumo o suplemento deseado.

## RECOMENDACIONES

De acuerdo con el trabajo realizado, se recomienda a futuros tesisistas e investigadores profundizar en la estandarización de los métodos de análisis y explorar más a fondo las condiciones óptimas de cultivo, secado y extracción de SOD en la espirulina, con el fin de minimizar la pérdida de actividad enzimática de la SOD durante los procedimientos.

Además, se sugieren las siguientes recomendaciones:

1. Ensayar otros métodos para medir la actividad antioxidante de la SOD, como el método ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) y el método DMPD (diclorhidrato de N, N-dimetil-p-fenilendiamina), entre otros.
2. Mantener una alta precisión en el pipeteo durante los análisis, ya que se requiere exactitud para la determinación precisa de la actividad enzimática de la SOD.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Álvaro Martínez, N. M. (1994). Superóxido dismutasa. *ChemEvol*.
- Alban, G. P., Arguello, A. E., & Molina, N. E. (2020). Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Recimundo*, 163-173.
- Argento, F. (2016). *Factibilidad Técnica y Económica de la producción de spirulina*. Buenos Aires, Argentina: ITBA.
- Arias, F. G. (2015). *El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica (5ta ed.)*. Caracas, Venezuela: Editorial.
- Arnston, C. (2024). *Algae Protects Mitochondria Health With Superoxide Dismutase (SOD)*. Obtenido de energybits.com: <https://visuals.energybits.com/articles/algae-for-mitochondrial-health-scientific-references.pdf>
- Asghari, A., Fazilati, M., Latifi, A. M., Salavati, H., & Choopani., A. (2016). A Review on Antioxidant Properties of Spirulina. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 7.
- Barbosa, C. (1996). *Dehydration of foods*. Mexico.
- Belay, A. 2002. The potential application of spirulina (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *JANA*. 5:26-48.
- Beşliu, A., Chiselița, O., Chiselița, N., Efremova, N., & Chiriac, T. (2023). Evaluation of the biochemical composition and antioxidant activity of preparation based on pigments extracted from the remaining biomass of Arthrospira platensis. *Journal of Biological Research*, 1-5.
- Biasotti, A. C. (2014). *"Diseño y elaboración de un alimento funcional con Espirulina"*. Buenos Aires.

- Catalina Arnston. (2024). Las algas protegen la salud de las mitocondrias Con superóxido dismutasa (SOD). *pdf*. Boston, Massachusetts, Estados Unidos. Obtenido de energybits.com.
- Dedert. (2023). *Dedert Corporation*. Obtenido de dedert.com: <https://dedert.com/spray-dryers/guide/>
- Desmorieux, H., & Hernandez, F. (2004). Biochemical and physical criteria of spirulina. São Paulo, Brazil.
- Espinoza, J. K. (2017). *Estudio comparativo del rendimiento de la biomasa (isochrysis galbana) y (chaetoceros sp)*. Tacna.
- Esquivel González, O. M. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología*, 180-192.
- Experiental Biosciences. (2015). [www.ruf.rice.edu](http://www.ruf.rice.edu). Obtenido de <https://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/protein/lowry.html>
- Farinango, L. N. (2014). *Obtencion de epirulina por el secado al vacio para el enrriquesimiento nutricional de los productos alimenticios*. Quito, Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2880/1/T-UCE-0017-82.pdf>
- Farinango, L. N. (2014). *Obtención de la Espirulina en porvo por secado al vacio*. Quito.
- Fox, S. B., Linares, K. E., Torres, J. A., Almeida, N. N., Gualinga, R. D., Bonilla, N. J., & Sánchez., L. R. (2024). Efecto de la temperatura de secado sobre los compuestos polifenólicos y actividad antioxidante de las hojas de Piper aduncum L. *La técnica*, 9.

- Fox, S. B., Torres, J. A., Almeida, N. N., Gualinga, R. D., Bonilla, N. J., & Sánchez, L. R. (2024). Efecto de la temperatura de secado sobre los compuestos polifenólicos y actividad antioxidante de las hojas de *Piper aduncum* L. *La técnica*, 9.
- Galvis, O. Z. (2006). Tipos de Investigación. *Revista Científica General José María*, 13-14.
- Gómez, Z. A. (2020). “Efecto de la temperatura de secado y evaluación de la capacidad antioxidante de la hoja de achiote (*bixa orellana* L.), para la utilización en la elaboración de filtrante en la provincia de coronel portillo”. Pucallpa.
- Hassanen, M. R., Mahfouz, M. K., Farid, A. S., & Fadlullah, A. H. (2015). Biochemical effects of spirulina platensis against oxidative stress caused by doxorubicin. *Revista Médica Veterinaria Benha.*, 147-154.
- Hernandez, A., Moya, M. G., Marquez, A., & Acevedo, L. (2024). A comprehensive exploration from conventional air drying to microwave drying methods. *scienceDirect*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article>
- HO, T. M., Truong, T., & Bhandari, B. (2017). Non- equilibrium states and glass transitions in foods. *ScienceDirect*, 111-136.
- INTIPACHA. (2022). Proceso de cultivo artesanal de espirulina (*Arthrospira platensis*). Ica, Perú.
- IMARPE 2019. Informe. V. 46 nº1, Lima-Callao
- Ismaiel, M. M., El Ayouty, Y. M., Loewen, P. C., & Normore, M. D. (2014). Characterization of iron-containing superoxide dismutase and its stress response in the cyanobacterium *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 1649-1658.
- Jung, C. H., Braune, S., Waldeck, P., Küpper, J.-H., Petrick, I., & Jung, F. (9 de junio de 2021). Morphology and growth of *Arthrospira platensis* during cultivation in a flat-

- type bioreactor. *National Library of Medicine*. Obtenido de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8229077/>
- Kuma, A., Ramamoorthya, D., Vermaa, E. d., Kumar, A., Kumar, N., kanak, R. k., . . . Kalai, M. (2022). Actividades antioxidantes y fitonutrientes de *Spirulina platensis*. *Nexus 6 de Energía*, 1-10.
- López, E. P. (2013). *Superalimento para un mundo en crisis: Spirulina a bajo costo* (Vol. 31). Idesia, Chile. Obtenido de [file:///C:/Users/HP/Downloads/Superalimento\\_para\\_un\\_mundo\\_en\\_crisis\\_Spirulina\\_a\\_.pd](file:///C:/Users/HP/Downloads/Superalimento_para_un_mundo_en_crisis_Spirulina_a_.pd)
- Luo, G., Liu, H., Yang, S., Sun, Z., Sun, L., & Wang, y. L. (2024). Manufacturing processes, additional value and versatile food applications of fresh microalgae spirulina. *Frontiers in Nutrition*, 1-10. doi:10.3389/fnut.2024.1455553
- Marín, E. X. (2019). *Efecto de tres niveles de temperaturas de secado en la actividad antioxidante y contenido de polifenoles totales presentes en hojas de guanábana (Annona muricata), Pucallpa, Perú*. Pucallpa.
- Martin, N. M. (2015). Efecto de la temperatura y tiempo de secado por ventana refractante en la humedad y color del rocoto (*Capsicum pubescens*) y costo energético. Lima, Perú. Obtenido de <file:///C:/Users/HP/Desktop/EDITH%202020/CLASES%20ONLINE/SEMINARIO/secado%20ventana%20refractante%20efecto%20de%20temperatura%20en%20el%20rocoto.pdf>
- Mazurier, N. (2021). Doña Espirulina. Una gran dama. *Revista Ae*, 6. Obtenido de <https://revista-ae.es/cultivo-ecologico-espirulina-valencia/>
- Migue, P. A., & Isela, J. C. (2019). *ENCINETIC UPIIG*. Obtenido de <https://sites.google.com/site/enzineticipiig/home>

- Morales, B., León, C., Valdivia, P., Franco, C., & Tejacal., A. (2008). Sistema enzimático antisenescencia, catalasa-Superoxido Dismutasa, de frutos de pitajaya (*Hylocereus undatus*) almacenados confrio. *Chapingo. Serie horticultura*.
- Mote, R., Gulagonda, I., Dhage, V., Madane, M., Nikam, A., Shendge, S., . . . Upadhyay, J. (2024). Spirulina is a supplement for the human future. *of Pharm. Science*, 2(8), 2654-2681. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.13234503>
- Nicolas. (2015). Obtenido de ecospirulina.es: <https://www.ecospirulina.es/el-metodo-de-secado-de-la-espirulina-interfiere-en-su-calidad-lo-sabias/>
- Osorio, F. N. (2024). Efecto de la temperatura del secado al vacío sobre la cinética de secado, compuestos bioactivos y actividad antioxidante de flores de fucsia (*Fuchsia magellanica*). Santiago, Chile.
- Posadas, D. I. (2003). *Clonación y secuenciación y mapeo cromosómico de las dos formas de la Enzima Superoxido Dismutasa tipo (CuZn) de la levadura marina Debaryomises hansenii*. La paz.
- Perez, A. H., & Labbè, J. (2014). *Microalgas, cultivo y beneficios*. Revista de Biología Marina y Oceanografía, Chile.
- Prada, R. G. (2021). *Producción de Arthrospira platensis (Spirulina)*. Ica.
- Puetate, F. A., Insuasti, J. A., Revelo, D. A., & Camilo. (2021). Producción de espirulina (*Arthrospira platensis*). *Biorrefinería*, 9.
- Puig, R. P. (27 de noviembre de 2023). Superóxido dismutasa. Obtenido de <https://www.lifeder.com/superoxido-dismutasa/>
- Ricardo, R. (2020). Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática. Obtenido de <https://estudyando.com/efecto-de-la-temperatura-sobre-la-actividad-enzimatica/>

- Río, H. E. (2023). El superóxido dismutasa (SOD) es un potente antioxidante. Mexico. Obtenido de bioquimicanutricional.com.
- Salazar, I. D. (2017). 'Efecto de la cantidad de biomasa algal y tiempo de secado por ventana refractante sobre sus características fisicoquímicas de *Spirulina* sp. Deshidratada. Trujillo, Perú.
- Schawars, B. (2009). *Spirulina "La más antigua y poderosa nutrición hoy a su alcance"*. Quito: Silvertk.
- Sigma-Aldrich. (2022). Superoxide Dismutase Activity Assay Kit. Darmstadt, Alemania. Obtenido de [https://www.merckmillipore.com/PE/es/product/Superoxide-Dismutase-Assay-Kit-II,EMD\\_BIO-574601](https://www.merckmillipore.com/PE/es/product/Superoxide-Dismutase-Assay-Kit-II,EMD_BIO-574601)
- Timberlake, K. C. (2013). *Química general, orgánica y biológica: estructuras de la vida*. Mexico: Pearson Educación.
- Ughetti, A., D'Eusano, V., Strani, L., Russo, A. L., & Roncaglia, F. (2024). Influence of drying and storage conditions on the volatile organic compound profile of *Spirulina platensis*. *SciFeed*.
- Uribe, F. H. (2016). *Efecto de la deficiencia de nitrógeno y la radiación uv en la actividad fotosintética y en los compuestos antioxidantes de las cianobacterias Spirulina(Arthrospira) maxima y phormidium persicinum*. La paz, Baja California.
- Ventura. (2010). *Cianobacterias esenciales en la historia y el futuro del planeta*.
- Zalduegui, P. C. (1975). *Enzimas*. Madrid, España: Impreso en la E.T.S. de Ingenieros Agronomos de Madrid.
- Zapata, C. A. (2011). *Determinación de las propiedades Físico – Químicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para la aplicación de alimentos*. Quito: Escuela Politécnica Nacional 2011.

Zheng, M., Liu, Y., Zhang, G., Yang, Z., Xu, W., & Chen, Q. (2023). Applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food and cosmetics. *National Library of Medicine*. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/9/1675>

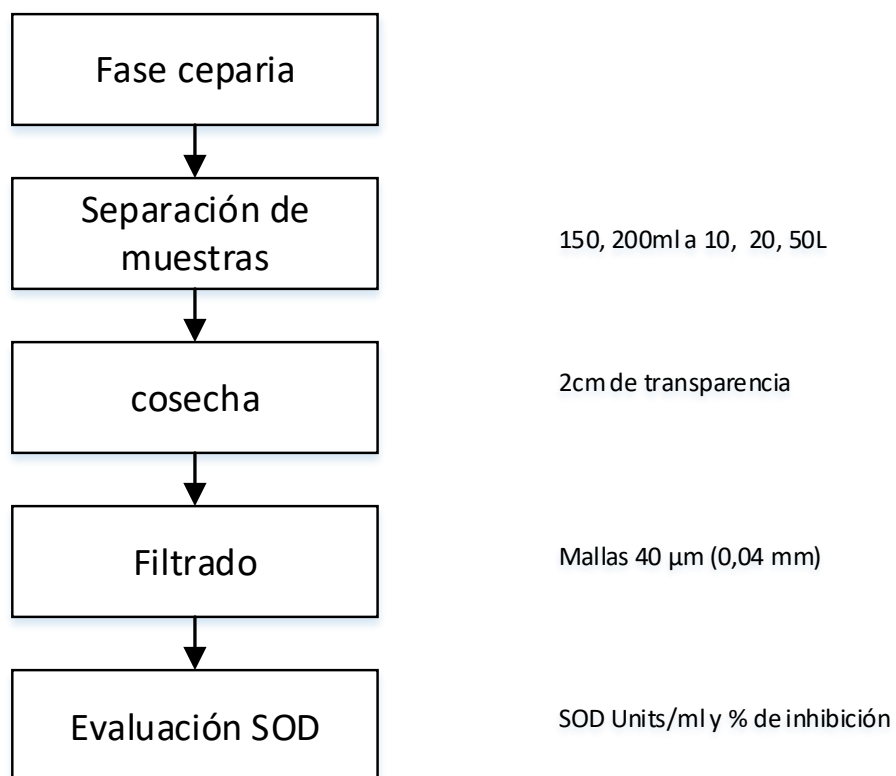
## ANEXOS

### Anexo 1 Matriz de consistencia.

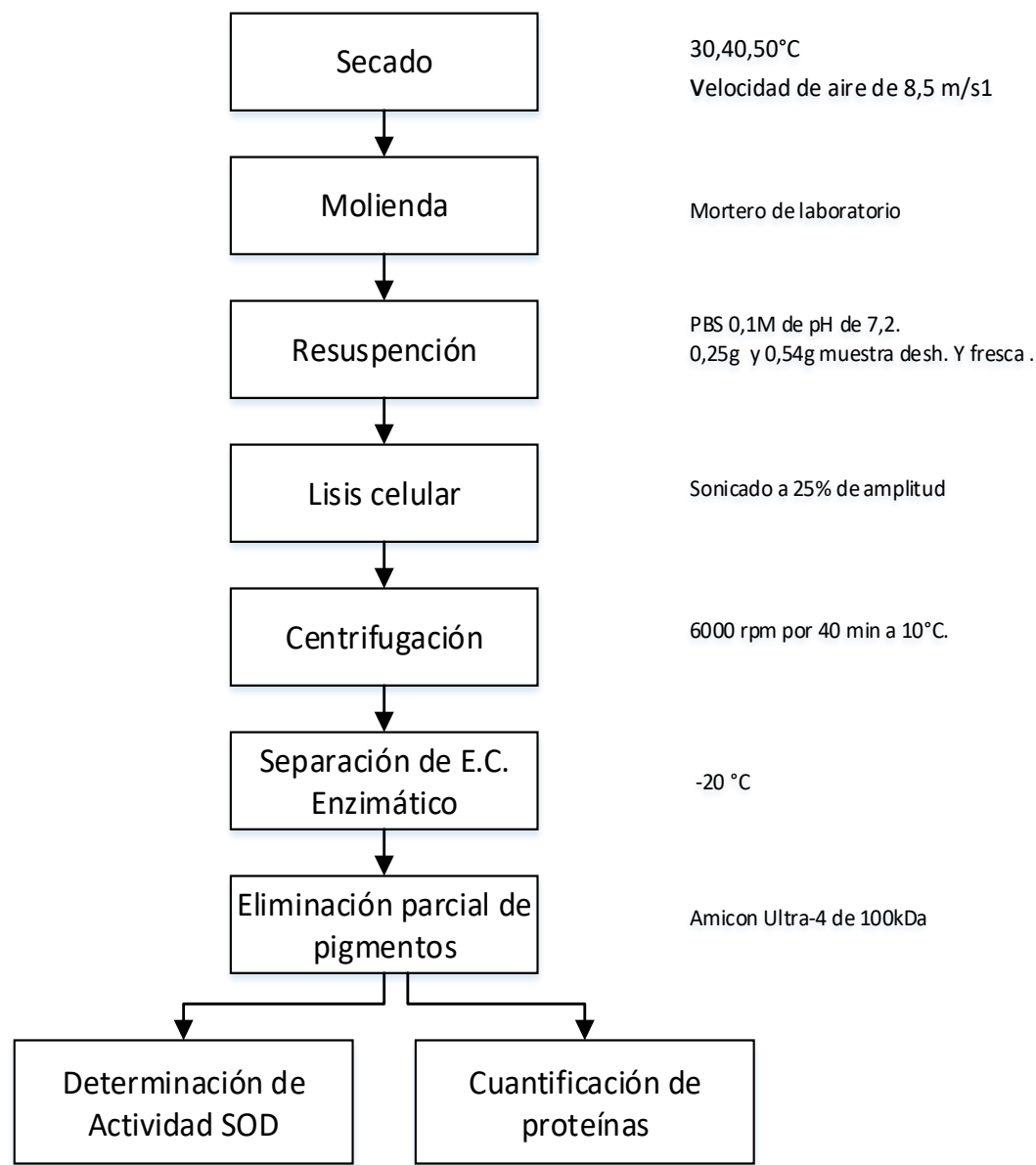
#### “EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO EN LA DISPONIBILIDAD DE S.O.D. EN ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*) CULTIVADA EN LABORATORIO”

|                                                                                                                                                                                        | OBJETIVOS                                                                                                                                                                      | HIPÓTESIS                                                                                                                                                                                    | VARIABLES                                                                                                                   | DIMENSIONES         | INDICADORES       | ESCALA DE MEDICION                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------|
| Interrogante general                                                                                                                                                                   | <b>Objetivo general</b>                                                                                                                                                        | <b>Hipótesis general</b>                                                                                                                                                                     | <b>DEPENDIENTE</b><br><br><i>Disponibilidad del SOD: unidades de enzima de SOD en la microalga producida (U/g biomasa).</i> | Análisis biológicos | SOD               | U/g                                                              |
| ¿Cuál será el efecto de la temperatura de secado en la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) cultivada en laboratorio? | Evaluar el efecto de la temperatura de secado en la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) posterior al secado de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ). | El secado en la producción de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) por encima de 30°C afecta la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD).                               |                                                                                                                             | Calidad química     | Análisis proximal | proteína, %<br>humedad, %<br>Carbohidratos, %<br>ceniza, % grasa |
| Interrogantes secundarias                                                                                                                                                              | <b>Objetivos específicos</b>                                                                                                                                                   | <b>Hipótesis específica</b>                                                                                                                                                                  | <b>INDEPENDIENTE</b><br><br><i>Temperaturas a utilizar en el experimento: 30 °C, 40°C y 50°C</i>                            | Calidad física      | T°: 30            | C°                                                               |
| ¿Cuál será la temperatura adecuada para mantener los niveles de superóxido dismutasa (SOD) en espirulina <i>Arthrospira platensis</i> durante el secado a 30, 40 y 50°C?               | Determinar la temperatura adecuada para mantener los niveles de Superóxido Dismutasa (SOD) durante el secado, entre 30, 40 y 50 °C.                                            | El secado en la producción de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) por encima de 30°C afecta significativamente la disponibilidad de la enzima superóxido dismutasa (SOD)             |                                                                                                                             |                     | T°: 40            |                                                                  |
| ¿Cuál será la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) antes y después del secado.                                                                                        | Evaluar la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) antes y después del secado.                                                                                   | La actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) se verá significativamente afectada por el proceso de secado, mostrando una disminución en su actividad antes y después del secado. |                                                                                                                             |                     | T°: 50            |                                                                  |
| ¿Cuál será la valoración proximal de la espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) deshidratada?                                                                                      | Determinar el análisis proximal de la espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ) deshidratada.                                                                                |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                             |                     |                   |                                                                  |

**Anexo 2.** Diagrama de flujo de cultivo de la espirulina (*Arthrospira platensis*).



**Anexo 3.** Diagrama de flujo del secado y obtención de SOD en espirulina (*Athrospiraplatensis*).



## Anexo 4. Certificado de Análisis Próximo de la espirulina (*Arthrospira platensis*).



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
*Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos*



**INFORME DE ENSAYOS**  
**Nº 001158 - 2024**

|                              |                                                                       |                       |  |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------|--|
| <b>SOLICITANTE</b>           | : UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE G.                               |                       |  |
| <b>DIRECCIÓN LEGAL</b>       | : AV. MIRAFLORES NRO. SN CERCADO (CIUDAD UNIVERSITARIA) TACNA - TACNA |                       |  |
|                              | : TACNA                                                               |                       |  |
|                              | RUC: 20147796634                                                      | Teléfono: 952 913 350 |  |
| <b>PRODUCTO</b>              | : <b>ESPIRULINA</b>                                                   |                       |  |
| <b>NÚMERO DE MUESTRAS</b>    | : Uno                                                                 |                       |  |
| <b>IDENTIFICACIÓN/MTRA.</b>  | : S.I.                                                                |                       |  |
| <b>CANTIDAD RECIBIDA</b>     | : 363,1 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.      |                       |  |
| <b>MARCA(S)</b>              | : S.M.                                                                |                       |  |
| <b>FORMA DE PRESENTACIÓN</b> | : Envasado, la muestra ingresa en bolsa sellada                       |                       |  |
| <b>SOLICITUD DE SERVICIO</b> | : S/S N°EN-000713 -2024                                               |                       |  |
| <b>REFERENCIA</b>            | : ACEPTACION TELEFONICA                                               |                       |  |
| <b>FECHA DE RECEPCIÓN</b>    | : 11/03/2024                                                          |                       |  |
| <b>ENSAYOS SOLICITADOS</b>   | : <b>FÍSICO/QUÍMICO</b>                                               |                       |  |
| <b>PERÍODO DE CUSTODIA</b>   | : No aplica                                                           |                       |  |

**RESULTADOS :**

**ENSAYOS FÍSICOS/QUÍMICOS :**  
**ALCANCE : N.A.**

| ENSAYOS                                                     | RESULTADO |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.- Humedad (g / 100 g de muestra original)                 | 7,5       |
| 2.- Grasa (g / 100 g de muestra original)                   | 0,4       |
| 3.- Cenizas(g / 100 g de muestra original)                  | 5,8       |
| 4.- Fibra Cruda(g / 100 g de muestra original)              | 2,6       |
| 5.- % Kcal. proveniente de Carbohidratos                    | 40,7      |
| 6.- % Kcal. proveniente de Grasa                            | 1,0       |
| 7.- % Kcal. proveniente de Proteínas                        | 58,3      |
| 8.- Energía Total(Kcal / 100 g de muestra original)         | 348,8     |
| 9.- Carbohidratos(g / 100 g de muestra original)            | 35,5      |
| 10.- Proteína(g / 100 g de muestra original) (Factor: 6,25) | 50,8      |

**MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO :**

- 1.- AOAC 930.04 Cap. 33, Pág. 1, 21st Edition 2019
- 2.- AOAC 930.09 Cap. 33, Pág. 28, 21st Edition 2019
- 3.- AOAC 930.05 Cap. 3, Pág. 1, 21st Edition 2019
- 4.- NTP 205.003.1980 (Revisada el 2011)
- 5.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 6.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 7.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 8.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 9.- Por Diferencia MS-INN Collazos 1993
- 10.- AOAC 978.04 (A) Cap. 3, Pág. 28, 21st Edition 2019

CONTINÚA INFORME DE ENSAYOS N° 001158 - 2024

Pág 1/2

Av. La Molina E/N (frente a la puerta principal de la Universidad Agraria) - La Molina - Lima - Perú  
 Cel.: 998378789 - 998373909 - 928694322  
 E-mail: [incci ventas.servicios@lamolina.edu.pe](mailto:incci ventas.servicios@lamolina.edu.pe) - Página Web: [www.lamolina.edu.pe/calidadtotal](http://www.lamolina.edu.pe/calidadtotal)  
 la molina calidad total



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

*Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos*



**INFORME DE ENSAYOS**

**N° 001158 - 2024**

**FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS:** Del 13/03/2024 al 21/03/2024.

**ADVERTENCIA:**

1. El usuario, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total Laboratorios-UNALM son responsabilidad del solicitante.
2. La Molina Calidad Total Laboratorios-UNALM es responsable de toda la información suministrada en el informe de ensayos, excepto la información suministrada por el solicitante que pueda o no afectar a la validez de los resultados.
3. Los resultados se aplican únicamente a la muestra recibida. No es un Certificado de Conformidad, ni Certificado del Sistema de Calidad de gestión productiva.
4. Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin autorización de La Molina Calidad Total Laboratorios-UNALM.

La Molina, 21 de Marzo del 2024



**COORDINADOR GENERAL DE LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS**

*[Firma]*

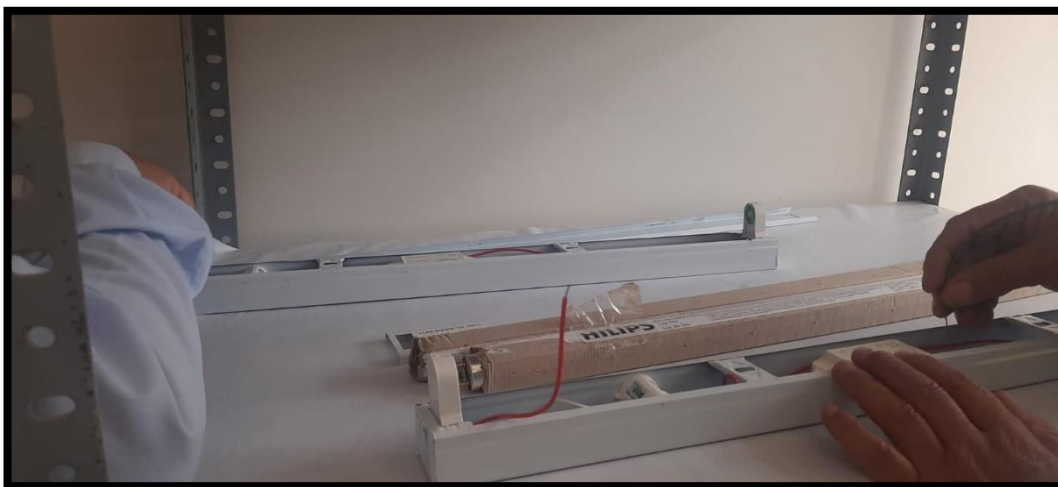
**DR. LUIS ALBERTO HERNÁNDEZ GARCÍA**  
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

**Anexo 5.** Evidencia fotográfica de cepa de espirulina (*Arthrospira platensis*).



Nota: Elaboración propia

**Anexo 6.** *Instalación y adaptación en el laboratorio de control de calidad ESIP.*



Nota: Elaboración propia

*Laboratorio preparado para cultivo.*



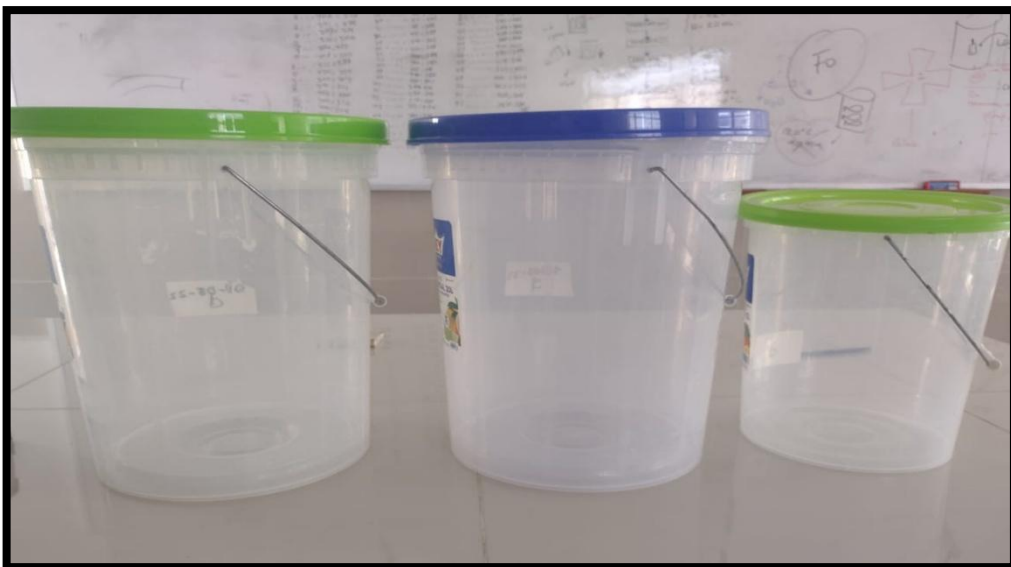
Nota: Elaboración propia

*Los aireadores trabajaron con 0.025vvm, adaptado para cultivo*



Nota: Elaboración propia

*Baldes de 20 y 10 litros para escalamiento.*



Nota: Elaboración propia

*Tachos de 50 y 100 litros para reposar agua y para suministrar medio de cultivo.*



Nota: Elaboración propia

*Termostato, termómetro y pH metro digital.*



Nota: Elaboración propia

**Anexo 7. Preparación de biorreactores para cultivo.**



**Anexo 8. Nutrientes ya preparados para agregar medio de crecimiento.**



**Anexo 9.** Cuadro de preparación de alimento, crecimiento y cosecha.

| NUTRIENTE            | POR 1 LITRO | POR 10 LITROS<br>(ejemplo) |
|----------------------|-------------|----------------------------|
| Spirusol crecimiento | 1mL         | 10ml/L                     |
| Spirumix crecimiento | 19.3g       | 193g/L                     |

**Anexo 10.** Preparación de medio de crecimiento en función al volumen.

1. En un balde se hace una marca al nivel de volumen Objetivo.

2. Se agregó un poco de agua

3. Se agregó ~~spirusol y spirumix~~  
crecimiento y mezclar.

4. Diluimos bien (sabemos que está bien diluido  
cuando las sales en el fondo no se asientan)

5. Llenar el balde de agua hasta el nivel objetivo



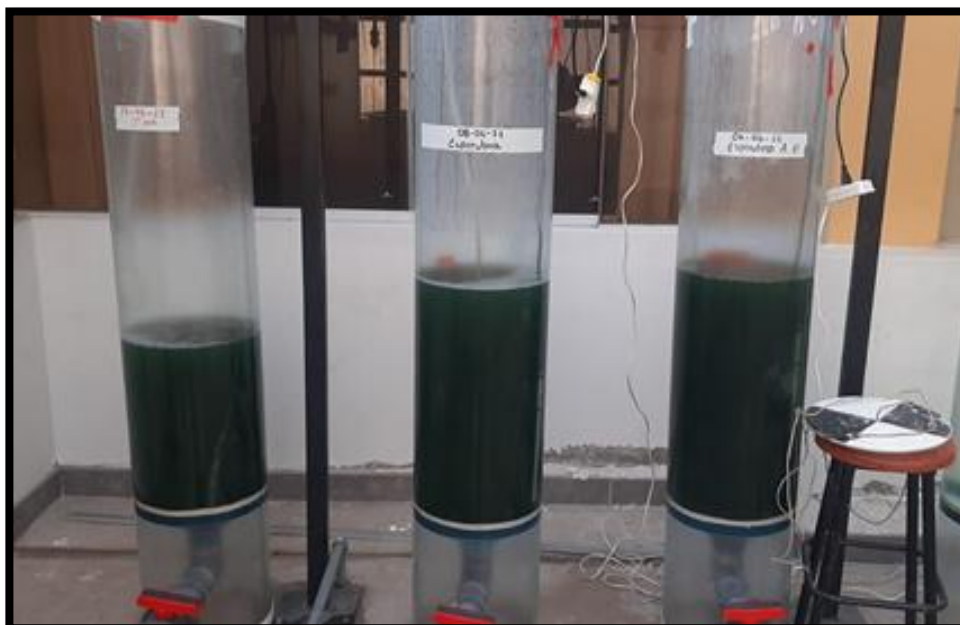
**Medio de crecimiento listo**

Nota: (INTIPACHA,2022)

**Anexo 11.** Cultivo de la microalga espirulina (*Arthrospira platensis*).



Nota: Elaboración propia



Nota: Elaboración propia

**Anexo 12. Evidencias fotográficas del secado.**

- En esta etapa, de SECADO, se realizó con el secador computarizado que se encuentra en Laboratorio de Operaciones Unitarias ESIP.
- También se necesitó reducir el tamaño del extrusado de Espirulina deshidratada, pulverizando al máximo con la ayuda de un mortero de laboratorio.



*Pesado de espirulina para iniciar el secado.*

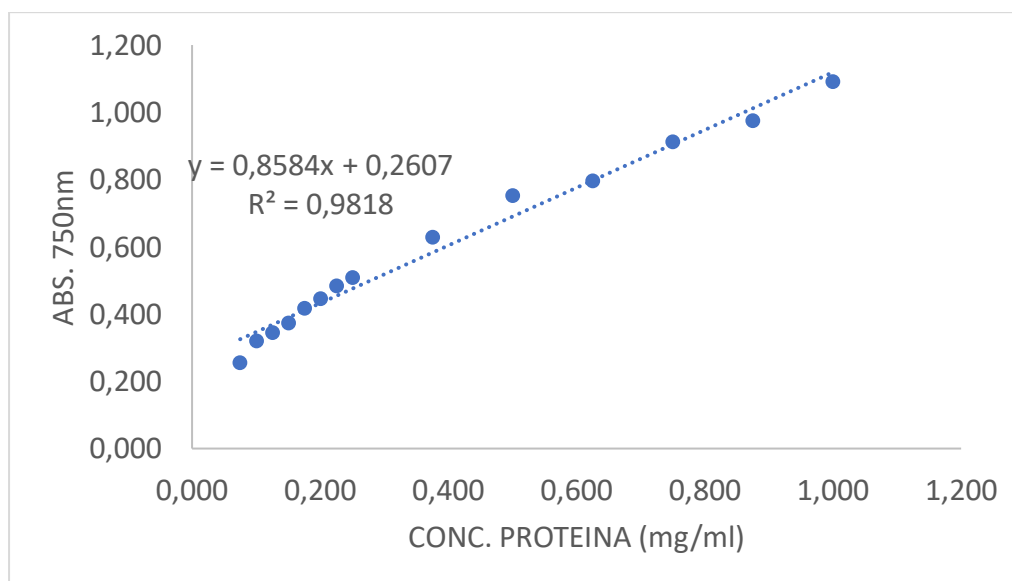


*Equipo secador por bandejas computarizado.*

**Anexo 13.** Cuadro lectura de curva de calibración de proteínas a 750nm.

| V patron | V rx Lowry | V Folin-C | V final | C final (mg/ml) | R1    | R2    | R3    | Abs neta |
|----------|------------|-----------|---------|-----------------|-------|-------|-------|----------|
| 0        | 100        | 50        | 250     | 0               | 0.015 | 0.02  | 0.007 | 0.014    |
| 10       | 100        | 50        | 250     | 0.05            | 0.171 | 0.182 | 0.173 | 0.175    |
| 20       | 100        | 50        | 250     | 0.1             | 0.273 | 0.307 | 0.295 | 0.292    |
| 30       | 100        | 50        | 250     | 0.15            | 0.345 | 0.396 | 0.342 | 0.361    |
| 40       | 100        | 50        | 250     | 0.2             | 0.403 | 0.452 | 0.456 | 0.437    |
| 50       | 100        | 50        | 250     | 0.25            | 0.409 | 0.478 | 0.489 | 0.459    |
| 100      | 100        | 50        | 250     | 0.5             | 0.609 | 0.566 | 0.619 | 0.598    |
| 150      | 100        | 50        | 250     | 0.75            | 0.769 | 0.789 | 0.733 | 0.764    |
| 200      | 100        | 50        | 250     | 1               | 0.856 | 0.834 | 0.852 | 0.847    |

**Anexo 14.** Grafica de curva de calibración de proteínas.

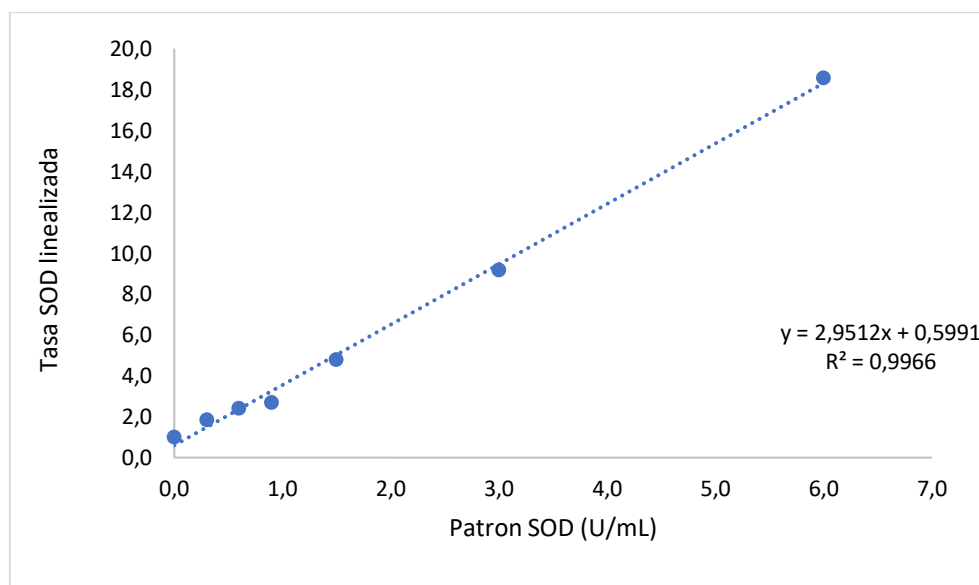


Nota: Elaboración propia

**Anexo 15.** Cuadro de lectura de curva de calibración de SOD a 450nm.

| Curva estandar    | SOD 450 nm |           |           |          |       |              |
|-------------------|------------|-----------|-----------|----------|-------|--------------|
| Patron SOD (U/mL) | Replica 1  | Replica 2 | Replica 3 | Promedio | LN    | Tasa SOD lin |
| 0.0               | 0.3850     | 0.3170    | 0.3350    | 0.346    | 0.309 | 1.000        |
| 0.3               | 0.2170     | 0.1900    | 0.2030    | 0.203    | 0.167 | 1.852        |
| 0.6               | 0.1660     | 0.1680    | 0.1610    | 0.165    | 0.129 | 2.404        |
| 0.9               | 0.1620     | 0.1470    | 0.1430    | 0.151    | 0.114 | 2.706        |
| 1.5               | 0.0970     | 0.1310    | 0.0750    | 0.101    | 0.065 | 4.784        |
| 3.0               | 0.0700     | 0.0790    | 0.0610    | 0.070    | 0.034 | 9.188        |
| 6.0               | 0.0530     | 0.0500    | 0.0560    | 0.053    | 0.017 | 18.560       |
| Blanco            | 0.0330     | 0.0370    | 0.0390    | 0.036    | 0.000 |              |

**Anexo 16.** Grafica de curva de calibración de SOD



Nota: Elaboración propia

**Anexo 17.** Volúmenes de reacción para muestra, estándar y blancos SOD.

| Muestra/<br>Estándar                |       | Controles |       |        |
|-------------------------------------|-------|-----------|-------|--------|
|                                     |       | No SOD    | No XO | Blanco |
| Muestra o Estándar de SOD           | 20ul  | ---       | 20ul  | --     |
| Solución de trabajo WST             | 160ul | 160ul     | 160ul | 160ul  |
| Solucion de trabajo Xantina Oxidasa | 20ul  | 20ul      | ---   | ---    |
| Dilucion Buffer                     | --    | 20ul      | 20ul  | 40ul   |

Nota : (Sigma-Aldrich, 2022)

**Anexo 18.** Volumen para determinar la curva estándar SOD.

| Volumen de<br>solución de<br>trabajo SOD (ul) | Dilución<br>volumen de<br>buffer (ul) | Concentración de SOD         |                                                        |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                                               |                                       | En estándar<br>(unidades/ml) | En pocillo<br>concentración<br>final (unidades<br>/ml) |
| 0                                             | 20                                    | 0,0                          | 0,00                                                   |
| 1                                             | 19                                    | 0,3                          | 0,03                                                   |
| 2                                             | 18                                    | 0,6                          | 0,06                                                   |
| 3                                             | 17                                    | 0,9                          | 0,09                                                   |
| 5                                             | 15                                    | 1,5                          | 0,15                                                   |
| 10                                            | 10                                    | 3,0                          | 0,30                                                   |
| 20                                            | 0                                     | 6,0                          | 0,60                                                   |

Nota : (Sigma-Aldrich, 2022)

Anexo 19. *Empaque de espirulina comercial de INTIPACHA de la marca Qori willka.*



**Anexo 20.** *Empaque de espirulina comercial de "Spirulina organica – BioEsencial"*



**Anexo 21.** certificado de Analisis de Cepa utilizada en el cultivo



**Certificate of Analysis**

**Product:** Inti Pacha Microalgas – High quality artisanal espirulina granulated

100% pure with no preservatives or colorants added

No irradiation used during its processing

Made of artisanal culture in the desert of Ica, Peru.

Species name: *Arthrospira platensis*

Certified strain, native to Ica, Peru

By purchasing this spirulina you directly support bringing spirulina to communities in the Peruvian jungle.

**LOT Number:** 240933-1      **MDF:** 17 September 2024      **Date tested:** October 2024

Tested by CITE Agroindustrial (CENTRO DE INNOVACION PRODUCTIVA Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA AGROINDUSTRIAL ICA)

**1. DESCRIPTION:**

| PARAMETERS                                          | SPECIFICATION                               | RESULTS  | TEST METOD        |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------|-------------------|
| Color                                               | Dark green granulated                       | Complies | In-House protocol |
| Size                                                | 100 % pass 1.5 millimeters pore size filter | Complies | In-House protocol |
| Cyanobacteria with potential to produce cyanotoxins | Not detected                                | Complies | In-House protocol |

**2. NUTRITIONAL ANALYSIS:**

| PARAMETERS   | SPECIFICATION | RESULTS | TEST METOD                 |
|--------------|---------------|---------|----------------------------|
| Protein (%)  | > 60          | 70.25   | ME.Q.18 Vol. Met. Kjeldhal |
| Ashes (%)    | < 10          | 6.31    | ME.Q.16 Grav. Calcination  |
| Moisture (%) | < 8           | 7.66    | ME.Q.13/02 Termogravimetry |

3. HEAVY METALS:

| PARAMETERS    | SPECIFICATION | RESULTS | TEST METOD        |
|---------------|---------------|---------|-------------------|
| Arsenic (ppm) | < 1.0         | < 0.5   | ME.Q.137 ICP - MS |
| Cadmium (ppm) | < 0.35        | < 0.03  | ME.Q.137 ICP - MS |
| Lead (ppm)    | < 1.0         | < 0.5   | ME.Q.137 ICP - MS |



Miguel Castro Rosas  
GERENTE GENERAL  
BIOTECNOLOGIAS DEL SUR S.A.C.

25 de October 2024

Miguel Castro

CEO and Founder

---

Razón social: BIOTECNOLOGIAS DEL SUR SAC

RUC: 20534523883

Marca comercial: Inti Pacha Microalgas

Celular: +51957433255

Mail: intipachamicro@gmail.com

---

**Anexo 22. Constancia de haber realizado análisis de actividad enzimática SOD**

## CONSTANCIA

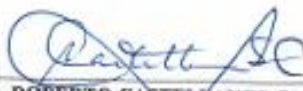
El que suscribe, **Dr. Roberto Castellano Cabrera**, jefe del Laboratorio de INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA ENZIMÁTICA de la Facultad de Ciencias UNJBG:

Se deja constancia de que la Srta. Edith Jaqueline Chambilla Mamani, bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, ha realizado diversas pruebas analíticas como parte de su tesis de pregrado titulada "EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO EN LA DISPONIBILIDAD DE SOD EN ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*) CULTIVADA EN LABORATORIO". A continuación, se detallan las actividades realizadas:

1. Análisis de actividad enzimática de Superoxido dismutasa (SOD), utilizando Kit comercial CS0009-IKT SIGMA-ALDRICH, requerido en su diseño experimental.
2. Determinación de proteínas totales mediante el método de Lowry en extraídos crudos enzimáticos de espirulina.
3. Uso y manejo de equipos: sonicador, vortex, lector de microplacas y centrifuga refrigerada.
4. Los trabajos analíticos fueron dirigidos y supervisados por los profesionales del laboratorio: Blga. Julissa Naquiche Calero y Blgo. Heber Ramírez.

Se otorga la presente constancia para los fines que el interesado considere conveniente.

Tacna, 13 de marzo de 2025.



**DR. ROBERTO CASTELLANOS CABRERA**  
Jefe del Laboratorio de Investigación  
en Biotecnología Enzimática  
FACI - UNJBG

LIBE-01-2025