

# Aprovechamiento de la biomasa residual de microalgas en la obtención de hidrolizados proteicos como insumo en la producción de piensos acuícolas

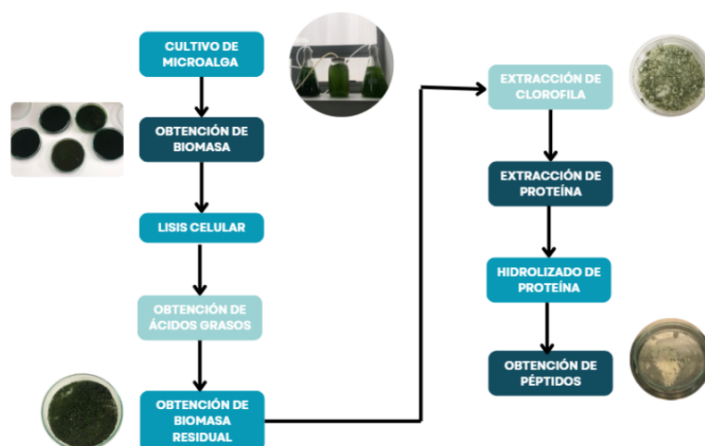
Yudtanduly Acuña Monsalve<sup>a</sup> ; Nidia Casas Forero ; María Isabel Benavides Torres ; Manuel Eduardo Sierra García 

Facultad de Ingeniería, Universidad el Bosque, Bogotá, Colombia

<sup>a</sup>yacunam@unbosque.edu.co

Fecha recepción: 04 de julio de 2024  
Fecha aceptación: 08 de octubre de 2024

## Resumen gráfico



## Resumen

Con el propósito de dar valor agregado a la biomasa residual producida después del proceso de extracción de aceites a partir de microalgas, se desarrolló una metodología para obtener un hidrolizado proteico como fuente de aminoácidos esenciales que podría ser empleado como un ingrediente en la producción de piensos acuícolas. La metodología incluye etapas de cultivo de la microalga, extracción de clorofila, extracción de la proteína e hidrólisis de la proteína.

Se obtuvieron 8 pruebas por duplicado en la extracción de proteína, en el cual el mejor rendimiento fue de 72,96 % a 45 °C y pH 13 por 120 minutos. Asimismo, en el hidrolizado proteico se realizaron 6 pruebas por duplicado empleando la enzima pepsina, donde el mayor grado de hidrólisis (21,98 %) se obtuvo a pH 3 y 37 °C, con una relación enzima sustrato de 2 %p por 4 horas. De acuerdo con los procesos con mayor rendimiento se realizó la caracterización y evaluación, a partir de la cual se concluyó que la metodología descrita para obtener el hidrolizado proteico fue exitosa al contar con la presencia de aminoácidos esenciales para la alimentación acuícola.

**Palabras clave:** Hidrolizado; Proteína; Aminoácidos; Acuicultura.

Cita: Acuña Monsalve Y, Casas Forero N, Benavides Torres MI, Sierra García ME. Aprovechamiento de la biomasa residual de microalgas en la obtención de hidrolizados proteicos como insumo en la producción de piensos acuícolas. rev. ion. 2024;37(3):7-13. doi:[10.18273/revion.v37n3-2024001](https://doi.org/10.18273/revion.v37n3-2024001)

# Use of microalgae residual biomass to obtain protein hydrolysates as input in the production of aquaculture feed

## Abstract

With the purpose of adding value to the residual biomass produced after the oil extraction process from microalgae, a methodology was developed to obtain a protein hydrolysate as a source of essential amino acids that could be used as an ingredient in the production of aquaculture feed. The methodology includes stages of microalgae cultivation, chlorophyll extraction, protein extraction and protein hydrolysis.

Eight duplicate tests were obtained in protein extraction, in which the best yield was 72.96 % at 45 °C and pH 13 for 120 minutes. Likewise, in the protein hydrolyzate, 6 duplicate tests were performed using the enzyme pepsin, where the highest degree of hydrolysis (21.98 %) was obtained at pH 3 and 37 °C, with an enzyme substrate ratio of 2 %w for 4 hours. According to the processes with the highest yield, characterization and evaluation were carried out, from which it was concluded that the methodology described to obtain the protein hydrolysate was successful because of the presence of essential amino acids for aquaculture feed.

**Keywords:** *Hydrolyzate; Protein; Amino acids; Aquaculture.*

# Uso de biomassa residual de microalgas para obter hidrolisados de proteína como insumo na produção de ração para aquicultura

## Resumo

Com o objetivo de dar valor acrescentado à biomassa residual produzida após o processo de extração de óleo de microalgas, foi desenvolvida uma metodologia para obtenção de um hidrolisado proteico como fonte de aminoácidos essenciais que poderá ser utilizado como ingrediente na produção de rações para aquicultura. A metodologia inclui etapas de cultivo de microalgas, extração de clorofila, extração de proteínas e hidrólise de proteínas.

Foram obtidos oito ensaios em duplicado para a extração de proteínas, em que o melhor rendimento foi de 72,96 % a 45 °C e pH 13 durante 120 minutos. Da mesma forma, no hidrolisado proteico, foram realizados 6 ensaios em duplicado com a enzima pepsina, onde o maior grau de hidrólise (21,98 %) foi obtido a pH 3 e 37 °C, com uma relação enzima-substrato de 2 %p durante 4 horas. De acordo com os processos de maior rendimento, procedeu-se à caracterização e avaliação, a partir da qual se concluiu que a metodologia descrita para a obtenção do hidrolisado proteico foi bem sucedida, uma vez que este apresentava a presença de aminoácidos essenciais para a alimentação em aquicultura.

**Palavras-chave:** *Hidrolisado; Proteína; Aminoácidos; Aquicultura.*

## Introducción

Actualmente, el 47 % de la proteína animal que se consume proviene de la industria acuícola [1] y se estima que aumente en un 60 % para el año 2050 debido al crecimiento poblacional [2]. Esto implica un incremento en la demanda de alimentos para las dietas de los peces, las cuales deben tener un alto contenido de proteína que proviene principalmente de la harina de pescado, y esto ha llevado a fluctuaciones en la disponibilidad y el precio, afectando la sostenibilidad de la industria acuícola [3]. Por tanto, hay un creciente interés por el uso de fuentes alternativas como las legumbres, las semillas, las nueces y las microalgas, para la obtención de estos insumos proteicos ricos en aminoácidos esenciales. Los aminoácidos como la arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina, son importantes en la dieta de los peces, ya que permiten mejorar el crecimiento, la ganancia de peso, la utilización de nutrientes, la resistencia a factores de estrés ambiental y acumulación de grasa en el cuerpo [4]. En este sentido, se ha visto en las microalgas una oportunidad, para la obtención de insumos proteicos para la alimentación acuícola, ya que son una fuente importante de los aminoácidos esenciales requeridos en la dieta de los peces [5]. Por tanto, obtener hidrolizados de proteína aprovechando la biomasa residual de microalgas como la *Parachlorella kessleri*, permitirá obtener un aditivo alimentario rico en proteínas de fácil digestión y asimilación, favoreciendo el proceso de ganancia de peso en los peces.

### Objetivos de aprendizaje

Desarrollar una metodología que permita obtener un hidrolizado proteico a partir de la biomasa residual microalgal (*Parachlorella kessleri*) que podría ser empleado como insumo en la producción de piensos acuícolas.

## Metodología

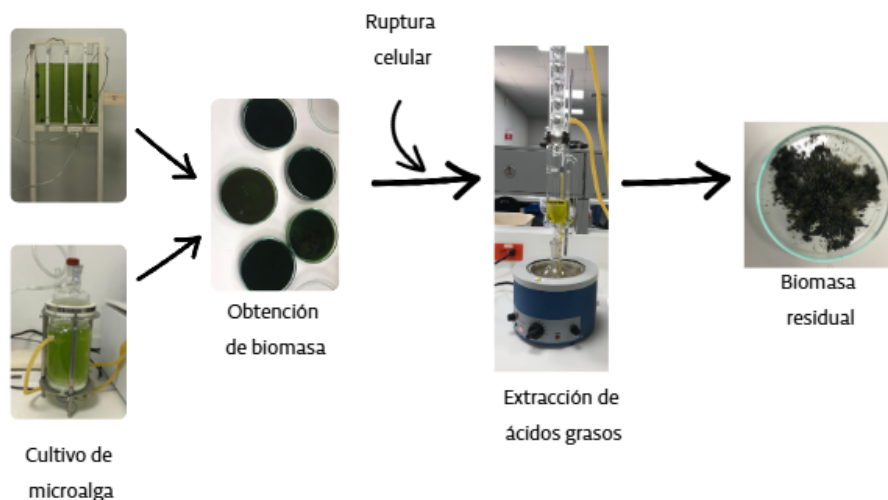
A continuación se presenta la metodología general, este proceso se dividió en las siguientes etapas: cultivo de la microalga, diseño del proceso para la extracción y obtención de un hidrolizado proteico y finalmente la evaluación del hidrolizado obtenido de la biomasa residual de *Parachlorella kessleri* en función del grado de hidrólisis, solubilidad y perfil aminoácidos.

### Condiciones de cultivo de microalga

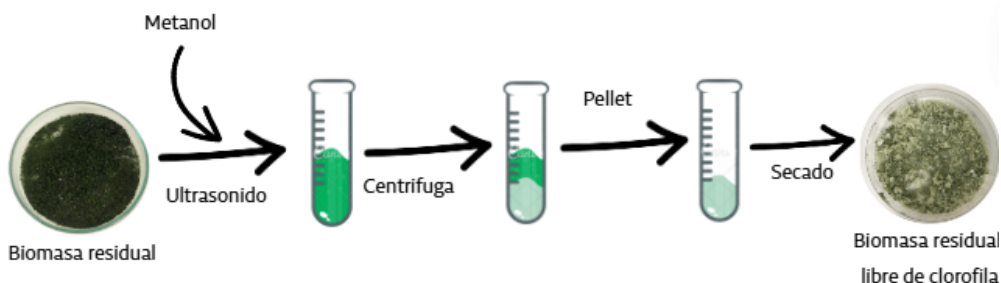
La microalga *Parachlorella kessleri*, fue adquirida del Laboratorio de Cultivo de Algas del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia. Fue cultivada en medio Bold's Basal Medium (BBM), a 25 °C con fotoperiodos de 14 h luz durante 15 días. Luego, el cultivo se centrifugó a 8000 rpm por 15 min donde se separó el pellet que corresponde a la biomasa. Esta se sometió a un proceso de secado a 40 °C por 24 h, y posteriormente se realizó la extracción de los ácidos grasos empleando el método soxhlet a 40 °C por 4 h empleando como solvente éter de petróleo. Los ácidos grasos fueron recolectados y empleados para otros procesos, y como producto de este proceso de extracción se obtuvo un subproducto que corresponde a la biomasa residual. A continuación, se detalla el procedimiento realizado para obtener la biomasa residual (Figura 1).

### Extracción de clorofila

Con el fin de mejorar el proceso de extracción de la proteína, se extrae la clorofila de la biomasa residual siguiendo la metodología propuesta por Amin *et al.* [6] y Taleb *et al.* [7]. Se partió de 1 g de biomasa residual y se mezcló con 20 mL de metanol (99,8 %), se mantuvo a 44 °C durante 30 min en un baño de ultrasonido (Limplus, ultrasonic cleaner, 40 kHz). Luego, la mezcla se centrifugó a 8000 rpm por 10 min y se tomó el pellet el cual fue secado a 40 °C por 24 h (Figura 2).



**Figura 1.** Etapas para obtener la biomasa residual a partir de cultivo de microalgas.

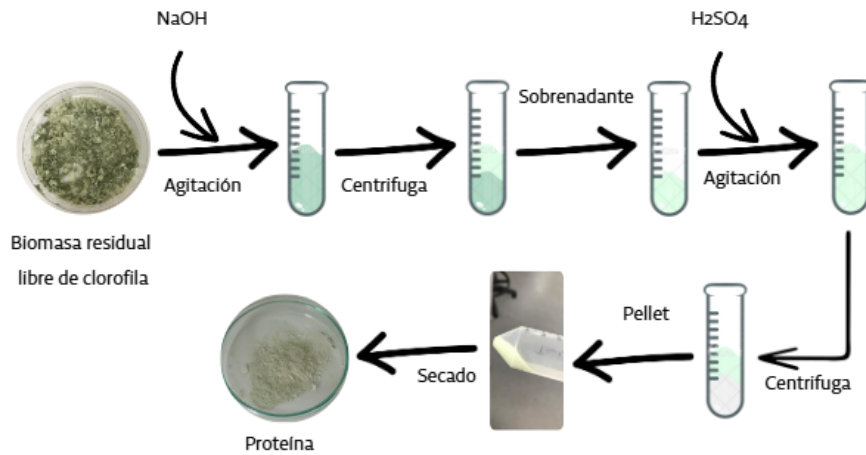


**Figura 2.** Esquema de Extracción de Clorofila de la biomasa residual.

### Extracción de proteínas

Las proteínas de la biomasa libre de clorofila se obtuvieron mezclando 1 g de biomasa con 40 mL de NaOH 0,1 M a 480 rpm mediante las condiciones de 45 °C, pH 13 por 120 min. Luego, la mezcla se centrifugó a 5000 rpm por 5 min. Al

sobrenadante se le adicionan 50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 M para reducir el pH al punto isoeléctrico (pH = 4 a 5,5) y se agitó por 1 h a 480 rpm y 45 °C. La proteína se recuperó mediante centrifugación a 5000 rpm durante 5 min y se descartó el sobrenadante. La proteína de la biomasa se secó a 40 °C durante 8 horas (Figura 3).



**Figura 3.** Esquema del proceso de extracción de proteínas a partir de la biomasa residual.

### Hidrolizado de proteína.

Los hidrolizados se obtuvieron a partir de la proteína extraída, a la cual se le adiciona la pepsina (1:10.0000; Panreac applichem) previamente activada con HCl 0,1 M hasta alcanzar un pH 3. La concentración del sustrato fue del 2 %p y se mantuvo la solución por 4 h a 37 °C en un agitador orbital a 200 rpm. La reacción enzimática se detuvo

mediante tratamiento térmico a 90 °C por 10 min. La suspensión obtenida se centrifugó a 5000 rpm durante 15 min y el sobrenadante se secó a 40 °C por 24 h (Figura 4). El hidrolizado obtenido se caracterizó en función de su solubilidad [8] y del perfil de aminoácidos, que se determinó empleando cromatografía líquida unida a masas.



**Figura 4.** Esquema del Hidrolizado de proteína.

## Resultados y análisis

Los aminoácidos son el componente principal del crecimiento de los tejidos en las especies, siendo importantes en el desarrollo de los piensos acuícolas. En donde, al suministrar un balance adecuado de aminoácidos esenciales y no esenciales, mejora el crecimiento, desarrollo y rendimiento productivo [9].

Dentro de los aminoácidos esenciales, en los hidrolizados obtenidos se presentan los aminoácidos detectados en 100 g de muestra (Tabla 1). De estos, la leucina es crucial para la producción de ATP en las especies, en donde aproximadamente el 35 y 40 % de esta se oxida. Asimismo, la glutamina y la leucina juntas contribuyen al 80 % de la producción de ATP en el hígado y músculo esquelético [10]. La arginina, leucina y prolina por su lado son aminoácidos relevantes para crecimiento y desarrollo debido a su capacidad antioxidante, ligado a su bajo peso molecular e hidrofobicidad siendo crucial en la implementación de piensos [11]. De modo que, la aplicación de hidrolizados de proteínas a partir de la biomasa residual de microalga para piensos acuícolas tiene potencial para mejorar la calidad nutricional del producto. De igual forma, han demostrado el potencial para reemplazar otros ingredientes convencionales de los alimentos para peces, reduciendo los costos e impactos ambientales [12].

**Tabla 1.** Composición de aminoácidos del hidrolizado proteico.

| Aminoácido   | Hidrolizado (mg/100g) |
|--------------|-----------------------|
| Arginina     | 185,73                |
| Glutamina    | 175,77                |
| Fenilalanina | 36,85                 |
| Isoleucina   | 20,30                 |
| Leucina      | 156,04                |
| Lisina       | 187,97                |
| Tirosina     | 201,32                |
| Valina       | 129,84                |
| Prolina      | 215,69                |

\*Los aminoácidos correspondientes a asparagina, glicina, histidina, metionina, serina, treonina y alanina no fueron cuantificables en 100 g de muestra.

Del mismo modo, la solubilidad proteica obtenida a partir de la biomasa residual microalgal al ser

del 80 % indica el beneficio para la alimentación de los peces, ya que todos los aminoácidos van a ser digeridos más eficientemente en sus sistemas [8].

## Conclusiones y recomendaciones

A partir de un subproducto como la biomasa residual de la microalga *Parachlorella kessleri* es posible obtener un hidrolizado proteico con potencial de convertirse en un bioinsumo, ya que tiene un alto contenido de aminoácidos esenciales que favorecen el crecimiento y desarrollo de los peces. Sin embargo, para la obtención del hidrolizado se utilizó una metodología que emplea tecnologías térmicas y solventes orgánicos, la cual podría ser mejorada al incorporar procesos biotecnológicos y el uso de tecnologías asistidas como microondas, ultrasonido, pulsos eléctricos, entre otras, haciéndolo más eficiente en términos ambientales y económicos.

## Referencias

- [1] Mishra B, Tiwari A, Mahmoud AE. Microalgal potential for sustainable aquaculture applications: bioremediation, biocontrol, aquafeed. *Clean Technol Environ Policy*. 2022;25:1-13. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02254-1>
- [2] Nagarajan D, Varjani S, Lee DJ, Chang JS. Sustainable aquaculture and animal feed from microalgae—nutritive value and techno-functional components. *Renew. Sustain. Energy Rev*. 2021;150:111549. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111549>
- [3] Millamena OM, Coloso RM, Pascual FP. Nutrition in Tropical Aquaculture: essentials of fish nutrition, feeds, and feeding of tropical aquatic species. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center; 2002.
- [4] Gasco L, Gai F, Maricchiolo G, Genovese L, Ragonese S, Bottari T, *et al.* Feeds for the aquaculture sector: Current situation and alternative sources. Berlin, Germany: Springer International Publishing; 2018.
- [5] Fatan NA, Sivajothy K, Yossa R. Comparative estimation of the lysine requirements in two generations of improved strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the grow-out stage. *Heliyon*. 2023;9(6):e17221. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17221>

- [6] Amin M, Chetpattananondh P, Khan MN, Mushtaq F, Sami, SK. Extraction and quantification of chlorophyll from microalgae *Chlorella* sp. IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. 2018;414(1):012025. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/414/1/012025>
- [7] Taleb A, Legrand J, Takache H, Taha S, Pruvost J. Investigation of lipid production by nitrogen-starved *Parachlorella kessleri* under continuous illumination and day/night cycles for biodiesel application. J. Appl. Phycol. 2018; 30:761-772. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1286-0>
- [8] Mohammadi M, Soltanzadeh M, Ebrahimi AR, Hamishehkar H. Spirulina platensis protein hydrolysates: Techno-functional, nutritional and antioxidant properties. Algal Res. 2022;65:102739. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102739>
- [9] Nagappan S, Das P, AbdulQuadir M, Thaher M, Khan S, Mahata C, *et al.* Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. J. Biotechnol. 2021;341:1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.09.003>
- [10] Li X, Zheng S, Wu G. Nutrition and Functions of Amino Acids in Fish. In Amino Acids in Nutrition and Health: Amino Acids in the Nutrition of Companion, Zoo and Farm Animals; Wu G, Editor. Switzerland: Springer International Publishing; 2021. p. 133–168.
- [11] Siahbalaee R, Kavooosi G, Noroozi M. Protein nutritional quality, amino acid profile, anti-amylase and anti-glucosidase properties of microalgae: Inhibition and mechanisms of action through in vitro and *in silico* studies. LWT. 2021;150:112023. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112023>
- [12] Ansari FA, Guldhe A, Gupta SK, Rawat I, Bux F. Improving the feasibility of aquaculture feed by using microalgae. Environ Sci Pollut Res. 2021;28(32):43234-43257. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14989-x>