

7. Proteína S2bp de la medusa bola de cañón: Composición de aminoácidos y efecto del pH en la estabilidad del color



YUVITZA GUADALUPE DEPRAECT PAYÁN*

RAÚL BALAM MARTÍNEZ PÉREZ**

GUILLERMINA GARCÍA SÁNCHEZ***

MARÍA ELENA LUGO SÁNCHEZ****

JUAN CARLOS RAMÍREZ SUÁREZ*****

DOI: <https://doi.org/10.52501/cc.348.07>

Resumen

La medusa bola de cañón (*Stomolophus sp. 2*) es considerada un recurso pesquero abundante y de relevancia económica en el estado de Sonora; su captura se ha incrementado notablemente en los últimos años debido a su demanda en los mercados asiáticos. Además de ser considerada alimento, posee biomoléculas de interés industrial, entre ellas el colágeno y proteínas pigmentarias. En el presente trabajo se purificó la proteína S2bp, que le da la coloración característica a la medusa bola de cañón, se cuantificaron sus aminoácidos primarios por un método cromatográfico y se analizó por colorimetría triestímulo a diferentes condiciones de pH. Se identificaron 14 aminoácidos primarios y 2 iminoácidos, además, se determinaron las variaciones de color, ángulo y matiz del pigmento. Los resultados obtenidos

* Estudiante de Ingeniería en Biotecnología en el Instituto Tecnológico de Sonora, México. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-5039-3366> ; correo electrónico: yuvitza.depraect212992@potros.itson.edu.mx

** Doctor en Ciencias con especialidad en Biotecnología. Profesor del Instituto Tecnológico de Sonora, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5152-7695> ; Scopus: 57210646749

*** Maestra en Ciencias en Nutrición y Alimentos. Profesora-investigadora asociada del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3748-0530>

**** Maestra en Ciencias. Profesora-investigadora asociada del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1472-5438> ; Scopus: 6506767428

***** Doctor en Filosofía. Profesor-investigador con líneas de investigación enfocadas en ciencia y tecnología de alimentos de origen animal. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8512-1271> ; Scopus: 7801487433

mostraron que el color del pigmento es altamente estable en un rango de pH de 1 a 13 y a temperatura ambiente.

Palabras clave: *Stomolophus sp.2*, proteína S2bp, proteína azul.

Introducción

La medusa bola de cañón ha adquirido una progresiva relevancia en el norte de México, especialmente en el estado de Sonora, donde se han registrado capturas superiores a las 80 000 toneladas anuales (Hernández et al., 2024). En México se capturan principalmente dos especies de medusa bola de cañón: *Stomolophus sp. 1* en el alto golfo de California y *Stomolophus sp. 2* en el resto del noroeste del país. El mercado de la medusa bola de cañón representa una gran oportunidad en países asiáticos como China, Corea, Malasia, Indonesia, Tailandia y Singapur, donde esta no solo es apreciada por su valor proteico, sino también en la industria farmacéutica y cosmética por su alto contenido de colágeno (Méndez y Carrillo, 2023). Además de su importancia como alimento, esta posee un pigmento de origen proteico color azul, el cual resulta de gran relevancia, debido a que, en la actualidad, dentro de los colorantes naturales, el azul es probablemente el mayor desafío, debido a que las fuentes naturales de este color son limitadas. El uso de pigmentos naturales son la tendencia actual en el sector alimentario, debido a la demanda de seguridad alimentaria en comparación con los aditivos sintéticos, a pesar de esto, sigue siendo más económico para los fabricantes utilizar colorantes o pigmentos sintéticos en sus productos, ya que pueden proporcionar una mayor resistencia a la temperatura, la radiación luminosa o los cambios de pH en el medio, además de que los colorantes azules naturales escasean (Carocho et al., 2014).

Los principales colorantes azules naturales encontrados en la literatura son las antocianinas, genipina y ficocianina, sin embargo, estas sustancias colorantes son inestables, suelen tener una tinción más débil, mayor sensibilidad a la temperatura y a cambios de pH (Olas et al., 2021). Actualmente la ficocianina es el pigmento proteico que se utiliza como colorante natural en alimentos y medicinas, sin embargo, a pesar de presentar una buena

resistencia a temperaturas inferiores a 47 °C, su estabilidad disminuye significativamente a altas temperaturas y a cambios de pH (Neves et al., 2021). Debido a lo anterior, este trabajo está enfocado en la caracterización de un pigmento obtenido de la medusa bola de cañón (*Stomolophus sp. 2*), de modo tal que esto nos brinde información sobre su particularidad, principalmente su composición de aminoácidos y el efecto del pH sobre la estabilidad del color del pigmento proteico.

Metodología

Para llevar a cabo el estudio del pigmento proteico de la medusa bola de cañón (conocido como S2bp) se llevó a cabo una cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC), con el fin de obtenerla pura, siguiendo la metodología descrita por Martínez-Pérez et al. (2020), esta técnica se basa en la interacción reversible entre una superficie hidrofóbica de una proteína y de una matriz cromatográfica a un gradiente decreciente de concentraciones altas a moderadas de sal, con sulfato de amonio la elución se logra (Mayolo-Deloisa et al., 2012); también se realizó un gel de electroforesis en de poliacrilamida para la determinación de la pureza de la proteína purificada. Posteriormente, se llevó a cabo la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), para la detección de aminoácidos que se basa en una reacción fluorescente originada de la derivatización de aminoácidos primarios con el compuesto O-ftalaldehído. La medición del color se llevó a cabo usando el espacio de color CIELAB (CIE $L^*a^*b^*$), este sistema especifica un color mediante tres parámetros L^* , a^* y b^* , que se pueden visualizar en un espacio 3D.

Diseño del estudio

Las metodologías empleadas fueron de carácter cuantitativo, ya que se calcularon los promedios, desviaciones estándar y el coeficiente de variación de los datos obtenidos, este se trabajó dentro de un límite de hasta 30 % de coeficiente de variación. Asimismo, se realizaron duplicados de la muestra

en el análisis para garantizar la confiabilidad de los resultados y reducir el error en el experimento.

Determinación de aminoácidos de la proteína S2bp por HPLC

Para la determinación de aminoácidos primarios proteicos libres de la proteína S2bp por HPLC se utilizó la metodología de Vázquez-Ortiz (1997), con modificaciones explicadas a continuación.

Hidrólisis ácida de la muestra

Se tomaron 1.4 mg de la proteína pura (S2bp) y liofilizada, a continuación, se pasó a tubos que contenían 1.4 mg de tioglicolato de sodio, seguido se añadieron 3 ml de HCl 6 M a cada tubo ($n = 3$). Estos fueron sometidos al vacío durante 2 minutos hasta la aparición de un halo húmedo en la zona de la rosca del tubo. Posteriormente, los tubos con muestra se incubaron a 150 °C durante 6 horas, o hasta la completa desaparición de cualquier residuo de muestra. El hidrolizado se transfirió a un matraz bola de 25-50 ml y se llevó a sequedad en rotavapor. Una vez evaporado el HCl de la muestra, se realizó un lavado con 5 ml de agua Milli-Q filtrada y se repitió nuevamente el proceso de evaporación. Esta operación se llevó a cabo dos veces más. Lo anterior con el objetivo de asegurarse de que no quede rastro de HCl. Finalmente, la muestra se resuspendió en 2 ml de amortiguador de citrato a un pH de 2.2 y se transfirió a microtubos hasta posterior uso.

Identificación de aminoácidos mediante HPLC

De la solución obtenida de la hidrólisis ácida se realizó una dilución 1:1000 con agua Milli-Q filtrada (0.45 μm); posteriormente, se agregaron 600 μl de agua Milli-Q filtrada, esta solución se llevó al HPLC, mismo que realizó la derivatización automatizada, mezclando entre corridas el reactivo O-Pthal-

dehído con la muestra de hidrolizada, esta se inyectó para la determinación de aminoácidos. Se utilizaron estándares de aminoácidos LAA21-1KT de Sigma Aldrich y el estándar interno L- α -amino-n-butyric acid de Sigma Aldrich, en concentración final de 2 $\mu\text{g/ml}$.

Determinación de la variación del color de la proteína S2bp

Se utilizó una concentración 1 mg/ml de proteína, para evaluar el efecto del pH en el cambio de color, ángulo y croma, en un rango de 1, 4, 7.2 y 13. Además, S2bp fue sometida a cambios de pH utilizando una solución de buffer universal (Stauffer, 1989). El pH de la solución buffer (1-13) se ajustó con HCl concentrado o NaOH 6 M; posteriormente, se le adicionó una solución que contenía proteína azul para obtener una concentración de 0.8 mg/ml. Esta se incubó entre 5-20 min a temperatura ambiente para lograr el cambio de color. La reacción se detuvo utilizando el mismo amortiguador a pH 7.2 en relación 1:3, de tal forma que la concentración final de la proteína azul llegara a 0.2 mg/ml. Cada ensayo se realizó por triplicado.

Medición de ángulo y matiz de la proteína S2bp

Para la medición del color se utilizó el colorímetro portátil Konica Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Japón), obteniendo coordenadas de L^* , a^* y b^* , un estándar internacional para medición de color adoptado por la Commission Internationale d'Eclairage (CIE). Con ello se calculó el ángulo de matiz y el croma con las siguientes fórmulas:

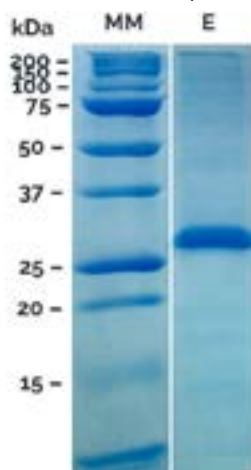
$$\text{Ángulo de Matiz} = \text{arcotang} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (1)$$

$$\text{Croma} = (a^{*2} + b^{*2}) \quad (2)$$

Resultados y discusión

Pureza de la proteína s2bp

Figura 7.1. Gel de electroforesis de la proteína azul de medusa



Notas: MM = marcador de peso molecular; E = extracto de proteína.

Fuente: Elaboración propia.

Análisis del hidrolizado de S2bp mediante HPLC

El análisis del perfil cromatográfico del hidrolizado líquido, a través de la técnica de HPLC, permitió identificar y cuantificar los aminoácidos presentes en la proteína azul S2bp. En la tabla 7.1 se detalla el contenido de aminoácidos, se detectaron 14 aminoácidos primarios y 2 iminoácidos, donde 8 de estos son clasificados como esenciales, la treonina y valina son los aminoácidos esenciales mayoritarios. Los aminoácidos primarios son esenciales para la formación de proteínas, ya que son fundamentales para la constitución de tejidos, la síntesis de enzimas, hormonas, anticuerpos, y otros compuestos biológicamente relevantes (Naclerio, 2006). Estos tienen un grupo cuyo esqueleto carbonado no puede ser sintetizado a partir de moléculas simples por los seres humanos y, por lo tanto, deben proveerse

con la dieta (Gil, 2010). La identificación de estos aminoácidos esenciales sugiere que la proteína S2bp tiene un potencial relevante en aplicaciones nutricionales y alimentarias. Por otro lado, el perfil cromatográfico mostró una alta señal de ácido glutámico, aproximadamente en el minuto 2 como se muestra en la figura 7.2, seguido de la tirosina en el minuto 7.

Tabla 7.1. Contenido de aminoácidos de S2bp y otros pigmentos

Aminoácido	S2bp (mg AA/g)	Spirulina	% de aminoácidos		
			Subunidad α de la C-ficocianina	Subunidad β de la C-ficocianina	Proteína verde fluorescente
Ácido aspártico	31.14 $\pm$ 2.55	3.80	5.56	5.81	7.56
Ácido glutámico	142.58 $\pm$ 9.61	4.35	4.94	4.65	6.72
Serina	0.63 $\pm$ 0.20	5.16	7.41	9.30	4.62
Histidina*	17.47 $\pm$ 1.09	5.71	0.61	–	4.20
Arginina	–	2.45	4.32	6.40	2.52
Glicina	7.26 $\pm$ 0.15	5.98	8.02	6.40	9.24
Treonina	63.28 $\pm$ 3.88	5.16	6.17	5.81	6.30
Taurina	–	–	–	–	–
Alanina	91.68 $\pm$ 5.80	7.61	14.81	16.86	3.36
Tirosina	28.64 $\pm$ 1.28	5.71	6.79	2.91	4.62
Metionina*	2.22 $\pm$ 0.08	2.45	2.47	3.49	2.52
Valina*	99.79 $\pm$ 5.97	9.51	2.47	7.56	7.14
Fenilalanina*	2.32 $\pm$ 0.18	5.71	3.09	2.91	5.46
Isoleucina*	10.05 $\pm$ 0.76	8.15	6.79	5.23	5.04
Leucina*	9.23 $\pm$ 0.44	7.88	8.02	8.14	7.98
Lisina*	89.80 $\pm$ 2.36	3.80	5.56	2.33	8.40
Glutamina	–	2.17	4.32	2.91	3.36
Asparagina	–	4.62	3.70	4.07	5.46

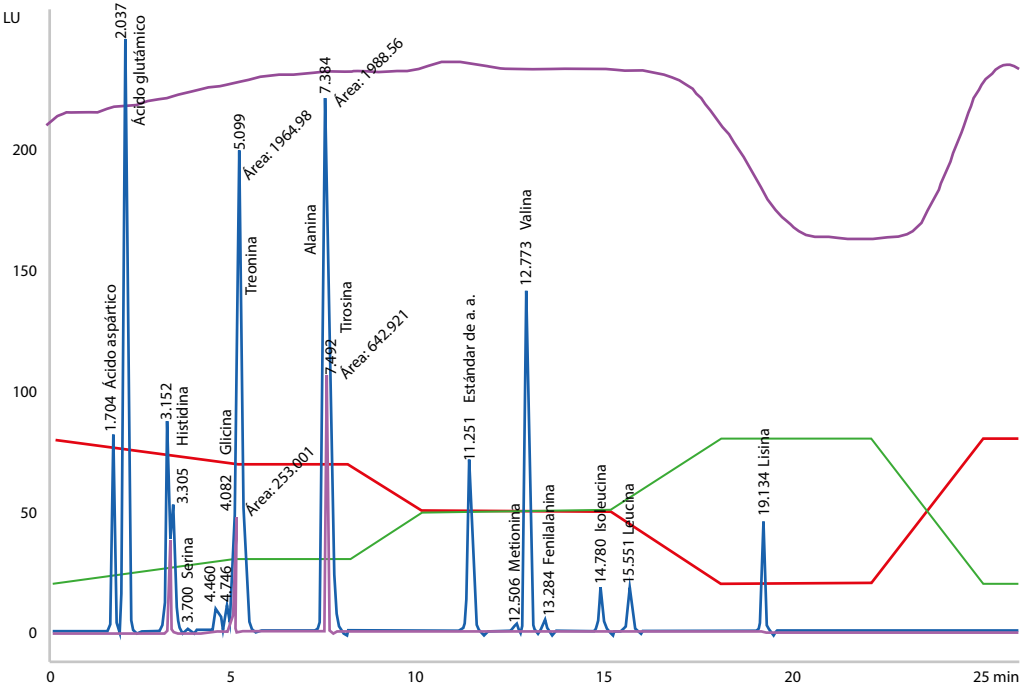
Nota: * Aminoácidos esenciales, – no detectado.

Fuente: Elaboración propia

La C-ficocianina, pigmento obtenido a partir de la espirulina (*Arthrospira platensis*), mostró un mayor contenido de aminoácidos. El porcentaje se estimó al utilizar una plantilla de la base de datos de UniProt, mediante la secuencia de aminoácidos de la subunidad α y β de la C-ficocianina (tabla 7.1), donde la sub unidad α mostró un mayor contenido de alanina, seguido de glicina y leucina por igual; en el caso de la sub unidad β , esta mostró un mayor porcentaje de alanina y serina. Tanto la medusa bola de

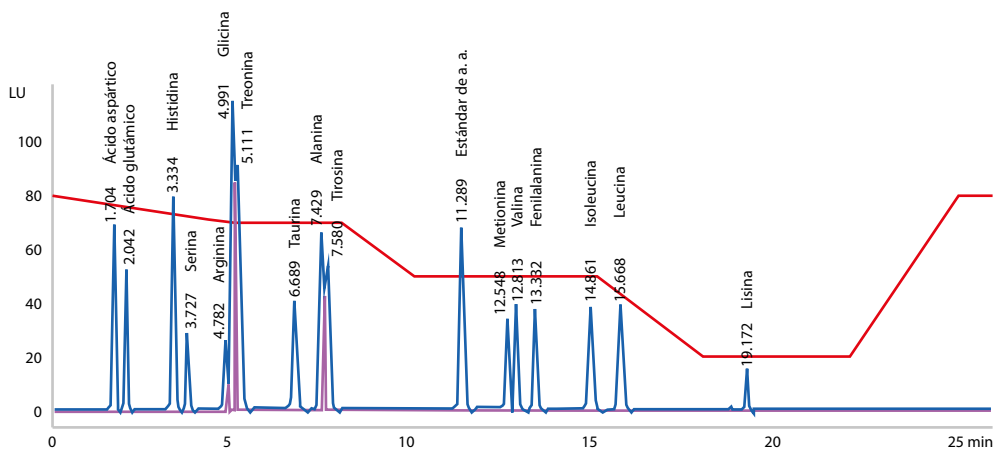
cañón (*Stomolophus sp. 2*) como la espirulina se desarrollan en condiciones de pH y salinidad que son típicas de sus hábitats marinos, para la medusa bola de cañón la salinidad del agua es de 36 ppm, mientras que la espirulina de 20 a 35 ppm (Pérez y Arredondo, 2023). Otra proteína pigmentaria es la producida por la medusa *Aequorea victoria*, cuya función es transducir la quimioluminiscencia azul de la proteína aequerina en luz fluorescente verde mediante un proceso de transferencia de energía (Franco y Longart, 2009). Esta proteína está conformada por 238 aminoácidos, su composición se obtuvo de la base de datos de UniProt mediante la secuencia de aminoácidos (se detalla en la tabla 7.1), que muestra diferencias en las cantidades de aminoácidos que la conforman, principalmente con los aminoácidos lisina y glicina.

Figura 7.2. Cromatograma representativo de la muestra de la proteína azul



Nota: línea verde = metanol; línea roja = buffer de acetatos.
Fuente: Elaboración propia.

Figura 7.3. Cromatograma representativo del estándar de 16 aminoácidos



Fuente: Elaboración propia.

El desarrollo del pigmento S2bp se realizó exclusivamente a nivel laboratorio, por lo que no se cuenta con datos representativos sobre rendimientos o costos a escala industrial. Aún es necesario escalar y optimizar el proceso para obtener esta información. Como referencia, los pigmentos naturales de color azul, como la espirulina, tienen precios de alrededor de \$400 MXN por cada 100 gramos, mientras que la ficocianina ronda los \$200 MXN por 100 gramos. Los precios varían dependiendo del vendedor.

Efecto del pH sobre el color de S2bp

La proteína S2bp de la medusa bola de cañón mostró estabilidad en un amplio rango de pH (1-13), la presencia de color fue medida con el colorímetro Konica Minolta CR-400, obteniendo coordenadas de L^* , a^* y b^* . Estos datos se muestran en la tabla 7.2, donde los resultados no mostraron grandes diferencias en cuanto a la variación del ángulo de matiz, los valores permanecieron en el rango de los grises, lo que sugiere que el pH no modificó el color a un nivel perceptible; de manera similar, el croma que representa la intensidad del color también mostró ligeras variaciones entre los

distintos rangos de pH, lo que indica que, aunque se realizaron ajustes en el pH, la opacidad o vivez del color de la proteína no experimentó cambios significativos. En comparación, diversos estudios mencionan que la C-ficocianina es notablemente estable a 4 y 37 °C (Fodosa et al., 2021), además de ser estable a pH entre 4 y 7. En la tabla 7.3 se presentan los valores de estabilidad del pH de las ficocianinas de diferentes organismos, se señala que la ficocianina producida por *Galdieria phlegrea* tiene una ventaja sobre la producida por *Spirulina*, cuyo pigmento se inactiva a 46 °C. Por otro lado, en un estudio realizado por Martínez-Pérez et al. (2020) se reportó que la temperatura es un factor determinante en la estabilidad de la proteína azul S2bp, ya que se observó que la máxima absorbancia fue de 650 nm a una temperatura de 50 °C, mientras que de 10 a 40 °C el color azul no mostró un cambio significativo, sin embargo, al aumentar la temperatura de 60 a 70 °C el color azul desapareció.

Tabla 7.2. Análisis de color a distintos rangos de pH

pH	L*	Ángulo de matiz	Croma
1	58.326 ± 0.615	216.721 ± 1.490	1.835 ± 0.264
4	45.920 ± 2.425	40.918 ± 18.205	0.544 ± 0.0765
7.2	35.083 ± 0.885	265.314 ± 6.025	1.181 ± 0.0456
12	42.223 ± 1.034	254.005 ± 14.862	1.311 ± 0.029
13	41.650 ± 3.065	187.882 ± 6.437	0.841 ± 0.043

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7.3. Estabilidad de ficocianinas

Organismo	T (°C)	pH	Referencia
<i>G. phlegrea</i>	80	5-7	Ferraro et al. (2020)
<i>Geitlerinema sp.</i>	4-37	4-7	Patel et al. (2018)
<i>C. clavulatum</i>	4	7.4	Nair et al. (2018)
<i>Spirulina</i>	37	4	Minic et al. (2016)
<i>Sthomolopus sp. 2</i>	50	1-13	Martínez et al. (2020)

Fuente: Elaboración propia.

Conclusiones

Los resultados obtenidos demuestran que la proteína azul S2bp presentó un contenido de aminoácidos diverso, indicativo de su potencial valor nutricional y funcional. Además, la evaluación de la estabilidad del pH mediante la medición del color reveló que la proteína S2bp presentó ligeros cambios en ángulo de matiz, croma y la luminosidad en un rango de pH entre 1 y 13, esto indica que la proteína es estable y resistente a cambios en el pH, lo que sugiere que podría ser una potencial alternativa como pigmento natural frente a los pigmentos sintéticos actualmente utilizados en diversos sectores industriales. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para caracterizar sus propiedades, funcionalidades y seguridad para su uso en la industria.

Referencias

- Camacho Ayala, T. X. (2017). *Obtención de un hidrolizado de Spirulina (Arthrospira platensis) en polvo, mediante secado por aspersión, como ingrediente funcional* [Trabajo de titulación]. Universidad Técnica del Ambato. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/25303>
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P. y Ferreira, I. C. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 377-399. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12065>
- Ferraro, G., Imbimbo, P., Marseglia, A., Illiano, A., Fontanarosa, C., Amoresano, A., Olivieri, G., Pollio, A., Monti, D. M. y Merlino, A. (2020). A thermophilic C-phycoerythrin with unprecedented biophysical and biochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 38-51. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.045>
- Franco, A. Y. y Longart, M. (2009). Aplicaciones de la proteína verde fluorescente (GFP) en la biología celular y en la visualización del sistema nervioso. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 1(2), 84-96. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179214945007>
- Gil, Á. (2010). *Tratado de nutrición: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición* (2ª ed.). Editorial Médica Panamericana.
- González-Fosadosa, L. B., González-Chávez, B. K., Garrido-Hernández, A., Carrillo-Sancen, G., Cerón-Montes, G. I. y Martínez-Valdez, F. J. (2021). Caracterización de ficocianina por espectrofotometría de masas. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 9(no. esp. 2), 149-156. <https://doi.org/10.29057/icbi.v9iEspecial2.7985>
- Hernández Garibay, E., Cisneros Mata, M. A., Escobedo Rosales, R. B. y Apolinar Romo,

- A. A. y Curiel Bernal, M. V. (2024). Composición nutrimental de la medusa bola de cañón (*Stomolophus* sp. 1). *Revista Ciencias del Mar*, 1(2), 67-83. <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/CIMAR/article/view/489>
- Huxtable, R. J. (1992). Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews*, 72(1), 101-163. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.101>
- Jain, Y., Saxena, V. y Mittal, S. (2022). Ensembling deep learning and CIELAB color space model for fire detection from UAV images. En *Proceedings of the II International Conference on AIML Systems* (art. 7). <https://doi.org/10.1145/3564121.3564130>
- Karazhyan, R., Ameri, M., Noshahri, N., Ehtiati, A. y Abdollahi, N. (2024). Effects of copigmentation on the stability of phycocyanin pigments extracted from *Spirulina platensis* using spray dryer. *Applied Food Biotechnology*, 9(3), 227-237. <https://doi.org/10.22037/afb.v9i3.37752>
- Lacera Rúa, A. (2004). Roles alimenticios y metabólicos de la taurina y la L-carnitina. *Intropica*, 1(1), 105-120. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5167548>
- Martínez-Pérez, R. B., Díaz-Tenorio, L. M., Leyva Soto, L. A., Gortáres-Moroyoqui, P., García-Rico, L. y Rodríguez, J. A. (2020). Characterization of cannonball jellyfish (*Stomolophus* sp. 2) blue protein: A pH-stable pigment. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(23), 28597-28606. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08689-1>
- Mayolo-Deloisa, K., Martínez, L.M. y Rito-Palomares, M.. (2012). Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y replegamiento de proteínas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(3), 415-429. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000300006
- Méndez Barrón, R. y Carrillo Cisneros, E. (2023). Pesquería de medusa bola de cañón en Sonora: Potenciales productivos, comerciales y de integración económica con Asia. *Indiciales*, 1(5). <https://doi.org/10.52906/ind.v1i5.51>
- Minic, S. L., Stanic-Vucinic, D., Mihailovic, J., Krstic, M., Nikolic, M. R. y Cirkovic Velickovic, T. (2016). Digestion by pepsin releases biologically active chromopeptides from C-phycocyanin, a blue-colored biliprotein of microalga *Spirulina*. *Journal of Proteomics*, 147, 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.03.043>
- Naclerio, F. (2006). *Utilización de las proteínas y aminoácidos como suplementos o integradores dietéticos*. https://www.researchgate.net/publication/280977138_Utilizacion_de_las_Proteinas_y_Aminoacidos_como_Suplementos_o_Integradores_Dieteticos
- Nair, D., Krishna, J. G., Panikkar, M. V. N., Nair, B. G., Pai, J. G. y Nair, S. S. (2018). Identification, purification, biochemical and mass spectrometric characterization of novel phycobiliproteins from a marine red alga, *Centroceras clavulatum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 679-691. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.153>
- Olas, B., Białecki, J., Urbańska, K. y Bryś, M. (2021). The effects of natural and synthetic blue dyes on human health: A review of current knowledge and therapeutic perspectives. *Advances in Nutrition*, 12(6), 2301-2311. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab081>
- Patel, H. M., Rastogi, R. P., Trivedi, U. y Madamwar, D. (2018). Structural characterization

- and antioxidant potential of phycocyanin from the cyanobacterium *Geitlerinema* sp. H8DM. *Algal Research*, 32, 372-383. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.024>
- Pérez Romero, C. y Arredondo Vega, B. (2023). Del tecuitlatl azteca a la *Spirulina*: Un recurso biotecnológico. *Recursos Naturales y Sociedad*, 9(2), 91-106. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2023.09.09.02.0008>
- Ruiz-Hernández, Y., Garza-Valverde, E., Márquez-Reyes, J. y García-Gómez, C. (2023). Extracción de ficocianina para uso como colorante natural: Optimización por metodología de superficie de respuesta. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 84-91. <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.16>
- Stauffer, C. (1989). Effect of pH on activity. En *Enzymes assay for food scientist* (pp. 61-76). Avi.
- Vázquez-Ortiz, F. A., Caire, G., Higuera-Ciapara, I. y Hernández-Watanabe, G. (1997). High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *Journal of Liquid Chromatography*, 18(10), 2059-2068.