



Cultivo alternativo para producir ficocianina y proteína como potenciales aditivos alimentarios a partir de biomasa cianobacteriana nativa.

Alternative Culture to Produce Phycocyanin and Protein as a Potential Food Additive from Native Cyanobacterial Biomass

Samanta MACHADO-CEPEDA¹, Rosa M. RODRÍGUEZ-JASSO¹, Héctor A. RUIZ¹

¹Biorefinery Group, Food Research Department, School of Chemistry, Universidad Autónoma de Coahuila.

hector_ruiz_leza@uadec.edu.mx, samanta.machado@uadec.edu.mx

Ponencia Oral 4

ABSTRACT

Due to its chemical composition, rice husk can be used as a culture medium for cyanobacteria enabling the obtention of compounds of industrial interest. One of them is phycocyanin, which is highly competitive in the market due to its fluorescent properties and its potential use as a pigment in the food industry, serving as an additive with important health benefits in conjunction with protein, the latter being a characteristic thickening, emulsifying and binding agent ^[1]. In this work, the objective was validated and the phycocyanin production using cyanobacteria and rice husk as alternative culture medium. For this, the composition of rice husk was characterized and evaluated the carbohydrate concentration in the extract by Anthrone Method for its use as raw material for the cyanobacteria *Limnothrix* sp. cultures ^[2,3,4,5] testing four concentrations of rice husk extract in flask photoreactors of 2L as work volume, coupled to an air supply of approximately 136 mL/min versus a control condition with BG-11 as synthetic media. Rice husk extract was prepared in water at concentrations of 16, 32, 48, and 64 g/L. After 24 days of cultivation, cyanobacteria biomass was analyzed for protein content, and phycocyanin was extracted using ohmic heating with isothermal extraction at 50°C ^[6]. Rice husk was found to contain 38 ± 1.3% cellulose, 8.1 ± 0.58% hemicellulose. Also was identifies 15 ± 1.6% lignin, 16 ± 2.8% nitrogen, 4.0 ± 0.31% lipids, and 17.1 ± 0.38% minerals. The mineral content included 14.18 ± 0.05% silica, 1.12 ± 0.02% potassium, and 0.86 ± 0.04% magnesium, among other trace elements (all percentages in dry weight). Some of these rice husk components were present in the extract used for cyanobacteria cultivation. A biomass concentration of 2.77 ± 0.06 g/L was achieved at the end of the cultivation period using 48 g/L of rice husk extract, the Figure 1 shows the biomass growth over time. This result was comparable to biomass production in synthetic media (2.41 ± 0.086 g/L). The initial carbohydrate concentration in the rice husk extract was 0.43 ± 0.029 g/L

REVISTA PRODUCTOS NATURALES. Abril, 2025, 6(1): 38



which may have influenced the specific cyanobacteria growth rate of 0.38 ± 0.09 1/day. The protein and phycocyanin content in the biomass from this culture were 0.28 ± 0.01 g/g and 92.6 ± 0.54 mg/g, respectively (see Table 1), values that can be compared to commercially available cyanobacteria biomass (0.67 g/g for protein and 75.79 mg/g for phycocyanin) ^[7]. After One Way sadistic analysis, no significant difference in carbohydrate content was observed between the 48 g/L (0.43 ± 0.029 g/L) and 64 g/L (0.48 ± 0.012 g/L) rice husk extract treatments. However, since cyanobacteria are photosynthetic organisms ^[7], the culture medium must allow light penetration for optimal growth. The higher concentration of rice husk extract (64 g/L) resulted in increased color saturation, reducing light transmission (chroma saturation values: 0.84 ± 0.01 for 48 g/L and 1.37 ± 0.04 for 64 g/L). This may explain why *Limnothrix* sp. growth was lower at 64 g/L compared to 48 g/L. In conclusion, rice husk extract, a byproduct of the food industry, contains essential nutrients for cyanobacteria growth and the production of protein and phycocyanin for food applications. It can therefore be proposed as an alternative to synthetic culture media.

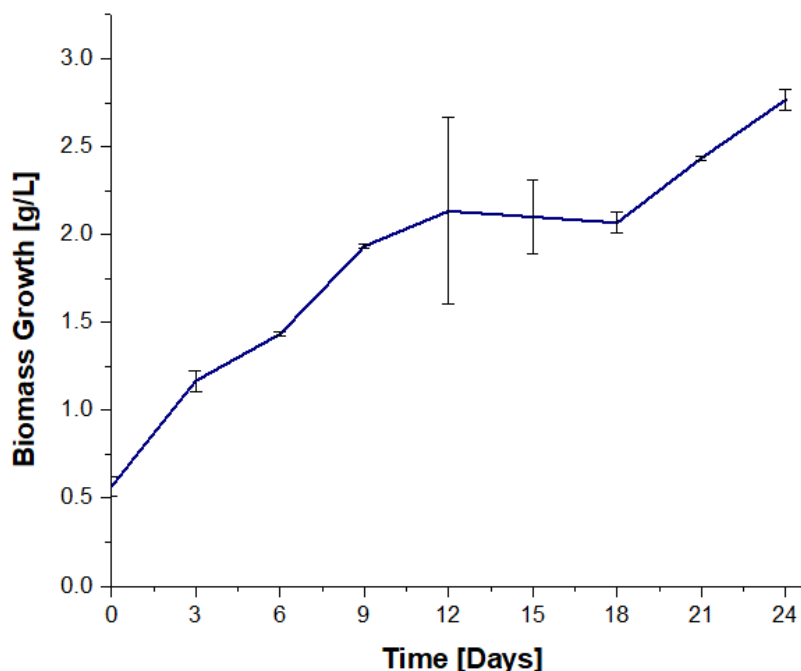


Figure 1. Biomass Growth of *Limnothrix* sp.in with 48 g/L rice husk extract

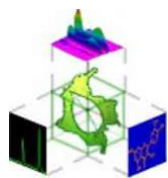


Table 1. *Limnothrix* sp. biomass, phycocyanin and protein production at different rice husk extract concentrations

Parameter		Concentration Biomass [g/L]	Protein Content [g/g]	Phycocyanin Content [mg/g]
This work <i>Limnothrix</i> sp.	BG-11 (Synthetic media)	2.4 ± 0.1^c	0.2 ± 0.0^c	86.8 ± 0.4^a
	Rice Husk Extract 16 g/L	2.4 ± 0.1^c	0.1 ± 0.0^d	67.5 ± 0.5^b
	Rice Husk Extract 32 g/L	2.5 ± 0.1^b	0.3 ± 0.0^b	87.9 ± 0.4^a
	Rice Husk Extract 48 g/L	2.8 ± 0.1^a 115.4 mg/L*day	0.3 ± 0.0^a	92.6 ± 0.5^a 10.7 mg/L*day
	Rice Husk Extract 64 g/L	1.5 ± 0.0^d	0.2 ± 0.0^d	65.4 ± 0.3^b
<i>Arthrospira</i> <i>platensis</i> ^{16l}	Rice Husk Extract 6.4 g/L	1.7 ± 0.7	0.7 ± 0.0	75.8 ± 1.0
<i>Limnothrix</i> sp. ^{18,9l} SK1-2-1	BG-11 Aeration: 3000 ml/min	15 mg/L*day	Not reported	4.4 mg/L*day

Key words:

Biorefinery, circular bioeconomy, rice husk, organic culture.

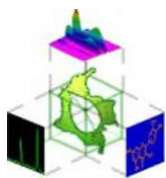
RESUMEN

Debido a su composición química, la cascarilla de arroz puede usarse como medio de cultivo para el crecimiento de cianobacterias, permitiendo la obtención de compuestos de interés industrial a partir de su biomasa. Uno de ellos es la ficocianina, pigmento proteico altamente competitivo en el mercado debido a sus propiedades fluorescentes y su uso potencial como pigmento en la industria alimentaria, sirviendo como aditivo con importantes beneficios para la salud junto con la proteína, esta última caracterizada por ser agente espesante,



emulsionante y aglutinante ^[1]. En este trabajo se validó la producción de ficocianina a partir de la biomasa de las cianobacterias de género *Limnothrix* sp. utilizando la cascarilla de arroz como medio de cultivo alternativo. Para esto, se caracterizó la composición de la cascarilla de arroz y se evaluó la concentración de carbohidratos en el extracto mediante el Método de Antrona ^[2,3,4,5] probando cuatro concentraciones de extracto de cáscarilla de arroz en fotobiorreactores de matraz de 2L como volumen de trabajo, acoplados a un suministro de aire de aproximadamente 136 mL/min frente a una condición de control con BG-11 como medio sintético. El extracto de cáscarilla de arroz se preparó en agua a concentraciones de 16, 32, 48 y 64 g/L. Después de 24 días de cultivo, se analizó la biomasa de cianobacterias para el contenido de proteína, y se extrajo la ficocianina utilizando calentamiento óhmico con extracción isotérmica a 50°C^[6]. Se encontró que la cascarilla de arroz contenía 38.26 ± 1.30% de celulosa, 8.12 ± 0.58% de hemicelulosa. También se identificaron 15.36 ± 1.63% de lignina, 16.22 ± 2.78% de nitrógeno, 4.02 ± 0.31% de lípidos y 17.12 ± 0.38% de minerales. El contenido mineral incluía 14.18 ± 0.05% de sílice, 1.12 ± 0.02% de potasio y 0.86 ± 0.04% de magnesio, (todos los porcentajes en peso seco). Estos componentes de la cascarilla de arroz estaban presentes en el extracto utilizado para el cultivo de cianobacterias, logrando una concentración de biomasa de 2.77 ± 0.06 g/L al final del período de cultivo utilizando 48 g/L de extracto de cascarilla de arroz, la Figura 1 muestra el crecimiento de la biomasa a lo largo del tiempo. Este resultado fue comparable a la producción de biomasa en medios sintéticos (2.405 ± 0.086 g/L). La concentración inicial de carbohidratos en el extracto de cascarilla de arroz fue de 0.433 ± 0.029 g/L, nutriente importante que influyó en la tasa de crecimiento específica de la cianobacteria (0.38 ± 0.09 1/día). El contenido de proteína y ficocianina en la biomasa de este cultivo fue de 0.28 ± 0.01 g/g y 92.57 ± 0.54 mg/g, respectivamente (ver Tabla 1), valores que pueden compararse con la biomasa de cianobacterias ya comerciales (0.67 g/g para proteína y 75.79 mg/g para ficocianina) ^[7]. Después del análisis estadístico de una vía, no se observó una diferencia significativa en el contenido de carbohidratos entre los tratamientos de extracto de cascarilla de arroz de 48 g/L (0.434 ± 0.029 g/L) y 64 g/L (0.483 ± 0.012 g/L). Sin embargo, dado que las cianobacterias son organismos fotosintéticos ^[7], el medio de cultivo debe permitir la penetración de luz para un crecimiento óptimo. Por lo tanto, la mayor concentración de extracto de cascarilla de arroz (64 g/L) resultó en una mayor saturación de color, reduciendo la transmisión de luz (valores de saturación de croma: 0.84 ± 0.01 para 48 g/L y 1.37 ± 0.04 para 64 g/L). Esto puede explicar por qué el crecimiento de *Limnothrix* sp. fue menor a 64 g/L en comparación con 48 g/L. En conclusión, el extracto de cascarilla de arroz, obtenido usando un subproducto de la industria alimentaria, contiene nutrientes esenciales para el crecimiento de cianobacterias y la producción de proteína y ficocianina para aplicaciones alimentarias. Por lo tanto, puede proponerse como una alternativa a los medios de cultivo sintéticos.

Palabras clave:



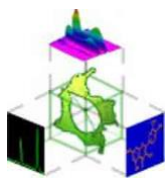
Biorrefinería, bioeconomía circular, cáscarilla de arroz, cultivo orgánico.

Agradecimientos/Acknowledgements

The author Samanta Machado-Cepeda, thank the National Council of Humanities, Sciences and Technologies (SECIHTI, Mexico) for their Ph.D. Fellowship support (grant number: 1154370).

References

- [1] Morya S, Kumar Chattu V, Khalid W, Zubair Khalid M, Siddeeg A. (2023) Potential protein phycocyanin: an overview on its properties, extraction, and utilization. *International Journal of Food Properties*, 26(2), <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2271686>
- [2] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2008). Determination of ash in biomass. NREL Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (Issue April 2005).
- [3] Sluiter, A. D., & Templeton, D. W. (2008). Determination of Extractives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP); (Issue June 2005). http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html
- [4] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Crocker, D. (2012). NREL/TP-510-42618 - Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. In Laboratory Analytical Procedure (LAP).
- [5] Cruz, M., Losoya-Sifuentes, C., Castillo-Ramírez, D., Martínez-Hernández, M., Gonzalez, A., & Belmares, R. (2023). Protein from land—kingdom fungi. *Future Proteins: Sources, Processing, Applications and the Bioeconomy*. 87–106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91739-1.00005-2>
- [6] Cid-Ibarra, G., Rodríguez-Jasso, R. M., Rosero-Chasoy, G., Belmares, R., Carlos Contreras-Esquivel, J., Machado-Cepeda, S., Cabello-Galindo, A., & Ruiz, H. A. (2024). Microalgae Biomass Production from Rice Husk as Alternative Media Cultivation and Extraction of Phycocyanin Using 3D-Printed Ohmic Heating Reactor. *Foods*, 13(9). [DOI]
- [7] Deprá, M. C., dos Santos, A. M., Severo, I. A., Santos, A. B., Zepka, L. Q., & Jacob-Lopes, E. (2018). Microalgal Biorefineries for Bioenergy Production: Can We Move from Concept to Industrial Reality? In *Bioenergy Research*, 11(4). [DOI]
- [8] Aoki, J., Yarita, T., Hasegawa, M., & Asayama, M. (2024). Development of a new extraction method and functional analysis of phycocyanobilin from unique filamentous cyanobacteria. *Journal of Biotechnology*, 395. [DOI]



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1po4>



[9] Aoki, J., Sasaki, D., & Asayama, M. (2021). Development of a method for phycocyanin recovery from filamentous cyanobacteria and evaluation of its stability and antioxidant capacity. BMC Biotechnology, 21(1). [\[DOI\]](#)