



UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE PESQUERÍA Y ZOOLOGÍA



**Cultivo de *Spirulina platensis* en diferentes niveles de pH y
rendimiento de proteínas**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA-PESQUERÍA**

Presentada por:

Br. Barreto González Mery Carmen

Br. Chepe Delgado Verónica Matilde

Asesora: Clara Aurora Cueva Catillo

Lambayeque-Perú

2021



UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE PESQUERÍA Y ZOOLOGÍA



**Cultivo de *Spirulina platensis* en diferentes niveles de pH y
rendimiento de proteínas**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA-PESQUERÍA**

Presentada por:

Br. Barreto González Mery Carmen

Br. Chepe Delgado Verónica Matilde

Aprobada por:

**M.Sc. Josefa Escurra Puicón
PRESIDENTA**

**M.Sc. Jorge L. Chanamé Céspedes
SECRETARIO**

**M.Sc. José T. Reupo Periche
VOCAL**

**M.Sc. Clara A. Cueva Castillo
PATROCINADORA**

Lambayeque-Perú

2021

DEDICATORIA

- *El presente trabajo va dedicado especialmente para Aquél quien es origen y centro de todo cuanto existe en este mundo: Dios Padre Celestial Creador de Vida. ¡Bendito seas Señor Dios Uno y Trino por la grandeza de tu Creación, por ser Tu el origen y centro de nuestra vida! ¡Bendito y Alabado seas por siempre Señor! Te pedimos recibas en tus manos este humilde trabajo que va dedicado con mucho amor para Ti y que todo sea para mayor gloria tuya. Así sea.*
- *Para mi Sagrado Corazón Eucarístico de Jesús que está vivo en la Hostia Santa. Para mi Divino Niño Jesús y mi Virgencita del Carmen, mi Madre y Compañera. Les dedico con mucho cariño este trabajo de investigación.*
- *Para los Santos: San Francisco de Asís Patrón de la Biología, defensor de la Creación, a San Pedrito apóstol y pescador, patrón de la Biología Pesquera; al Buen San José Custodio del Redentor, a Santa Rosita de Lima, a las Santas Carmelitas: Santa Teresita del Niño Jesús, Santa Teresa de Ávila, Santa Maravillas de Jesús; que intercedieron ante Dios Padre Celestial en mis estudios primarios, secundarios y universitarios.*
- *Para mi mamá Marleny; que me ha apoyado en todo momento, por su esfuerzo constante, sacrificio, y valor para sacarme adelante.*
- *Para mi mamita María y papa Agapito (mis abuelitos maternos) que me cuidan y acompañan desde el cielo.*
- *Para alumnos, egresados y profesionales de esta noble y hermosa carrera de Biología, para que sigan siempre adelante, sobre todo sintiéndose orgullosos de su carrera y para que puedan amar y luchar siempre por la vida.*

De: Mery Carmen Barreto González

DEDICATORIA

- *Este trabajo está dedicado en primer lugar a Dios, porque nunca me dejó desfallecer y siempre encontré refugio en Él; a la Virgencita de Guadalupe que me protege desde que empecé mi carrera universitaria.*
- *También va dedicado para mis padres: Luis y Severina, por ustedes he podido cumplir una de mis metas, por su constante labor y rol muy bien desempeñado como tal; por su paciencia, por su cariño y por todo lo que me ofrecieron, pero sobre todo por haberme inculcado valores para ser una persona de bien, y enseñarme que con sacrificio y perseverancia todo se puede.*
- *Para mis hermanos: Carlos Enrique y Luis Franklin, por sus consejos, por su apoyo moral, por no haberme dejado sola y también por haberme hecho ver la vida de otra manera; a Clara Olenka, mi compañera de vida, por la confianza que siempre me ha dado, por creer en mí, por estar en mis alegrías y tristezas y por darme su hombro para descansar.*
- *Para mis sobrinos: Dayana, Luana, Felipe, Alexander, Arianita y para los 2 angelitos que están por llegar, por llenarme de amor y alegría cada vez que están conmigo.*
- *Para quien fue casi como mi hermano: Juan Pedro, por cuidarme, acompañarme desde el cielo y haberme regalado los mejores momentos en familia.*
- *A Eswin David, por su amor, comprensión, paciencia y por haber estado conmigo siempre, más aun en los momentos difíciles.*
- *Para toda mi familia, por confiar y preocuparse siempre por mí.*

De: Verónica Matilde Chepe Delgado

AGRADECIMIENTOS

- *A la Santísima Trinidad, Gracias Señor por la carrera que me otorgaste, gracias también por permitirme continuar y darme las fuerzas necesarias para seguir. Ahora sé que mi única esperanza eres Tú Señor, pues todo te lo debo a ti. Muchas gracias Señor por este trabajo de investigación que me permitiste realizar y con ello poder conocer, alabar y bendecir la grandes*

de tu Creación pues Tu lo hiciste todo y para nuestro bien lo hiciste y fueron creadas. Recibe Señor este pequeño pero sincero trabajo que te ofrecemos y que pueda ser para mayor gloria tuya. Muchas gracias Señor por tu Creación, por la vida y por tu Amor!

- *Al Corazón Eucarístico de Jesús vivo en la Hostia Santa. Muchas gracias por tu Amor y porque en Ti siempre puedo encontrar el refugio y la paz que necesito en mi vida. ¡Mi Jesús Eucaristía seas por siempre Bendito. Alabado y eternamente Adorado. Muchas gracias mi Divino Niño Jesús, por ser mi mejor regalo y bendición. Muchas gracia querido Jesús por tu Amor y por ser la Luz que ilumina mi vida.*
- *A mi Virgencita María en la advocación de María del Monte Carmelo ,María Auxiliadora, Inmaculada Concepción de Lourdes y la Virgen de la Piedad. Gracias Santísima Virgen María por acompañarme y protegerme siempre, porque sé que nunca me dejaras sola y porque sé que siempre contare contigo. Te quiero mucho.*
- *A mi Angelito de la Guarda junto a San Miguel Arcángel y todos los ángeles del cielo; agradeciendo su protección y compañía.*
- *A los Santos: Santa Rosita de Lima, Santa Teresita del Niño Jesús; Santa Teresa de Ávila ,Santa Maravillas de Jesús, al Buen San José, San Francisco de Asís ,San Pedrito apóstol y pescador, agradeciendo su intersección ante Dios Padre Celestial, por acompañarme y ayudarme siempre.*
- *A las Benditas Ánimas del Purgatorio por su ayuda y protección.*
- *A mis abuelitos maternos: mi mamá María (Q.E.P.D) y papá Agapito (Q.E.P.D); por su amor y compañía que siempre me dieron, por sus buenos valores, ferviente fe católica y su gran corazón.*
- *A mi mamá Marleny; por toda su ayuda, preocupación y sacrificio por criarme y educarme sola a pesar de las dificultades. por sus consejos y valores de fe que siempre supo inculcarme a lo largo de toda mi vida.*
- *A la Familia González Rubio; a mis abuelitos (Q.E.P.D) María y Agapito, a mis tíos: Nery, Doris y Mañuco, a mis primos: Dayhana, Fátima, Manuel Jesús , a mis sobrinos: Miguel Alonso, Ángel Daniel, César Gustavo, Óscar Manuel, Estheban Jared y Max Alonsito. Muchas gracias a toda mi familia por toda su ayuda, consejos y sus oraciones que me sirvieron de mucho para poder culminar el presente trabajo.*
- *A mi tía Luisa Rubio Villalobos y familia Benavides Rubio por toda su ayuda y consejos.*

- *A la familia Quispe Santa Cruz, especialmente a mi tía Amparo Santa Cruz Díaz(Q.E.P.D), , Ada Quispe Santa Cruz (Q.E.P.D). Muchas gracias por toda su ayuda, consejos, paciencia, amabilidad y su compañía.*
- *A mi tía María Elena Segura Solano, por toda su orientación y ayuda brindada .*
- *A la familia Vásquez Vigil, especialmente a mi tía Nelita Vigil Villalobos; por toda su ayuda y consejos.*
- *A mi asesora de tesis: M.Sc. Clara Cueva Castillo. Muchas gracias por su ayuda, consejos y por su experiencia compartida .*
- *A los profesores de Biología y miembros del jurado de tesis: Dra. Josefa Escurra Puicón , M.Sc. Jorge Chanamé Céspedes y M.Sc. José T. Reupo Periche ,por su ayuda y disposición que brindaron en el desarrollo de este humilde proyecto.*
- *A los profesores: Jorge Fupuy Chung y Grimaldo Benavides Campos; por toda la ayuda otorgada en la parte estadística que siempre nos proporcionaron.*
- *Al profesor Humberto Rivera Calle, biólogo y docente de la Universidad Nacional de Piura, por toda su ayuda incondicional y apoyo desinteresado en la realización de este trabajo.*
- *A los profesores: Elmer Alvitez Izquierdo y al Dr. Manuel Fernández Honores, biólogos y docentes de la Universidad Nacional de Trujillo, por toda su disposición, ayuda incondicional y orientación en la realización de la presente investigación.*
- *A mis profesores de Biología; por todas sus enseñanzas, por sus orientaciones y muy especialmente a los del área de Pesquería-Zoología.*
- *A la profesora Consuelo Rojas Idrogo, por su disposición y ayuda brindada.*
- *Al personal de los laboratorios de las Facultades de: Ing. Zootecnia ,Ing. Agrícola y Ing. Química, por proporcionarnos los materiales y equipos para el desarrollo de nuestra investigación.*
- *A todos mis amigos y compañeros de la Facultad de Biología, que tuve la dicha de conocer y compartir buenos momentos y lindas experiencias.*

De: Mery Carmen Barreto González

AGRADECIMIENTOS

- *A Dios y a la Virgencita de Guadalupe por darme la fortaleza y paciencia necesaria para seguir adelante, por protegerme y ayudarme a tomar buenas decisiones en mi vida diaria y por cuidar de mi familia.*
- *A mis padres Luis y Severina, que con su ejemplo me enseñaron a luchar por mis metas, por su constante labor, por su dedicación, por formarme con buenos valores y sobre todo por su amor y apoyo constante, los amo mucho*
- *A mis hermanos, Carlos Enrique, Luis Franklín y Clara Olenka, por sus consejos, por su apoyo, por su cariño y por estar siempre en los momentos más importantes de mi vida, este logro también es para ustedes.*
- *A mis sobrinos Dayana, Luana, Felipe, Alexander, Arianita, por darme el amor más puro y llenarme de alegría con sus travesuras y ocurrencias.*
- *A mi hermano Juan Pedro, por haberme dado y dejado los mejores momentos y recuerdos en familia; a mi prima María Soledad, por estar siempre y confiar en mí, a mi mamá Soledad, a mi tía Rosa y a mi tío Ramón por su amor, cariño y por su preocupación constante.*

- *A mi asesora de tesis: Msc Clara Cueva Castillo, por sus conocimientos compartidos, por su tiempo y dedicación para sacar adelante este proyecto, mi gratitud para con usted, Dios la bendiga siempre.*
- *A mi amiga y compañera de tesis: Mery Carmen, por todas las experiencias compartidas desde antes y durante el desarrollo de este proyecto, por su apoyo constante, por su comprensión, y enseñarme el verdadero significado de la lealtad.*
- *Al profesor Humberto Rivera Calle, docente de la Universidad Nacional de Piura por su ayuda y apoyo desinteresado.*
- *A mi mejor amiga: Mayssa, por escucharme y estar siempre cuando la he necesitado, gracias por estar siempre a pesar de la distancia.*
- *A mi amigo Cesar Gustavo, por brindarme su amistad y confiar en mi capacidad desde el primer día en que me conoció y capacitó, por escucharme a cada momento, por sus ánimos para seguir adelante en esa ruleta diaria llamada trabajo, por ser mi hombro cuando lo necesito y seguir enseñándome y aclarando mis dudas en el camino diario, mi gratitud siempre contigo.*

CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	18
II.	MARCO TEÓRICO	
	2.1. Antecedentes Bibliográficos	21
III.	MARCO METODOLÓGICO	
	3.1. MATERIALES	
	3.1.1. Material biológico	33
	3.1.2. Población y muestra de estudio	33
	3.2. MÉTODOS	
	3.2.1. Localización del experimento	33
	3.2.2. Mantenimiento del cultivo	33
	3.2.2.1. Desinfección y esterilización.....	35
	3.2.2.2. Parámetros físico-químicos y biológicos	35
	3.2.3. Preparación de medios nutritivos creados para el cultivo de <i>S.platensis</i>	35
	3.2.4. Cultivo de <i>S.platensis</i>	
	3.2.4.1. Secuencia de siembra y desarrollo del cultivo	36
	3.2.4.2. Cosecha	
	3.2.5. Determinación del crecimiento poblacional	39
	3.2.6. Determinación de la biomasa	41
	3.2.7. Determinación de la proteína	45
	3.2.8. Diseño experimental y análisis estadístico de datos	49
IV.	RESULTADOS.....	51
V.	DISCUSIÓN	61
VI.	CONCLUSIONES.....	71
VII.	RECOMENDACIONES.....	72
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
IX.	ANEXOS.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Material biológico de <i>S.platensis</i>	34
Figura 2.	Siembra de <i>S.platensis</i>	37
Figura 3.	Instalación de <i>S.platensis</i> en la cámara de cultivo ubicada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Pedro Ruíz Gallo - Lambayeque.....	38
Figura 4.	Medición de pH con potenciómetro digital	39
Figura 5.	Observación de una muestra de <i>S.platensis</i> en la lámina portaobjetos; Cámara de Malassez utilizada para el conteo celular de <i>S.platensis</i> en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Universidad Pedro Ruíz Gallo –Lambayeque.....	40
Figura 6.	Filtrado,Extracción y distribución en placas de las pasta de <i>S.platensis</i> Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque	41
Figura 7.	Estufa utilizada para el secado de <i>S. platensis</i> ; estufa de 60°C y estufa de 105°C.....	42
Figura 8.	Secado de <i>S.platensis</i> en estufa; <i>S. platensis</i> seca en placa Petri en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque.....	43
Figura 9.	Determinación de la biomasa: Extracción de <i>S.platensis</i> ; Pesado de la muestra seca, Biomasa obtenida en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo –Lambayeque.....	44
Figura 10.		

	Proceso de digestión, Pesado de la muestra, Solución final realizado en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque.....	46
Figura 11.	Proceso de destilación:Adición de hidróxido de sodio;Equipo de destilación,Obtención de nitrógeno y Obtención de una solución rosada producto de la Titulación con ácido clorhídrico realizado en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque.....	47
Figura 12.	Curva de crecimiento de poblacional de <i>S.platensis</i> con 2 tratamientos experimentales: Tratamiento 1 (pH 9) y Tratamiento 2 (pH 10) y un grupo control, de <i>S.platensis</i> , cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo - Lambayeque.....	53
Figura 13.	Biomasa promedio de <i>S.platensis</i> con 2 tratamientos experimentales :Tratamiento 1 (pH 9) y Tratamiento 2 (pH 10) y un grupo control, de <i>S.platensis</i> , cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo - Lambayeque.....	56
Figura 14.	Porcentaje de proteína promedio de la microalga <i>S.platensis</i> con 2 tratamientos experimentales: Tratamiento 1 (pH 9) y Tratamiento 2 (pH 10) y un grupo control, de <i>S.platensis</i> , cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo- Lambayeque.....	59
Figura 15.	Constancia de donación e identificación taxonómica de <i>S.platensis</i> (Anexo 01).....	88

Figura 16.	Vista de <i>S.platensis</i> en Microscopio a 400 X. (Anexo2).....	89
Figura 17.	Laboratorio de Ficología ,ambiente interior ubicado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....	90

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Composición de los medios de cultivo de *S.platensis*.....35
- Tabla 2.** Tratamientos para determinar el crecimiento y rendimiento de *Spirulina platensis* en diferentes valores de pH.....50
- Tabla 3.** Promedio de crecimiento poblacional de *S.platensis* en 2 tratamientos experimentales: Tratamiento 1 (pH 9) y Tratamiento 2 (pH 10) y un grupo control, de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....52
- Tabla 4.** Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *S.platensis* cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....54
- Tabla 5.** Prueba de Tukey para determinar diferencias significativas entre los tratamientos experimentales de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....54

- Tabla 6.** Biomasa de *S.platensis*, en las repeticiones y promedio de cada tratamiento, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....56
- Tabla 7.** Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos experimentales y grupo control en la biomasa de *S.platensis*, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....57
- Tabla 8.** Prueba de Tukey para determinar diferencias significativas del efecto de los tratamientos experimentales y grupo control de *S.platensis*, en la biomasa cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....57
- Tabla 9.** Porcentaje de proteína de *S.platensis*, en las repeticiones y promedio de cada tratamiento, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....58
- Tabla 10.** Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos en el porcentaje de proteína de *S.platensis*, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....60
- Tabla 11.** Prueba de Tukey para determinar diferencias significativas con respecto al porcentaje de proteína entre los tratamientos experimentales y grupo control de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la

Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.....	60
Tabla 12. Composición del agua mineral de manantial San Mateo (mg/l) (Anexo 4).....	86
Tabla13. Composición química de BioNut NPK 20-20-20 (Anexo 4).....	86
Tabla14 . Composición química del medio Zarrouk (Anexo 5).....	87
Tabla15. Composición proximal(%) de Spirulina (Anexo 5).....	87
Tabla16. Contenido proteico de diferentes alimentos (Anexo 6).....	88
Tabla 17. Contenido de vitaminas en <i>Spirulina</i> (Anexo 7).....	88
Tabla 18. Contenido de aminoácidos en <i>Spirulina</i> (Anexo 7).....	89
Tabla 19. Contenido de minerales en <i>Spirulina</i> (Anexo 8).....	91
Tabla 20. Lista de lípidos y pigmentos de <i>Spirulina</i> (Anexo 8).....	91
Tabla 21. Aplicaciones terapéuticas y comerciales de <i>Spirulina</i> (Anexo 9).....	92

RESUMEN

El desarrollo de la presente investigación tuvo como objetivo cultivar *Spirulina platensis* y determinar el pH que favorecerá un mejor crecimiento poblacional y rendimiento de proteínas bajo condiciones de laboratorio; para lo cual se aplicó el diseño experimental clásico con un control y dos tratamientos experimentales con tres repeticiones cada uno. El cultivo se realizó durante catorce días en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque, en el que se acondicionaron tres frascos de vidrio de un litro de capacidad. El control de crecimiento poblacional, se hizo diariamente tomando una alícuota de 1 ml de cada tratamiento, haciendo el recuento de las algas con la cámara de Malassez y para determinar el efecto de los tratamientos a diferentes niveles de pH sobre el crecimiento poblacional; se hizo el Análisis de Varianza y Prueba de Tukey. También se determinó la calidad nutricional, mediante la determinación de proteínas y se comprobó que *Spirulina platensis* fue capaz de crecer en los dos niveles de pH probados, pero el mejor crecimiento poblacional y producción de *S. platensis* se vio influenciado favorablemente en el tratamiento experimental con pH= 9; el cual obtuvo la mejor tasa de crecimiento a diferencia del tratamiento que estuvo

con pH = 10. Los niveles de proteínas fueron mayores en el tratamiento a un nivel de pH =9, alcanzando un 60.72%.

Palabras clave: cultivo, *Spirulina platensis*, pH, crecimiento, proteínas.

ABSTRACT

The development of this research aimed to cultivate *Spirulina platensis* and determine the pH that will favor better population growth and protein performance under laboratory conditions; for which the classic experimental design was applied with a control and two experimental treatments with three repetitions each. The cultivation was carried out for fourteen days in the laboratory of Ficology of the Faculty of Biological Sciences of the University Pedro Ruiz Gallo –Lambayeque, in which three glass bottles of one liter capacity were conditioned. Population growth control was done daily by taking a 1 ml aliquot of each treatment, counting the algae with the Malassez chamber and to determine the effect of treatments at different pH levels on growth population; Tukey's Variance Analysis and Test was done. Nutritional quality was also determined by protein determination and it was found that *Spirulina platensis* was able to grow at the two pH levels tested, but the best population growth and production of *S. platensis* was positively influenced in the experimental treatment with pH = 9; which obtained the best growth rate unlike the treatment that was with pH = 10.. Protein levels were higher in treatment at pH level 9, reaching 60.72 %.

Keywords: culture, *Spirulina platensis*, pH, growth, proteins.

I. INTRODUCCIÓN

La humanidad hoy en día presenta graves problemas como el déficit nutricional de alimentos; el cual es proporcional al crecimiento poblacional y al desarrollo económico y éstos aumentan de tal manera que han ejercido presión en los países del mundo para la producción del alimento, de modo que se hace imprescindible la búsqueda de nuevas fuentes de recursos que permitan preservar la existencia de los seres vivos y el constante desarrollo. “Se sabe que las microalgas, son de gran importancia, debido a la posibilidad de aplicación comercial en distintas áreas como: nutrición, salud humana y animal, prevención de la contaminación, tratamiento de aguas residuales, acuicultura y la obtención de compuestos de interés en las industrias alimentarias, químicas, farmacéuticas y de biodiesel(Richmond,1988).”

Actualmente varios géneros de microalgas como *Spirulina*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Nannochloris* son cultivadas comercialmente y la biomasa producida ha sido utilizada en la industria de los alimentos, lo que genera una constante productividad en los países que desarrollan su cultivo. Durante siglos *Spirulina* ha sido utilizada como alimento por los nativos que vivían cerca del lago Chad en África

Central y cerca del lago Texcoco en México. Es capaz de crecer en alta alcalinidad con la presencia de carbonatos, bicarbonatos y nitrógeno inorgánico. La biomasa de *S. platensis* ha sido reconocida como una ``comida maravillosa`` y es beneficiosa ya que contiene altas cantidades de proteínas y varios compuestos bioactivos tales como ácidos grasos esenciales (ácido linolénico y α -linoleico), vitaminas(vitaminas del complejo B:B1,B2,B3,B5,B6,B8,B9,B12,vitamina D,E,K) biopigmentos (ficocianina y clorofila-a) y también contiene compuestos antioxidantes como los carotenoides .

La OMS cataloga a *Spirulina* como un excelente alimento para consumo humano, además el producto algal cuenta con la aprobación del ente regulador de alimentos y drogas de USA como alimento natural. En Japón y USA, ejecutivos de negocios consumen tabletas de *Spirulina* y *Chlorella* para combatir el estrés. En estos países y otros como México, Alemania, Francia, Israel, India y Tailandia, los atletas y personas de la tercera edad consumen tabletas de estas algas como un fortificante energético. Inclusive la NASA (USA) utiliza *Spirulina* como suplemento alimenticio para sus astronautas. La biomasa de *Spirulina*, como extracto o procesado en pasta, pudines y otros alimentos funcionales, mejoran la función del tracto digestivo, puesto que ayudan a mantener la salud de la flora intestinal. Asimismo, en este nuevo milenio, grandes avances se han dado en el campo de la biotecnología alimentaria algal. El polvo de *Spirulina* es utilizado en la preparación de helados, yogurt, dulces y gelatinas fortificadas. Es así que, algunos países como Alemania, Francia, Japón, USA, China y Tailandia; están enfocados a la producción de pastas, pan, yogurt y bebidas enriquecidas con polvo algal (OMS;2010).

S. platensis tiene la capacidad de crecer en condiciones de cultivo autótrofo, mixotrófico y heterótrofo y es producida a nivel masivo en países como Estados Unidos, India, Tailandia, China, Cuba, México, Chile y Sudáfrica. Varios países del mundo vienen realizando investigaciones básicas y aplicadas al cultivo, procesamiento, valor nutricional, factores metabólicos y toxicológicos, así como costos de producción. Por lo tanto, el cultivo de *Spirulina* es beneficioso medicinalmente, así como también comercialmente; sin embargo, “para que se obtenga una buena producción y crecimiento, depende de muchos factores, entre ellos, la disponibilidad de nutrientes, iluminación, aireación, agitación, salinidad, temperatura y pH. “Estos factores claramente influyen la producción de biomasa de *Spirulina* y su composición bioquímica” (Grobbelaar,2009)

S.platensis tiene alto valor nutricional en el mercado, pero las investigaciones todavía no han alcanzado un máximo desarrollo en nuestro país, pues su cultivo está relacionado con los costos y el rendimiento en la producción, es por ello que se ha considerado trabajar sobre los factores que permiten un mejor crecimiento y producción de *S.platensis*. Dentro de estos, el pH en el medio de cultivo es un factor relevante para el desarrollo del mismo, pues su medición puede convertirse en un determinante del crecimiento y rendimiento de proteínas en el medio.

Por estas motivaciones se ha ejecutado el presente trabajo de investigación que tuvo como objetivo general: Cultivar *S.platensis* y determinar el pH que favorecerá un mejor crecimiento poblacional y rendimiento de proteínas bajo condiciones de laboratorio y; habiéndose formulado el problema :¿Qué nivel de pH favorecerá mejor el crecimiento poblacional y rendimiento de proteínas en un cultivo de *Spirulina*

platensis bajo condiciones de laboratorio?;al cual se planteó como hipótesis :El nivel de pH= 9 ,favorecerá el crecimiento poblacional y rendimiento de proteína en un cultivo de *S. platensis* bajo condiciones de laboratorio

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Los hallazgos fósiles revelan que las microalgas son los organismos fotosintéticos oxigénicos más antiguos que existen, probablemente del Período Pre-Cámbrico o Arqueozoico, hace aproximadamente tres mil millones de años. La necesidad primaria que condicionó su utilización por el hombre fue la de alimentarse, necesidad que estuvo siempre determinada por particularidades geográficas, socio-culturales y temporales. “Las microalgas son microorganismos unicelulares que presentan una enorme variedad en cuanto a forma, tamaño, organización y hábitat; además se caracterizan por presentar altas tasas de producción, gran adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, un ciclo biológico relativamente breve y una alta eficiencia fotosintética; son capaces de convertir la energía solar en biomasa con una eficiencia dos o cinco veces mayor que las plantas superiores” (Berner, 1993).

Con el paso de los siglos y el intercambio cultural, el occidente comenzó a fijarse en las microalgas como una posible fuente de alimentación, que aporta altas

tasas de porcentajes de proteínas de muy buena calidad, aminoácidos esenciales para la dieta humana, ácidos grasos y vitaminas de manera directa. De esta manera en la década de los setenta, se comenzó a construir grandes sistemas de cultivos extensivos conocidos como pond system (estanques) para la producción de grandes cantidades de biomasa algal, fundamentalmente microalgas del género de *Spirulina*, *Dunaliella* y *Chlorella* (Borowitzka, 1986; Kyle, 1989).

Aunque las investigaciones sobre la utilización de estas en la alimentación es un tema relativamente reciente cabe resaltar que “los primeros registros del uso de *Spirulina platensis* como alimento se remontan al siglo XVI d.C, cuando los españoles llegaron a América; en ese entonces se conocía como “tecuiltalt” (Arenas, 2009). Años después, el botánico belga Jean Leonard, describió la forma de obtención de unas tortas similares preparadas por la tribu Camambú en Kanem, El Chad, llamadas “die” o “dihé”, destinadas al consumo local y elaboradas a base de *S. platensis*” (Richmond, 1988; Shubert, 1988).

Clement (1975) y sus colaboradores del Instituto Francés del Petróleo, aislaron cepas de *Spirulina*, las purificaron, se dedicaron a cultivarlas, hicieron análisis químicos. El análisis prueba que las muestras de *Spirulina*, que constituyen la masa esencial, tiene un contenido fabuloso: 50 al 60% de su masa está hecha de proteínas de buena calidad alimenticia; el resto representa grasas en un 6% y azúcares de un 15 a 20%. A esto se adiciona toda una gama de vitaminas y una serie de otras moléculas, de gran utilidad para una nutrición sana y completa.

Según Vicent (1969) y Bhattacharya (1971), *Spirulina* y *Chlorella*, producen más proteína en relación a otros alimentos cultivados en la misma área ;asimismo

Mule(1988) “determinó el contenido proteico de las cyanophytas en aguas residuales con miras al aprovechamiento proteínico para la alimentación”. Por otro lado Falquet (1996) “mencionó que los minerales de interés particular en la *Spirulina* son el hierro, magnesio, calcio, fósforo y potasio; de los cuales el hierro está en una alta concentración que va desde 500 a 1800 mg/kg; en comparación con los cereales completos clasificados entre los mejores aportadores de hierro, los cuáles no tienen más de 150 a 250mg/kg”.

Estudios como el de Chamorro, et al (2002) realizados “a corto, mediano y largo plazo en animales de laboratorio, han demostrado que la *Spirulina* no produce efectos indeseables, lo que representa una ventaja en relación a otras algas, que han ocasionado toxicidad y muerte en animales domésticos y salvajes, así como en el humano, principalmente por la presencia de hepato y neurotoxinas. Asimismo, se observó que *Spirulina* mostró un buen potencial hematológico, por lo que puede servir como un suplemento para combatir la anemia, siendo la disponibilidad del metal en la *Spirulina* comparable a la del sulfato de hierro estándar”. Asimismo, López (2004) mencionó que *Spirulina* está considerada como un excelente elemento nutritivo, sin toxicidad y con propiedades que le permiten utilizarse en la corrección de ataques virales, anemia, tumores, contra la desnutrición e incluso en la cosmetología.

Debido a su importancia nutricional ha llamado la atención del mundo, incluso la NASA la utiliza como alimento para los astronautas en viajes espaciales de larga duración al espacio y han sido utilizadas por siglos alrededor del mundo para nutrir nuestras células, habiéndose demostrado que puede prevenir el cáncer en humanos y animales, mejorar el sistema inmune y retardar el envejecimiento (Piñero et al.; 2001). La ingesta de pequeñas cantidades de *Spirulina* puede generar defensas de

tipo humoral como celular en el sistema inmunológico. El consumo de la biomasa algal acelera la producción del sistema humoral (anticuerpos y citosinas) permitiendo una mejor protección contra gérmenes invasores (Borowitzka M.; 1999). Especialistas en nutrición afirman que un gramo de *Spirulina* equivale a un kilo de frutas y verduras de toda clase; debido a que es muy rica en proteínas, vitaminas, enzimas, antioxidantes y carotenoides; por lo cual es considerada el más complejo nutriente cultivado naturalmente en el mundo; tiene 34 veces más hierro que la espinaca, 21 veces más betacaroteno que las zanahorias, 4.15 veces más calcio que la leche de soya y más proteína (60-70%) que cualquier otro alimento conocido en el mundo (Arenas, 2009).

La biomasa de *Spirulina*, como extracto o procesado en pasta, pudines y otros alimentos funcionales, mejoran la función del tracto digestivo, puesto que ayudan a mantener la salud de la flora intestinal. Asimismo, en este nuevo milenio, grandes avances se han dado en el campo de la biotecnología alimentaria algal. El polvo de *Spirulina* es utilizado en la preparación de helados, yogurt, dulces y gelatinas fortificadas. Es así que, algunos países como Alemania, Francia, Japón, USA, China y Tailandia; están enfocados a la producción de pastas, pan, yogurt y bebidas enriquecidas con polvo algal (OMS; 2010).

A partir de ese entonces hasta hoy, muchos investigadores se han interesado en su cultivo como Rojas et al. (2012); "quienes realizaron un cultivo continuo de *S. platensis* durante 78 días en fotobiorreactor tubular de 300 l, usando como base el medio Zarrouk (1996) y elaboraron tres medios para las diferentes etapas de cultivo: medio inicial (MI) que se adicionó en el momento del cultivo; medio de crecimiento (SA1+SA2) adicionado diariamente y el medio mantenimiento (SB1+SB2) se adicionó

al tercer día del cultivo ; realizándose cosechas parciales (50%) cada 20 días , obteniéndose una mayor biomasa de 1.7 g/l en el medio (SB1+SB2) con mayor concentración de sales y a un nivel de pH = 9". Falquet;(2000) "en un cultivo experimental, enfatizo que *S. platensis* crece en condiciones alcalinas con un pH que oscila entre 8.5 y 10.5 y a temperatura promedio de 25^o-35^oC; condiciones propias de su medio que le permite reforzar más su efecto de exclusión". Alfonso y Leal, (1998); "en un estudio donde realizó el aislamiento de diversas cepas de Spirulina y su temperatura óptima de crecimiento, llegó a la conclusión que para algunas ésta se sitúa entre 24-28^oC. También que su rango de pH óptimo oscila entre 9 y 10 y admite hasta pH 11,5, pero no se desarrolla a pH 7. Su eficiencia de fijación de CO₂ puede llegar al 38%, siendo una de las más altas entre las microalgas. Se ha comprobado también que puede crecer en medios con alta carga orgánica, con hasta 10 g acetato/L, así como que es, junto con Oscillatoria y Anabaena, capaz de tomar como única fuente de nitrógeno el nitrógeno molecular N₂, que emplea con la ayuda de la enzima nitrogenasa, reduciéndolo a amonio".

Rodríguez, A. & F.Triana, (2006); en un ensayo experimental de pH en un cultivo de *S.platensis* ; demostró que el ensayo a pH=9 ,resulto ser el más adecuado en el incremento de la biomasa de *Spirulina platensis* bajo las condiciones establecidas. "Los ensayos a pH menos alcalinos resultan poco benéficos para su desarrollo, ya que no se obtuvo una buena producción de biomasa. En los ensayos a pH 10,0 y 10,2; presentan el menor incremento de biomasa, así como también propició una rápida caída en el cultivo, demostrando que pH muy alcalinos afectan significativamente el desarrollo de *S. platensis*".

Vicent,(1969);en un estudio del rendimiento proteínico de *S.platensis* , demostró que produce en 4042 m²/año, 9851,8 kg de proteína en peso seco; mientras que el rendimiento de la proteína de pescado es 254,24 kg; de maní 190,68 kg ; el trigo 94.89 kg y la leche 40.86 kg. *S. platensis*, es la microalga más completa en nutrientes, de ahí su importancia por su alto valor nutritivo debido a su composición que alcanza del 60 al 70% en proteína, tiene 18 aminoácidos, beta carotenos y muchas vitaminas que son necesarios para el cuerpo humano.

Según Berry et al. (2003) la producción a escala comercial de Spirulina depende de muchos factores, entre ellos los nutrientes del medio de cultivo que resultan ser muy costosos; pero a un pH mayor en el rango de 9.0-9.4 a más le da cierta ventaja a este tipo de cultivo, por su elevada alcalinidad, que evita la contaminación de otros microorganismos y en especial otras microalgas.

Guevara et al. (2016) evaluaron el efecto de la salinidad y la fuente de nitrógeno sobre el crecimiento y composición bioquímica de *S.platensis*. El crecimiento medido como biomasa seca, se determinó cada 48 horas del ensayo, lo mismo que la composición bioquímica. El incremento de la salinidad y la fuente de nitrógeno produjo una disminución significativa en el crecimiento, contenido de proteínas, clorofila a, carotenoides y ficocianina de esta microalga. Los cultivos se ajustaron a un pH 10 y a una temperatura de 25±1°C cultivados en botellas de vidrios de 3 litros de capacidad y con medio Zarrouk, dos salinidades y dos fuentes de nitrógeno. Se evidenciaron grandes concentraciones de nutrientes en los resultados finales. Se concluyó que el crecimiento y la composición bioquímica de *S.platensis* durante los primeros días se mantuvieron sin cambios, lo cual es indicativo de una fase de adaptación. A partir de allí, se observó un incremento hasta los días 14-16 para luego

entrar en una fase estacionaria hasta el final del ensayo. Con respecto a la composición bioquímica *S.platensis* obtuvo un 58% de proteínas, pues el suministro de nitrato de sodio como fuente de nitrógeno produjo en *S.platensis* una mayor acumulación de proteínas, carbohidratos y lípidos totales, mientras la salinidad ocasionó diferentes respuestas en la síntesis de estas macromoléculas.

Huarachi (2015), “estudió la adaptabilidad de *S.platensis* cultivada en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales. El cultivo fue mantenido usando una solución hidropónica a un pH 9 y a una temperatura de 24-25°C. Según los resultados obtenidos se demostró que la morfología de *S.platensis* cambia de una forma espiralada típica a una forma recta por exposición directa a la radiación UV de los rayos solares. Se obtuvo una biomasa de 1.5 g/l y una productividad de 0.298 g/m²/día . Las características morfológicas de *Spirulina* suelen estar relacionadas con la calidad del producto. Por lo tanto, la radiación solar UV en cultivos al aire libre influye negativamente en la calidad y rendimiento del producto”.

Volkman et al. (2008); analizaron el contenido proteico y perfil de aminoácidos de *S.platensis* de un cultivo en aguas residuales y medio sintético salinado. Se concluyó que *S.platensis* es capaz de crecer bajo condiciones controladas a una temperatura de 25-28°C con pH de rango 9-10, fotoperiodo de 12 horas luz-oscuridad y burbujeo constante. En los medios de cultivo suministrados se evidenciaron concentraciones de proteínas de un 48.59 % y la tasa más alta de un 56.17% de proteínas. Valores similares para el total de proteínas según Richmond, A. (2004) oscilaban entre 46 y 50% en peso seco; mientras Oliveira, M. (1999) y Pelizer, L.H. (2003) registraron de un 55.0 - 61.0 % de contenido de proteínas. Valores similares fueron encontrados por Rafiqul et al. (2005) que encontraron el 58.6% del total de

contenido de proteínas. Por otra parte, Zeng, MT y Vonshak, A. (1998) informaron que las células bajo condiciones de estrés, incluyendo salinidad-estrés, tienen una menor capacidad de síntesis de proteínas.

Rojas et al. (2016) “evaluaron el crecimiento de *S.platensis* UTEX 1926 cultivada en medios salinos, utilizando CO₂ como fuente de carbono; concluyeron que el crecimiento de las células de *S.platensis* y la producción de sus metabolitos son afectados por factores como el aporte de nutrientes y parámetros físico-químicos como pH, temperatura, salinidad y disponibilidad de luz. En este estudio, el crecimiento celular de *S.platensis* y la producción de metabolitos en diferentes concentraciones de salinidad, nitrato de sodio y fosfato dipotásico, se evaluaron con el fin de obtener las condiciones fisiológicas más adecuadas en el metabolismo de *Spirulina*. La cepa fue cultivada en matraces de 1000 ml, con una corriente de aire enriquecida con CO₂, fotoperiodo de 12:12 bajo luz artificial(LED), temperatura de 27°C±3 y a un pH de 9.0±0.5. Los resultados demostraron que *S.platensis* alcanzó una concentración celular de 2197 mg/l y concentraciones de nutrientes como: 203 mg/l de proteínas, 4 mg/l de ficocianina y 3 mg/l de exopolisacáridos”.

Vásquez et al. (2014); “estudiaron la influencia de las variables: proporción agua de mar(%) y concentración de bicarbonato en la producción de biomasa de *Spirulina*, para evaluar las regiones óptimas de producción de biomasa, fase de adaptación y crecimiento; obteniéndose el mayor valor de biomasa de 0.928 en un medio de cultivo con un valor de pH entre 8.8±0.1 a 8.9±0.2 y a una temperatura de 25°C”.

Moreno, F. (2017) “realizaron un estudio acerca de la obtención de un fertilizante a partir del cultivo de *S.platensis* en aguas residuales domésticas, donde

se pretende dar valor agregado a este recurso hídrico degradado, para ser transformado mediante el uso de *S.platensis*, en un producto de interés como son los fertilizantes. El proyecto se desarrolló en cuatro etapas a escala de laboratorio, la primera que corresponde a la adaptación del mismo a las condiciones ambientales de la zona, usando medio de cultivo Zarrouk, la segunda fue la reproducción de *S.platensis* en un medio de cultivo conformado por 50% de aguas residuales domésticas tratadas y 50% de medio Zarrouk, la tercera etapa donde se realizaron 6 bioensayos con fotobiorreactores y al última etapa en donde se efectuaron comparaciones de acuerdo a los resultados”. Las variables evaluadas durante las tres primeras etapas correspondieron a pH, temperatura y densidad poblacional. Los resultados obtenidos determinaron que la microalga se adapta paulatinamente a las condiciones ambientales brindadas por el lugar donde se desarrolló el proyecto; así como a las aguas residuales domésticas tratadas que sirvieron de sustrato. Con respecto al parámetro del pH, este no se estandarizó, se dejó que se iniciara sin alterarlo, después de realizar la mezcla de sustratos y la inoculación de la microalga, debido a que *S.platensis* va alcalinizando el medio a medida que va aumentando su densidad poblacional. Se concluyó que a pH 9.3 y a temperatura de 22°C; corresponden al punto óptimo para obtener 1.139×10^6 células por mililitro, con las características suministradas. La determinación del pH se puede utilizar como un indicador del crecimiento; puesto que el crecimiento de las células se puede estimar rápidamente por el pH del cultivo.

Rojas et al. (2012); “realizaron un cultivo continuo de *S.platensis* durante 78 días en un fotobiorreactor tubular de 300 litros de volumen. Durante este período se registró el crecimiento en biomasa y la respuesta del cultivo a la adición del medio nutritivo. Utilizando como base el medio Zarrouk, se elaboraron tres medios: medio

inicial (MI), medio de crecimiento (SA1+SA2) y medio de mantenimiento (SB1+SB2) para las distintas etapas del cultivo y a un pH promedio de 9.4. La entrega de los medios se efectuó paulatinamente y de acuerdo a los requerimientos del crecimiento en biomasa (en peso seco) diario del cultivo. La biomasa inicial del cultivo fue de 2.0 g/L⁻¹, al día 20 se efectuó la primera cosecha parcial (50%) dando inicio a una nueva etapa del cultivo con una biomasa inicial de 1.7 g/L⁻¹, 20 días después se realizó una segunda cosecha parcial del cultivo, iniciando una tercera etapa del cultivo con una biomasa de 1.6 g/L⁻¹. Los resultados obtenidos al cabo de las cosechas fueron, en promedio de 3.7; 4.1 y 9.7 g/L⁻¹, respectivamente. El análisis proximal efectuado al final del cultivo continuo indicó un 71.6% de proteína”.

Kapasi et al. (2014); investigaron el efecto de los principales parámetros de crecimiento de *Spirulina*, como la intensidad de luz, la aireación, el pH, el contenido de bicarbonato de sodio y el material utilizado para el cultivo, en el desarrollo de un producto a base de la biomasa de *Spirulina*; además del análisis bioquímico de los componentes principales. La investigación proporcionó las condiciones optimizadas para el crecimiento de *S.platensis* e información esencial sobre estudios de reformulación de *Spirulina* en polvo, que puede aplicarse más para el desarrollo de productos. Se seleccionaron dos medios nutricionales para el cultivo: los medios sintéticos (Zarrouk) y los medios sintéticos con fertilizante, a temperatura que va de un rango de 26°C a 28°C .Se evidenció que el crecimiento de *Spirulina* en medios sintéticos es mejor que en los medios con fertilizantes; además hubo una variación del contenido de bicarbonato de sodio; lo cual mostró que una concentración de 16 g/l es el apropiado para el crecimiento ya que mantiene el pH requerido en el rango de 8-10, mantiene los medios lo suficientemente alcalino como para que pueda crecer y minimiza la contaminación por otros microorganismos. El resultado del análisis

bioquímico de Spirulina, evidenció que alcanzó un contenido proteico del 58.15%,33.09% de carbohidratos, así como porcentajes significativos de otros nutrientes esenciales. El estudio de Spirulina con respecto a la optimización de sus parámetros de crecimiento, estudios de pre - formulación y desarrollo de productos, concluyó que los resultados obtenidos serán de gran valor para la producción comercial, así como estudios piloto de investigación y desarrollo, puesto que *S.platensis* tiene un gran potencial como cultivo a pequeña escala para la mejora nutricional, así como desarrollo de medios de vida.

Delrue et al. (2017); realizaron un estudio acerca de la optimización del crecimiento de *S.platensis* de escala de laboratorio a escala piloto. Se investigó la productividad de la biomasa de Spirulina a través de la elección del medio, aun pH óptimo de 9.5. Para ello se seleccionó un medio de Zarrouk, modificado por Delrue (2017) ya que proporcionó pesos secos finales más altos y un crecimiento sostenido más prolongado que los otros medios. La ingesta de hierro se investigó como uno de los principales nutrientes lo cual concluyó que el aumento del contenido de hierro en Spirulina, podría conducir a un aumento muy beneficioso de su valor nutricional.

Manigandam, M. (2014);realizó un estudio sobre el cultivo en masa y la determinación de la composición bioquímica de *S.platensis* usando tres medios diferentes: Medio sintético(SM),medio de fertilizante(FM) y medio de agua de mar (SW) a una temperatura de 25°C+-2;cuyo pH fue ajustado en el rango de 8.5-9.0 . Se determinó también el recuento microscópico (DMC), densidad óptica (OD) a 560 nm y la biomasa seca (DB). El crecimiento máximo se obtuvo en el medio sintético (DMC-95 células/ml; DO-0.442 nm; DB-2.55mg/l), seguido del medio fertilizante (DMC-89 células/ml; DO-0.395 nm; DB-2.10mg/l), y el menor crecimiento en el medio de agua de mar (DMC-55 células/ml; DO-0.251 nm; DB-0.91mg/l).De la estimación de los

compuestos bioquímicos de *S.platensis* se evidenció que el contenido de proteína era alto en medios sintético (44,41%), seguido de medio fertilizante (40.26%) y el menor contenido de proteína fue registrado en el medio de agua de mar (36.54%). En el presente estudio se concluyó que *S.platensis* cultivada en tres medios diferentes, bajo diversas concentraciones de nutrientes, rindió un mejor crecimiento y alta composición bioquímica en el medio sintético.

Thirumala, M. (2012); observó el crecimiento de *S.platensis* LN1 usando ocho medios diferentes que consistían en diferentes combinaciones de agua del Lago Lonar ,N,P,K y composición del medio Zarrouk bajo diferentes períodos de incubación. La optimización del crecimiento de *S.platensis* se observó a un rango de temperatura óptima de 25-30°C y a un pH de rango óptimo entre 9-10. El estudio demostró que el crecimiento más alto se dio en el medio VI(es decir agua Lonar 250ml+NPK (17:17:17)1.5g/l) y el menor crecimiento se dio en el medio II (agua Lonar 250 ml + sin adición). El estudio del crecimiento de *S.platensis* con respecto al pH, se demostró que *S.platensis* creció bajo diferentes pH ;pero bajo el pH 9 y 10 ,mostró buenos resultados, en comparación con otras condiciones de pH .

Zarahmaida et al. (2018); realizaron un estudio sobre la optimización del crecimiento de *S.platensis* en extractos de brotes de soja con medio de fertilizante úrea, para la producción de ficocianina como antioxidante. El estudio planteó que *S.platensis* tiene el potencial de desarrollarse debido a compuestos químicos esenciales en forma de ficocianina que puede usarse como antioxidante. El crecimiento de microalgas y ficocianina, depende de la disponibilidad de la nutrición contenida en el medio de cultivo. El estudio concluyó que el crecimiento se ve afectado por la composición del medio.

Saldivar,J.(2017),estudió el crecimiento y producción de *A.platensis* con diferentes medios de cultivo a bases de sales inorgánicas y concluyo que estos se vieron influenciados favorablemente por la mayor concentración de sal de mar. nitrógeno y fosfato en el medio de cultivo obteniendo una cantidad del 71.13% de proteína.

III.MARCO METODOLÓGICO

3.1. MATERIALES

3.1.1. Material biológico

Conformado por *Spirulina platensis*(Fig.1), que fue proporcionada por el biólogo Humberto Rivera Calle, docente de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura.

3.1.2. Población y muestra de estudio

La población estuvo constituida por *Spirulina platensis* y la muestra de estudio estuvo conformada por tres frascos de cultivo con 800 ml de dicha microalga.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Ficología del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias

Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, ubicado en el Departamento de Lambayeque-Perú (Fig.17-Anexo 3).

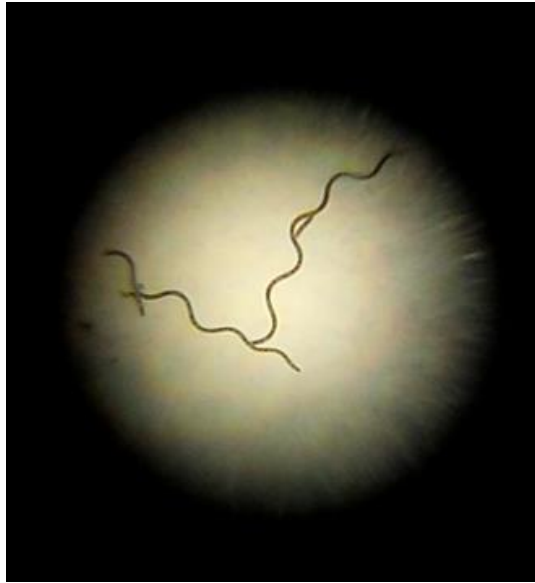
3.2.2. Mantenimiento del cultivo

3.2.2.1. Desinfección y esterilización

Antes de iniciar el desarrollo del cultivo el material de vidrio se colocó en una solución de hipoclorito de sodio durante 24 horas, previo lavado con agua potable, se enjuagó y se dejó secar. Una vez seco, el material de vidrio se cubrió con papel Kraft y se procedió a esterilizar en un horno marca Labor Muszeripari Muvek 220 W, a una temperatura de 125°C por 2,5 horas.



Frasco conteniendo *Spirulina platensis*



S. platensis vista al microscopio en 400 X.

Figura 1. Material Biológico de *S. platensis*

1.2.2.2. Parámetro químico

- **pH** : Se ajustó el pH en cada uno de los tratamientos experimentales (pH 9 y pH 10) haciendo uso de un pH metro portátil, marca Biochemicals Instruments, rango de pH=0-14, +- 0,01 de sensibilidad.(Fig. 4)

3.2.3. Medios de cultivo

3.2.3.1. Agua Se utilizó agua embotellada mineral de manantial San Mateo que contiene calcio 90 mg/l, magnesio 11 mg/l, sodio 32 mg/l, Potasio 6 mg/l y se depositó en frascos de vidrio de 1L de capacidad.

3.2.3.2. Preparación de los medios de cultivo

Los medios de cultivo (tabla 1) fueron preparados a base de BIONUT NPK (abono foliar) y Na HCO₃ (bicarbonato de sodio) a diferentes concentraciones para cada tratamiento experimental y un grupo control (el cual no recibió la adición de ningún medio de cultivo)

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo de *S.platensis* .

Elementos	Control pH = 7	Tratamiento1 pH = 9	Tratamiento2 pH = 10
BIONUT NPK (abono foliar)	X	6 gotas	6 gotas
Na HCO ₃	X	2 g	5 g
Agua	700 ml	700 ml	700 ml
Inóculo de <i>S.platensis</i>	100 ml	100 ml	100 ml

3.2.4. Desarrollo del cultivo de *S.platensis*

3.2.4.1. Siembra:

El desarrollo de la siembra se desarrolló de la siguiente manera:

- En un frasco de vidrio de 1L de capacidad, fue mantenida, 600 ml de *S.platensis*(Fig. 2), durante unos días previos al inicio del cultivo fue mantenida con el medio Zarrouk,
- Después, se procedió a la siembra del cultivo (Fig. 2) y frente al mechero, en 3 frascos de vidrio de 1L de capacidad se procedió a colocar 700 ml de agua estéril (en cada uno de los frascos), se colocó también los medios de cultivo correspondiente a los tratamientos experimentales.(Tabla 1)

- Luego, una vez que se incorporó los respectivos medios de cultivo, en presencia del mechero, se le adicionó la cepa de *S.platensis*(100 ml) en cada uno de los frascos respectivamente.

Todo el proceso se realizó en la cámara de cultivo ubicada en el laboratorio de Ficología (Figura anexo); iluminada con tres fluorescentes de luz blanca de 40 watts cada uno, colocados a una distancia aproximada de 10 cm de las botellas de cultivos microalgales; con una temperatura constante de 25°-26°C y conectada a un sistema de aireación para lo cual se utilizó unos motores aireadores de 15 HP marca SOBU.



Agua estéril con medio de cultivo



Preparación y acondicionamiento del cultivo

Figura 2. Siembra de *S. platensis*





Figura 3. Instalación de *S.platensis* en la cámara de cultivo ubicada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Pedro Ruíz Gallo –Lambayeque.



Figura 4. Medición del pH con potenciómetro digital

3.2.4.2. Determinación del crecimiento poblacional

Diariamente, con una micropipeta se tomó 1ml de la muestra de todos los cultivos de *S. platensis*, contenida en los tres pomos de vidrio. Después, se realizó el recuento celular durante 14 días, utilizando la cámara de Malassez (Fig. 8).

El crecimiento de la población se evaluó, mediante la técnica de conteo directo en lámina, del número de células/ml; aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{N}^\circ \text{ células /ml} = \text{N}^\circ \text{ células contadas} \times 10^5$$

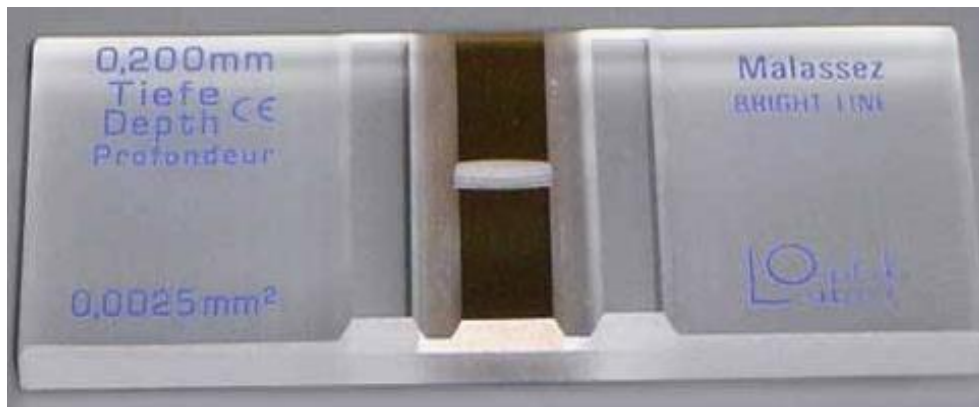


Figura 5. Observación de una muestra de *S. platensis* en la lámina portaobjetos, Cámara de Malassez utilizada para el conteo celular de *S. platensis*.

3.2.4.3. Determinación de la biomasa

- **Filtrado:** Llegado al séptimo día de cultivo de cada una de las unidades experimentales y grupo control se filtró 500 ml del cultivo con papel filtro Whatman N°42, utilizando un embudo Buchner y una jarra, después usando una cuchara se extrajo la pasta del papel filtro y luego el filtrado se colocó en placas Petri(Fig. 4)



Filtrado



Extracción de la pasta y distribución en placas

Figura 6. Filtrado, extracción y distribución en placas de la pasta de *S.platensis*.

-Secado:El secado se realizó en dos estufas eléctricas de acero inoxidable: Primero se procedió a secar en la estufa de la Marca Thelco (Precisión Scientific 100 °C) a 60°C por 8 horas y luego en una estufa Marca Memmert (Precisión Scientific 300 °C) a 105°C por 10 minutos (Fig. 5). Posteriormente las placas se dejaron enfriar por una hora sobre una mesa, a medio ambiente (Fig. 6).



Estufa de 60 °C



Estufa de 105°C

Figura 7. Estufa utilizada para el secado de *S. platensis*: estufa de 60°C y estufa de 105°C; en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque.



Figura 8. Secado de *S.platensis* en estufa; *S. platensis* seca en placa Petri en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque.

El peso seco de *S. platensis* se registró en una balanza analítica, para lo cual primero se calibró el papel filtro y luego se pesó la muestra seca obteniendo así la biomasa (Figura 9).



Figura 9. Determinación de la biomasa: Extracción de *S.platensis*,Pesado de la muestra seca, Biomasa obtenida en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo –Lambayeque.

3.2.4.4. Determinación de la proteína

La determinación del contenido proteico de *S.platensis* se llevó a cabo el séptimo día de cultivo tanto para el grupo control como para los tratamientos experimentales: Tratamiento 1(pH:9) y Tratamiento 2(pH 10) y sus repeticiones, se realizó en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; utilizando el método Kjeldahl(INEN 543,1980), con el siguiente procedimiento:

Digestión: Se trituro y pesó 0,3 g de *S.platensis* seca en papel filtro, de ahí se vació en el balón de digestión, se agregó 0,5 g de catalizador (sulfato de cobre+ sulfato de potasio) y 4 ml de ácido sulfúrico concentrado, para finalmente colocar los balones en los calentadores del equipo Kjeldahl, donde la digestión prosiguió hasta obtener una solución verde brillante(Fig. 10).



Pesado de 0.3 g de *S.platensis*



4 ml de H₂SO₄



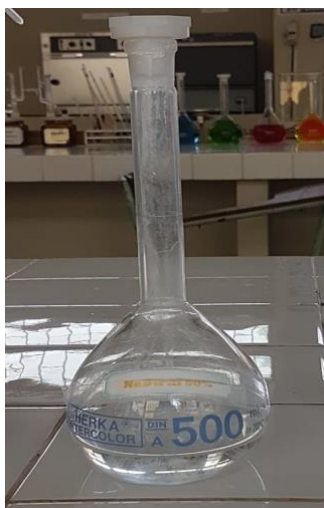
Equipo de digestión



Solución verde

Figura 10. Proceso de digestión: Pesado de la muestra; Equipo de digestión y Solución final, en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo – Lambayeque.

Destilación: Se adicionó con cuidado agua destilada para diluir la muestra y se agregó 25 ml de hidróxido de sodio al 35 %. A continuación, se agregó 20 ml de solución rojo de metilo en un matraz y se colocó en el extremo del tubo de destilación y cuando el rojo de metilo viró a verde, esto indicó la presencia de nitrógeno (Fig. 11).



Na OH



Equipo de destilación



Obtención de nitrógeno



Solución rosada

Figura 11.Proceso de destilación: Adición de hidróxido de sodio; Equipo de destilación, Obtención de nitrógeno y Obtención de una solución rosada producto de la Titulación con ácido clorhídrico, realizado en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Pedro Ruíz Gallo –Lambayeque.

Titulación: Se tituló con ácido clorhídrico al 0,02 N, hasta que la solución viro a color rosado claro, el gasto de HCl en ml se llevó a la formula siguiente, para determinar el nitrógeno total:

$$\%N = \frac{\text{Gasto de HCl} \times 0,014 \times 0,02 \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

Dónde:

- % N : Porcentaje de nitrógeno
- 0,014 : Miliequivalente del nitrógeno
- 0,02 : Normalidad del ácido
- 0,30 : Peso de la muestra

A partir del % del Nitrógeno obtenido se calculó:

$$\% \text{ PC} = \% \text{ N} \times 6,25$$

Donde:

%PC: Porcentaje de proteína concentrada

6,25 : Factor proteínico por defecto (equivalente de la proteína)

El contenido de proteína se estima multiplicando el contenido de nitrógeno por un factor de conversión de nitrógeno a proteína, generalmente establecido en 6.25

3.2.8. Diseño experimental y análisis estadístico de datos

Para contrastar la hipótesis planteada, se aplicó el Diseño Experimental Clásico (dos tratamientos y un grupo control, con tres repeticiones cada uno); siendo el factor el nivel de pH. El diseño experimental se muestra en la (Tabla 2).

- **Control:** R1, R2 y R3;
- **T1(pH 9):** R1, R2 y R3;
- **T2(pH 10):** R1, R2 y R3.

Al término del proceso de cultivo, para determinar diferencias en el crecimiento de *S.platensis* entre las repeticiones de cada medio y el grupo control, se aplicó el análisis de varianza.

La comparación de las medias, para evidenciar si existieron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó a través de rango múltiple de Tukey.

Los análisis estadísticos fueron procesados con una laptop Lenovo 241 Intel Core i3-1 Tb, utilizando el programa Megastat de Microsof Office Excel 2015.

Tabla 2. Tratamientos para determinar el crecimiento y rendimiento de

S. platensis en diferentes valores de pH.

r : n° de repeticiones.

CONTEO (día)	TRATAMIENTOS								
	CONTROL: PH=7			Tratamiento1: pH=9			Tratamiento2: pH=10		
	r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	X	X	X	X	X	X	X	X	X
3	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4	X	X	X	X	X	X	X	X	X
5	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6	X	X	X	X	X	X	X	X	X
7	X	X	X	X	X	X	X	X	X
8	X	X	X	X	X	X	X	X	X
9	X	X	X	X	X	X	X	X	X
10	X	X	X	X	X	X	X	X	X
11	X	X	X	X	X	X	X	X	X
12	X	X	X	X	X	X	X	X	X
13	X	X	X	X	X	X	X	X	X
14	X	X	X	X	X	X	X	X	X

IV. RESULTADOS

4.1. Crecimiento de *S.platensis*

El crecimiento de *S.platensis*, realizado por conteo directo, durante 14 días en la cámara de Malassez; demostró que los valores más altos del número de células/ml se obtuvieron en el tratamiento experimental con pH 9 (Tabla 03). El tratamiento experimental a pH 10, también logró crecimiento algal, pero éste fue muy inferior en comparación con el tratamiento a pH 9.

La representación gráfica de la curva del crecimiento poblacional (Fig.12), pone de manifiesto que las diferencias observadas en el crecimiento a favor de los tratamientos antes señalados, ocurrió a partir del cuarto día de cultivo. Diferencias que fueron evidenciadas a través del análisis de varianza; que determinó que el crecimiento fue afectado por los tratamientos, el tiempo la interacción entre ambos.

El análisis de varianza del crecimiento de *S.platensis* (Tabla 04) para los dos tratamientos experimentales (tratamiento a pH 9 y tratamiento a pH 10) y el grupo control; mostró diferencias significativas ($p < 0.05$), corroborando el resultado obtenido mediante el conteo celular.

De los resultados obtenidos, se concluye que el crecimiento de *S.platensis* en los tratamientos a pH 9 y pH 10 fue superior con respecto al control, no obstante el tratamiento experimental a pH 9 logró un mejor y más alto crecimiento que el tratamiento experimental a pH 10.

Tabla 3. Promedio de crecimiento poblacional de *S.platensis* (cl/ml) en 2 tratamientos experimentales Tratamiento1 (pH 9) y Tratamiento 2 (pH 10) y un grupo control, de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Conteo(día)			
cl/ml	CONTROL	pH =9	pH =10
Inicio	90000	100000	90000
1	100000	128000	110000
2	97000	108000	105000
3	100000	147000	110000
4	121000	272000	161000
5	160000	368000	245000
6	174000	687000	398000
7	140000	568000	323000
8	92000	452000	235000
9	80000	348000	202000
10	77000	367000	190000
11	80000	399000	161000
12	92000	303000	140000
13	81000	255000	123000
14	60000	227000	102000

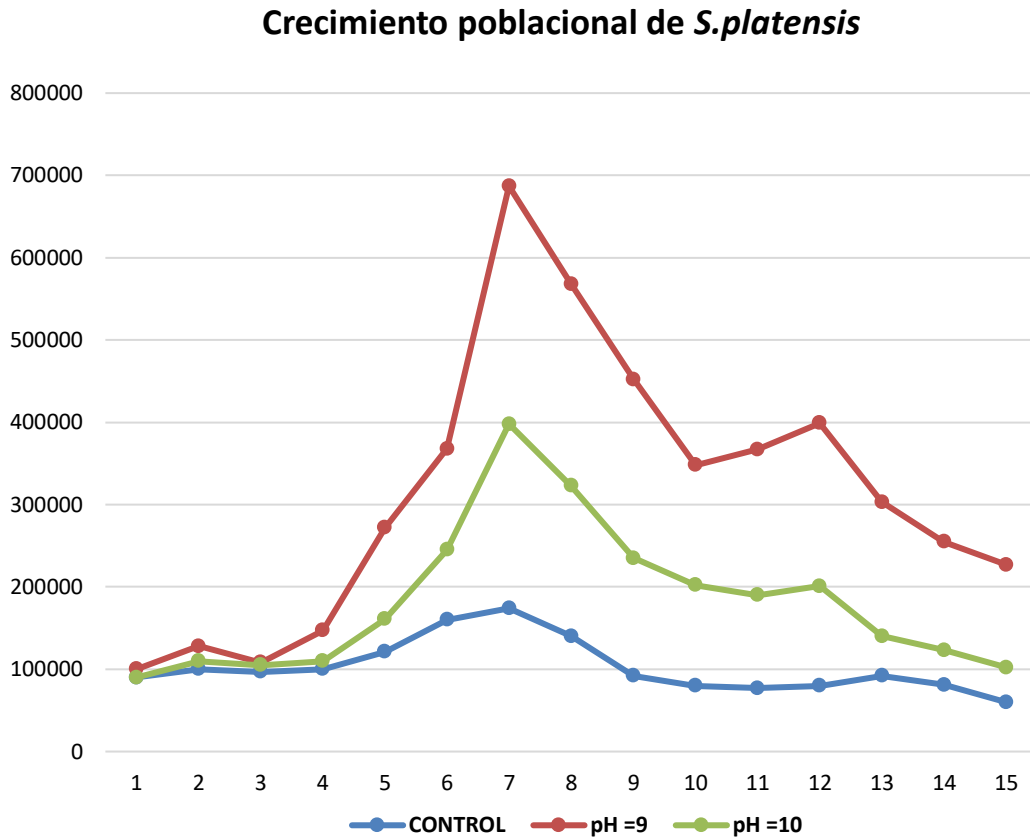


Figura 12. Curva de crecimiento de poblacional de *S.platensis* con 2 tratamientos experimentales: Tratamiento1(pH 9) y Tratamiento2(pH 10) y un grupo control, de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Tabla 4. Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos experimentales y grupo control sobre el crecimiento de *S.platensis* cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

ANOVA

Variación	SS	df	MS	F(cal.)	p-valor
Tratamientos	89,404,311,111.11	2	44,702,155,555.556	30.40	9.60x10 ⁻⁰⁸
Blocks	133,858,977,777.78	14	9,561,355,555.556	6.50	1.40x10 ⁻⁰⁵
Error	41,169,688,888.89	28	1,470,346,031.746		
Total	264,432,977,777.78	44			

La prueba de Tukey(Tabla 05), permitió demostrar que el crecimiento de *S.platensis*, en el tratamiento con pH 9; fue superior al tratamiento con pH 10 y que en ambos tratamientos hubo diferencias significativas con respecto al control(p<0.05).

Tabla 5. Prueba de Tukey para determinar diferencias significativas entre los tratamientos experimentales de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Tukey comparación simultánea de los valores de t

(d.f. = 28)

	CONTROL	pH =10	pH =9
	103,5	186,0	206,7
CONTROL	103,5		
pH =10	186,0	5.89	1.84
pH =9	206,7	35.37	29.48

4.2. pH :

Los valores de pH fueron estandarizados de manera correspondiente a cada tratamiento experimental y con la tendencia a incrementarse ligeramente a medida que avanzó el proceso de cultivo.

4.3. Biomasa :

Los valores correspondientes a la biomasa fueron tomados durante la fase donde *S.platensis* alcanzó su máximo crecimiento exponencial que ocurrió durante el séptimo día de cultivo.

Las concentraciones de la biomasa fueron muy similares durante las repeticiones en cada tratamiento experimental. Sin embargo, al promediar las repeticiones(Tabla 06, Fig.13), se observó que las concentraciones de biomasa del tratamiento experimental con pH 9 fue definitivamente superior al obtenido con el tratamiento a pH 10; lo cual fue corroborado por el análisis de varianza , que señaló que hubo diferencias significativas entre los mismos(Tabla 7).

La prueba de Tukey, evidenció que las concentraciones de biomasa de los tratamientos experimentales con pH 9 y pH 10 son significativamente diferentes entre sí y con el grupo control(Tabla 8).

Tabla 6. Biomasa de *S.platensis*, en las repeticiones y promedio de cada tratamiento, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo.

BIOMASA(g/l) TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	CONTROL	PH 9	PH 10
R1	0.485	1.56	0.83
R2	0.478	1.52	0.802
R3	0.472	1.5	0.798
PROMEDIOS(g/l)	0.478	1.53	0.801

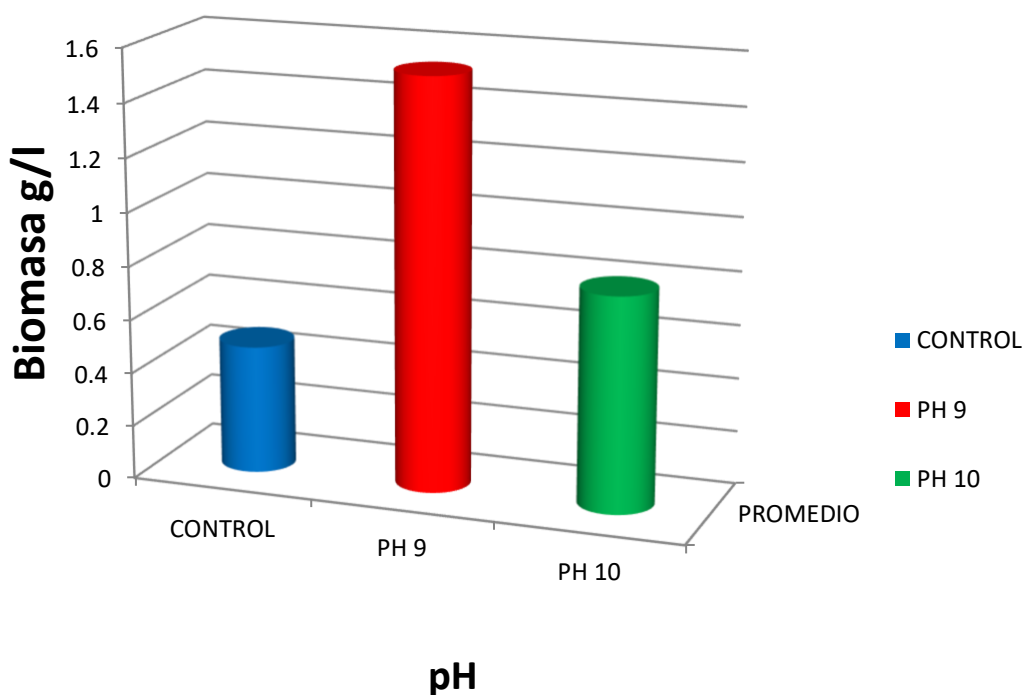


Figura 13. Biomasa promedio de *S.platensis* en los tratamientos experimentales: Tratamiento1 (pH 9) y Tratamiento2 (pH 10) y un grupo control, de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Tabla 7. Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos experimentales y grupo control en la biomasa de *S.platensis*, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

ANOVA

Variación	SS	df	MS	F(cal)	p-valor
Tratamientos	1.79521	2	0.897603	671.69	8.79x10 ⁻⁰⁸
Error	0.00802	6	0.001336		
Total	1.80322	8			

Tabla 8. Prueba de Tukey para determinar diferencias significativas con respecto al efecto de los tratamientos experimentales y grupo control en la biomasa de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Tukey simultaneous comparison t-values (d.f. = 6)

		CONTROL	PH 10	PH 9
		0.4783	1.2733	1.5267
CONTROL	0.4783			
PH 10	1.2733	16.64	6.5	
PH 9	1.5267	35.12	18.49	11.98

4.4. Proteína :

Los niveles de proteínas fueron muy cercanos entre las repeticiones de cada tratamiento. Sin embargo, al promediar las repeticiones (Tabla 9, Fig.14), se observó que las concentraciones de proteína del tratamiento experimental con pH 9 fue definitivamente superior al obtenido con el tratamiento a pH 10; lo cual fue corroborado por el análisis de varianza, que señaló que hubo diferencias significativas (Tabla 10).

La prueba de Tukey, evidenció que las concentraciones de proteína de los tratamientos experimentales con pH 9 y pH 10 son significativamente diferentes entre sí y con el grupo control (Tabla 11).

Tabla 9. Porcentaje de proteína de *S.platensis*, en las repeticiones y promedio de cada tratamiento, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

PROTEINAS (%) TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	CONTROL	PH 9	PH 10
R1	15,16	59,91	38,07
R2	15,42	61,22	38,19
R3	15,3	61,03	38,35
PROMEDIOS (%)	15,29	60,72	38,2

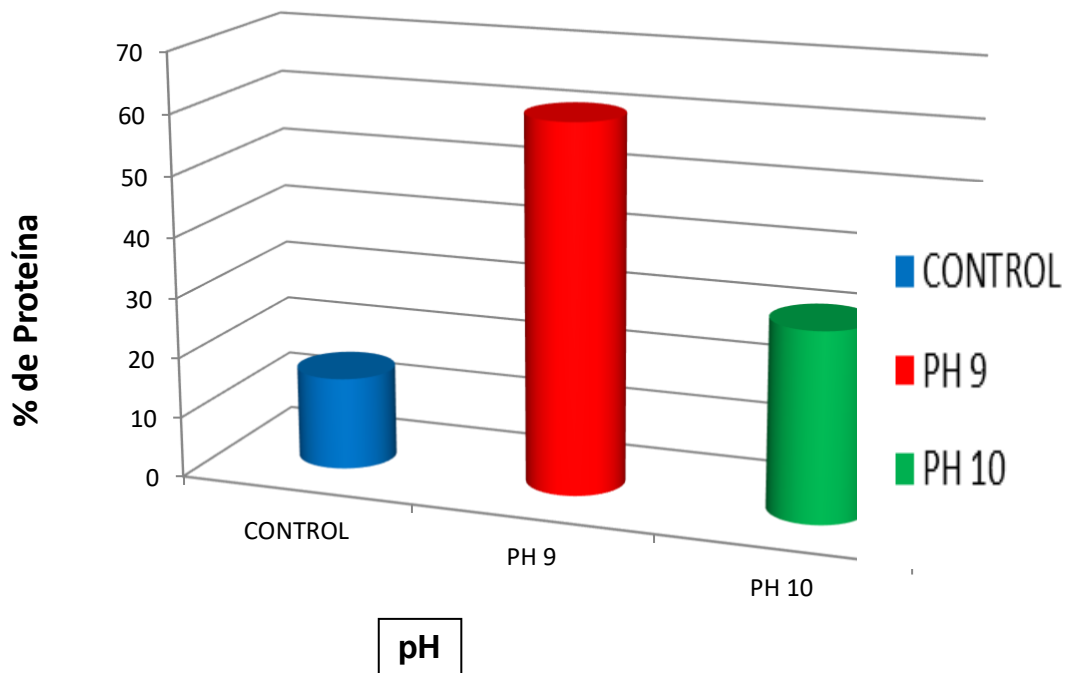


Figura 14. Porcentaje de proteína promedio de *S.platensis* con 2 tratamientos experimentales Tratamiento1 (pH 9) y Tratamiento2 (pH 10) y un grupo control, de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Tabla 10. Análisis de varianza para determinar el efecto de los tratamientos experimentales y grupo control en el porcentaje de proteína de *S.platensis*, cultivada en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo-Lambayeque.

ANOVA table

Variación	SS	df	MS	F(cal.)	p-valor
Tratamientos	3.095,4504	2	1.547,72521	8634,18	4,19 x10 ⁻¹¹
Error	1,0755	6	0,17926		
Total	3.096,5260	8			

Tabla 11. Prueba de Tukey para determinar diferencias significativas para determinar el efecto de los tratamientos experimentales y grupo control en el porcentaje de proteína de *S.platensis*, cultivado en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo-Lambayeque.

Tukey simultaneous comparison t-values (d.f. = 6)

		CONTROL	PH 10	PH 9
		15,293	38,203	60,720
CONTROL	15,293			
PH 10	38,203	36,27	65.13	
PH 9	60,720	131,41	95,14	30.01

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, se aceptó la hipótesis planteada inicialmente, donde hubo un mejor crecimiento poblacional y rendimiento de proteínas de *S. platensis* en el nivel de pH 9; lo cual fue corroborado con el Análisis de Varianza y Prueba de Tukey, que confirmaron que el nivel de pH 9 fue superior al nivel de pH 10, evidenciándose diferencias significativas entre los mismos y con respecto al grupo control.

En atención al desarrollo del cultivo experimental de *S. platensis*, se pudo detallar que a ambos niveles de pH se les proporcionó el mismo medio nutritivo (BIONUT NPK y Na HCO₃) con la única diferencia de la concentración de bicarbonato de sodio, el cual fue mayor en el nivel de pH 10 con 5 g; en cambio el nivel de pH 9 se mantuvo con 2 g de bicarbonato de sodio. Esto puede ser evidencia clara de la ligera ventaja que obtuvo el nivel de pH 9 sobre el nivel de pH 10. Todo esto, en concordancia con la afirmación: ‘la composición de los medios de cultivo afecta la tasa de crecimiento y producción de biomasa de los microorganismos’ (Raouf et al., 2006; en Torres, 2012).

Con respecto a los medios, según Abalde (1995), para la búsqueda de un buen medio nutritivo se debe tener en cuenta: Que soporte la máxima tasa de crecimiento a razonable alta densidad de población, mantenga su estabilidad y que su preparación sea fácil. En nuestra investigación, el medio nutritivo utilizado (BIONUT NPK y Na HCO₃) cumplió con los aspectos mencionados anteriormente, puesto que para ambos tratamientos experimentales: el Tratamiento 1 (con nivel de pH 9) a base de BIONUT NPK y 2 g de Na HCO₃ y el Tratamiento 2 (con nivel de pH 10) a base de BIONUT

NPK y 5 g de Na HCO₃; se lograron buenas tasas de crecimiento. El Tratamiento 1 con pH 9 alcanzó una densidad celular de 35 x 10⁴ cel/ ml y el Tratamiento 2 con pH 10 alcanzó una densidad celular de 22 x 10⁴ cel/ ml.

Al evaluar el desarrollo del cultivo desde el inicio hasta el final, en los tratamientos con diferentes niveles de pH, se pudieron observar las etapas de crecimiento de la microalga: Fase de adaptación, Fase exponencial y Fase de decadencia; lo cual demostró que *S.platensis* es capaz de crecer en ambos niveles de pH, teniendo como principal característica la alcalinización del medio. Aunque tal comportamiento demuestra una gran adaptabilidad de *S.platensis* a diferentes pH; también se demostró que este parámetro afecta la producción de biomasa al constituirse en factor limitante del crecimiento algal.

El crecimiento algal fue similar en los dos tratamientos experimentales (pH 9 y pH 10) y en el grupo control hasta el cuarto día de cultivo; a partir del cual se manifestaron diferencias significativas a favor de ambos tratamientos experimentales con respecto al grupo control, lo que evidenciaría que los tratamientos experimentales con pH 9 y pH 10 continuaron desarrollándose, con la ventaja del pH 9 sobre el pH 10, alcanzando para ambos la fase exponencial del crecimiento que se presentó a partir del cuarto día de cultivo. Esta situación fue corroborada por la Prueba de Tukey, que evidenció que el crecimiento de *S.platensis* fue significativo durante los días que alcanzó mayor crecimiento exponencial, que ocurrió en el séptimo día de cultivo.

Borowitska (1998), en lo que respecta a las condiciones de cultivo, enumera cinco condiciones básicas e indispensables para el buen crecimiento de las microalgas:

- 1. Suplemento de dióxido de carbono.** Lo cual en la presente investigación el dióxido de carbono fue suministrado por un motor aireador.

- 2. Presencia de elementos minerales del medio nutritivo en condiciones adecuadas** .Podríamos asumir que el medio utilizado a base de BIONUT NPK y Na HCO₃, presenta las proporciones apropiadas de nutrientes para el crecimiento de *S.platensis*. Además, concuerda con Rodríguez et al. (2007), este sugiere que los crecimientos algales óptimos no se obtienen con las mayores cantidades de fertilizantes, si no en dosis equilibradas.
- 3. Iluminación con luz apropiada.** *Spirulina platensis* fue cultivada a 120 watts de luminosidad durante 12 horas /día, en el que el fotoperiodo con horas luz y oscuridad es semejante al fotoperiodo solar, donde se mantiene un crecimiento normal y saludable.
- 4. Mantención a temperatura óptima.** La temperatura promedio de 25°C-26 °C, en la que se obtuvo una buena densidad algal en los medios concuerda con Falquet (2000), quien alcanzo buenas densidades de *S.platensis* a temperaturas promedio de 25°C-37°C. Además, Volkman et al. , (2008), concluyeron que *S.platensis* es capaz de crecer bajo condiciones controladas a una temperatura de 25-28°C, logrando buenos resultados.
- 5. Agitación adecuada de las células para prevenir la sedimentación y asegurar la distribución del dióxido de carbono, nutrientes y luz.** El cultivo no presentó sedimentación, debido a la presencia de un motor de aire que suministro 5 burbujas / segundo y además la provisión de dióxido de carbono que coincide con Bernabé (1991); el cual dice que la mayor parte de los cultivos tienen una tendencia a sedimentar. Es pues necesaria, una agitación periódica de forma manual para volúmenes menores a 100 ml ,mientras que para volúmenes más importantes, se utiliza un agitación de burbujas de aire que tiene la ventaja de aportar gas carbónico, distribución de nutrientes y luz uniformemente en todo el

medio. Asimismo, concuerda con Dure et al.(2004), “donde estudiaron la incidencia de la agitación en el crecimiento microalgal en biorreactores, observando que la agitación es un factor que afecta en forma directa el crecimiento de un cultivo microalgal.

Con respecto al pH, debido a que este tiende a incrementarse en función al tiempo, se estandarizó sus valores en relación a los correspondientes tratamientos experimentales (grupo control, Tratamiento1: pH 9 y Tratamiento 2: pH 10), con el objetivo de mantenerlos en el nivel promedio para el estudio y evitar un incremento excesivo. Esta característica mencionada anteriormente coincide con Pelitzer et al. (2002), “quién sostiene que a mayor biomasa, mayor degradación de bicarbonato”, concluyéndose con ello que la mayor concentración de los grupos hidroxilos en el medio aumenta el pH, esto justifica el hecho de que el pH en esta investigación se haya estandarizado.

Por otro lado, los tratamientos experimentales del cultivo de *S.platensis*, se trabajaron bajo dos niveles de pH (Tratamiento1=pH 9; Tratamiento2=pH 10); alcanzando el Tratamiento 1 con pH 9 los mejores resultados. Este nivel de pH 9.0 se encontró dentro del intervalo óptimo indicado por Rodríguez y Triana (2006), quiénes demostraron que a un pH de 9.0 a 9.8, existe una mejor adaptación y crecimiento de la microalga que a pH menores a 9.0; debido a que cultivos desarrollados a pH alcalinos resultan poco benéficos para el desarrollo de la microalga ya que no se obtiene una buena producción de biomasa. Asimismo, cultivos desarrollados a pH mayores como 10.0, 10.2 en adelante, presentan el menor incremento de biomasa, así como también propicia una rápida caída en el cultivo, demostrando que pH muy alcalinos afectan significativamente el desarrollo de *S.platensis*.

El tratamiento con pH 9 realizado en nuestro presente estudio coincide con lo expuesto por otros autores, tales como Rojas et al.,(2012)quiénes realizaron un cultivo continuo de *S.platensis* durante 78 días en un fotobiorreactor tubular y usando como base el medio Zarrouk, utilizando el nivel de pH 9,como pH óptimo, logrando buenos resultados Este estudio coincide con nuestro trabajo de investigación al utilizar el pH de rango 9 cuyos resultados en el crecimiento y rendimiento de proteínas fueron óptimos. Por tanto se puede concluir que a pH de rango 9 le da cierta ventaja al cultivo por su elevada alcalinidad, que evita la contaminación de otros microorganismos y en especial otras microalgas.

Asimismo Moreno,F.(2008) al realizar un estudio acerca de la obtención de un fertilizante a partir del cultivo de *S.platensis* en aguas residuales domésticas, usando un pH de 9.3 y a una temperatura de 22°C,concluyó que a este nivel ,corresponde al punto óptimo para obtener 1.139×10^6 células por mililitro, demostrando con ello que la determinación del pH se puede utilizar como un indicador del crecimiento.

Las concentraciones de biomasa, durante el crecento en la fase exponencial, fue mayor en el tratamiento experimental : Tratamiento 1 con pH 9, alcanzando 1.53 g/l; mientras que las concentraciones del Tratamiento 2 con pH 10, fue menor al anterior con 0.801 g/l y muy por debajo a estos se encontró el grupo control con 0.478 g/l. La explicación de todo esto, estaría en función al nivel de pH en el que se desarrolló el cultivo; demostrándose que en el nivel de pH 9 se dieron las mejores condiciones para que *S.platensis* logre desarrollarse mejor y obtenga un crecimiento óptimo; mientras que en el nivel de pH 10, también logró desarrollarse, pero sus concentraciones de biomasa fueron menores, no pudiendo lograr el mismo ritmo alcanzado por el nivel de pH 9. Con respecto al grupo control, es

resultado es lógico, puesto que al no habersele mantenido con medio de cultivo, no hubo mayor crecimiento poblacional.

En este caso al evaluarse los dos tratamientos experimentales (Tratamiento1=pH 9; Tratamiento2=pH 10) de esta investigación; se puede concluir que los niveles de biomasa fueron mayores en el Tratamiento 1 con pH 9 con 1.53 g/l. Éstos resultados, fueron superiores al reporte de Ponce (2013) con 0.480 g/debido a que este autor realizó cultivo continuo en estanques abiertos, utilizando sales inorgánicas en cantidades menores; mientras que en nuestro estudio, se realizó un cultivo controlado en laboratorio, utilizando un compuesto nutritivo a base de nitrógeno, fósforo y potasio en cantidades debidamente proporcionadas. También fueron superiores a los de Vásquez et al .(2014) quienes al estudiar la influencia de las variables: proporción agua de mar(%) y concentración de bicarbonato en la producción de biomasa de *S.platensis* con pH 8.8-9.0, obtuvieron una biomasa de 0.928 g/l .Probablemente, esto puede haberse debido a que los medios de cultivo utilizados en esta investigación, presentaron proporciones más elevadas de salinidad entre el 1.2 % y 1.5 % aportados por el agua de mar y el valor de bicarbonato(1.6;4.4 y 3.0 g/l)que influenciaron en el crecimiento de Spirulina.

Por otro lado, los resultados de esta investigación lograron una biomasa similar a los estudios de Huarachi(2015) quien al estudiar la adaptabilidad de *S.platensis* en fotobiorreactor tubular cónico, con pH 9, obtuvo una biomasa de 1.5 g/l. Posiblemente el fotobiorreactor utilizado para el cultivo de la microalga se convirtió en un factor importante para determinar el efecto que tiene la radiación en el crecimiento de *S.platensis* y su producción de biomasa.

Los resultados obtenidos en esta investigación son inferiores a los reportados por Rojas et al.(2012) quienes al realizar un cultivo continuo de *S.platensis* durante 78 días en un fotobiorreactor tubular, obteniéndose una mayor biomasa de 1.7 g/l en el medio de mantenimiento con mayor concentración de sales y utilizando el nivel promedio de pH 9,4, logrando buenos resultados. También fueron menores a los de Rojas et al,(2016) ; quienes al evaluar el crecimiento de *S.platensis* , usando medios de cultivos salinos UTEX y CO₂ como fuente de carbono, aun nivel de pH de 9.+ 0.5 alcanzaron una biomasa de 2.1 g/l .Es posible que la producción de la biomasa en los estudios de estos autores anteriormente mencionados haya sido superior respecto al nuestro, por el hecho de que ha sido cultivada con medios sintéticos y medios salinos con diferentes concentraciones de salinidad, nitrato de sodio y sulfato dipotásico, utilizando CO₂ como fuente de carbono. Estos factores junto a los parámetros físico-químicos influenciaron en el crecimiento de las células de *S.platensis*.

Por otro lado, los resultados de nuestra investigación fueron inferiores a los resultados logrados por Vieira et al.,(2001), quienes obtuvieron mejores resultados de biomasa: 1.99 g/l; 1.63 g/l y 1.56 g/l de *S.platensis*, basados en la formulación de Zarrouk. Posiblemente este medio favoreció mejor las condiciones de cultivo permitiendo un mayor desarrollo de la biomasa

El nivel de proteína del medio Tratamiento 1 con pH 9(60.72%) fue superior al Tratamiento 2 con pH 10(38.2%), ello comprueba una vez más que el nivel de pH 9 es el más adecuado para obtener mejores concentraciones de proteínas en un cultivo experimental. Ésta concentración mayor de proteína (60.72%), obtenida en el tratamiento experimental con pH 9 de nuestro presente estudio es superior a los

resultados obtenidos por Guevara et al., (2016);quiénes al evaluar el efecto de la salinidad y la fuente de nitrógeno sobre el crecimiento y composición bioquímica de *S.platensis*, obtuvieron un 58% de proteínas como producto del suministro de nitrato de sodio y la salinidad. Con ello se puede concluir que la salinidad y el nitrato de sodio tuvieron un efecto en la concentración de proteínas que ocasionaron diferentes respuestas en la síntesis de estas macromoléculas.

Asimismo, nuestro resultado fue superior con respecto al de Volkmann et al.(2008) ;quién al analizar el contenido proteico y perfil de aminoácidos en aguas residuales y medio sintético salinado, con un pH de rango entre 9-10; logró evidenciar una tasa alta de un 56.17 % de proteínas. Si bien ,este estudio presentó también un alto porcentaje de proteínas debido a las condiciones del medio de cultivo,fue menor en comparación al nuestro, debido a que en nuestra investigación utilizamos un compuesto nutritivo BIONUT NPK (20:20:20) a base de nitrógeno, fósforo y potasio, bajo condiciones controladas. También, nuestros resultados fueron superiores a los de Torres et al,(2008);quiénes al evaluar el crecimiento de *S.platensis* en tres medios de cultivo:Zarrouk,Utex y Urea, a un rango de pH entre 9-11;lograron obtener un contenido proteico de 49.5% presentado en el medio Urea; probablemente la concentración de este estudio fue menor respecto al nuestro debido a la hipernitración del cultivo.

De la misma manera nuestros resultados fueron superiores al de Manigandam (2014), quienes al realizar un estudio sobre el contenido en masa y la determinación de la composición bioquímica de *S.platensis*, evidenció un contenido de proteína del 42.41 %. Estos porcentajes de proteína se obtuvieron al utilizar como medio de cultivo un medio sintético, el cual suministró las condiciones adecuadas para un buen manejo del cultivo,Sin embargo en comparación con

nuestro estudio se puede concluir que su porcentaje de proteínas fue menor debido a que en nuestra investigación el uso del medio BioNut NPK mas bicarbonato de sodio favorecieron la óptima adaptación y desarrollo de *S.platensis* en dicho medio.

Por otro lado el nivel de proteína de esta investigación fue inferior a los reportes de Rojas et al.,(2012);quiénes al realizar un cultivo continuo de *S.platensis* en fotobiorreactor tubular,usando como base el medio Zarrouk en tres medios de cultivo: medio inicial (MI), medio de crecimiento (SA1+SA2) y medio de mantenimiento (SB1+SB2) y a un pH de 9.4;lograron una concentración alta de un 71.6% de proteína. Los porcentajes de proteína de éste estudio fue superior en comparación al nuestro, debido a los medios de cultivo utilizados y las concentraciones de sus componentes en cada uno de sus medios. De la misma manera el uso de fotobiorreactor tubular fue un elemento importante para el óptimo crecimiento y producción de dicho cultivo.

Asimismo, el nivel de proteína de nuestra investigación fue inferior a la investigación de Saldivar,E.(2017);quien al realizar un estudio sobre el crecimiento y producción de *S.platensis* con diferentes medios de cultivo a base de sales inorgánicas; obtuvo una tasa alta de un 71.13 % de proteína. Se puede deducir que el alto porcentaje de proteína obtenido de la investigación de Saldivar,E.(2017),haya ocurrido debido al efecto de la salinidad (presente en el agua de mar),además del nitrógeno y fósforo y demás sales inorgánicas que en su conjunto y en cantidades adecuadas influyeron en la óptima producción de *S.platensis*.

De esta forma por los resultados obtenidos en esta investigación, *S. platensis* demuestra ser muy beneficiosa para el desarrollo de cultivo, especialmente bajo el nivel de pH 9, ya que este es el nivel óptimo que le permite obtener un buen crecimiento poblacional. El nivel de pH 9 a diferencia de otros pH de cultivos proporciona a *S. platensis* las condiciones necesarias para su correcto desarrollo, óptima tasa de producción y buen rendimiento proteínico.

VI. CONCLUSIONES

Al finalizar la siguiente investigación, se concluye lo siguiente:

- Se determinó que el tratamiento experimental de pH 9, resultó ser el más adecuado para lograr mayor crecimiento poblacional (35×10^5 cel/ ml) de *S. platensis*, respecto al grupo control y tratamiento experimental con pH 10.
- *Spirulina platensis* logró una mejor y mayor concentración de proteínas (60.72%) en el tratamiento experimental a pH 9.
- La concentración de biomasa fue de 1.53 g/l en el pH 9.

VII. RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten realizar las siguientes recomendaciones:

1. Para posteriores investigaciones utilizando *S.platensis* sería conveniente experimentar valores diferentes de pH (desde intervalos que van a partir de 8.0, 8.5, 9.0, 9.5 hasta 10.0, 10.5, 11), niveles que puedan ser desarrollados en cultivos de laboratorio, con el fin de determinar la cinética del crecimiento en cada uno de ellos y comparar el nivel de adaptación y desarrollo productivo.
2. Realizar más investigaciones sobre el aspecto nutricional de *S.platensis*, ahondando sobre su bioquímica con el fin de poder afianzar conocimientos acerca del contenido de aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales de interés nutricional, humano y animal. Asimismo, estudios sobre el contenido de lípidos con el fin de probar su aporte para la producción de biocombustible.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abalde, J; et al.(1995). *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. Universidad de Coruña, La Coruña, p. 210
- Abbayes, H. (1989).*Botánica :Vegetales Inferiores*. Ed. Reverte S.A.Guadalajara. México. Pag .68-95.
- Acleto, O. (1998). *Introducción a las Algas* . Universidad de San Marcos. Lima Perú, pág. 4-69.
- Aldave P.(1969). *Cushuro, algas azul verde como alimento en la Región alto andina peruana*. Bol. Soc. Bot.(1):8-43.
- Alfonso, EN & Leal (1998). *Cultivo de Spirulina platensis*. Rev. Invest. Marz.13 (1):81-86.
- Aparicio, J. (2011). *Aislamiento y cultivo de la microalga Chlorella pyrenoidosa utilizando el medio de cultivo AS-87, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo Lambayeque, Perú.*
- Belay, A. (2002).*The Potential Application of Spirulina (Arthrospira)as a nutritional and therapeutic supplement in healt management*. J. Ame. Notra .Asocc. 5(2): 2749.
- Belkin, S .& S. Boussiba. (1971). *Resistence of Spirulina platensis to high pH values*. Plant cell physiology 32,953-958.
- Bernabé, G. (1991). *Acuicultura*. Vol. I. 2da Edición. Ediciones Omega. S.A. Barcelona. 169 pp.
- Berry, S.; Bolychetseva,Y.; Rogner, M.y Karapetyan ,N. (2003). *Photosyntetic and respiratory electron transport in the alkaliphilia cianophyta Arthrospira (Spirulina) Platensis*. Photosy. Res. 78:67-76.

- Bhattacharyya, G. (1971). *El cultivo de algas para la producción de proteína* Tecnología ,8(2).
- Borowitzka, M. & Borowitzka, L. (1988). *Cambridge Univ.Press.Cambridge.pp:3-26.*
- Borowitzka, M. (1988). *Microalgal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge.477 pp.*
- Borowitzka, M. A. (1999) *Commercial production of microalgae_ponds, tanks, tubes and fermenters. J. Biotechnol., 70, 313–321.*
- Capa ,W (2010). *Biología y Biotecnología de Microalgas.* Primera Edic. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC). Lima, Perú. 181p.
- Cornet, J. & Dussap. A (1992). *Structured model for simulation of cultures Of the Cyanobacterium Spirulina platensis in photobioreactors. Biotechnology and Bioengineering 40,817-825.*
- Delrue (2017). *Optimización de Spirulina (=Arthrospira) platensis: de escala de laboratorio a escala piloto. Saint-Paul-lez-Durance, Francia.*
<http://www.mdpi.com/journal/fermentation.Spirulinadelacotebleue@gmail.com>
- Dure, L.(2004). *Incidencia de la agitación en el crecimiento microalgal en biorreactores.* Ingeniería Mecánica, Microbiología, Física Aplicada. Universidad Nacional del Rosario.
- Falquet, J. (2000). *Spirulina :”Algunas bases científica.* Edit. Antenna Technology; Geneve, 126p.
- FAO (2012.) *Importancia de la Spirulina sp en la acuicultura.* Madrid, España.
- Faucher ,O.(1979). *Utilization of seawater-úrea as a cultures medium for Spirulina maxima. Can .J .Microbiol, 25:752-759.*
- Geitler, L. (1932) "*Cyanophyceae*", en Rabenhont, *Ktypt. Flora De-lutcb., Ostert-. upzd Schw., p.11*

- Gitelson. A; Qivang, H. Richmonds, A. (1996). *Photic Volume in photobioreactors supporting ultra high populations densities of the photoautotroph Spirulina platensis*. Appl .Envir. Microb. 62(2):1570-1573.
- Gonzales, R.(2000). *Alternativas en el cultivo de microalgas. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. Guayaquil-Ecuador.*
- Grobbelaar, J.(2009). *Algal Biotechnology real opportunities for Africa. South African Journal of Botany Vol.70(1) pp.140-144.*
- Guevara et al.(2016). Crecimiento y composición bioquímica de *Spirulina platensis* cultivada a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno. Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA), 2. Instituto Oceanográfico de Venezuela, 3. Instituto Universitario de Tecnología de Cumana, 4. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste; Baja California, México.
<http://www.ojs.udo.esu.ve/ndex.php/boletiniov/article/view/1303/994>.
- Guillard, R.(1973). *División rates. En I. Stein(Ed),Hand book of Phycological Methods Culture methods and growth measurements (pp.289-312). Cambridge University. Press.*
- Hosseini, E. et al.(2014). *La evaluación a escala de laboratorio de múltiples rangos de pH en un cultivo de Spirulina platensis en la producción de biomasa seca, clorofila, fitocianina y carotenoides. Boletín de Medio Ambiente, Farmacología y Ciencias de la Vid, Toro. Env. Pharmecol .Life Sci, Vol 4,India. Disponible en: <http://www.bepls.com>.*
- Huarachi, R.; Yapo, U.; Dueñas, A.; González, R.; Condori, J.; Pacheco, D. y Soto, J. (2015). *Adaptabilidad de Spirulina (Arthrospira platensis-Cianophyta) en*

fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales-Idesia (Chile)
Volumen 33,Nº 1.p 103-112.

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071834292015000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Huarachi, O.; Yapo, U.; Dueñas, A., Soto, J. & González, R. (2013). *Producción de S. platensis (cyanophyta) En Fotobiorreactor Tubular Cónico Bajo Condiciones De Laboratorio. Universidad Nacional de San Agustín, The Biologist (Lima), 11(2):217-227. Disponible en ISSN. Versión Impresa 1816-0719.*<http://www.scielo.cl/pdf/idesia/v33n1/art11.pdf>.

Jourdan J.(2000). Cultivo artesanal de *Spirulina sp* ``Le Castanet´´,F-30140-MIALET-Francia.

Kapasi et al.(2014). Biomasa de *Spirulina platensis*: optimización del crecimiento, parámetros, estudios de formulación y producto desarrollado. Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia de Sinfgad, Vadgaon, Maharashtra, India. Disponible en: <http://www.jbpr.com>

Licett, B.; M. Guevara; N. Lemus ; L. Freites; L. Romero, Lodeiros, C & B. (2014). Arredondo-Vega. Crecimiento y composición bioquímica de *Spirulina platensis* cultivada a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, 53(1):3-13.

Lujan, M. N. (2000). Cultivo en condiciones de laboratorio de *Arthrospira Jenneri* (Hassall)``*Spirulina*´´procedente del puerto de Chicama (La Libertad-Perú).Tesis para optar el Título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú, 28 pp.

- Madkour, F.; A. Kamil; H. Nasr (2012). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. Egyptian Journal of Aquatic Research. 38:51-57.
- Manigandam, M. (2014). Cultivo en masa, determinación bioquímica y composición de *Spirulina platensis* en tres medios diferentes. Universidad de Annamalai, Tamilnadu, India. Revista internacional de farmacia y biociencias ISSN 0975-629 www.ijpbs.net B
847file:///C:/Users/cabina6/Downloads/CULTIVO%20EN%20MASA%20Y%20DETERMINACION%20DE%20LA%20COMPOSICION%20BIOQUIMICA%20DE.PDF.
- Moreno F. (2017). Obtención de un biofertilizante a partir del cultivo de *Spirulina platensis* en aguas residuales domésticas provenientes del campamento de la estación de bombeo crudo Rubiales. Departamento del Meta. Colombia.
<http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlvi/btstream/handle/6789/3059>.
- Olguin, E.; Galicia S., Mercado, G; Perez, T. (2003). Annual Productivity of *Spirulina* sp and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. Journal of Applied Phycology 15:249-257.
- OMS (2010). Cultivo y producción de *Spirulina* sp en el contexto mundial.
- Ostle B. (1994). Estadística aplicada, técnicas de la estadística moderna, cuándo y dónde aplicarla, Editorial Limusa; Mexico, 629pp.
- Pedraza, G. (1989). Cultivo de *Spirulina maxima* para suplementación proteica. Livestock Research for Rural Development 1(1):2.
- Pelizer, L.H.; Carvalho, J. C. M.; Sato; de Oliveira, I. 2000 *Spirulina platensis* growth stimulation by pH determination at different cultivation conditions. Electr. J. Biotech 5(3): 251-257.

- Peng, et al. (2012). Some progress in sexual reproduction and sex determination of economic algal. African journal of Biotechnology.11(21),4706-4715.
- Piñero, J, Bermejo, P. and Villar del Fresno, A. (2001).Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean stract.Farmaco,56(5-7):497-500.
- OMS (2010). Cultivo, producción y aspecto nutricional de *Spirulina platensis* en el contexto mundial. Disponible en línea :http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf?Ua=1
- Ponce E. (2013). Superalimento para un mundo en crisis: *Spirulina* abajo costo.IDESIA (Chile).31(1):135-139.
- Raof B.; B. Kaushik and R. Prasanna(2006) .Formulation of a low cost medium for mass production of *Spirulina*.en Biomass and Bionergy. Vol. 30; p.537-542.
- Richmond,A.(1988).Spirulina.En:MicroalgalBiotechnology.Borowitzka,M.A.&Borowitzka,L.J.(eds.).Cambridge,Univ.Press.Cambridge,pp:85-121.
- Richmond, A. (Ed.). (2004). Hand book of microalgal culture biotechnology and applied phycology. Oxford. United kingdom: Blackwell Science.
- Rojas ,E.; M. Avila y G. Parad (2012). Aplicacion de estrategias nutricionales y su efecto en el crecimiento en el cultivo continuo de *Spirulina platensis*. Lat.Am.J.Aquat.Res.40(3):763-771.
- Rodríguez, A & F. Triana.(2006).Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina platensis* bajo condiciones de laboratorio. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá,Colombia.
- Rojas ,E.; M. Ávila.& G. Parada.(2012).Aplicación de estrategias nutricionales y su efecto en el crecimiento en un cultivo continuo de *Spirulina platensis*, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.

- Rojas, et al. (2016). Evaluación del crecimiento de *Spirulina platensis* Utex 1926 cultivada en medios salinos, utilizando CO₂ como fuente de carbono. Escuela de Ciencias Básicas, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad EAFIT, Medellín, Colombia. [http://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/12222/Daniela Rojas Osorio 2017.pdf?sequence=2](http://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/12222/Daniela_Rojas_Osorio_2017.pdf?sequence=2).
- Roughan, P.(1989).*Spirulina :a source of dietary Gamma Linoleic Acid. Journal Science Food and Agricultura v. 47(1):85-93.pp.*
- Sánchez ,M.(2003).Producción a escala piloto y composición química proximal de una cepa californiana de *Spirulina platensis*. Tesis de Maestría .Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.70pp.
- Salisbury,F.; C. Ross. (2006). Fisiología Vegetal.4ta Edicion. Grupo Editorial Iberoamericana, 759pp.
- Smith,Liao y Lyn, J.(1993).*Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with a Spirulina sp supplemented diet .Nippon Suisan Gakkaish,59:165-169.pp*
- Spiller et al.,(2001).*Fine structure of cyanobacteria, Spirulina platensis and Spirulina subsalsa ,as views by x-ray microscope, XM-I, beamline 6.1.2.Department of biology. Mills College. Okland. U.S.*
- Thirumala,M.(2012). *Optimización del crecimiento de Spirulina platensis LN1 para la producción de carotenoides. Departamento de Bioquímica, Universidad Mahatma Gandhi, Naigonda, India.*
[File:///C:/Users/cabina6/downloads/OPTIMIZACION%20DEL%20CRECIMIENTO%20DE%20SPIRULINA%20PLATENSIS%20LN1%20PARA%20LA%20PRODUCCION%20DE%20CAROTENOIDES%20en%20espanol.pdf](http://www.ijlbrp.com). Vol1 N°2.

Rheinheimer, G. (1987). *Microbiología de las aguas*. Ed. Acribia. Zaragoza. España
Pp.37-44.

Rodríguez et al.(2007). *Efecto del Medio Em-Bokashi en el cultivo de la microalga marina Tetraselmis suecica K.* Departamento Académico de biología .
Universidad Nacional Agraria La Molina-Lima-Peru-116p.

Tiboni ,O.; Ciferri, O.(1985). *The Biochemistry and Industrial Potential of Spirulina*
*Sp.And.Rev.Microbiol.*39:503-526.p.

Tirso,J.&Vadjlha,P.(1988). *Las biotecnologías. Ediciones revolucionarias La Habana*
Cuba, 207 p.

Torres, R.; L.Sena.&J.Zegarra. (2007). *Estudio preliminar de la dinámica poblacional*
y producción de biomasa de Spirulina platensis en medios con diferentes
concentraciones de iones. XVII Congreso Venezolano de
Botánica,Maracaibo,pp.672-675.

Torres ,B. y D. Correa(2008). *Diseño conceptual de un proceso de cultivo y obtención*
de Cyanobacteria Spirulina platensis. Universidad EAFIT. Medellín. Colombia.

Torres, R. (2012). *Aspectos ecológicos de microalgas con potenciales*
biotecnológicos. Tesis doctoral presentada ante la Ilustre Universidad Central
*de Venezuela para optar el Título de Doctor en Ciencias, Mención Ecología.*158
pp.

[http://atudylib.es/doc/7067780/aspectos.ecol%
c3%b3gicos_de_micralgas_co
n_potenciales_biotecnology](http://atudylib.es/doc/7067780/aspectos.ecol%c3%b3gicos_de_micralgas_con_potenciales_biotecnology)

Vásquez,V.et al.(2014). *Influencia de la proporción de agua de mar y bicarbonato en*
la producción de biomasa de Spirulina sp con iluminación de diodo emisor de
luz. Revista Scientia Agropecuaria N°5:199-209.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S207799172014000400004%script=sci_arttext.

Vicent,W.(1969).*Algas para la alimentación humana y animal. Proceso Biochem.*4(6):45.

Vieira ,J.,K .Leal, L. Oliveira y G. Magagnin. (2001).*Diferentes fuentes de nitrógeno y las respuestas de crecimiento de Spirulina platensis en microambientes. Mundo Diario de Microbiología y Biotecnología.*17 (5):439-442.

Vieira, J.&.Parada,C.(2003).*Improving Spirulina platensis biomass yield using aed-batch process.*Biores.Technol,92(5):237-241.Volkmann,H.(2008).*Cultivo de Spirulina platensis en el salinador de aguas residuales y medio sintético salinado: contenido proteico y perfil aminoácido. Universidad de Santa Catalina, Florianopolis, SC, Brasil.*

Volkmann, H et al.,(2008).*Cultivo de Spirulina platensis (Arthrospira) en el desalinador de aguas residuales y medio sintético salinado: contenido proteínico y perfil aminoácido. Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Sc, Brasil.*39:98-101.


Vonshak, A. (1997).*Spirulina platensis: Physiology, cell Biology and Biotechnology.* Taylor and Francis, London.

Whitton , B.(1992).*diversity, ecology and taxonomy of the cyanophita. In: Mann N, Can N; Eds. Photosy. Proka. Plenum press;pp.1-37.*


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

ANEXOS

Anexo 1



Biólogo: Humberto Rivera Calle
Colegio de biólogos del Perú 5810



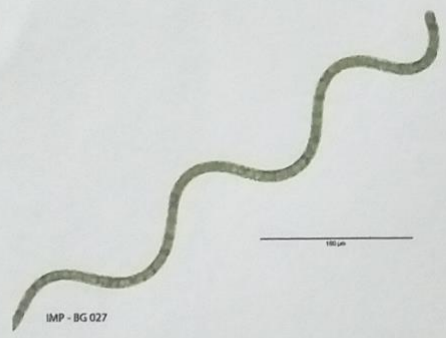
Constancia de cepa donada

El que suscribe la presente, hace constar que la cepa donada a las tesis:

Br Mery Carmen Barreto González
Br Verónica Matilde Chepe Delgado

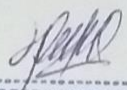

De la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque, es la especie *Spirulina platensis* (= *Arthrospira platensis*), la cual fue obtenida del Laboratorio de Acuicultura del Instituto del Mar del Perú-Callao en el año 2013..

Con las siguientes especificaciones:



IMP - BG 027

Código	IMP-BG-027
Orden	Oscillatoriales
Clase	Cyanophyceae
Género	Spirulina
Especie	Spirulina platensis
Origen	Ica - Perú, 2011.
Colector y Fecha	Miguel Castro (Donación), 2011.
Temp. de Crecimiento	18°C
Medio de Cultivo	Spirulina
Intensidad Lumínica	19 -25 µmol m-2 s-1

HUMBERTO RIVERA CALLE
BIOLOGO
COLBIOP. 6810

Piura, marzo del 2020

Figura 15. Constancia de donación e identificación taxonómica de *S.platensis*.

Anexo 2

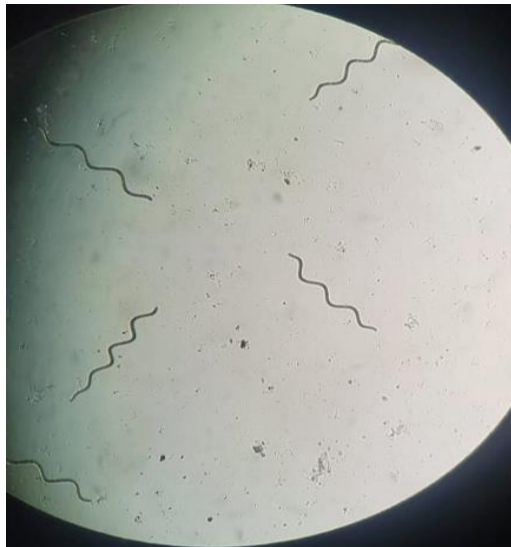


Figura 16. Vista de *S.platensis* en microscopio a 400 X (proporcionada por el laboratorio de Botánica de la Escuela de Ciencias Biológicas - Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura Facultad de Biología de la Universidad Nacional de Piura

Anexo 3



Figura 17. Laboratorio de Ficología, Ambiente interior; de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Pedro Ruíz Gallo.

Anexo 4

Tabla 12. Ingredientes de agua mineral de manantial San Mateo
Composición mineral (en mg/l)

Calcio	90
Magnesio	11
Sodio	32
Potasio	06

Tabla 13. Composición química de BioNut NPK 20-20-20

Microelementos	Porcentaje (%)
Nitrógeno	20
Fosforo	20
Potasio	20
Ácidos carboxílicos	5
Calcio	8
Magnesio	4
Azufre	16
Hierro	0.6
Manganeso	0.40
Cobre	0.20
Zinc	0.21
Boro	0.90
Cobalto	0.02
Molibdeno	0.02
Aminoácidos	0.05
Giberalinas	0.02

Anexo 5

Tabla 14. Composición química del Medio Zarrouk

Microelementos	g/L
NaHCO ₃	16.8
NaNO ₃	2.5
K ₂ SO ₄	1
K ₂ HPO ₄	0.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.20
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
CaCL ₂ .2H ₂ O	0.04
EDTA	0.08

Tabla 15. Composición proximal (expresada en %) de *Spirulina* (Barbarito et al; 2004)

Proteína	60-70
Lípidos	5 - 7
Extracto Libre de Nitrógeno	10
Humedad	5 - 9
Ceniza	12.2
Fibra bruta	9.3

Anexo 6

Tabla 16.Contenido proteico de diferentes alimentos (Sanchez; 2003)

TIPO DE ALIMENTO	(%)Proteína cruda
<i>Spirulina en polvo</i>	65
Huevo entero secado	47
Levadura de cerveza	45
Leche en polvo	37
Soya entera en harina	34
Queso tipo parmesano	34
Germen de trigo	27
Maní	26
Pollo	24
Pescado	22
Carne de res	22

Tabla 17.Contenido de vitaminas en *Spirulina* (Sanchez;2003)

Vitaminas	mg x 100 g-1(peso seco)
Pro –Vitamina A	2.330.000 IU kg-1
B -caroteno	140
Vitamina E	100 a-tocoferol equiv.
Tiamina B1	3.5
Riboflavina B2	4.0
Niacina B3	14.0
Vitamina B6	0.8
Vitamina B12	0.32
Acido fólico	0.01
Biotina	0.005
Acido pantoteico	0.1
Vitamina K	2.2

Anexo 7

Tabla 18. Contenido de aminoácidos de *Spirulina*

Aminoácidos esenciales		Aminoácidos no esenciales	
Por 10 g de <i>Spirulina sp</i>		Valor diario <i>recomendada por OMS</i>	Por 10 g de <i>Spirulina sp</i>
Isoleucina	350 mg	280mg	Alanina 470 mg
Leucina	540 mg	490 mg	Arginina 430 mg
Lisina	290 mg	385 mg	Ácidos aspartico 610 mg
Methionina	140 mg	245 mg	Cistina 60 mg
Fenilalanina	280 mg	420 mg	Ácido gultaminico 910 mg
Treonina	320 mg	280 mg	Glicina 320 mg
Triptófano	90 mg	70 mg	Histidina 100 mg
Valina	400 mg	350 mg	Prolina 270 mg
			Serina 320 mg
			Tirosina 300 mg

Anexo 8

Tabla 19. Contenido de minerales en *Spirulina*

Mineral	mg 100 g ⁻¹
Calcio	700
Cromo	0.28
Cobre	1.2
Hierro	100
Magnesio	400
Manganeso	5.0
Fosforo	800
Potasio	1400
Sodio	900
Zinc	3.0

Tabla 20. Lista de los lípidos y pigmentos de *Spirulina*

Ácidos grasos saturados	
Por 10 g de spirulina	
Laurico	2 mg
Mirístico	1 mg
Palmítico	244 mg
Esteárico	8 mg

Ácidos grasos insaturados

Por 10 g de spirulina

Oleico	12 mg
Palmitoleico	33 mg
Palmitolinolenico	20 mg

Ácidos grasos esenciales

Por 10 g de spirulina

Linolenico	12 mg
Gama-linoleico	135 mg
Alf97linoleico	7 mg
Otros	7 mg

Pigmentos

Por 10 g de spirulina

Ficocianina	1500 mg
Clorofila	115 mg
Caroteno	37 mg
Beta –caroteno	14 mg

Anexo 9

Tabla 21. Aplicaciones terapéuticas y comerciales de *Spirulina* (Belay; 2002)

Aplicaciones terapéuticas

<p>ACCIÓN ANTIALÉRGICA</p>	<p>En un trabajo publicado por Kim (1998), se sugiere que <i>Spirulina</i>, protege contra el desarrollo de alergias y ha demostrado que disminuye las reacciones anafilácticas. El experimento consistió en administrar a ratas, un compuesto que desgranula las células cebadas, produciendo un choque anafiláctico mortal. La inyección de suspensión de <i>Spirulina</i> por vía intraperitoneal una hora antes de la administración del compuesto, evitó la muerte de los animales en un 100% e inhibió una reacción de anafilaxia cutánea pasiva. En estos mismos trabajos se demostró que en cultivos de células cebadas intraperitoneales, <i>Spirulina</i> ,bloquea la liberación de histamina y del factor de necrosis tumoral(Kim,et al.;1998).</p>
<p>EFEECTO ANTIANÉMICO</p>	<p><i>Spirulina</i> incluida en la dieta de ratas a concentración del 45%(equivalente al 22% de proteína) y proporcionada sola o en combinación con gluten de trigo durante la primera mitad de la gestación y la lactancia, aumentó el contenido de hierro y hemoglobina más que la de la casina y gluten de trigo juntos, habiendo también incrementado el nuro de fetos por madre. El estudio muestra un buen potencial hematológico de <i>Spirulina</i> durante la gestación y lactancia, por lo que puede servir como un suplemento para combatir la anemia.(Chamorro et al.;2002)</p>
<p>ACCIÓN ANTICOAGULANTE</p>	<p>La administración de <i>Spirulina</i> ,aumentó en 10 000 veces la actividad antimicrobiana del cofactor II de la heparina e indujo eficientemente la producción de un activador de plasminogeno específico en tejidos . (Chamorro et al.;1996)</p>
<p>ACCIÓN ANTINFLAMATORIA</p>	<p>Dosis de 100 y 200 mg/kg de ficocianina C,obtenida de <i>Spirulina</i> ,administrada oralmente a ratones, redujeron la inflamación de las extremidades posteriores producida por glucosa oxidasa . También se encontró que este pigmento disminuyo significativamente el edema producido por ácidoaraquidónico y acetato de 12-O-tetradecanoil forbol. Además , se encontró efecto antiinflamatorio en la colitis,originado en ratas por edema.(Romay;1998)</p>

<p>EFEECTO ANTITÓXICO</p>	<p>Administrando <i>Spirulina sp</i>, en dosis de 800 mg/kg a ratones albinos Swiss, antes y después del tratamiento con acetato de plomo, aumentó su tiempo de supervivencia y protegió del efecto del metal sobre variables como el peso de los testículos, peso corporal y diámetro tubular de espermatogonias A y B, espermatoцитos primarios y secundarios. (Chamorro et al.; 2002). Al ser <i>Spirulina</i> una fuente rica en antioxidantes y capaz de aumentar su síntesis, protege y evita el daño causado por este metal. (Belay; 2002)</p>
<p>PROTECCIÓN CARDIOVASCULAR</p>	<p>Se evaluó en ratas el efecto de la administración oral de <i>Spirulina</i>, durante dos semanas, sobre las respuestas vasomotoras de anillos de aorta con y sin endotelio. <i>Spirulina</i>, tuvo efecto sobre las respuestas vasomotoras dependientes del endotelio y disminuyó el tono vascular al incrementar la síntesis y liberación del óxido nítrico así como de un eicosanoide vasodilador dependiente de la ciclooxigenasa. (Paredes, et al.; 1998)</p>
<p>INMUNO ESTIMULANTE</p>	<p>Un grupo de investigadores también realizó un estudio interesante <i>in vivo</i> sobre el efecto benéfico inmunoestimulante de la adición de <i>Spirulina</i> a la dieta de pollos. Se concluyó que los pollos con dieta de <i>Spirulina</i>, dieron mejores respuestas secundarias y mejores pruebas <i>in vivo</i> de inmunidad mediada por células. (Chamorro, et al.; 1996)</p>

Aplicaciones comerciales

ACUICULTURA	<p>Las crías de microcrustáceos, moluscos y peces, como consumidores de plancton, requieren procesos de reproducción y cría artificial a gran escala y por lo tanto, es de gran interés tener plantas pilotos de producción de microalgas para la alimentación de los primeros estados larvales. (Belay;1996) .La cyanophyta <i>Spirulina</i> , favorece la cría de peces ornamentales especialmente, ya que tiene un buen contenido de carotenos y permite mejorar el colorido y vistosidad de estas especies. La cría de microcrustáceos también se ha implementado para el cultivo de peces, pero se ha comprobado que la eficiencia es mayor con las microalgas y las cianoanophytas. Los moluscos producidos con base en este tipo de alimentación no convencional, reducirían los costos de producción y proporcionarían al mercado alimento de alta calidad con mayores ganancias para el productor. (Pedraza;1998)</p>
TRATAMIENTO DE AGUAS NEGRAS	<p><i>Spirulina</i> , ha sido utilizada como purificadora de aguas residuales ya que remueve los nitratos, fosfatos y otros elementos presentes en gran cantidad. En piscinas de oxidación o estanques se pueden obtener dos productos esenciales: proteína vegetal continua y aguas tratadas y recuperadas; evitando la contaminación y eutrofización activada por la ozonización del agua, lo cual permite utilizar el agua para consumo animal e incluso muy cercad de la potabilización para consumo humano. (Pedraza;1989)</p> <p>En Israel se aprovechan las aguas de las costas para producción de microalgas como <i>Spirulina</i> y <i>Scenedesmus</i>, tratando de implementar métodos menos costos y eficientes para el tratamiento de aguas de desechos industriales y domésticas. (Becker;1982)</p>