

Área del Conocimiento de Agricultura

EFFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO Y FOTOPERÍODO EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE SPIRULINA (ARTHROSPIRA PLATENSIS) EN BIOREACTORES A ESCALA DE LABORATORIO

Trabajo Monográfico para optar al título de
Ingeniero Químico

Elaborado por:

Tutor:

Br. ITZAYANA DEFATIMA
RIVERA VÁSQUEZ

2018-0977U

Br. NATHALYA PAOLA
REYES OROZCO

2018-0957U

MSc. JUAN MANUEL
ALONSO SANTOS

5 de febrero de 2026

Managua, Nicaragua

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo investigativo lo dedicamos principalmente a nuestros padres, los que están y los que ya no están, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años. Es gracias a ustedes que hemos logrado llegar hasta este punto y convertirnos en lo que somos. Ha sido el orgullo y privilegio de ser sus hijas y esperamos que el sentimiento sea mutuo.

A nuestras parejas, por estar siempre presentes, acompañándonos y por el apoyo incondicional que nos brindaron a lo largo de esta etapa de nuestras vidas. A nuestros amigos y familiares por estar presentes y pendientes de nosotros en nuestros momentos más difíciles y levantarnos el ánimo cuando más lo necesitábamos.

A todo el personal que nos atendió directamente en el IPSA, la DGA y el departamento de Toxicología del MINSA, por su amabilidad, su asesoramiento, su paciencia y su buena voluntad para con nosotras y nuestro proyecto de tesis. Sin todos ustedes, literalmente no hubiera sido posible llevar a cabo nada de esto. Estaremos siempre profundamente agradecidas con su gestión y sobre todo su amabilidad.

Al personal del laboratorio de ambiental de la UNI y de los laboratorios del PIENSA, por abrirnos las puertas y compartirnos sus conocimientos para asegurar que nuestro trabajo fuera realizado con éxito.

Agradecemos a todas aquellas personas que se han preocupado por nosotras, nos apoyaron de una manera u otra, nos han guiado, nos han tenido paciencia y han sido pilares para nuestra formación y el éxito de nosotras como profesionales.

DEDICATORIA

Este trabajo, fruto de nuestro esfuerzo y constancia, va dedicado con mucho amor a nuestros padres y abuelos, porque ellos fueron quienes sembraron en nosotros la responsabilidad, el deseo de triunfar y la superación. Así mismo, por ser nuestro pilar y apoyo incondicional para lograr ser las profesionales de éxito que somos hoy en día.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del medio de cultivo y del fotoperíodo sobre la cinética de crecimiento de la cianobacteria *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) cultivada en biorreactores a escala de laboratorio. La relevancia del estudio radica en el notable potencial biotecnológico de esta cepa, con aplicaciones en la producción de alimentos, el tratamiento de aguas y la nutrición animal.

La metodología empleada consistió en el acondicionamiento de cultivos en dos medios diferentes: Zarrouk modificado y un medio básico. Los cultivos se mantuvieron bajo condiciones de iluminación controladas de 16/8 h y 12/12 h (luz/oscuridad). Asimismo, se monitorearon variables críticas para el desarrollo de la biomasa, como pH, temperatura y agitación, durante un período de 25 días. El crecimiento se determinó mediante espectrofotometría UV-Visible a 680 nm, relacionando la absorbancia con la concentración celular a través de curvas de calibración, y ajustando los datos experimentales al modelo logístico de Monod para describir la cinética de crecimiento.

Los resultados mostraron que el medio Zarrouk modificado bajo un fotoperíodo de 16/8 h favoreció el mayor crecimiento celular, alcanzando una concentración de $20.85 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial. Le siguió el mismo medio bajo condiciones de 12/12 h con $18.39 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial. En contraste, el medio básico presentó menores tasas de crecimiento, aunque los cultivos expuestos a 16/8 h alcanzaron $14.47 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial frente a los de 12/12 h, que llegaron únicamente a $9.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial.

Las curvas de crecimiento se ajustaron de manera satisfactoria al modelo de Monod, lo que permitió estimar parámetros relevantes como la tasa específica de crecimiento, el tiempo en el que ocurre la máxima velocidad de crecimiento, la concentración máxima de biomasa y la productividad. En particular, el tratamiento con medio Zarrouk modificado y fotoperíodo de 16/8 h presentó los mejores resultados, alcanzando una concentración máxima ($X_{\text{máx}}$) de $36.78 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial, una tasa de crecimiento promedio (μ_{promedio}) de 0.7768 día^{-1} y un tiempo efectivo de crecimiento (t_{efectivo}) de 16.97 días.

Esta investigación demuestra que la elección de un medio de cultivo enriquecido en nutrientes y la adecuada regulación del fotoperíodo potencian significativamente el crecimiento de *Arthrospira platensis*. Estos hallazgos constituyen una base sólida para el diseño de procesos biotecnológicos sostenibles orientados a la producción de biomasa con aplicaciones en la industria alimentaria y ambiental.

Palabras clave: fotobiorreactor, fotoperíodo, medio enriquecido, productividad, *Spirulina*.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the effect of culture medium and photoperiod on the growth kinetics of the cyanobacterium *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) cultivated in laboratory-scale bioreactors. The relevance of this study lies in the remarkable biotechnological potential of this strain, with applications in food production, wastewater treatment, and animal nutrition.

The methodology consisted of conditioning cultures in two different media: modified Zarrouk medium and a basic medium. Cultures were maintained under controlled light/dark regimes of 16/8 h and 12/12 h. Critical variables for biomass development, such as pH, temperature, and agitation, were monitored over a 25-day period. Growth was assessed by UV-Visible spectrophotometry at 680 nm, correlating absorbance with cell concentration through calibration curves, and experimental data were fitted to the logistic Monod model to describe growth kinetics.

The results showed that the modified Zarrouk medium under a 16/8 h photoperiod supported the highest growth, reaching a concentration of 20.85 g·L⁻¹/g·L⁻¹ initial. This was followed by the same medium under 12/12 h conditions with 18.39 g·L⁻¹/g·L⁻¹ initial. In contrast, the basic medium exhibited lower growth rates, although cultures under 16/8 h achieved 14.47 g·L⁻¹/g·L⁻¹ initial compared to 9.12 g·L⁻¹/g·L⁻¹ initial under 12/12 h.

Growth curves fitted satisfactorily to the Monod model, allowing the estimation of key parameters such as specific growth rate, time of maximum growth rate, maximum biomass concentration, and productivity. Notably, the modified Zarrouk medium with a 16/8 h photoperiod yielded the best performance, achieving a maximum biomass concentration ($X_{\max}$) of 36.78 g·L⁻¹/g·L⁻¹ initial, an average growth rate (μ_{promedio}) of 0.7768 day⁻¹, and an effective growth time (t_{efectivo}) of 16.97 days.

This study demonstrates that the selection of a nutrient-enriched culture medium and proper regulation of the photoperiod significantly enhance the growth of *Arthrospira platensis*. These findings provide a solid basis for the design of sustainable biotechnological processes aimed at biomass production for applications in the food and environmental industries.

Keywords: nutrient-enriched medium, photobioreactor, photoperiod, productivity, *Spirulina*.

Tabla de Contenido

AGRADECIMIENTO	I
DEDICATORIA	II
RESUMEN	III
ABSTRACT.....	IV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	3
2.1 . OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2 . OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
III. MARCO TEÓRICO	4
3.1. MICROALGAS.....	4
3.1.1. <i>Definición</i>	4
3.1.2. <i>Características</i>	4
3.1.3. <i>Clasificación</i>	5
3.1.4. <i>Especies</i>	6
3.1.5. <i>Cyanobacteria Arthrospira platensis</i>	7
3.2. PARÁMETROS PARA EL DESARROLLO Y CRECIMIENTO DE <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i>	12
3.2.1. <i>Medios de cultivo</i>	12
3.2.2. <i>Luminiscencia</i>	15
3.2.3. <i>Temperatura</i>	16
3.2.4. <i>CO₂</i>	18
3.2.5. <i>pH</i>	18

3.2.6. <i>Agitación</i>	18
3.2.7. <i>Producción de biomasa</i>	19
3.3. BIOMASA.....	20
3.3.1. <i>Definición</i>	20
3.3.2. <i>Clasificación</i>	21
3.3.3. <i>Métodos de producción</i>	22
3.3.4. <i>Técnicas de cuantificación de biomasa</i>	23
3.3.5. <i>Importancia de la biomasa en el contexto actual</i>	27
3.4. FOTOBIOREACTORES	28
3.4.1. <i>Definición</i>	28
3.4.2. <i>Tipos</i>	28
3.4.3. <i>Criterios de diseño</i>	31
3.4.4. <i>Productividad</i>	33
3.5. EFECTO DEL SUSTRATO Y FOTOPERÍODO EN EL CULTIVO DE SPIRULINA.....	36
3.7. ESTIMACIÓN DE LA PRODUCTIVIDAD Y TIEMPO DE MÁXIMO CRECIMIENTO DE <i>A. PLATENSIS</i>	39
3.8. CINÉTICA DE CRECIMIENTO CON EL MODELO DE MONOD.....	39
IV. HIPÓTESIS	42
V. METODOLOGÍA	43
5.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	43
5.2. INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO Y EL FOTOPERÍODO EN EL CRECIMIENTO DE <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i>	43
5.2.1. <i>Análisis de agua</i>	43
5.2.2. <i>Determinación de intensidad lumínica (LUX)</i>	44

5.2.3. Determinación de flujo volumétrico de aire.....	45
5.2.4. Montaje del sistema y bioreactores	46
5.2.5. Preparación de medios de cultivo.....	49
5.2.6. Acondicionamiento de la microalga	51
5.2.7. Determinación de longitud de onda de lectura	53
5.2.8. Siembra del inóculo en los biorreactores.....	54
5.2.9. Ensayos Cinéticos	55
5.2.10. Efecto de Medio de cultivo y Fotoperíodo en el crecimiento de biomasa de <i>Spirulina</i>	56
5.3. MODELACIÓN MATEMÁTICA DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i> MEDIANTE LOS MODELOS LOGÍSTICO Y DE MONOD.....	57
5.4. ESTIMACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE CRECIMIENTO DE <i>SPIRULINA</i>	57
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
6.1. MATERIALES, EQUIPOS, REACTIVOS E INSTRUMENTOS.....	59
6.2. INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO Y EL FOTOPERÍODO EN EL CRECIMIENTO DE <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i>	60
6.2.1. Análisis de agua	60
6.2.2. Determinación de intensidad lumínica (LUX).....	62
6.2.3. Determinación de flujo volumétrico de aire.....	64
6.2.4. Montaje del sistema y bioreactores	65
6.2.5. Preparación de medios de cultivo.....	66
6.2.6. Acondicionamiento de la microalga	68
6.2.7. Determinación de longitud de onda de lectura	72
6.2.8. Siembra del inóculo en los bioreactores.....	75

6.2.9. Ensayos cinéticos.....	76
6.2.10. Efecto del medio de cultivo y fotoperiodo en el crecimiento de biomasa de <i>Spirulina</i>	77
6.3. MODELACIÓN MATEMÁTICA DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i> MEDIANTE LOS MODELOS LOGÍSTICO Y DE MONOD.....	84
6.4. ESTIMACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE CRECIMIENTO DE SPIRULINA.....	88
VII. CONCLUSIONES.....	90
VIII. RECOMENDACIONES	91
IX. BIBLIOGRAFÍA	92
X. ANEXOS	95

Índice de Figuras

Figura 1. Microfotografía óptica <i>Spirulina A. Platensis</i>	7
Figura 2. Micrografía electrónica de barrido de <i>Arthrospira platensis</i> con parte de tricoma en espiral helicoidal continua.	8
Figura 3. Curva de crecimiento microalgal	9
Figura 4. Características espectrales de células intactas de <i>Spirulina platensis</i> a diferentes condiciones de medio y temperatura.....	11
Figura 5. Tipos de biomasa	22
Figura 6. Fotobiorreactor Helicoidal.....	29
Figura 7. Fotobiorreactor plano	29
Figura 8. Fotobiorreactor de columnas verticales y Fotobioreactores verticales elaborados en funda.....	30
Figura 9. Curva de fotorespuesta de la fotosíntesis (curva P)	37
Figura 10. Marcas de agua utilizadas para evaluación de dureza total.....	43
Figura 11. Luces LED empleadas como fuente de iluminación	45
Figura 12. Recogida de gas por desplazamiento de agua	46
Figura 13. Elementos del montaje experimental.....	48
Figura 14. Secchi disk	49
Figura 15. Curva complementaria de Secchi disk para determinación de concentración..	49
Figura 16. Espectro fotómetro UV-VIS DR6000	53
Figura 17. Kit de filtrado con kitasato para extracción de biomasa	56
Figura 18. Materiales, equipos, reactivos y materiales utilizados.....	59
Figura 19 . Determinación de dureza total a 9 muestras de agua.....	60
Figura 20 . Disposición de las luces en la tapa de la hielera.....	62
Figura 21 . Medición de intensidad luminica.....	64
Figura 22 . Distribución de bioreactores y ajuste de flujo volumétrico.....	65

Figura 23 . Elementos y montaje del sistema y bioreactores	66
Figura 24 . Reactivos utilizados para la preparacion de los medios de cultivo.....	67
Figura 25 . Medios de cultivo utilizados en la fase experimental.....	68
Figura 26 . Esterilización de bioreactores	69
Figura 27 . Liberación de aduana e inoculación de Spirulina	69
Figura 28 . Exposición de inóculo de Spirulina a la luz solar	70
Figura 29 . Cultivo de Spirulina en condiciones idoneas para ser inóculo.....	71
Figura 30. Gráfica de barrido para determinar longitud de onda de Spirulina	72
Figura 31. Tabla de barrido para determinar longitud de onda de Spirulina.....	72
Figura 32. Dilusiones realizadas para elaborar curvas de calibración	73
Figura 33. Curva de calibración medio Zarrouk modificado	74
Figura 34. Curva de calibración medio básico	74
Figura 35. Lectura con Secchi Disk de inóculo de Spirulina.	75
Figura 36. Muestreos realizados durante 25 dias de fase experimental	76
Figura 37. Curva de cinética de crecimiento de Spirulina en medio Zarrouk modificado 16/8	78
Figura 38. Curva de cinética de crecimiento de Spirulina en medio Zarrouk modificado 12/12	79
Figura 39. Curva de cinética de crecimiento de Spirulina en medio básico 16/8.....	80
Figura 40. Curva de cinética de crecimiento de Spirulina en medio básico 12/12.....	81
Figura 41. Gráfico del comportamiento de la cinetica de crecimiento de Spirulina	82
Figura 42. Concentraciones finales normalizadas	83
Figura 43. Gráfico de fase experimental ajustado al modelo de Monod.....	84
Figura 44. Gráfico de fase experimental ajustado al modelo de Monod para cada medio y fotoperíodo.....	85

Índice de Tablas

<i>Tabla 1. Composiciones estándar del polvo seco de la Spirulina</i>	<i>9</i>
<i>Tabla 2. Minerales que forman el medio de cultivo Zarrouk.....</i>	<i>13</i>
<i>Tabla 3. Composición del medio Zarrouk con un ajuste de pH.....</i>	<i>14</i>
<i>Tabla 4. Composición del medio Urea</i>	<i>14</i>
<i>Tabla 5. Composición de la Solución 1 del medio Utex</i>	<i>14</i>
<i>Tabla 6. Composición de la Solución 2 del medio Utex</i>	<i>15</i>
<i>Tabla 7. Métodos de producción de biomasa.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 8. Descripción de las hipótesis planteadas en este estudio</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 9. Marcas de agua utilizadas para análisis de dureza total</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 10. Sales del medio Zarrouk modificado</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 11. Nutrientes (F/2 MEDIUM).....</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 12. Formulación de medio de cultivo básico</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 13. Factores y niveles propuestos para identificar las condiciones óptimas de cultivo de Spirulina para la obtención de biomasa</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 14. Dureza total método manual</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 15. Dureza total método automático</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 16. Desviación estándar y coeficiente de variación entre ambos métodos .</i>	<i>62</i>
<i>Tabla 17. Determinación de Lux para cada tipo de Luz</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 18. Determinación del flujo volumétrico de aire.....</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 19. Lecturas de absorbancia utilizadas en curvas de calibración.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla 20. Lecturas de absorbancia utilizadas en curvas de calibración.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabla 21. Parámetros cinéticos obtenidos del modelo Monod.....</i>	<i>86</i>

I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas contribuyen a la sustentabilidad del planeta principalmente por su capacidad de transformar CO₂ en O₂ y por ser productores primarios de biomasa en sistemas acuáticos. Además, en el campo de la biotecnología, las microalgas actualmente se utilizan para producir biomasa que posteriormente se emplea en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. Sin embargo, las microalgas tienen el potencial para contribuir aún más, si se aumentara su capacidad actual de producción y se desarrollaran nuevas aplicaciones en otras áreas de la ciencia, como, por ejemplo, en la producción de biocombustibles, químicos, biofertilizantes, colorantes naturales, suplemento de alimento para animales, así como en el tratamiento de aguas residuales y gases de combustión (Fernández, y otros, 2021).

La Spirulina (*Arthrospira platensis*) es una microalga que se encuentra clasificada como cianobacteria. El interés de su estudio radica en la utilidad que dicha cianobacteria tiene en el campo de la biotecnología, dentro de ella destacan su alto contenido proteico lo cual proporciona un alto valor nutricional. A su vez estas cualidades han permitido que esta microalga sea empleada en diversas industrias en particular en el sector alimentario, farmacéutico y nutracéutico, utilizándose como un componente de importancia en suplementos, alimentos y diferentes formulaciones que tienen beneficios para la salud (Gómez, 2007).

La investigación realizada a continuación cobra una importancia fundamental en el contexto actual debido a que existe la necesidad de recurrir a fuentes de proteínas que no sean de origen animal, de manera que funcionen como suplementos proteicos vegetales en especial con la existencia de personas cuyas dietas se basan en el consumo únicamente de fuentes de nutrientes vegetales (Ribas y Oliveira, 2020).

En múltiples estudios en específico en el área de alimentos para diversos animales se ha demostrado que utilizando Spirulina como complemento para su dieta se obtienen grandes beneficios sobre el valor nutricional de estos animales para su posterior consumo. A su vez, la utilidad de las microalgas en el campo de colorantes naturales, bioquímicos y biofertilizantes tiene una presencia relevante en el mundo moderno (Ribas y Oliveira, 2020).

Asimismo, existe la necesidad del control y tratamiento de aguas naturales y residuales por medio de fuentes alternativas, estudiándose la aplicación de métodos innovadores dentro de los cuales se encuentra la aplicación de la Spirulina, debido a ser un organismo que se alimenta de nitratos, fosfatos y metales pesados (Gómez, 2007).

En Nicaragua la producción y uso de Spirulina representa un gran potencial aplicándose en el contexto de seguridad alimentaria y sustentabilidad ambiental. En el país se cuentan con las condiciones climáticas para que este cultivo se realice ya que existe abundancia de luz solar y fuentes de agua. Por otro lado, el

aprovechamiento de la *Spirulina* podría integrarse en proyectos de desarrollo rural, fomentando el cultivo a pequeña escala y generando ingresos para las comunidades locales.

En el proceso de crecimiento de *Spirulina* están involucradas múltiples variables, destacándose en primer lugar el medio de cultivo ya que es el que proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos, por lo que su composición juega un papel determinante en la producción de biomasa. Por otro lado, el fotoperíodo, es decir, la duración y la intensidad del ciclo luz-oscuridad, impacta de manera directa en la fotosíntesis, un proceso esencial para el metabolismo y crecimiento de *Spirulina* (Ribas y Oliveira, 2020).

La fundamentación teórica de este trabajo se apoya en diversas investigaciones relevantes. Pérez Rial (2019) destaca la importancia de variables como pH, temperatura, agitación y nutrientes para la producción eficiente de biomasa. Cruz (2018) describe detalladamente las fases de crecimiento de *Spirulina* y subraya la necesidad de controlar las condiciones físico-químicas del cultivo. Torres y Trujillo (2008) identificaron al medio UTEX como el más eficaz en términos de rendimiento biomásico, mientras que Rojas et al. (2017) demostraron el impacto de la salinidad y ciertos nutrientes en la generación de biomasa. Por último, Barra Galárraga (2010) resalta el papel de los fotobioreactores como sistemas rentables y adaptables a las condiciones ambientales locales.

El trabajo que se presenta a continuación evaluará el efecto de variación de los medios de cultivos y fotoperíodos sobre la cinética de crecimiento de la *Spirulina* en condiciones controladas, para ello esta investigación se desarrollará utilizando bioreactores a escala de laboratorio en un sistema controlado. Se planteará un modelamiento matemático que describa la cinética de crecimiento de la microalga *Arthrospira platensis* en donde se relaciona la producción de biomasa con las variables de los bioreactores. Dicho modelo se plantea como una herramienta útil para la toma de decisiones en el ámbito de la gestión ambiental, al facilitar la optimización de procesos industriales y productivos. Esta investigación busca contribuir al diseño de sistemas de cultivo más eficientes y sostenibles, que maximicen el rendimiento biomasa de *Spirulina* y promuevan su aplicación en diversos sectores.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Determinar el efecto que tiene el medio de cultivo y el fotoperíodo en la cinética de crecimiento de Spirulina (*Arthrospira platensis*) en bioreactores a escala de laboratorio.

2.2. Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto del medio de cultivo y el fotoperíodo en el crecimiento de Spirulina (*Arthrospira platensis*) en un Fotobiorreactor (FBR) a escala de laboratorio.
2. Describir la cinética de crecimiento de *Arthrospira platensis* mediante modelación matemática usando modelos de crecimiento logístico y de Monod para relacionar la producción de biomasa con las variables del biorreactor.
3. Estimar las condiciones óptimas de crecimiento de *Arthrospira platensis* relacionadas con la productividad y el tiempo de máximo crecimiento de *Arthrospira platensis*.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Microalgas

Las microalgas son organismos unicelulares con la capacidad de realizar fotosíntesis para formar biomasa a partir de energía solar, dióxido de carbono y otros nutrientes (López, 2011).

La producción de microalgas a una escala industrial se perfila como un reto biotecnológico, debido a su innegable potencial como alimento a la vez que, como combustible biodiésel, y basado en la posibilidad de producir importantes cantidades de biomasa al implementar procesos de mejora continua promoviendo el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan costos cada vez más competitivos (Ramos, 2019).

En el contexto de desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del medio ambiente, a la reutilización de los residuos y a la generación de energías limpias de bajo costo, los cultivos de microalgas adquieren un gran protagonismo al ser consideradas como eco-amigables, ya que reciclan eficientemente contaminantes desde medios líquidos y gaseosos, incorporándolos a su metabolismo para la generación de biomasa (Hernández y Labbé, 2014).

En comparación con otros sistemas de tratamientos de aguas, los cultivos de microalgas son considerados una tecnología de mediana complejidad, con desarrollo en escala de plantas pilotos. Al tratarse de organismos vivos, involucran una serie de parámetros que deben ser considerados, evaluados, determinados y medidos para realizar con éxito un cultivo (Hernández y Labbé, 2014).

3.1.1. Definición

El término microalga está ligado al desarrollo biotecnológico, y se refiere a aquellos microorganismos que contienen clorofila y otros pigmentos fotosintéticos, capaces de realizar fotosíntesis oxigénica. En este contexto, las cianobacterias o algas verde-azules, con estructura celular procariota, se han considerado tradicionalmente dentro del grupo (Gómez, 2007).

3.1.2. Características

Según Pérez (2019), su composición química está constituida básicamente por carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos y proteínas. Son fuente de casi todos los tipos de vitaminas (A, B1, B2, B6, C, E), aunque su concentración depende de factores ambientales y del tratamiento empleado para su recolección y secado. De sus componentes básicos se puede destacar lo siguiente:

- Proteínas: poseen un alto porcentaje alcanzando hasta un 50% durante la fase de crecimiento. Además, contienen los 20 tipos de aminoácidos (Leucina,

Valina, Isoleucina, Lisina, Fenilalanina, Metionina, Triptófano, Ácido glutámico, Ácido ascórbico y Cisteína.

- Carbohidratos: las microalgas en general presentan un bajo contenido en celulosa y contienen productos de almacenamiento como azúcares, glicerol, glucanos o fructanos.
- Lípidos: se pueden dividir en dos tipos fundamentales. El primer tipo lo constituyen aquellos lípidos de almacenamiento que pueden alcanzar hasta el 50% en peso formados principalmente por TAGs (triacylglycerols o grasas neutras) y pueden ser extraídos directamente de la biomasa húmeda con la ayuda de disolventes. El segundo tipo lo constituyen los lípidos de membrana y aunque existen diferentes variedades, los PUFAs (ácidos grasos poliinsaturados) son los mayoritarios (aproximadamente un 40%).

Las microalgas se pueden encontrar ampliamente distribuidas en la biosfera bajo diversas formas (unicelulares, coloniales o filamentosas), siendo una de las más predominante los cocoides (pequeñas bolas redondas). En ocasiones, las microalgas aparecen formando colonias en las que se agrupan muchas células y en algunos casos, las colonias disponen de un número y un patrón definido genéticamente conocido como cenobio. Las algas coloniales o unicelulares pueden ser propulsadas por flagelos, en cuyo caso se les conoce como flageladas, o pueden presentar otro tipo común de cuerpo como son los filamentos, una serie de algas unidas de principio a fin normalmente compartiendo una misma pared (Pérez, 2019).

Por otro lado, también es posible encontrar algas que producen ramas dividiéndose en una dirección perpendicular al eje principal de filamento, identificándose como filamentosas ramificadas. Cuando estas algas se producen asociadas a rocas u otros sustratos se forman comunidades conocidas bajo el nombre de perifiton. Asimismo, las algas que nadan o flotan en aguas se las conoce colectivamente como fitoplancton (Pérez, 2019).

3.1.3. Clasificación

De acuerdo con Pérez (2019), los primeros intentos de clasificación de las microalgas se basaban en la presencia de determinados pigmentos específicos, sin embargo, dicha clasificación ha variado a lo largo del tiempo, no existiendo un único registro. En la actualidad, se clasifican teniendo en cuenta características como la composición de la pared celular, la naturaleza química del producto de almacenamiento fotosintético, la organización de las membranas fotosintéticas, la presencia y tipo de flagelos o el tipo de reproducción. De manera general, estos microorganismos fotosintéticos pueden dividirse en procariotas y eucariotas.

Dentro de las algas procariotas se pueden encontrar las cianobacterias. Las cianobacterias son los organismos vivos más antiguos de la Tierra. Su estructura celular es muy simple y son muy similares a las bacterias primitivas. Se caracterizan

por realizar la fotosíntesis oxigénica y presentar glucógeno como polisacárido de reserva. Las cianobacterias son el organismo modelo para el estudio de la actividad metabólica de los cloroplastos por tener en ellos su origen. Es común encontrarlas en ambientes acuáticos, en océanos o en agua dulce e incluso en agua termales, aunque en determinadas ocasiones también se han localizado en desiertos áridos y en la superficie o en el interior de rocas.

Las cianobacterias están divididas en *cianófitas* y *ploclorófitas* y son microalgas procariotas que contienen clorofila-a. Las segundas también sintetizan clorofila-b. Su pared celular se compone de peptidoglucano y una capa externa de lipopolisacárido y pueden tener una cubierta viscosa. Las células se pueden encontrar individualmente o en filamentos, ramificadas o sin ramificar, en una configuración lineal o aleatoria, pudiendo formar colonias rodeadas de una capa viscosa.

3.1.4. Especies

Entre las microalgas se incluyen organismos con dos tipos celulares: cianobacterias, que tienen estructura celular procariota, y las restantes microalgas con estructura celular eucariota; sin embargo, el término no tiene valor taxonómico ninguno.

Otra manera de diferenciar a las especies de microalgas es por el ecosistema en el que se desarrollan, ya que, a como se mencionó anteriormente, las microalgas pueden crecer tanto en cuerpos de agua fresca como en ambientes costeros y marinos. Sin embargo, existen algunas especies poco exigentes, que pueden vivir en condiciones extremas: cavernas, suelos desérticos, hielos o nieves perpetuas, lagos hipersalinos, acídulos, alcalinos y con elevadas temperaturas (Gómez, 2007).

La elección de las especies a cultivar depende directamente de la finalidad que se le desea brindar a la biomasa resultante (e.g., pigmentos, alimento) y/o si el cultivo es para fitorremediación. Las especies algales predominantes dentro de un sistema abierto dependen de factores ambientales, operacionales y parámetros biológicos. En un sistema cerrado, se pueden lograr cultivos monoespecíficos aislados del medioambiente.

Las microalgas en un cultivo para fitorremediación deben cumplir con 3 condiciones: alta tasa de crecimiento; alta tolerancia a la variación estacional y diurna si es un sistema abierto; y buena capacidad para formar agregados para una cosecha por simple gravedad, además de altos niveles de componente celulares valiosos.

Algunas especies presentes en aguas contaminadas son utilizadas en tratamiento de aguas residuales por su elevada tolerancia. Además, varias de estas también son utilizadas para fines comerciales específicos. Los géneros *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus*, *Euglena*, *Chlamydomonas*, *Oscillatoria*,

Micractinium, *Golenkinia*, *Phormidium*, *Botryococcus*, *Spirulina*, *Nitzschia*, *Navicula* y *Stigeoclonium* han sido registrado en aguas residuales desde distintas procedencias. Varias de estas son comercialmente interesantes para la alimentación humana y/o animal, la obtención de biocombustibles, aceites esenciales, pigmentos, entre otros usos (Hernández y Labbé, 2014).

3.1.5. Cyanobacteria *Arthrospira platensis*

Las cianobacterias son microalgas unicelulares, capaces de convertir la energía lumínica en energía química a través de la fotosíntesis, que usualmente habitan tanto en aguas marinas como aguas dulces. Dentro de este compacto grupo se encuentra el género *Spirulina*, siendo sus especies más conocidas *A. platensis* y *A. maxima*.

La *Spirulina* (*A. platensis*), está presente en el planeta desde hace unos 3,500 millones de años, con orígenes en las lagunas de África y América Latina, y desde entonces ha sido recolectada durante muchos años por las civilizaciones que habitaron las zonas (Muñoz, Pineda, Barrigas, y Pineda, 2021).

La cianobacteria *Arthrospira platensis*, también llamada alga azul, o más comúnmente *Spirulina*, consiste en células que miden 3.5-10µm de ancho y se alinean una al lado de la otra. El filamento tiene una forma de espiral con un diámetro de 20-100µm, o se vuelve recto en cultivos artificiales. Asimismo, posee un arreglo multicelular de tricomas cilíndricos, con una hélice abierta a mano derecha a lo largo de toda la estructura del filamento (Torres y Correa, 2008).

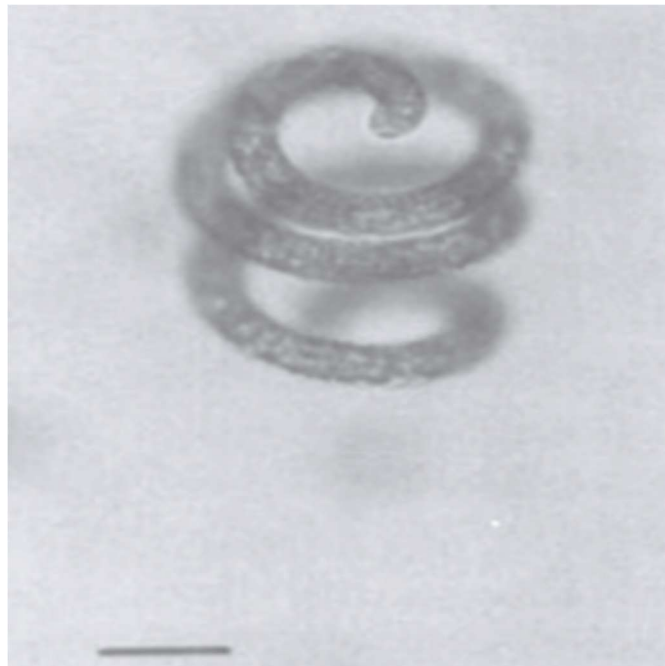


Figura 1. Microfotografía óptica *Spirulina A. Platensis*
Fuente: Vonshak (2002)

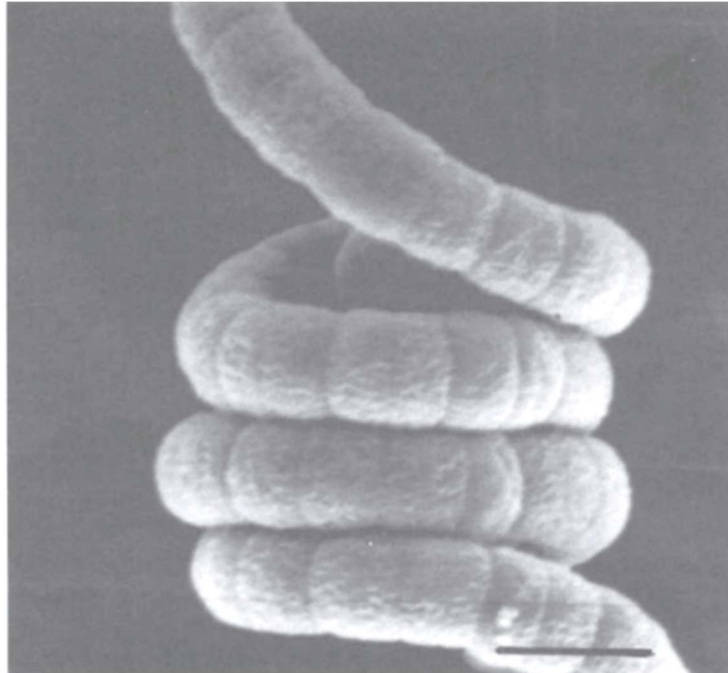


Figura 2. Micrografía electrónica de barrido de *Arthrospira platensis* con parte de tricoma en espiral helicoidal continua.

Fuente: (Vonshak, 2002)

En la Figura 2 se destacan las paredes transversales que dividen el tricoma en células y la superficie del tricoma cubierta por una fina película, como costillas anastomosadas huecas, la barra que aparece en la parte inferior derecha representa 10 μm (Vonshak, 2002)

La división celular ocurre por fusión binaria en un plano en ángulo recto con el eje longitudinal del tricoma. El alargamiento de los tricomas se produce mediante división celular intercalada múltiple a lo largo de todo el filamento. La multiplicación se produce sólo por fragmentación: la rotura de los tricomas es transcelular mediante la destrucción de una célula intercalada, una célula de sacrificio (necridio) o una célula lisada.

La biomasa de la *A. platensis* está constituida por 70% de proteínas aproximadamente. Todos los aminoácidos presentes en ésta se encuentran en proporciones recomendadas por la FAO, exceptuando la metionina. Este microorganismo también posee un contenido considerable de lípidos, básicamente constituido por ácidos grasos poli-insaturados, como el linolénico y el linoleico, e proporciones de 1.24% y 1.04%, respectivamente. Esta microalga posee alto contenido de vitaminas (10 de ellas especialmente B12 y β -caroteno), y algunos pigmentos como carotenoides, xantofilas, ficobiliproteínas y clorofila (Torres y Correa, 2008).

En la Tabla 1 se muestran algunos de los componentes más representativos de la Spirulina y sus proporciones.

Tabla 1. Composiciones estándar del polvo seco de la Spirulina

Composición	
Proteínas (%)	55-70
Humedad (%)	4-7
Cenizas (%)	6-13
Ficocianina (g/kg)	140
Clorofila (g/kg)	6.1-10
Carotenoides (g/kg)	3.7
β-Caroteno (g/kg)	1.5-1.9

Fuente: Torres y Correa (2008)

Según Pérez Rial (2019), la curva de crecimiento de las microalgas suele presentar las etapas representadas en la curva de crecimiento mostrada en la Figura 3, aunque la duración de cada fase va a depender de la especie seleccionada y de las condiciones de cultivo.

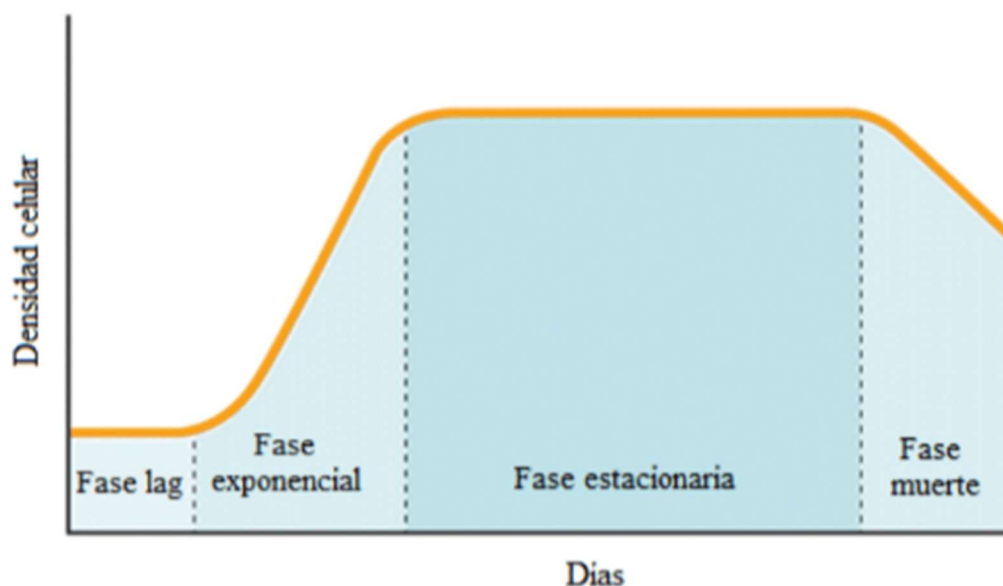


Figura 3. Curva de crecimiento microalgal

Fuente: Pérez Rial (2019)

Las fases involucradas son cuatro: adaptación, exponencial, estacionaria y de muerte.

- Fase “lag” o de adaptación: es un período relativamente plano en el cual la población microalgal parece no crecer o lo está haciendo a una velocidad muy baja. Durante esta fase, las microalgas inoculadas se acoplan a las condiciones establecidas, la tasa de crecimiento es baja y se va incrementando de manera paulatina al adaptándose al ambiente para multiplicarse.
- Fase exponencial: una vez que se han adaptado a las nuevas condiciones, la velocidad de división celular se acelera y el crecimiento de las microalgas

se realiza de forma exponencial debido a la ausencia de factores que limiten su desarrollo, en esta fase el crecimiento de la biomasa de microalga es proporcional a la biomasa inicial del cultivo.

- Fase estacionaria: durante la fase estacionaria las condiciones de cultivo hacen que la población deje de crecer o crezca muy lentamente observándose una nivelación en la curva de crecimiento, donde la tasa de muerte celular y la de multiplicación celular se igualan. Este comportamiento puede deberse al agotamiento de los nutrientes, mayor competencia entre las microalgas, excreción de ácidos orgánicos o a la pobre penetración de la luz debido a la alta concentración celular. El metabolismo oxidativo de la síntesis de sustancias llega a reducir el constante aumento de biomasa, es en esta fase en donde se alcanza el equilibrio entre la concentración máxima de biomasa y las pérdidas debido a los procesos degenerativos.
- Fase muerte: con el paso del tiempo los factores limitantes se intensifican y la población microalgal comienza a morir a una velocidad constante, puesto que la tasa de mortalidad es superior a la de natalidad, observándose una declinación en la curva de crecimiento. Esta fase es causada por las condiciones desfavorables del ambiente, sobre el cultivo y el limitado suplemento de luz y nutrientes o la contaminación de otros microorganismos, este tipo de crecimiento ocurre en sistemas cerrados.

De acuerdo a lo establecidos por Vonshak (2002), en lo que corresponde a la absorción de luz y transferencia de energía, la energía utilizada durante la fotosíntesis es capturada por pigmentos fotosintéticos como la clorofila, ficocianobilina, carotenoides, etc. Todos estos pigmentos tienen una amplia gama de enlaces conjugados. Esto les permite interactuar entre sí y absorber eficientemente la radiación electromagnética en el rango de luz visible. Las cualidades espectrales de estos pigmentos no solo se ven afectados por su composición química, sino que también por el medio proteico que los rodea. Típicamente, las bandas de absorción de los pigmentos que forman compuestos con las proteínas se amplían debido a la mayor división de los niveles de energía.

Mientras la clorofila y los carotenoides que forman compuestos con proteínas son una parte integral del fotosistema I y fotosistema II en las cianobacterias, un compuesto proteína-pigmento especializado supramolecular llamado ficobilisoma también se encuentra también presente. Se une a la ficocianobilina y otros cromóforos similares (bilinas). Debido a la presencia de bilinas como cromóforos, estos sistemas de antena son capaces de recolectar la energía de los regímenes de luz donde la clorofila no es capaz de absorber o absorbe débilmente.

Las características espectrales de varias biliproteínas son ampliamente diferentes, debido a diferencias en: estructura química del cromóforo, asociaciones específicas con las apoproteínas, e interacciones con otras biliproteínas y polipéptidos enlazadores.

Como resultado, las ficobilisomas son capaces de absorber energía lumínica desde 550 nm hasta 650nm. Sin embargo, debido a la presencia de los otros compuestos formados entre proteínas y pigmentos (clorofila y carotenoides), *Spirulina* sp es capaz de absorber energía lumínica desde 440nm hasta 729nm, dependiendo de las condiciones a las que sea expuesta (Figura 4).

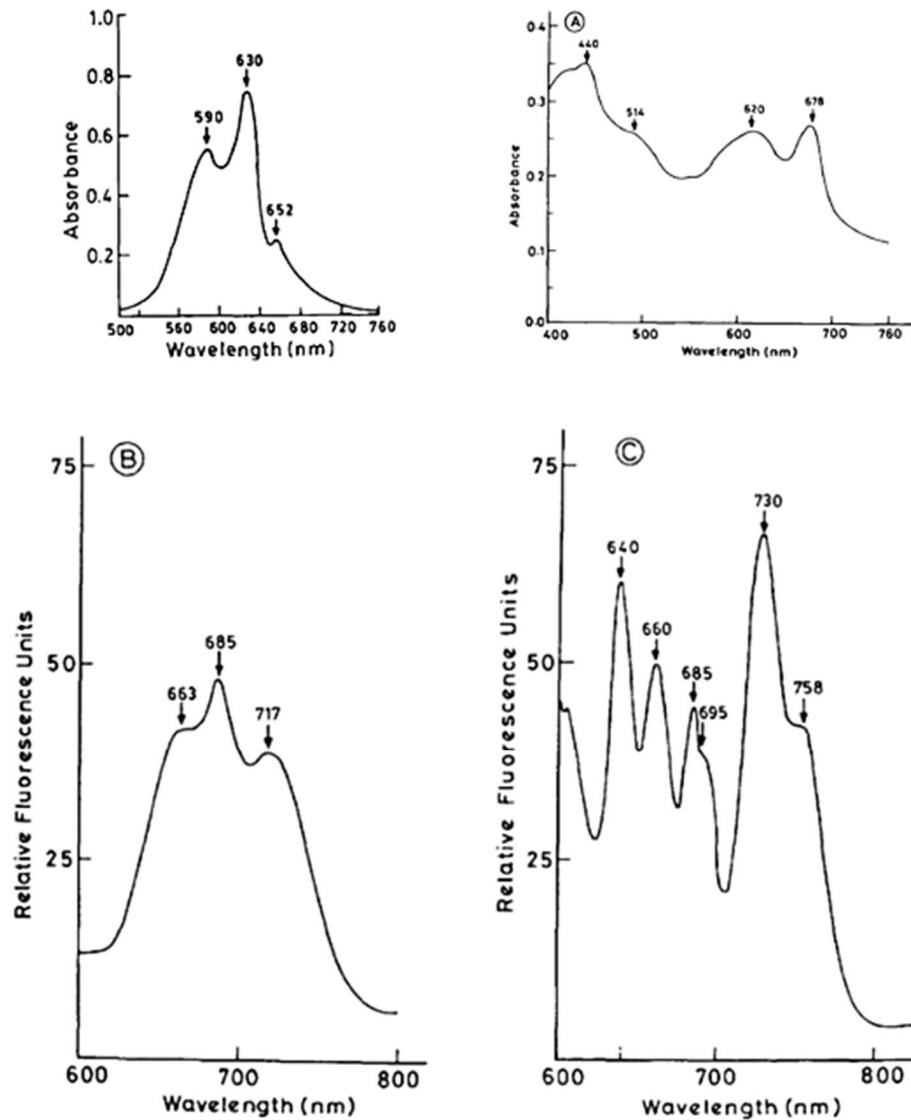


Figura 4. Características espectrales de células intactas de *Spirulina platensis* a diferentes condiciones de medio y temperatura.

Fuente: Vonshak (2002)

3.2. Parámetros para el desarrollo y crecimiento de *Arthrospira platensis*

3.2.1. Medios de cultivo

Uno de los parámetros de mayor importancia para el desarrollo y crecimiento de la *Spirulina* es el medio de cultivo ya que es este el que tiene un contacto directo con la misma proporcionándole los nutrientes necesarios para lograr el desarrollo de la misma.

- Requerimientos del medio de cultivo

El medio de cultivo es el encargado de proporcionar todas las sales necesarias para el correcto desarrollo de las microalgas. Por esta razón, todos los medios contienen una fuente de carbono, nitrógeno y otros nutrientes esenciales tales como fósforo (P), magnesio (Mg), calcio (Ca) o potasio (K). La fuente de carbono suele ser un inorgánico (acetato), sal inorgánica (bicarbonato sódico) o gas (CO_2), mientras que la fuente de nitrógeno suele ser una sal de nitrato, amonio o urea (Perez, 2019).

- Tipo de medio de cultivo empleado

Para el cultivo de *Spirulina* a escala de laboratorio se han realizado un sin número de investigaciones dentro de las cuales se han analizado una gran variedad de medios de cultivos que contienen minerales antes señalados difiriendo unos con otros respecto a la proporción en la que se encuentran dichos nutrientes, la bibliografía señala que los medios de cultivo que han obtenido mejores resultados y cuya composición se adapta a las necesidades de esta microalga son tres: Zarrouk y Zarrouk modificado, Urea y UTEX.

A. Zarrouk

El primer medio sintético formulado para el cultivo de la *Spirulina* fue el medio de Zarrouk, el cual es todavía usado como medio estándar. Este fue definido por primera vez en 1966. El principal componente de este medio de cultivo es el fósforo y la mayor forma en que el alga adquiere el fósforo es a través de fosfatos inorgánicos tales como H_2PO_4^- o HPO_4^{2-} y la *Spirulina* puede utilizar satisfactoriamente el fósforo en la forma P_2O_5 . También el potasio juega un papel importante, es un cofactor para muchas enzimas, está involucrado en la síntesis de proteínas, regulación osmótica y es esencial para el crecimiento (Torres y Correa, 2008).

Otros de los componentes del medio de cultivo Zarrouk es el sulfuro que forma parte de las vitaminas y sulfolípidos que son factores de importancia que ayudan al crecimiento del alga, se emplea bicarbonato de sodio como fuente de carbono y regulador de las condiciones alcalinas del medio de cultivo.

Debido a las características particulares de la *Spirulina* requiere de nitrógeno, el cual en el caso particular del medio de cultivo Zarrouk es suministrado por NaNO_3 .

de acuerdo a la bibliografía las concentraciones deben ser menores a 2.5 g/L. El magnesio ocupa una posición estratégica en el aparato fotosintético como centro de la molécula de clorofila, entonces, todas las cianobacterias tienen un absoluto requerimiento de este elemento, así mismo tiene un rol en la agregación de ribosomas en unidades funcionales y en la formación de catalasa (Torres y Correa, 2008).

El calcio es otro componente de importancia en este medio de cultivo ya que es esencial para la actividad de la membrana celular y catalizar de reacciones de tipo enzimático. En la Tabla 2 se detallan cada uno de los minerales que forman el medio de cultivo Zarrouk.

El medio Zarrouk también se ha estudiado realizándole modificaciones ajustándolo a un pH de 10 con hidróxido de sodio, el cual presenta la composición que se señala en la Tabla 3.

Tabla 2. Minerales que forman el medio de cultivo Zarrouk

Sustancia	Concentración (g/L)
NaHCO ₃	13.61
Na ₂ CO ₃	1.03
K ₂ HPO ₄	0.50
NaNO ₃	2.50
KSO ₄	1.00
NaCl	0.20
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.04
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.01
FeSO ₄ 7H ₂ O	0.05
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ 4H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.22
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.39
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.079
Co (NO ₃) ₂ 6H ₂ O	0.049
VO ₂ SO ₄ 5H ₂ O	49.6 mg
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ 2H ₂ O	96.0 mg
NiSO ₄ 7H ₂ O	47.8 mg
Na ₂ WO ₄ 2H ₂ O	17.9 mg
TiOSO ₄	33.3 mg
Co (NO ₃) ₂ 6H ₂ O	44.0 mg

Fuente: Muñoz, Pineda, Barrigas, y Pineda (2021)

Tabla 3. Composición del medio Zarrouk con un ajuste de pH

Reactivo	Concentración (g/L)
K ₂ HPO ₄	0.5
NaNO ₃	2.5
K ₂ SO ₄	1.0
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2
CaCl ₂ 7H ₂ O	0.04
FeSO ₄ 7H ₂ O	0.01
EDTA	0.11
Inyección de CO ₂ como fuente de carbono:	
7%	

Fuente: Laura (2021)

B. Urea

En el caso del medio de cultivo urea este se utiliza únicamente por ser fuente de nitrógeno para la microalga es por ello que el efecto presenta sobre la Spirulina consiste únicamente en incrementar la producción de biomasa y el contenido de clorofila presente. La urea se hidroliza a amoníaco en un medio alcalino y puede ser tóxica para el alga en concentraciones altas (esto es en el orden de 10mM en el pH utilizado) y debido a la volatilidad del amoníaco puede causar un déficit en la nutrición del alga, pero se puede solucionar con la continua adición de urea, la composición exacta de este medio se detalla en la Tabla 4 (Torres y Correa, 2008).

Tabla 4. Composición del medio Urea

Sustancia	Concentración
Bicarbonato de sodio	25.61 g/L agua destilada
Urea	3.5 g/L de agua destilada

Fuente: Torres y Correa (2008)

C. Utex

El medio de cultivo Utex se realiza preparando dos soluciones en donde la solución 2 debe ser vertida sobre la solución 1 y agitar para mezclar completamente, dentro de sus recomendaciones se señala mantenerlo a baja temperatura para para mayor conservación del medio (Laura, 2021).

En las Tablas 5 y 6 que se presentan a continuación se detalla la composición de las dos disoluciones que componen al medio Utex:

Tabla 5. Composición de la Solución 1 del medio Utex

Reactivo	Concentración
NaHCO ₃	13.61 g/500 mL H ₂ O
Na ₂ CO ₃	4.03g/500 mL H ₂ O
K ₂ HPO ₄	0.5g/500 mL H ₂ O

Fuente: Laura (2021)

Tabla 6. Composición de la Solución 2 del medio UTEX

Reactivo	Concentración
NaNO ₃	2.5 g/500 mL
K ₂ SO ₄	1 g/ 500 mL
NaCl	1g/ 500mL
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2 g/ 50 mL
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.04 g/ 500 mL
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.75 g/L
FeCl ₃ 6H ₂ O	0.097 g/L
MnCl ₂ 4H ₂ O	0.041 g/L
ZnCl ₂	0.005 g/L
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.002 g/L
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.004 g/L
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.02 g/L
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.044 g/L
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.02g/L
MnCl ₂ 4H ₂ O	0.012 g/L
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.012 g/L
H ₃ BO ₃	0.062 g/L
Na ₂ EDTA 2H ₂ O	0.05 g/L
HEPES buffer PH ,8	2.4 g/ 200 mL H ₂ O
Vitamina B12	0.02 g/200 mL H ₂ O

Fuente: Laura (2021)

3.2.2. Luminiscencia

Uno de los factores determinantes para el crecimiento fotosintético de las microalgas es la luz, debido a que la exposición a la misma es necesaria para que se realice la conversión a biomasa algal, según investigaciones se ha demostrado que la tasa de crecimiento está íntimamente relacionada con la intensidad de la luz que reciben los cultivos, un dato importante a señalar es que la luz puede ser proveniente naturalmente del sol, artificial o exposición a ambas. Es decir, el crecimiento de las microalgas aumenta a medida que la intensidad de la luz crece hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento, momento en el cual esta decrece con el aumento de intensidad de luz debido a la fotoinhibición (Laura, 2021).

Se sabe que cada periodo genera reacciones particulares en la microalga: En el día se favorece la asimilación de CO₂ a través del ciclo de Calvin, lo que permite la formación de glicógeno como material de reserva en la célula. En la noche ocurren reacciones bioquímicas de síntesis de material proteico (Laura, 2021).

- Tipo de luces empleadas

Dentro de los tipos de luz que se emplean en los cultivos de Spirulina van desde fuentes naturales de luz como el sol, con este se debe tener especial cuidado debido a que el sistema de cultivo del alga debe garantizar que la exposición al sol sea en todas las partes del medio, pero en tiempo limitas para evitar daños en los filamentos del alga.

Otra de las opciones presentes como fuentes de luz son las de tipo artificial tal como las luces led estas empleadas en especial en experimentos a escala de laboratorio en donde se tiene un control riguroso en cuanto al tiempo de exposición del cultivo a la luz, esto generalmente empleando temporalizadores, de acuerdo a datos señalados en la bibliografía se ha demostrado que la intensidad lumínica a escala de laboratorio puede variar entre 2000 y 5000 luxes, de importancia señalar que esta variación es debido a la densidad de los cultivos que van a ser sometidos a estas fuentes de luz.

Las lámparas fluorescentes tubulares son la fuente de luz preferida para la iluminación de cultivos interiores. Estas dan menos calor que otros tipos de luz artificial y son igualmente eficientes en promover tasas de división y crecimientos máximos. Los tipos usados comúnmente son "Daylight", "Cool-White" y "Grolux".

- Tiempo de exposición

El fotoperíodo puede variar dependiendo de la fuente donde se haga la consulta, según Richmond (2004) mientras más intensa sea la luz, el crecimiento se ve acelerado. Con mayor intensidad en la intensidad lumínica, se logra alcanzar la función de saturación de luz, a tal punto que la tasa de crecimiento alcanza su valor máximo posible. Sin embargo, un aumento en la intensidad de la luz pasado este punto no va a resultar en una tasa de crecimiento mayor, al contrario, puede volverse peligroso y dañar al cultivo al mismo tiempo que disminuya la tasa de crecimiento, culminando con foto-daño y, en casos extremos, la muerte del cultivo.

Se ha estudiado que a pesar de ser necesaria la exposición a la luz esta debe realizarse es ciertos períodos de tiempo y garantizar que la exposición a esta se de en todo el medio de cultivo evitando de esta manera la fotoinhibición.

Si la luz se continua durante periodos 24 horas sin tiempos de oscuridad, los filamentos de la Spirulina serán destruidos por fotólisis, varios autores recomiendan tener la producción por un período de 12 horas de luz y 12 de oscuridad (Muñoz, Pineda, Barrigas, y Pineda, 2021).

3.2.3. Temperatura

La temperatura del líquido de cultivo tiene una influencia directa con la velocidad de crecimiento de la Spirulina; el efecto más marcado de la temperatura sobre el

proceso se ve reflejado en la influencia que tiene esta en el proceso de respiración durante la fase que es oscura ya que aumenta exponencialmente con la temperatura, por lo que en la producción de biomasa microalgal al tener temperaturas altas durante la fase de oscuridad es considerable la pérdida de biomasa debido a la respiración intensiva. La máxima velocidad de crecimiento se alcanza entre los 25 – 38 °C, por encima de esta temperatura, hay riesgo de la destrucción rápida del cultivo (Laura, 2021).

De manera general, se puede decir que la temperatura óptima de cultivo de microalgas se encuentra en el rango de los 20-24 °C, pudiendo variar en función de la especie seleccionada y del medio de cultivo empleado. No obstante, la mayoría de los cultivos microalgales suelen tolerar temperaturas entre los 16 y 27 °C. Temperaturas superiores a los 35 °C resultan, a menudo, letales para la mayoría de las especies (Pérez, 2019).

La temperatura del líquido de cultivo tiene una influencia directa con la velocidad de crecimiento de *Spirulina* spp., y es necesario tener como referencia dos tipos de temperatura a escala de laboratorio: la primera, la del medio ambiente y la segunda se refiere al medio líquido de cultivo. Esta última es importante ya que, según (Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, 2004), *Spirulina* spp., no inicia su crecimiento de una manera considerable por debajo de 20°C. La temperatura óptima de crecimiento se encuentra en el rango de los 35°C – 38°C, siendo 35°C la temperatura subóptima 35°C. Por encima de este rango, existe el riesgo de la destrucción rápida del cultivo.

A su vez, establece que la iluminación es indispensable para el crecimiento de *Spirulina* spp. debido al proceso de fotosíntesis, determinante para su constitución estructural. Un filamento individual de *Spirulina* no puede soportar una exposición prolongada de iluminación, ya que podría ser destruido por fotólisis. De ahí la necesidad de mantener la iluminación controlada en ciclos Luz y Oscuridad (L/D, por sus siglas en inglés) para generar reacciones particulares. Durante el período de luz, se favorece la asimilación de CO₂ a través del ciclo de Calvin, lo que permite la formación de glicógeno como material de reserva en la célula. Al contrario, en el período de oscuridad, ocurren reacciones bioquímicas de síntesis de material proteico.

- Efectos de la variación de temperatura

El efecto de la temperatura sobre los cultivos de microalga *Spirulina* que han sido estudiado con anterioridad ha demostrado que esta se encuentra directamente relacionada con el crecimiento y desarrollo de la microalga es por ello que se debe considerar mantener los cultivos bajo condiciones controladas evitando temperaturas que excedan los 35°C y en general considerar temperaturas que oscilen entre 16°C y 27°C.

3.2.4. CO₂

Al igual que las plantas las cianobacterias realizan el proceso de fotosíntesis este fotoquímico se realiza con la transformación de la energía solar a energía química a través de la transformación de moléculas de carbono en materia orgánica. Según lo señalado en acápite anteriores la fuente principal de carbono empleada en el medio de cultivo de *Spirulina* a escala de laboratorio es el CO₂.

Las cianobacterias (algas verde-azuladas), organismos fotótrofos, para formar biomasa necesitan elementos inorgánicos de partida, en su actividad nutricional, tales como nitrógeno, oxígeno, carbono, hidrógeno, fósforo y azufre, que intervienen en la formación de carbohidratos, lípidos y proteínas. En general se ha demostrado de acuerdo a estudios realizados la tolerancia de las microalgas a la presencia de CO₂ oscila entre los valores del 5% al 15% en volumen (Sandoval y Rubio, 2018).

3.2.5. pH

El pH es un parámetro relevante que puede condicionar en gran medida el crecimiento de la especie microalgal elegida pues éstas se desarrollan únicamente, de manera adecuada, en un determinado intervalo de pH. Ha de tenerse en cuenta que, si el cultivo cuenta con un suministro de CO₂, la asimilación del dióxido de carbono provoca una subida del pH del medio que debe ser corregida, en caso necesario. Este control del pH se puede realizar mediante el empleo de medios tamponados, añadiendo un ácido o una base de manera controlada o a través del suministro de una aireación adecuada (Pérez, 2019).

Según estudios realizados a escala de laboratorio se ha demostrado que la escala de potencial de hidrogeno en donde se presenta un mayor crecimiento de esta microalga es en medio alcalino con un pH que oscila entre los valores de 8 a 10, se conoce que el efecto del pH en un rango fuera de la escala antes mencionada, va a verse reflejado ya sea en la falta de crecimiento, la escasa producción de pigmentos, el exiguo contenido de proteínas, o un limitado nivel en su capacidad antioxidante (Muñoz et al., 2021).

3.2.6. Agitación

Para lograr un adecuado crecimiento de la *Spirulina* a escala de laboratorio se debe garantizar que no exista variación de temperatura dentro del medio de cultivo empleado, a su vez debe existir una distribución uniforme de los nutrientes proporcionados por el medio de cultivo y una distribución adecuada de la luz. Para lograrlo, es necesaria la presencia de agitación. Sin embargo, el nivel de agitación debe ser cuidadosamente seleccionado pues una agitación insuficiente puede provocar la sedimentación de las microalgas en el fondo del reactor mientras que una agitación excesiva podría causar turbulencias dañando la estructura celular de las microalgas. De manera habitual, la agitación en los cultivos es conseguida

mediante el suministro de aire/gases (en fotobioreactores cerrados) o a través de agitación mecánica (Pérez, 2019).

3.2.7. Producción de biomasa

La composición de la biomasa microalgal se compone básicamente de carbono, nitrógeno y fósforo, en proporciones aproximadas de 50, 8 y 1%, respectivamente. En consecuencia, la disponibilidad de estos nutrientes es esencial para la multiplicación celular en bioreactores. A nivel del cultivo fotosintético, el dióxido de carbono es la principal fuente de carbono utilizado en los cultivos. Después del carbono, el nitrógeno es el segundo elemento limitante de los cultivos de microalgas. El nitrato es la fuente habitual, aunque la urea, el amoníaco y las fuentes orgánicas son asimiladas por innumerables especies. Finalmente, el fósforo es el tercer elemento de mayor demanda en estos sistemas. El fósforo reactivo es fácilmente asimilable, aunque el fósforo hidrolizable con ácido y el fósforo orgánico se usan de manera eficiente (Ribas y Oliveira, 2020).

- **Métodos de producción**

Los sistemas de cultivo utilizados para mantener el crecimiento de microalgas son dos tipos: sistemas abiertos o cerrados. Entre los diferentes tipos de diseño de sistemas abiertos, los más populares por lo relativamente fácil de construir, más económicos y simples en relación al sistema cerrado son el tanque de canalización (raceway) y el tanque circular, mientras que los sistemas cerrados incluyen el fotobiorreactor, que puede ser de tipo tubular, de placa plana e híbrido. La comprensión de los aspectos hidrodinámicos y la tecnología de los fotobioreactores escalables son aspectos que deben tenerse en cuenta para obtener buenos rendimientos.

En términos generales se considera un sistema abierto a aquel en donde la superficie es iluminada por el sol teniendo una intensidad de iluminación alta, principalmente este método se emplea en países tropicales ya que se obtiene mayor rendimiento de producción de biomasa, por otro lado también se debe tomar en consideración la profundidad de los tanques en que se realiza el cultivo, es de preferencia que la profundidad de estos oscile entre 35 a 40 cm ya que de esta manera se garantiza que la luz solar penetre hasta el fondo del tanque. Sin embargo, el uso de sistemas abiertos para el secuestro de CO₂ no es ventajoso debido al corto tiempo de residencia del gas en el cultivo, lo que ofrece poco tiempo para la fijación de CO₂ proveniente de los gases de combustión por parte de las microalgas. Una de las desventajas de los sistemas abiertos es la pérdida de agua por evaporación y posibles problemas de contaminación

Por otro lado, los sistemas cerrados proporcionan mejores rendimientos de biomasa, con algunas ventajas, como la reducción de la contaminación lo que genera un cultivo axénico, permitiendo el control de parámetros como son temperatura, pH, luz, concentración de CO₂, así como evita la pérdida de CO₂,

evaporación del agua, proporcionando altos rendimientos de bioproductos. Los sistemas cerrados que se utilizan son fotobioreactores tubulares verticales, horizontales e híbridos. Este tipo de fotobioreactores tienen como principio la relación existente entre la superficie y el volumen, el uso óptimo de CO₂, y una mezcla adecuada.

Hay un proceso complejo de transferencia de CO₂ en los fotobioreactores. En el proceso de aireación de gas en el fotobiorreactor, su rendimiento de transferencia de masa y la velocidad de la reacción bioquímica dependen de factores como el tipo y la configuración del fotobiorreactor, el rango diferente de las condiciones de operación, la influencia de las propiedades fisicoquímicas en la hidrodinámica debido a la alta viscosidad, el medio de cultivo, el comportamiento reológico, el método de medición utilizado, el tamaño de las burbujas, el tiempo de retención de gases, la concentración de CO₂, el área de contacto y la relación gas-líquido (Ribas y Oliveira, 2020).

- Cuantificación

La cuantificación de la biomasa de *Spirulina* se realiza una vez finalizado el proceso de crecimiento de la cianobacteria, el ciclo de crecimiento es de alrededor de 27 días, una vez concluido este periodo de tiempo se realiza la cuantificación de biomasa esto se puede realizar empleado un medio filtrante para recolectar la biomasa separándola del medio de cultivos, sometida posteriormente a un proceso de secado hasta eliminar la humedad presente y posteriormente se pesa con la finalidad de determinar el rendimiento. Por otro lado, algunos autores señalan que la cuantificación de la biomasa se realiza empelando la centrifugación para separar la biomasa del medio de cultivo, seguido de ello se congela para posteriormente deshidratarla sometiéndola a un proceso de liofilización, seguido de ello se realiza el respectivo pesado de la biomasa seca para determinar el rendimiento de la misma (Ribas y Oliveira, 2020).

3.3. Biomasa

3.3.1. Definición

La definición de biomasa que se utiliza en las directivas de la Unión Europea (UE) es la siguiente:

«Biomasa es la fracción biodegradable de productos, deshechos y residuos de la agricultura incluyendo sustancias vegetales y animales), silvicultura e industrias relacionadas, así como la fracción biodegradable de los residuos municipales e industriales»

Esta definición tiene un carácter muy amplio, ya que dentro de ella se engloba una diversidad de fuentes energéticas que comparten determinadas características,

pero que difieren entre sí en cuanto a las tecnologías para su obtención y aplicación para la producción energética.

3.3.2. Clasificación

El observatorio que realiza el mejor seguimiento de la situación de las energías renovable en la Unión Europea (*EurObserv'ER Barometer*) distingue dentro de la bioenergía, o biomasa en sentido amplio, cuatro fuentes energéticas diferentes: biomasa sólida, biogás, fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos y biocarburantes.

La biomasa sólida es el aprovechamiento térmico o eléctrico de la materia orgánica de origen vegetal o animal (excluyendo aquellos usos que se definen en las siguientes categorías). Dependiendo del origen y composición de cada uno de los materiales y residuos utilizados, la biomasa sólida se divide en primaria o secundaria. La biomasa sólida primaria la componen los cultivos energéticos, que son cultivos de especies vegetales destinados específicamente a la producción de biomasa para uso energético. La biomasa sólida residual o secundaria abarca los residuos forestales, residuos agrícolas leñosos, residuos agrícolas herbáceos, residuos de industrias forestales y agrícolas, esto es posible apreciarlo en el mapa señalado en la Figura 5.

Por otra parte, se denomina «metanización» al proceso de fermentación anaeróbica de los componentes orgánicos de los residuos. Dicha fermentación es producida por bacterias que se desarrollan en ambientes carentes de oxígeno. Durante el proceso de transformación de la materia orgánica, llamado digestión, dichas bacterias producen un gas denominado por su origen «biogás».

En cuanto a la Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Urbanos (FORSU), la Directiva de la Unión Europea 2008/98/CE incluye como bio-residuos los residuos orgánicos procedentes de jardines y parques, los residuos procedentes de las cocinas y de los alimentos de los hogares, bares, restaurantes, proveedores y redes de distribución de alimentos y residuos procedentes de las plantas de tratamiento de los alimentos. Su transformación en energía se realiza por incineración.

Por otro lado, se denominan biocarburantes a los combustibles líquidos de origen biológico que por sus características físico-químicas resultan adecuados para sustituir a la gasolina o al gasóleo, bien sea de manera total, en mezcla con estos últimos o como aditivo (Cerdá, 2012).

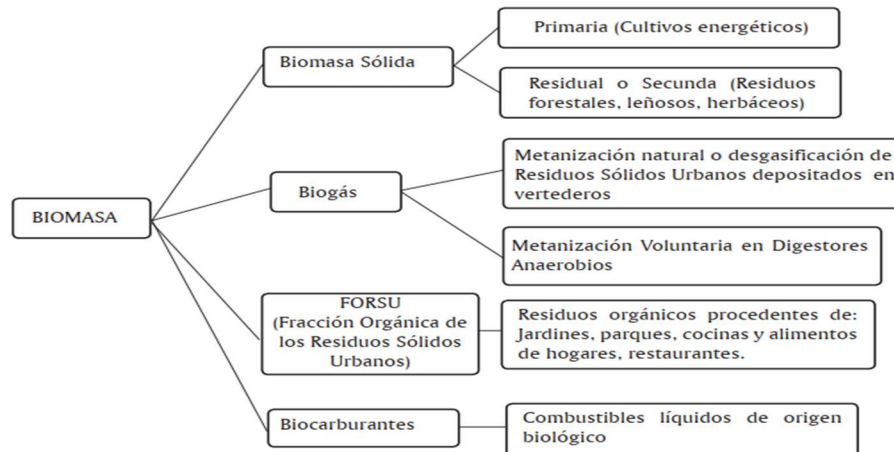


Figura 5. Tipos de biomasa

Fuente: (Cerdá, 2012)

3.3.3. Métodos de producción

Hay tres tipos de fuentes de energía de biomasa, se incluyen los cultivos bioenergéticos, residuos agrícolas y residuos forestales. En la producción energética a partir de biomasa se debe hacer una clara distinción entre el proceso termoquímico que incluye combustión, pirólisis y gasificación, y el proceso bioquímico que reconoce la fermentación y digestión anaerobia para el caso específico de la biomasa (ver Tabla 7).

Tabla 7. Métodos de producción de biomasa

Proceso de Conversión	Soluciones Tecnológicas	Producto Final
Procesos termoquímicos	Combustión	Vapor Procesos de calor Energía eléctrica Vapor
	Gasificación	Procesos de calor Energía eléctrica Gas combustible metano Carbón
	Pirólisis	Bio-carbón Gas combustible
	Fermentación	Etanol Agua para riego
Procesos bioquímicos	Digestión anaeróbica	Compost Biogás

Fuente: (Cerdá, 2012)

En la combustión de la biomasa intervienen el carbono y el hidrógeno presentes en el combustible, que reaccionan con el exceso de oxígeno dando como resultado CO_2 , agua y liberación de calor; aunque también existe la co-combustión (combustión de biomasa y carbón) en plantas de generación eléctrica de carbón. Por otro lado, la pirólisis descompone la biomasa mediante una oxidación incompleta en ausencia de oxígeno, generando productos sólidos significativos como carbón vegetal, además de compuestos líquidos y gaseosos para su utilización como combustibles. De igual manera, la gasificación lleva a cabo una oxidación parcial de la biomasa a través del calor, generando finalmente combustibles gaseosos ricos en hidrógeno y CO_2 .

Dentro de los procesos de obtención de energía a partir de la biomasa se encuentra uno del tipo bioquímico que es la digestión anaerobia, en la que la materia orgánica (estiércol, residuos agrícolas, lodos de aguas residuales, residuos urbanos sólidos o líquidos, residuos de la industria alimentaria) se descompone en biogás mediante grupos de microorganismos en ausencia de oxígeno (Cerdá, 2012).

3.3.4. Técnicas de cuantificación de biomasa

Ahora bien, para poder determinar el rendimiento de la biomasa obtenida, existen varios métodos que se pueden optar, que varían desde análisis gravimétricos de bajo costo como Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) o Sólidos Suspendidos Totales (SST), hasta técnicas analíticas complejas como lo es la Espectrofotometría.

La espectrofotometría es uno de los métodos de análisis más usados, y se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Dependiendo del compuesto y el tipo de absorción a medir, la muestra puede estar en fase líquida, sólida o gaseosa. En las regiones visibles y ultravioleta del espectro electromagnético, la muestra es generalmente disuelta para formar una solución.

Un espectrofotómetro es un instrumento usado en la física óptica que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones. También es utilizado en los laboratorios de química para la cuantificación de sustancias y microorganismos.

El fundamento de la espectroscopía se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas.

Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida. El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbida. Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe radiación de longitudes de ondas que no pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo. La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida. El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbidas.

Según Diaz, y otro (2010) la espectrofotometría ultravioleta-visible usa haces de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 700 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar los materiales en la región ultravioleta y visible del espectro. Al campo de luz UV de 200 a 400 nm se le conoce también como rango de UV cercano, la espectrofotometría visible solamente usa el rango del campo electromagnético de la luz visible, de 400 a 700 nm. Además, no está de más mencionar el hecho de que la absorción y transmitancia de luz depende tanto de la cantidad de la concentración como de la distancia recorrida.

Antes de abordar los conceptos de absorbancia y transmitancia se debe mencionar primero que, cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad I_0 incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y la dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumple la siguiente ecuación:

$$I_0 = I_a + I_t \quad (1)$$

Ahora, la transmitancia de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t , y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_0 , y se representa normalmente en términos de porcentaje. La transmitancia es una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre %T y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa.

$$\%T = \frac{I_t}{I_0} * 100 \quad (2)$$

La absorbancia es un concepto más relacionado con la muestra puesto que indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo inverso de la transmitancia. Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_0 = I_t$), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces la absorbancia equivale a 0.

$$A = \log\left(\frac{1}{t}\right) = -\log(T) = -\log\left(\frac{I_t}{I_0}\right) \quad (3)$$

La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a la solución del cromóforo y la concentración de este.

Por su parte, Skoog, Holler, y Crouch (2008), establece que la transmitancia y absorbancia experimentales que se aproximan de manera notable a la transmitancia y absorbancia verdaderas se obtienen mediante las ecuaciones 4 y 5.

$$T = \frac{P_{\text{solución}}}{P_{\text{solvente}}} \approx \frac{P}{P_0} \quad (4)$$

$$A = \log\left(\frac{P_{\text{solución}}}{P_{\text{solvente}}}\right) \approx \log\left(\frac{P}{P_0}\right) \quad (5)$$

Los términos P_0 y P se refieren a la intensidad de la luz incidente de la luz transmitida, respectivamente.

Por otra parte, Diaz, y otros (2010) también señala que el método espectrofotométrico se rige por dos leyes fundamentales: Ley de Beer y Ley de Lambert. La ley de Lambert establece que cuando pasa luz monocromática por un medio homogéneo la disminución de la intensidad de la luz incidente es proporcional a espesor del medio, lo que equivale a decir que la intensidad de la luz transmitida disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente el espesor del medio absorbente. La relación matemática descrita es la que se muestra en la ecuación 6.

$$\frac{P}{P_0} = -e^{kb} \quad (6)$$

Donde k es una constante cuyo valor depende de la naturaleza del soluto, de la longitud de onda de la luz incidente, del espesor del medio absorbente y de la naturaleza del medio, y b es el espesor del medio absorbente.

Por su parte, la Ley de Beer establece que la intensidad de un haz de luz monocromática disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente la

concentración de la sustancia absorbente, cuando este haz de luz pasa a través de un medio homogéneo. La relación matemática que da cuenta de esta ley se muestra en la ecuación 7.

$$\frac{P}{P_0} = -e^{kc} \quad (7)$$

Donde c es la concentración de la solución. Ambas leyes se combinan en una sola generando la famosa Ley de Beer-Lambert:

$$\log \left(\frac{P}{P_0} \right) = abc = A \quad (8)$$

Donde a equivale a la absorptividad, b equivale a la longitud o espesor del medio (longitud de la celda o cubeta) y c equivale a la concentración de la solución.

Ahora bien, a la hora de realizar mediciones de transmitancia y absorbancia, estas se hacen por comparación entre la muestra problema y un estándar arbitrario de referencia. Como la referencia debe poseer un porcentaje de transmitancia de 100% esta muestra es llamada referencia de absorbancia 0.

De acuerdo a lo señalado por Skoog, Holler, y Crouch (2008) para seleccionar la longitud de onda de trabajo esta corresponde generalmente a la longitud de onda en la cual la absorbancia del analito (sustancia a analizar) es máxima, y recibe la denominación de Lambda máximo (λ_{max}). Para seleccionar el λ_{max} , se hace un espectro de absorción o curva espectral, que consiste en una gráfica de la absorbancia de una solución de la sustancia absorbente de concentración adecuada, medida a distintas longitudes de onda y en ella se determina el λ_{max} . Las mediciones de absorbancia se hacen en la zona de longitudes de onda donde se espera que absorba la sustancia problema. Si se trata de sustancias coloreadas, las mediciones se realizan en la zona visible del espectro electromagnético (380 a 800nm). En el caso de sustancias no coloreadas, las mediciones se realizan en la región ultravioleta del espectro electromagnético (200 a 380nm).

Uno de los métodos más utilizados para determinar la concentración de una muestra problema es el método de la curva de calibración. Esta curva de calibración es una gráfica que relaciona la concentración de al menos cinco soluciones estándar de concentraciones conocidas, con la absorbancia de cada uno de ellos a la longitud de onda máxima (λ_{max}). Una vez obtenida la gráfica se determina la función matemática que presenta dicha recta a través del tratamiento estadístico de regresión de los mínimos cuadrados, la cual relaciona la absorbancia y la concentración de un analito. La ecuación matemática 9 que se presenta a continuación corresponde a dicha función:

$$A = mc + n \quad (9)$$

Donde A es la absorbancia, m la pendiente de la recta y que corresponde al producto entre la absorptividad a de la muestra y el espesor b de la celda o cubeta, y n el intercepto de la recta. Luego se mide la absorbancia de la solución problema y se interpola su valor en la gráfica o se reemplaza en la ecuación, para obtener el valor de concentración del analito. La concentración de la solución problema debe estar comprendida en el rango de concentración que comprende la curva de calibración. Si la concentración de la solución problema es menor que la concentración del estándar más diluido, debe usarse el método de adición estándar, que consiste en adicionar un volumen determinado de un estándar concentrado a la solución problema, antes de realizar la lectura y que permite que esta lectura este dentro de las obtenidas para la curva de calibración. En el caso contrario, si la concentración del analito es mayor que la concentración del estándar más concentrado la solución problema deberá ser diluida.

Al hacer la curva de calibración, se debe emplear la longitud de onda de máxima absorbancia (λ_{max}), para obtener una recta con la máxima pendiente y así tener mayor sensibilidad y precisión al hacer las mediciones. La medición de la absorbancia de la solución problema debe hacerse a la misma longitud de onda que fue hecha la curva de calibración (Skoog, Holler, y Crouch, 2008).

3.3.5. Importancia de la biomasa en el contexto actual

En cuanto a los usos de la energía producida con biomasa, estos pueden ser para calefacción, refrigeración y producción de agua caliente en el sector doméstico, calor para procesos industriales y generación de electricidad. En resumen, todo el conjunto de fuentes energéticas que comprende la biomasa puede tener tanto aplicaciones térmicas como eléctricas.

La energía producida a partir de la biomasa es diversa y sus impactos se generan de acuerdo al sitio específico en que se emplace el proyecto. Las materias primas pueden ser cultivadas o subproductos, puede ser leñosa o herbácea, cultivos de azúcar o estiércol y pueden ser tratadas para producir combustibles sólidos, líquidos o gaseosos. Estos a su vez pueden ser utilizados de diversas maneras para la generación de calor y electricidad o en el transporte.

Muchas organizaciones y entidades en todo el mundo prevén que la producción de energía mediante biomasa juega un papel importante en una matriz de energías sostenibles para el futuro. Países como Austria, Brasil, Dinamarca, Finlandia, Suecia, India, Estados Unidos y el Reino Unido están promoviendo el uso activo de biomasa para la energía y el impulso del desarrollo de los conocimientos y la tecnología necesarios para los sistemas de energía de biomasa avanzados. Existe un consenso creciente de que la energía renovable debe desplazar progresivamente el uso de combustibles fósiles, con los temores del cambio climático global añadiendo urgencia a esta necesidad (Cerdá, 2012).

3.4. Fotobioreactores

3.4.1. Definición

Un fotobiorreactor (FBR) puede ser definido como un sistema de cultivo de organismos fotótrofos en el que una gran proporción de la luz no invade directamente la superficie del cultivo, sino que pasa a través de una pared transparente antes de alcanzar las células cultivadas. Consecuentemente, un FBR no permite, o limita fuertemente, el intercambio directo de gases y contaminantes (polvo, microorganismos, etc.) entre el cultivo y la atmósfera (Barra, 2010).

3.4.2. Tipos

Los FBR poder ser clasificados de acuerdo a su diseño y modo de operación. A continuación, se describen los principales tipos de FBR.

- Fotobioreactores tubulares

Existen tres tipos principales de FBR tubulares: en serpentina, con colector (manifold) y helicoidales.

Los FBR en serpentina son sistemas en los que vario tubos transparentes son conectados en serie para formar un lazo plano arreglado en forma vertical u horizontal (llamado foto plataforma). El intercambio de gases y la adición de nutrientes generalmente se realizan en un tanque separado. La circulación en la foto plataforma se logra por medio de una bomba o de un sistema de tubo con línea de aire (airlift). A parte de su alto costo, las principales desventajas de este tipo de sistema son la dificultad para controlar la temperatura del cultivo, limpiar los tubos transparentes y reducir la acumulación del oxígeno disuelto que se conoce que es un factor limitante del crecimiento del cultivo.

Los FBR con colector son una variante en la que vario tubos transparentes son conectados en paralelo a un distribuidor (manifold) al inicio y al final del circuito, uno para la distribución y otro para la recolección del cultivo. Tienen las mismas desventajas de los FBR en serpentina.

Los FBR helicoidales tal como el que se aprecia en la Figura 6 estos consisten de tubos de diámetro pequeño, generalmente flexibles, que se envuelven en un cilindro vertical. Igual que en los dos sistemas anteriores, la circulación del cultivo se logra por medio de una bomba o un tubo con línea de aire que envía el cultivo al circuito.



Figura 6. Fotobiorreactor Helicoidal

Fuente: Barra (2010)

- Fotobiorreactores planos

Los FBR planos han sido muy utilizados para producir organismos fototróficos en laboratorio debido a que facilitan la medición de la irradiancia en la superficie del cultivo. Pese a su aparente simplicidad, pocos de estos sistemas han sido utilizados en el cultivo industrial de algas debido al alto costo de los materiales transparentes comercialmente disponibles, tales como vidrio, láminas de PVC transparente o de poli carbonato y también debido a la laboriosidad de su operación (Figura 7).



Figura 7. Fotobiorreactor plano

Fuente: Barra (2010)

- Cilindros verticales y fundas

Los reactores tubulares verticales (o reactores de columna) son sistemas simples en los que la mezcla se logra con inyección de aire. Generalmente tienen el fondo en forma de cono para evitar la sedimentación de las algas. En ocasiones cuentan con un tubo interior que reduce el volumen que no recibe luz en el interior del cilindro.

Las columnas verticales rígidas son ampliamente utilizadas en los laboratorios de producción de biomasa de algas destinadas a la alimentación de estadios larvales del camarón, bivalvos y peces. La mayoría de estos sistemas son elaborados con láminas de fibra de vidrio transparente. El aire se inyecta en el fondo del cilindro y la luz puede ser natural o artificial. Un reactor vertical puede ser fácilmente construido con un trozo de manga plástica de polietileno transparente cerrada en uno de sus extremos.

Este reactor de columna o funda puede ser suspendido en un soporte adecuado. Las fundas tienen una vida útil relativamente corta debido a la acumulación de microorganismos indeseados, pero son relativamente baratas de reemplazar (Figura 8).

La principal desventaja de este tipo de sistema es la laboriosidad del manejo en grandes volúmenes y la relativamente baja relación de superficies por volumen.



Figura 8. Fotobiorreactor de columnas verticales y Fotobiorreactores verticales elaborados en funda

Fuente: Barra (2010)

- Fotobioreactores axénicos

De acuerdo a lo señalado por Barra (2010) se han desarrollado reactores tubulares de vidrio para el cultivo axénico de microalgas. En este tipo de sistemas el reactor puede ser esterilizado con vapor y la circulación se logra con una bomba centrífuga. El intercambio de gases se hace en un intercambiador externo en la cual se inyecta una mezcla de CO₂ y aire. Los problemas que tiene este tipo de sistema son la ruptura celular causada por la bomba, la formación de espuma y la adhesión de las células a las paredes del reactor.

Por su alto costo, dificultad para escalar el cultivo y su complicada operación, evidentemente, este tipo de reactores solo sirve para fines investigativos.

3.4.3. Criterios de diseño

Según Barra (2010) técnicamente, los criterios de diseño de los FBR deben apuntar a lograr alta productividad volumétrica y una eficiente conversión de la energía luminosa y, al mismo tiempo, brindar la fiabilidad y estabilidad necesaria para el proceso de cultivo.

Un FBR eficiente no puede estar apropiadamente diseñado sin el adecuado conocimiento de la fisiología del cultivo en masa del organismo que va a ser cultivado. Debido a que los microorganismos fototróficos son altamente diversos en su morfología, requerimientos nutricionales y de luz, y resistencia al estrés, los FBR no pueden ser diseñados para manejar a todos los organismos y todas las condiciones. Los principales criterios de diseño incluyen: el radio superficie por volumen, la orientación e inclinación, la mezcla y los dispositivos de descarga de gases, los sistemas de limpieza y regulación de temperatura, y la transparencia y durabilidad del material de construcción. La facilidad para operar y escalar el cultivo, y un bajo costo de construcción y operación también tienen una particular relevancia en los FBR industriales.

- Radio superficie por volumen (s/v)

El radio entre la superficie iluminada de un reactor y su volumen (s/v) determina la cantidad de luz que entra en el sistema por cada unidad de volumen. Generalmente, a mayor radio s/v, es mayor la concentración celular a la que puede ser operado el reactor y es mayor la productividad volumétrica del cultivo. El radio s/v también influye en la productividad de la superficie iluminada, existe un s/v óptimo (o patrón de luz) en el cual se obtiene la máxima productividad por unidad de superficie iluminada. Las altas concentraciones celulares reducen el costo de la cosecha, así como también el costo del medio de cultivo y del manejo del cultivo. Por estas razones, generalmente se prefiere un FBR con un alto s/v, pero se debe enfatizar que al hacerlos en escala industrial pueden convertirse en sistemas altamente ineficientes. En los FBR de alto s/v las actividades volumétricas, tales como evolución del oxígeno, absorción del CO₂, depleción de nutrientes y excreción de

metabolitos, cambian con una tasa más alta y pueden tener efectos negativos a largo plazo en la estabilidad del cultivo.

- Orientación e inclinación

Contrario a los sistemas horizontales, los FBR elevados pueden ser orientados e inclinados hacia el sol en varios ángulos y esto ofrecen la posibilidad de variar a irradiancia en la superficie del reactor. El efecto de la inclinación del FBR en la productividad, ha sido investigado por diversos autores; mientras que no se encontró que exista una gran influencia del ángulo de inclinación en reactores ubicados en dirección este-oeste en bajas latitudes, se ha demostrado que el ángulo de inclinación si ejerce un efecto significativo en la productividad y las latitudes. Generalmente los sistemas orientados al sol logran mayor productividad volumétrica.

- Acumulación de oxígeno

La acumulación del oxígeno generado por la fotosíntesis es uno de los principales factores que limitan la escalada de los FBR en serpentina. La producción de oxígeno está directamente correlacionada con la productividad volumétrica, y concentraciones de oxígeno disuelto equivalente a 4 o 5 veces el nivel de saturación con respecto al aire, que pueden ser tóxicas para muchos fotótrofos, pueden ser alcanzadas fácilmente en los cultivos externos, especialmente en tubos de diámetro reducido (con alto s/v). En las máximas tasas de fotosíntesis, un reactor de 1cm de diámetro acumula unos 8-10 mg/l de oxígeno por minuto. En reactores en serpentina, el mantener niveles de oxígeno bajo la concentración tóxica requiere del desalojo frecuente de gases, y, por tanto, la adopción de recorridos muy cortos o altas tasas de flujo, haciendo difícil el diseño de un reactor grande. Los sistemas en manifold y los reactores verticales (columnas o paneles planos) mezclados por burbujeo de aire ofrecen una importante ventaja en ese aspecto.

- Mezcla

El tipo de dispositivo utilizado para mezclar y recircular el cultivo es esencial en el diseño de un FBR. La mezcla es necesaria para prevenir la sedimentación de las células, evitar la estratificación térmica, distribuir los nutrientes, remover el oxígeno generado por la fotosíntesis y asegurar que las células experimenten adecuados periodos de luz y oscuridad. El tipo de mezcla y la dinámica de fluido del cultivo influyen en la irradiancia promedio y régimen de luz al que las células están expuestas, actores clave que influyen en la productividad. Típicamente, los reactores en serpentina son recirculados con una tasa de flujo entre 20 y 30 cm/s. La velocidad controla la turbulencia en el tubo y la capacidad de transferencia de masa, lo que influye en gran manera en la concentración del oxígeno del cultivo y en el abastecimiento de CO₂. La elección del dispositivo de mezcla y la intensidad del mezclado deberían ser determinadas por las características del organismo a ser cultivado. Generalmente, los cultivos de cianobacterias filamentosas y

dinoflageladas no pueden ser mezclados con bombas debido a que su estructura celular es delicada. En ocasiones el burbujeo de aire puede causar algo de estrés a las células en el punto donde las burbujas se rompen. Las columnas de burbujas y los sistemas de tubo con línea de aire causan bajos niveles de estrés y están recomendados para organismos frágiles.

- Control de temperatura

La máxima productividad solo se puede lograr en la temperatura óptima de crecimiento. Mientras que los tanques abiertos están limitados por bajas temperaturas en la mañana, los FBR generalmente requieren enfriamiento durante el medio día. El sombreado, la inmersión en baños de agua y el rociado de agua son las soluciones más comunes para evitar el sobre calentamiento de los FBR externos. El sombreado, para ser efectivo, requiere que una gran porción del reactor (mayor al 80%) sea cubierta durante las horas de máxima insolación, lo cual causa una significativa reducción en la productividad. El enfriamiento por inmersión en baño de agua es eficiente, pero su costo-efectividad es dudoso. El enfriamiento con rociado de agua puede ser una alternativa viable. Consideraciones económicas favorecen el enfriamiento evaporativo con el uso de intercambiadores de calor.

- Abastecimiento de dióxido de carbono

El carbón es el mayor componente del costo de producción de las microalgas. El abastecimiento de dióxido de carbono en suspensiones poco profundas no es tarea fácil porque el tiempo de residencia de las burbujas es insuficiente para completar la absorción, resultando en grandes pérdidas de CO₂ a la atmósfera. Inyectando el CO₂ en burbujas diminuta desde el fondo de una columna se puede incrementar la eficiencia de uso del CO₂ a más del 70%.

- Materiales

Un criterio fundamental en el diseño de un FBR sustentable es la elección del material utilizado en la construcción de la foto plataforma. Los materiales utilizados en FBR no deben ser tóxicos, deben tener una alta transparencia, alta resistencia mecánica, alta durabilidad (y resistencia a los factores ambientales), estabilidad química y bajo costo. La facilidad de limpieza es otra característica operacional importante (Barra, 2010).

3.4.4. Productividad

Según Barra (2010) hay tres parámetros comúnmente utilizados para evaluar la productividad en los fotobioreactores. El primero es la productividad volumétrica (PV), que es la productividad por unidad de volumen del reactor (expresada como g/L/d), la segunda es la productividad por área (PA), que es la productividad por unidad de suelo ocupado por el reactor (expresada como g/m²/d); la tercera es la productividad del área iluminada (PAI), que es la productividad por unidad de área

de reactor iluminada (expresada como $\text{g/m}^2/\text{d}$). Se debe notar que en los sistemas verticales la superficie iluminada comprende la superficie que recibe la radiación directa y la superficie de atrás que recibe la radiación difusa y reflejada.

La PV es un parámetro clave que ilustra cuan eficiente es utilizada la unidad de volumen del reactor. Sin embargo, se debería mantener en mente que la PV es una función del número de fotones que entran en una unidad de volumen del reactor en unidad de tiempo; y, por lo tanto, depende de la s/v del reactor. A mayor radio s/v, mayor la PV. También se debe estar consciente de que reactores con alto s/v pueden lograr altas PV y que una PV de 1 g/L/d tiene un significado completamente diferente al ser obtenido en un reactor de foto capa de 1cm y otro de 5cm . Se debe tener cuidado al discernir entre PA y PAI.

En el caso de tanques y reactores horizontales o casi horizontales, la superficie de suelo ocupa por el sistema y su superficie iluminada coinciden substancialmente, y por lo tanto lo han la PA y la PAI. En el caso de los reactores tubulares con tubos en contacto, la superficie iluminada es 1.57 veces la superficie ocupada, entonces la PAI va a ser siempre menor que la PA y ambos parámetros pueden ser calculados fácilmente. En el caso de los reactores tubulares con espacio entre los tubos y sistemas muy inclinados o verticales, la situación es más compleja. Por ejemplo, en reactores horizontales en serpentina es difícil decidir como computar el espacio entre los tubos, Las características de los sistemas elevados pueden ser más difíciles de evaluar, a menos que se introduzcan un cuarto parámetro para la medición de la productividad: la productividad por área general.

Puede que, aun cuando los tres parámetros definidos anteriormente (PV, PA y PAI) son suministrados, no se logra una completa evaluación del rendimiento de un reactor en términos de productividad. Esto es particularmente cierto en el caso de los fotobioreactores elevados (por ejemplo, los reactores que están dispuestos en ángulo con la horizontal). Para apreciar completamente el rendimiento de un FBR elevado, se necesita un cuarto parámetro: la productividad obtenida de la totalidad (incluyendo espacios vacíos) de suelo ocupado por los reactores que constituyen la planta. Esta producción se indica como productividad por área general o PAG (expresada en $\text{g/m}^2/\text{d}$). PAG es un método satisfactorio para evaluar la productividad y tiene un gran significado para extrapolar y permitir la comparación entre diferentes tipos de reactores, y entre reactores y tanques.

Comúnmente, PV y PAI son calculados de los datos obtenidos de la operación de un reactor individual o de unas pocas unidades. A veces PA se obtiene, pero PA de los reactores elevados es un parámetro insignificante y debe ser evitado. En realidad, un reactor muy inclinado o vertical intercepta mucho mayor cantidad de radiación de la que incide en la superficie de terreno que ocupa el reactor (por ejemplo, la protección horizontal del sistema en la tierra), y expresar la productividad de sistemas elevados en términos de PA puede llevar a una figura muy poco realista.

Hay casos en los que la extrapolación de una unidad individual es el objetivo final. Por ejemplo, un FBR individual puede satisfacer completamente la necesidad de microalgas en un desovadero. PV y PAI describen correctamente el rendimiento del reactor en este caso; aunque la productividad por reactor y el costo de producción de biomasa pueden tener una gran importancia. Cuando, por el contrario, se experimenta con una unidad individual para obtener datos que permitan extrapolar el sistema por la disposición de un número de unidades, la productividad calculada en uno de los reactores tiene un uso limitado porque la producción total va a ser muy influenciada por el modo (esencialmente la distancia) de colocar las unidades en el terreno. En este caso, para evaluar apropiadamente la productividad de un sistema muy inclinado o vertical, debe ser colocado y operado un número adecuado de unidades, y la PAG debe ser computada en base a toda el área ocupada por los reactores (incluyendo los espacios vacíos).

Si es que en la ubicación final los reactores están muy separados, su PV y PAI será alta, y no muy lejos de los valores observados en la experimentación con una unidad individual. Sin embargo, con este tipo de ajustes, la PAG va a ser menor debido al espacio libre no productivo entre los sistemas. Si los reactores están ubicados a una distancia corta, puede haber sombreado mutuo, y PV y PAI van a ser reducidos generalmente en una relación inversa con la distancia; PAG por el contrario se va a incrementar. La estrategia a ser elegida depende de muchos factores, entre los que el costo de la tierra y del reactor son los más importantes.

El rendimiento de un FBR también puede ser evaluado por un análisis económico del costo de producción de la biomasa del sistema considerado. Sin embargo, este tipo de evaluación no es válido en todas las situaciones, debido a que el costo de producción de la biomasa puede variar mucho de un lugar a otro y con diferentes tipos de algas. Por ejemplo, algunos factores de costo que tiene un gran impacto en el costo final de la biomasa (por ejemplo, el costo de la mano de obra) cambian considerablemente de un sitio a otro.

En cuanto a la valoración de los fotobioreactores versus sistemas abiertos, hay que considerar distintos factores. Además de la superficie expuesta, la mayor desventaja de los tanques abiertos es el hecho de que, por razones prácticas, en el nivel del agua no puede ser mantenido a menos de 15cm (por ejemplo, a 150 L/m²). La cantidad óptima de cultivo productor está generalmente por debajo de los 100g/m², por lo tanto, la concentración celular del cultivo en un tanque debe ser mantenida alrededor de los 0.65 g/L o menos. Esta dilución hace que el cultivo sea más susceptible a la contaminación por otras algas de rápido crecimiento, bacterias y protozoos. Los FBR tienen mayores radios s/v (típicamente de 20 a 200 m⁻¹L) que en los tanques abiertos (de 5 a 10 m⁻¹) y pueden sustentar concentraciones mucho más altas. La mayor densidad poblacional, junto con un ambiente más protegido y un mejor control de los parámetros de crecimiento (pH, oxígeno, CO₂ y temperatura), hace que los reactores estén más protegidos contra la invasión de microorganismos competidores.

La comparación entre los rendimientos de tanques abiertos y FBR no es fácil, debido a que la evaluación depende de varios factores, entre los cuales la especie de alga cultivada y el método adoptado para computar la productividad son los más importantes.

La *Spirulina* (*A. platensis*) es una cianobacteria muy conocida que requiere un medio de cultivo específico y selectivo, por lo que puede crecer en tanques abiertos de gran escala. Cuando *A. platensis* fue cultivada en paralelo en tanques abiertos y en un reactor tubular en serpentina, el cultivo del reactor cerrado logró en un cálculo anual una productividad por área (PA) 50-65% más alta que la de los tanques abiertos. La razón de esta diferencia fue que en los reactores la mejor temperatura diurna permitió altas producciones diarias, en un período de cultivo extendido. En Julio, cuando la productividad media de 15g/m²/d fue sostenida en los tanques, la productividad media en el reactor tubular fue de 25g/m²/d. El ambiente cerrado, el alto grado de control de los parámetros de cultivo, y la alta concentración celular que se puede alcanzar en los FBR, efectivamente protege el cultivo de la contaminación y hace más fácil su manejo (Barra, 2010).

3.5. Efecto del Sustrato y Fotoperíodo en el cultivo de Spirulina

El sustrato es el que proporciona los nutrientes y condiciones necesarias para el crecimiento de *Spirulina*, ya que de su composición depende la disponibilidad de elementos esenciales como carbono, nitrógeno, fósforo y minerales traza. Un sustrato adecuado permite el desarrollo óptimo de la microalga, favoreciendo la actividad fotosintética, la síntesis de proteínas y pigmentos, así como la producción de biomasa. Por el contrario, un sustrato deficiente o desequilibrado puede limitar la absorción de nutrientes, alterar el pH del medio y reducir significativamente la velocidad de crecimiento (Becker, 2007).

El tipo y la calidad del sustrato también influyen en la composición bioquímica de la *Spirulina*. Factores como la concentración de nutrientes, la presencia de sales y la estabilidad química determinan la proporción de proteínas, lípidos y carbohidratos en la biomasa final. Además, los cambios en el sustrato pueden generar estrés fisiológico que afecta la morfología celular y la eficiencia fotosintética. En conjunto, el sustrato actúa como el principal modulador del metabolismo de *Spirulina*, siendo clave para alcanzar un crecimiento sostenido y una biomasa de alta calidad (Becker, 2007).

Según Richmond (2004), existe una relación bastante fuerte entre la luz y el medio de cultivo para el crecimiento microalgal. La productividad máxima de cultivo será obtenida solo cuando los requerimientos nutricionales del cultivo son satisfechos y la temperatura es óptima.

Si todas las condiciones de crecimiento son óptimas y el cultivo es óptimamente delgado, es decir, tiene baja densidad celular, la intensidad de la fuente de luz es realmente el único determinante de la disponibilidad de luz que reciben las células

y, por consiguiente, el único factor que controla el crecimiento. Bajo estas condiciones, el efecto de la intensidad de la fuente de luz en la fotosíntesis y crecimiento algal se ve representado por la curva de respuesta que se muestra en la Figura 9.

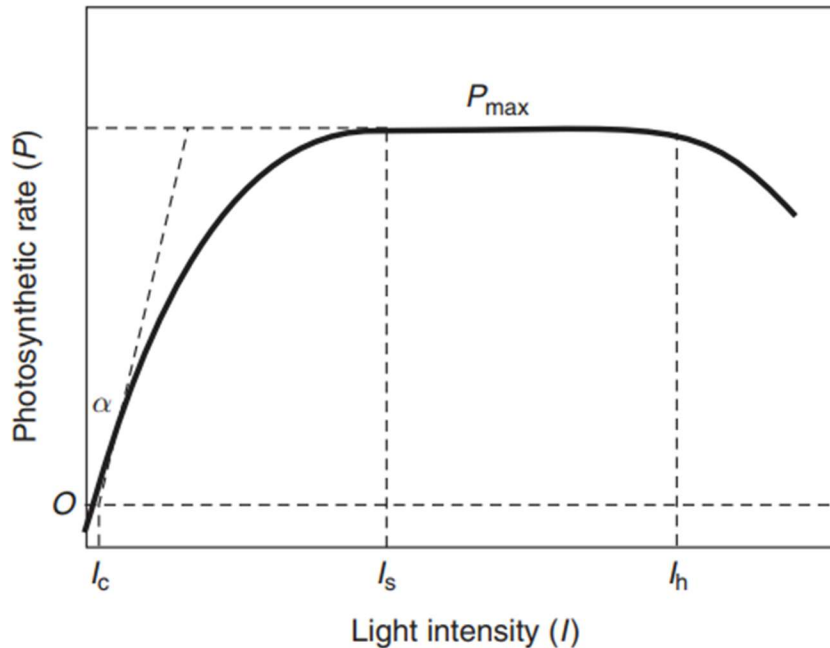


Figura 9. Curva de fotorespuesta de la fotosíntesis (curva P)

Fuente: Richmond (2004).

La intercepción en el eje vertical es la medida del consumo de O_2 debido a una respiración oscura, I_c es el punto de compensación de la luz, I_s es la intensidad de saturación de luz y I_h es el valor de la intensidad de la luz en el cual ocurre la fotoinhibición (Richmond, 2004).

Tomando en cuenta lo anterior, los períodos de luz/oscuridad se ajustan para el cultivo de cada especie en particular. La introducción de un ciclo celular es importante debido a lo anteriormente mencionado en cuanto a su papel como factor cíclico ambiental fundamental en la mayoría de los sistemas. En la luz continua y en períodos de luz/oscuridad, proporcionando la misma cantidad de luz por día, si bien para una temperatura dada el crecimiento es proporcional a la cantidad de luz recibida, se obtienen mayores tasas de crecimiento en el régimen luz/oscuridad. La cantidad de luz proporcionada se puede calcular por medio de la ecuación 10.

$$\text{cantidad de luz} = \text{intensidad de luz} * \text{tiempo} \quad (10)$$

3.6. Descripción de la Cinética de Crecimiento de *A. platensis*

Según Cruz (2018) el crecimiento de *Spirulina* spp. en un cultivo por lotes es la base que tomamos para la implementación de las variables. La cinética de crecimiento se desarrolla bajo condiciones preestablecidas por cada investigador o productor, considerando las siguientes fases de desarrollo:

- Fase de adaptación
- Fase de crecimiento exponencial
- Fase estacionaria
- Fase de muerte

En la primera etapa, fase de adaptación, como su nombre lo indica, la *Spirulina* en el cultivo se aclimata, siendo su velocidad de crecimiento muy baja mientras se adecua con el tiempo a las condiciones, aumentando lentamente su tasa de crecimiento con el transcurrir del tiempo y la capacidad de adaptación. En la fase exponencial, la luz no es una condicionante, puesto que una vez aclimatada a las circunstancias del crecimiento, seguirá un aumento en la biomasa del cultivo. En un medio sin limitantes de nutrientes y de luz, el crecimiento estará dado en forma exponencial, la cantidad y/o volumen del cultivo, el incremento de la biomasa inicial (denominada como número de células, peso seco, etc.) por unidad de tiempo, aumentará proporcionalmente, dando como resultado un crecimiento exponencial.

En la fase estacionaria, esta se caracteriza por una reducción en la velocidad de crecimiento, las concentraciones de luz disminuyen y la respiración se incrementa. La oxidación metabólica de los compuestos del medio de cultivo disminuye la densidad de la biomasa. Es así que se logra el valor máximo de concentración, se establece un equilibrio entre la mayor cantidad de biomasa y la disminución por la asimilación metabólica.

En la fase de muerte, la última, está determinada por los procesos de descomposición, en el que las células mueren, y se libera materia orgánica, es ocasionado por los desajustes de los factores fisicoquímicos en las condiciones del cultivo: luz, oxígeno, pH, nutrientes, contaminantes, etc.

El cálculo de la densidad para el conteo de las células, es determinada por espectrofotometría, el método que más se utiliza para realizar una estimación de su concentración. La exactitud de esta metodología es alta y confiable, siempre y cuando se tenga en cuenta elementos como: tamaño celular, forma y presencia de precipitados. La lectura para cultivos de *Spirulina* spp. se lleva a cabo a una longitud de onda de 560nm (Cruz, 2018).

3.7. Estimación de la Productividad y Tiempo de Máximo Crecimiento de *A. platensis*

El tiempo máximo de crecimiento de la *A. platensis* se obtiene como resultado de la modificación de las variables involucradas en el proceso de crecimiento, siendo determinantes de acuerdo a antecedentes bibliográficos el pH del medio de cultivo empleado y el tiempo e intensidad de exposición a la luz del cultivo.

Se ha demostrado que en condiciones de pH alcalino cercanas a 8 y empleando tiempos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad el cultivo completa su fase de adaptación en un promedio de 12h a 15 h, concluyendo el crecimiento de la microalga al completar sus 5 fases en un tiempo de 21 a 23 días, lo antes mencionado teniendo en cuenta la intensidad de la luz a la cual es expuesto el experimento para evitar la fotooxidación si es una intensidad excesiva y a su vez bajos niveles que limiten el crecimiento de la microalga.

3.8. Cinética de crecimiento con el modelo de Monod

El modelo de Monod propuesto por Jacques Monod en 1942 describe la relación que existe entre el crecimiento de microorganismos en un cultivo por lotes y la utilización del sustrato limitativo del crecimiento en aquellos sistemas donde prácticamente todo el sustrato es transformado en biomasa, la ecuación 11 describe el modelo de Monod.

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max} [S]}{K_s + [S]} \quad (11)$$

Donde X : concentración de biomasa, (g células secas). Litro⁻¹; $\mu_{\max}$ velocidad específica máxima de crecimiento, (hora)⁻¹; K_s : constante de saturación, g* Litro⁻¹; $[S]$: concentración del sustrato correspondiente a una velocidad específica de crecimiento igual a $\frac{\mu_{\max}}{2}$.

Para lograr una aplicación válida de este método es importante considerar ciertas suposiciones tales como: la población celular está distribuida uniformemente, la suspensión de células es homogénea, se ignora la naturaleza heterogénea de las células y la concentración celular se expresa como masa de células secas por unidad de volumen.

El medio se formula de manera que solo un componente sea limitante de la velocidad de reacción. Los demás componentes están presentes en concentraciones lo suficientemente altas para evitar el efecto de cambios pequeños sobre la velocidad de reacción.

El bioreactor se controla para garantizar un nivel constante de condiciones ambientales tales como pH, temperatura y concentración de oxígeno disuelto (Duarte, 1996).

En términos generales, el modelo de Monod se plantea en la ecuación diferencial 12.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (12)$$

Sin embargo, esta solo sirve para explicar el crecimiento de la biomasa en fase exponencial. En casos donde el crecimiento en el tiempo llega a un valor límite debido a la reducción del sustrato con el tiempo, como es el caso de bioreactores batch considerados en este estudio, se suele utilizar un modelo logístico, el cual proviene de la ecuación diferencial 13.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \left[1 - \frac{X}{X_{\max}} \right] \quad (13)$$

La cual conlleva a la ecuación 14:

$$X(t) = X_0 + \frac{X_{\max}}{1 + e^{-\mu(t-t_{\exp})}} \quad (14)$$

Donde, X_0 es la concentración de inóculo inicial, μ es la tasa específica de crecimiento, X la concentración de biomasa, $X_{\max}$ la máxima capacidad de generación de biomasa y $t_{\exp}$ es el tiempo en el cual ocurre la mayor rapidez de crecimiento del microorganismo, en la fase exponencial.

En caso de observar más de un periodo de crecimiento, se pueden extender la ecuación logística a los modelos, ver ecuaciones 15 y 16:

$$X(t) = X_0 + \frac{X_{\max1}}{1 + e^{-\mu_1(t-t_{\exp1})}} + \frac{X_{\max2}}{1 + e^{-\mu_2(t-t_{\exp2})}} \quad (15)$$

Para dos periodos, o bien, en el caso de 3 periodos de crecimiento:

$$X(t) = X_0 + \frac{X_{\max1}}{1 + e^{-\mu_1(t-t_{\exp1})}} + \frac{X_{\max2}}{1 + e^{-\mu_2(t-t_{\exp2})}} + \frac{X_{\max3}}{1 + e^{-\mu_3(t-t_{\exp3})}} \quad (16)$$

En este caso, μ_1 , μ_2 , μ_3 son las tasas de específicas de crecimiento del microorganismo para cada periodo; $X_{\max1}$, $X_{\max2}$ y $X_{\max3}$ son la máxima capacidad de crecimiento en cada periodo; $t_{\exp1}$, $t_{\exp2}$ y $t_{\exp3}$ los tiempos donde el

microorganismo exhibe la mayor rapidez de crecimiento para cada periodo, respectivamente.

Las ecuaciones 14 a 16 se emplearán para describir la cinética de crecimiento de *Spirulina* en los fotobioreactores, según el comportamiento cinético que exhiban, asegurando un buen ajuste (R^2) y la correcta descripción del comportamiento.

Para el caso en que la cinética exhiba más de un periodo de crecimiento, para efectos comparativos se usarán los siguientes parámetros calculados con las ecuaciones 17, 18 y 19:

$$X_{max\ total} = \sum_i^n X_{max_i} \quad (17)$$

$$t_{efectivo} = \sum_i^n \frac{\ln(81)}{\mu_i} \quad (18)$$

$$\mu_{promedio} = \frac{n \ln(81)}{t_{efectivo}} \quad (19)$$

Donde i representa el periodo de crecimiento, n , el número de periodos de crecimiento observados en la cinética, $X_{max\ total}$ la biomasa máxima que se alcanzaría en el tratamiento, $t_{efectivo}$, el tiempo efectivo de crecimiento; es decir, cuánto tiempo en total el microorganismo estuvo en fase de crecimiento y $\mu_{promedio}$ la tasa de crecimiento promedio del tratamiento.

Una $\mu_{promedio}$ mayor implicaría que la microalga tuvo mayor tasa de crecimiento total; mayor $X_{max\ total}$ que se alcanzaría potencialmente más biomasa en el bioreactor, y mayor $t_{efectivo}$ implicaría que el microorganismo duró más días en crecimiento.

IV. HIPÓTESIS

Para el presente estudio se plantearán 4 hipótesis de investigación descritas en la tabla 8, estas hipótesis se relacionan con los objetivos específicos del trabajo.

Tabla 8. Descripción de las hipótesis planteadas en este estudio

Hipótesis Nulas	Hipótesis Alternativas
Hipótesis nula 1 H ₀₁ : Ninguno de los niveles del factor medio de cultivo tiene una influencia significativa en la cinética de crecimiento de <i>A. platensis</i> .	Hipótesis alternativa 1 H _{a1} : Al menos un nivel de medio de cultivo causa un efecto significativo en el comportamiento cinético del crecimiento de <i>A. platensis</i> .
Hipótesis nula 2 H ₀₂ : Ninguno de los niveles del factor fotoperíodo tiene una influencia significativa en la cinética de crecimiento de <i>A. platensis</i> .	Hipótesis alternativa 2 H _{a2} : Al menos un nivel de fotoperíodo causa un efecto significativo en el comportamiento cinético del crecimiento de <i>A. platensis</i> .

Fuente: Elaboración propia

V. METODOLOGÍA

5.1. Materiales, equipos y reactivos

El presente experimento se diseñó para poder replicarse fácilmente, por lo que los materiales e instrumentos ocupados para el montaje de los fotobioreactores son de fácil acceso, como hieleras de poliestireno expandido; bombas, mangueras, piedras difusoras y demás accesorios comunes de peceras. Por otra parte, los instrumentos de medición son cristalería básica de laboratorio, un kit de filtración al vacío y un espectrofotómetro ultravioleta para el barrido espectral y las mediciones diarias. El listado completo del montaje experimental se presenta en las Tablas A.1 a A.4 (ver Anexos).

5.2. Influencia del medio de cultivo y el fotoperíodo en el crecimiento de *Arthrospira platensis*

5.2.1. Análisis de agua

Los cultivos de Spirulina necesitan de un medio alcalino para lograr tasas de crecimiento altas, uno de los factores de gran importancia a considerar es el tipo de agua que se utiliza para disolver las sales y nutrientes que posteriormente serán el medio de cultivo de la Spirulina, de acuerdo a la literatura se recomienda utilizar agua dura y que a su vez no contenga ningún tipo de contaminantes microbiológicos y con baja presencia de iones cloro. Con este fin se seleccionaron 9 marcas de agua diferentes para su análisis estas se observan en la Figura 10.



Figura 10. Marcas de agua utilizadas para evaluación de dureza total
Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se muestran la Tabla 9 donde se describe la marca, volumen y procedencia de las nueve marcas de agua analizadas:

Tabla 9. Marcas de agua utilizadas para análisis de dureza total

N	Marca	Volumen[mL]	Procedencia
1	Economax	600	Nicaragua
2	Luna	600	Nicaragua
3	Fuente pura	600	Nicaragua
4	Aqua	750	El Salvador
5	Cool wave	600	Nicaragua
6	Zephyrhills	1000	Estados Unidos
7	Alpina	600	Nicaragua
8	Pure Life	500	Estados Unidos
9	Evian	1000	Francia

Fuente: Elaboración propia

Para esto se realizó un análisis de dureza a diferentes muestras de agua embotellada que permitieron una mejor caracterización de las mismas. Este análisis fue llevado a cabo por dos métodos: titulación manual y por titulación automática.

Para el método de titulación manual se tomaron 25 mL de muestra y se afora a 50 mL utilizando agua destilada. Posteriormente se colocan 2 mL de solución buffer de NH_3 y 0.2g de cianuro de potasio, con la finalidad de eliminar interferencias. Luego se añadieron 2 gotas de solución indicadora de negro de eriocromo. Finalmente, se realiza la titulación manualmente empleando EDTA 0.01 M.

Para el método de titulación automática se toman 25 mL de cada una de las muestras, se afora a 50 mL con agua destilada y se transfirió a un Erlenmeyer de 125 mL, agregando 2 mL de solución buffer y una pizca de indicador de negro de eriocromo. Se colocó dentro del Erlenmeyer un agitador magnético y se procedió a titular en el equipo valorador volumétrico automático, utilizando EDTA 0.01M.

5.2.2. Determinación de intensidad lumínica (LUX)

Como fuente de iluminación se utilizaron luces LED de la marca GOODEA, modelo GDCL021, con dimensiones de 2.5 cm de ancho por 30 cm de largo, con un control que permitía encender, apagar y regular intensidad y tipo de luz. Estas luces se comercializan en pares unidos por cada paquete y tienen tres temperaturas de color: blanca, cálida y combinada; cada una de estas luces presentaba diez niveles de intensidad (Figura 11).



Figura 11. Luces LED empleadas como fuente de iluminación
Fuente: Elaboración propia.

Para determinar la intensidad lumínica que presentaban las luces se realizaron mediciones de LUX (unidad de medición de iluminación lumen/m^2), aislando las luces en un sistema cerrado, se decidió realizar dichas mediciones durante la noche para evitar que la luz del día causara interferencia.

Las luces se colocaron en la tapa de una hielera de poliestireno y se empleó como instrumento de medición la aplicación *Lux Light Meter Pro* las mediciones se realizaron variando las 3 temperaturas de color de las luces y los respectivos diez niveles de intensidad para cada una de ellas.

5.2.3. Determinación de flujo volumétrico de aire

Otra variable de importancia para que se logre el crecimiento de la *Spirulina* corresponde a la agitación, ya que mediante esta se logra que toda la biomasa obtenga cantidades apropiadas tanto de luz como de nutrientes, sin embargo, la agitación debe ajustarse hasta un punto en específico, de manera que sea lo suficiente para que haya movimiento dentro del fotobioreactor y no haya

sedimentación de biomasa, pero no lo demasiado fuerte para que no se presenten rupturas estructurales de la Spirulina.

Para esto, se hizo uso de una técnica llamada *desplazamiento de agua* que se utiliza comúnmente para recolectar gases producidos por reacciones químicas. La técnica consiste en colocar un recipiente hondo lleno de agua hasta el borde y colocarlo boca abajo en una pana con agua. Posteriormente, se coloca una manguera o un tubo de caucho o de goma dentro del recipiente donde se recolectará el gas. Conforme vaya siendo producido el gas, este saldrá por el tubo o manguera y va a desplazar el agua dentro del recipiente, hasta que solamente se encuentre el gas atrapado en el recipiente, el cual puede posteriormente sellarse con una tapa (AuYeung, 2025).



Figura 12. Recogida de gas por desplazamiento de agua

Fuente: AuYeung (2025).

Aplicando la técnica explicada anteriormente se utilizó un Erlenmeyer de 500 mL, lleno de agua colocado boca abajo en un recipiente que también contenía agua se introdujo al Erlenmeyer una manguera de pecera conectada a la bomba y se midió a diferentes niveles de potencia de la bomba el tiempo que le tomaba al aire desplazar la columna de agua.

5.2.4. Montaje del sistema y bioreactores

El montaje del sistema utilizado en la fase experimental es importante señalar que se realizó tomando como objetivo mantener la mayor cantidad de variables controladas y de esta manera evitar que exista error o ruido significativo en los resultados obtenidos.

La base del montaje se centra en la presencia de dos hieleras de poliestireno cuyas dimensiones corresponden a 40 cm de Alto, 70 cm de largo y 45 cm de ancho con capacidad de 50 L, las cuales tienen tapa. A su vez en la tapa de estas se instalaron luces LED de 2.5x30 cm de largo modelo GDCL021 de la marca GOODEA, en los laterales de la hielera se colocaron 2 válvulas de control con 3 vías de acero inoxidable de la marca AQUANEAT, cuyas dimensiones corresponde a 6.98 cm de largo, 2.18 cm de ancho y un diámetro de 0.5 cm en la boquilla de cada una de las

vías, a cada vía se le añadió una manguera de pecera de plástico de diámetro estándar y en el otro extremo se instaló en cada manguera una piedra difusora de geometría cilíndrica de la marca AQUANEAT cuya altura correspondía a 2.5 cm y diámetro de 1.4 cm, la boquilla de estas tenía dimensiones estándares (Figura 13).

Como se ha mencionado en acápites previos otro factor de gran importancia para lograr cultivos de *Spirulina* con buenas tasas de crecimiento es la agitación, para ello dentro del sistema se realizó la instalación de una bomba de pecera de la marca AQUANEAT modelo AP-204 de 8.5 W con capacidad de 200 galones, la cual era de plástico y contaba con 4 salidas y una perilla central para regular el flujo de aire. Antes del inicio de los ensayos cinéticos se realizaron algunas pruebas preliminares para determinar el flujo de aire ideal para los inóculos modificando la posición de la perilla reguladora de flujo de la bomba, asegurándose que la distribución sea equitativa para cada uno de los bioreactores.

Otro componente de este montaje que tiene especial relevancia son los temporizadores (timer), debido a que una de las variables a considerar es el fotoperíodo. Se utilizaron temporizadores mecánicos de 24 horas de la marca BN-LINK para programar los períodos de iluminación y oscuridad de cada una de las hieleras, conectando las luces LED a estos. Seleccionándose que la primera hielera (Hielera A) tendría un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, mientras que la segunda hielera (hielera B) tendría un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Como bioreactores se utilizaron recipientes de vidrio de geometría cilíndrica con medidas correspondientes a 16 cm de altura, 9 cm de diámetro y capacidad de 1000 mL, previo al inicio de la fase experimental estos fueron esterilizados en un horno a una temperatura correspondiente a 150°C por un periodo de 3 horas.

Los materiales utilizados para las mediciones diarias realizadas fueron: un termómetro de mercurio, cintas de pH y un Secchi disk el cual consiste en una especie de regla graduada en milímetros con un extremo en L que tiene una marca circular de color negro este tiene una especial importancia ya que es una herramienta empleada para determinar la concentración del cultivo de *Spirulina*; esta herramienta se adquirió junto al inóculo de *Spirulina* por lo que su respectiva lectura corresponde a un gráfico proporcionado por el proveedor (Figura 14 y 15).

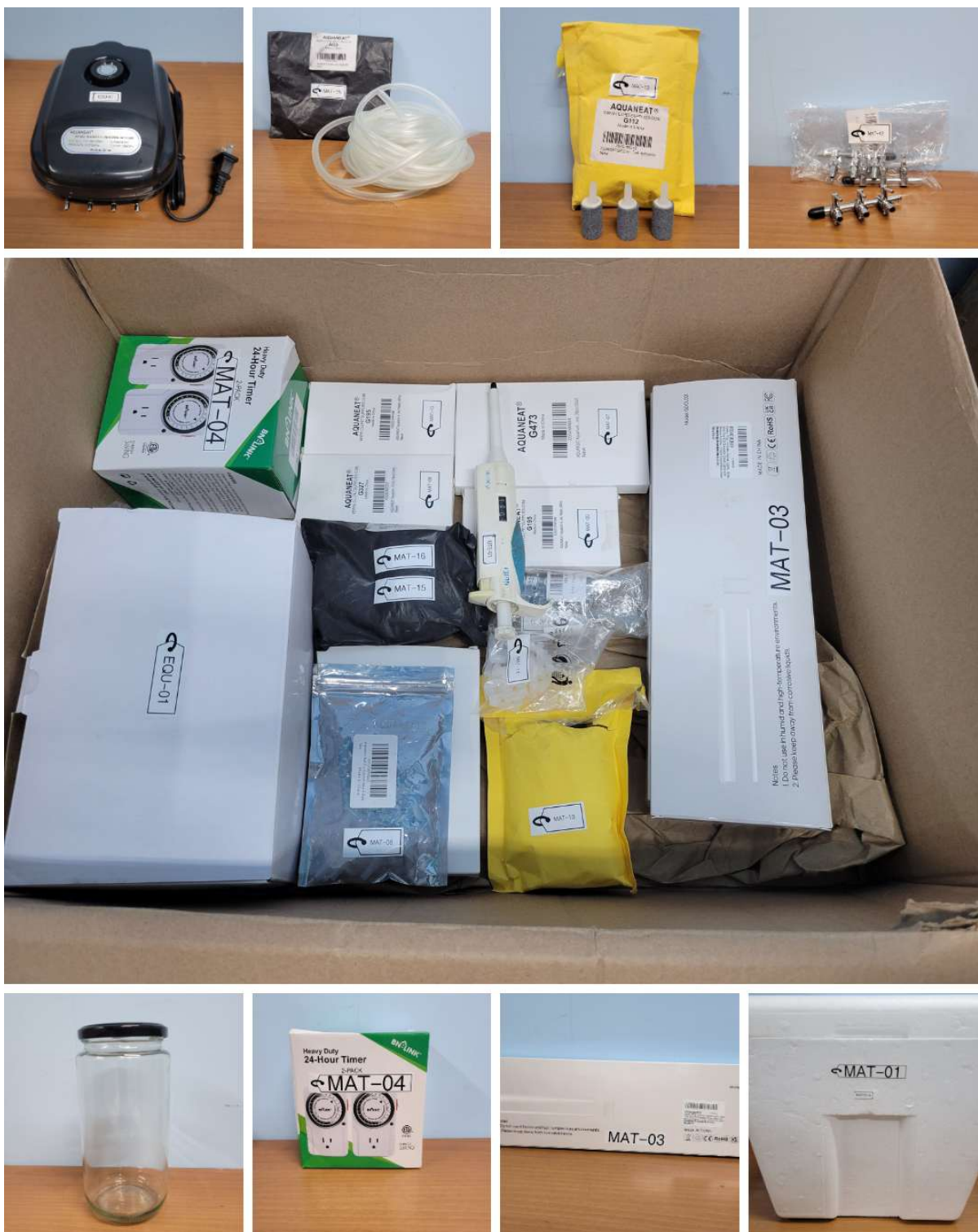


Figura 13. Elementos del montaje experimental
Fuente: Elaboración propia.



Figura 14. Secchi disk

Fuente: Algae Research and Supply (2025)

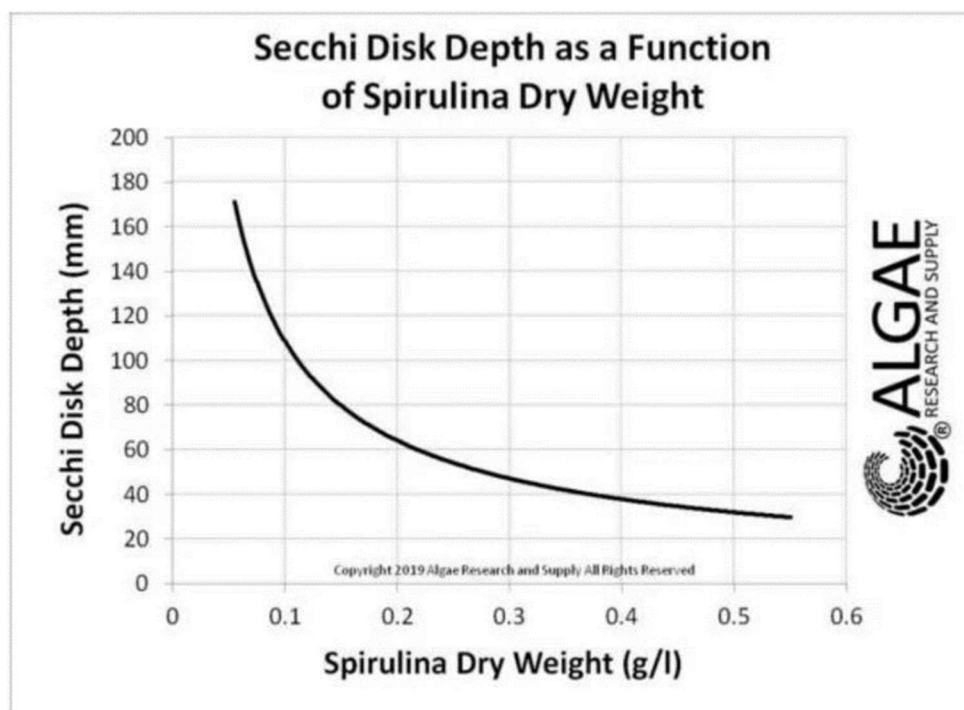


Figura 15. Curva complementaria de Secchi disk para determinación de concentración

Fuente: Algae Research and Supply (2025)

5.2.5. Preparación de medios de cultivo

Se hizo uso de dos medios de cultivo diferentes: medio Zarrouk modificado, cuya composición se describe en las Tablas 10 y 11; y medio básico descrito en la Tabla 12. El medio Zarrouk modificado es el que distribuye el proveedor de Spirulina *Algae Research and Supply* y el medio básico corresponde a una versión simplificada de los nutrientes básicos que necesita la microalga para sobrevivir.

Tabla 10. Sales del medio Zarrouk modificado

Sales	Concentración [g/L]
Bicarbonato de sodio NaHCO_3	16.8
Carbonato de sodio Na_2CO_3	4
Cloruro de sodio NaCl	1
Sulfato de Magnesio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2
Cloruro de potasio KCl	1
Cloruro de calcio $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.04
Nitrato de sodio NaNO_3	2.5

Fuente: Elaboración propia

Tabla 11. Nutrientes (F/2 MEDIUM)

CAS#	Componentes
7631-99-4	Nitrato de sodio
10049-21-5	Fosfato de sodio monohidratado
13517-24-3	Silicato disódico nonahidratado
7446-20-0	Sulfato de Zinc heptahidratado
10034-96-5	Sulfato de magnesio monohidratado
10102-40-6	Molibdato de sodio dihidratado
10026-24-1	Sulfato de cobalto heptahidratado
10125-13-0	Cloruro cúprico dihidratado
7783-85-9	Sulfato férrico de amonio hexahidratado
6381-92-6	EDTA disódico dihidratado
68-19-9	Cianocobalamina
10035-04-8	Cloruro de calcio dihidratado
10034-99-8	Sulfato de magnesio heptahidratado
7778-77-0	Fosfato monobásico de potasio
7647-14-5	Cloruro de sodio
7365-45-9	HEPES
58-85-5	Biotina
67-03-8	Clorhidrato de tiamina
471-34-1	Carbonato de calcio
8028-77-1	Sal marina natural

Fuente: UTEX (2016)

El medio de cultivo Zarrouk modificado se preparó empleando dos partes, una correspondiente únicamente a sales y se complementó con una serie de oligoelementos para lograr mantener un pH alcalino, que es lo ideal para cultivos de *Spirulina* y a su vez que este contara con todas las características necesarias para promover el crecimiento de la misma.

La preparación del medio realizó adicionando una parte de las sales posterior se añadieron 3L de agua purificada y se agitó para para lograr una mezcla homogénea, este procedimiento se repitió hasta alcanzar el volumen de 19 L, posterior a ello se colocaron los nutrientes y se agitó nuevamente.

Los componentes del medio básico son los siguientes se presentan en la Tabla 12:

Tabla 12. Formulación de medio de cultivo básico

Reactivos	Concentración [g/L]
Bicarbonato de sodio	8
Cloruro de sodio	5
Nitrato potásico (Salitre)	2
Sulfato dipotásico	1
Fosfato diamónico	0.05
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.2
Cal	0.02
Solución de hierro (10 g/L)	0.1

Fuente: Jourdan JP (2000)

Para la preparación del medio básico se utilizaron las concentraciones mencionadas en la Tabla 12 para un volumen de agua correspondiente a 19L. El procedimiento de preparación del medio básico fue similar al anterior, ya que se adicionaron las sales y agua en el recipiente en proporciones pequeñas hasta alcanzar el volumen final de 19 L.

5.2.6. Acondicionamiento de la microalga

El kit de cultivo de Spirulina adquirido constaba de 100 mL de inóculo en estado acuoso dividido en dos tubos falcón de 50mL cada uno, una mezcla de nutrientes complementarios equivalentes a 50mL contenidos en un tubo falcón del mismo volumen, y una mezcla de sales minerales. A parte, se compraron 250 mL extra de inóculo vivo en estado acuoso contenido en una botella PET.

Una vez recibido el kit inmediatamente se procedió a realizar el acondicionamiento de la microalga. Esto representó probablemente la etapa más crítica de todo el experimento, puesto que, desde la fecha en que fue envasado y embalado hasta el momento de su recepción, estos inóculos estuvieron carentes de condiciones básicas que aseguraran su crecimiento, como lo son la luz y la aeración. El proveedor, *Alage Research and Supply*, comentó que el tiempo máximo en que el inóculo podía sobrevivir en transporte era de aproximadamente cinco días, los cuales se cumplieron al momento exacto de la recepción del mismo.

El medio de cultivo en el que se realizó el acondicionamiento del inóculo correspondía a un medio Zarrouk modificado, este medio se divide en dos partes,

la primera corresponde a sales y una disolución acuosa la cual contenía nutrientes complementarios del medio (ver Tablas 10 y 11).

De acuerdo a Huber (2021), lo primero a realizarse fue preparar el medio de cultivo. Para esto, se enjuagó el recipiente (bidón de 18.9L), previamente lavado, con el agua purificada que se utilizaría para la preparación del medio. Luego, se procedió a verter 3L de agua purificada para comenzar a verter la mezcla de sales y nutrientes. Se continuó agitando manualmente y anexando el restante de los 19L hasta que se observó una saturación de la mezcla.

Para el acondicionamiento de la microalga se consideró la superficie en donde iba a estar ubicado el inóculo, se utilizó como bioreactor un recipiente de vidrio de estructura cilíndrica de 24cm de alto y 12.8 cm de diámetro, con capacidad de 3000 mL, el cual previamente recibió un proceso de esterilización empleando una temperatura de 150°C por 3 horas en un horno.

Dentro del recipiente se procedió a colocar 2000 mL del medio de cultivo Zarrouk modificado, posterior a ello se adicionó el inóculo de la microalga distribuido por *Algae Research and Supply* colocan los 350 mL de inóculo, este recipiente fue colocado en una superficie plana con una lámpara de mesa como fuente de luz y en su interior se introdujo una piedra difusora cilíndrica de 1 ½" de alto, 0.8" de diámetro y una boquilla de 3/16" conectada a una manguera de pecera y una bomba para la agitación y aireación de la *Spirulina* dentro del fotobioreactor.

El propósito del acondicionamiento de la microalga es lograr que esta se adapte a las condiciones nuevas de su entorno después del tiempo que estuvo carente de las mismas y que esta logre alcanzar la concentración requerida para ser empleada como inóculo.

Para la estimación de la concentración de biomasa seca se empleó un Secchi disk suministrado por el proveedor *Algae Research Supply*. Este dispositivo opera bajo el principio de la ley de Beer-Lambert, la cual relaciona la absorción de luz con la concentración de partículas presentes en el medio.

El instrumento consiste en una regla graduada en milímetros con un extremo que tiene un blanco de referencia. Para su uso, el extremo que contiene el blanco se pliega según las instrucciones del proveedor y posteriormente se introduce de forma vertical en el fotobioreactor (Figura 14 y 15).

La lectura se realiza registrando la profundidad (mm) a la cual el blanco deja de ser visible desde la superficie. El valor obtenido se compara con la gráfica proporcionada por el proveedor del inóculo. El punto de intersección entre la lectura y la curva permite determinar la concentración estimada de biomasa seca (g/L).

5.2.7. Determinación de longitud de onda de lectura

Una vez que se identificó que el inóculo alcanzó la concentración necesaria para que este pueda ser captado por el espectrofotómetro UV-VIS DR6000 (HACH) (Figura 16) el cual se puede determinar a simple vista con solo observar la tonalidad de verde del inóculo (mientras más oscura sea la tonalidad, mayor es la concentración de microalgas), se procedió a determinar la longitud de onda a utilizar.



Figura 16. Espectro fotómetro UV-VIS DR6000

Fuente: Elaboración propia

Para seleccionar la longitud de onda empleada en las lecturas diarias durante la fase experimental, se realizó inicialmente un barrido espectral utilizando exclusivamente el inóculo de Spirulina. El objetivo de este procedimiento fue identificar las longitudes de onda en las que se presentaban picos de absorbancia, con el fin de correlacionar dichos resultados con la información teórica disponible y determinar la longitud de onda adecuada para las mediciones posteriores.

Una vez determinada la longitud de onda se prepararon disoluciones emplearon balones aforados de 25 mL. Primero se enjuagaron con el medio correspondiente para cada curva y luego se les dosificaron de 20 a 5mL de cada medio y de 5 a 20mL de inóculo madre para lograr obtener concentraciones de 20%, 40%, 60% y 80%. Solamente la curva del medio Zarrouk modificado se leyó al 100% que consistió en verter 3mL del inóculo madre directamente en la celda y leer su absorbancia a la longitud de onda establecida.

La finalidad de la preparación de las disoluciones y sus posteriores lecturas de absorbancia fue elaborar dos curvas de calibración, una para cada medio de cultivo utilizado, el criterio utilizado para considerar un buen ajuste de los datos con respecto a la línea de regresión el coeficiente de determinación, R^2 , debe ser un valor lo más cercano a 1 posible. Idealmente, el R^2 debe ser entre 0.99 y 1.0, pero, dependiendo del propósito del estudio y de la literatura consultada, se considera aceptable hasta un $R^2 > 0.90$.

5.2.8. Siembra del inóculo en los biorreactores

Una vez que los fotobiorreactores estuvieron completamente montados y que tanto el barrido espectral como las curvas de calibración habían sido realizados, se procedió a determinar la proporción del inóculo madre que sería dosificada en cada uno de los biorreactores destinados a los experimentos de variación de medio de cultivo y fotoperíodo.

Las concentraciones seleccionadas debían ser lo suficientemente altas para permitir lecturas confiables en el espectrofotómetro, evitando interferencias por valores demasiado bajos; al mismo tiempo, debían mantenerse lo suficientemente bajas para garantizar la disponibilidad de inóculo madre para abastecer los 12 fotobiorreactores y conservar una reserva en caso de requerirse repeticiones experimentales.

Una vez determinado el volumen de inóculo a sembrar en cada bioreactor, se procedió a la preparación de los recipientes. Los envases cilíndricos de vidrio previamente esterilizados se enjuagaron con una pequeña cantidad del medio correspondiente, y posteriormente se les añadió el volumen de medio establecido según los cálculos de concentración, se tomó la decisión de que el medio de cultivo para cada bioreactor tuviese un volumen de 720 mL.

Una vez completado este paso, se colocaron en cada recipiente las piedras difusoras, una por fotobiorreactor, con el fin de mantener una aireación constante sin generar un flujo excesivo que pudiera dañar la microalga. Posteriormente, se dosificó el volumen de inóculo madre calculado para cada tratamiento el cual correspondió a 80 mL para cada bioreactor. Para esta etapa fue esencial asegurar que la bomba de aireación permaneciera apagada, puesto que puede estresar a la microalga.

Con la siembra completada, se realizó una agitación leve y manual para homogeneizar el contenido de cada fotobiorreactor. A continuación, se llevaron a cabo las mediciones iniciales de las variables controladas y la toma de muestras correspondientes al día 0 del experimento.

Finalmente, cada recipiente fue cubierto con un trozo de parafina para minimizar pérdidas de volumen asociadas a la agitación. Posteriormente se encendió la bomba y se ajustaron manualmente las válvulas de control, con el fin de mantener un flujo de aire medio y lo más uniforme posible en todos los fotobiorreactores.

5.2.9. Ensayos Cinéticos

Estos ensayos cinéticos se llevaron a cabo considerando que existen dos hieleras y en cada una de ellas la variable que se modificó fue el fotoperíodo, en el caso particular la hielera A correspondía a un fotoperíodo de 16/8 mientras que la hielera B a un fotoperíodo de 12/12 luz-oscuridad respectivamente. De igual manera la distribución de los bioreactores en su interior correspondía a seis dentro de cada una, de esos seis en tres se utilizó el medio Zarrouk y en los otros tres el medio básico.

Durante esta fase experimental diariamente se realizó el monitoreo de temperaturas, valores de pH, concentración de Spirulina en peso seco (Secchi disk) y toma de muestras. Todas las mañanas a las 8:30 am se destapaban de manera estandarizada las hieleras para evitar variaciones en las condiciones de iluminación y prevenir interferencias que pudieran afectar las lecturas de absorbancia. A esta hora, los temporizadores ya habían activado el fotoperíodo correspondiente, asegurando que la microalga se encontrara aclimatada antes del muestreo.

Para el muestreo, se extrajeron 10 mL de cada fotobiorreactor utilizando tubos Falcon de 15 mL, estos tubos Falcon fueron previamente rotulados y asignados de forma exclusiva a cada bioreactor esto con la finalidad de evitar la contaminación cruzada. Se dispuso de cuatro tubos Falcon por bioreactor para asegurar disponibilidad durante toda la fase experimental. El volumen recolectado permitió realizar lecturas duplicadas por día y por tratamiento, reduciendo así el error y aumentando la confiabilidad de los resultados.

Dado que el espectrofotómetro UV estaba disponible únicamente de lunes a viernes, las muestras obtenidas durante los fines de semana fueron congeladas inmediatamente y conservadas hasta su lectura el lunes siguiente.

Una vez recolectadas, las muestras eran transportadas al Laboratorio de Micropoluentes del Programa de Investigación, Estudios Nacionales y Servicios del Ambiente (PIENSA) ubicado en el recinto universitario Simón Bolívar, para la determinación de absorbancia a la longitud de onda previamente establecida. Durante los 25 días de la fase experimental se utilizó la misma celda

espectrofotométrica para todas las mediciones, con el fin de evitar variaciones asociadas al uso de celdas distintas.

Una vez culminada la fase experimental, se decidió realizar la extracción de biomasa correspondiente a los volúmenes finales de cada uno de los bioreactores, para ello se realizaron pruebas previas para determinar la técnica de extracción ideal para biomasa de *Spirulina*, decidiéndose emplear un kit de filtrado con Kitasato y un filtro con tamaño de poro de 0.45 μm era la mejor opción (Figura 17).

Una vez seleccionada la técnica de extracción a cada fotobioreactor se midió el volumen final del cultivo y se sometió al proceso de filtración por vacío, obteniéndose así la biomasa húmeda retenida en la superficie del filtro. Esta biomasa fue cuidadosamente retirada y transferida a desecadores con el objetivo de eliminar la humedad remanente y obtener biomasa seca. La biomasa se mantuvo en los desecadores durante un periodo de 48 horas, tras el cual se obtuvo la biomasa seca final de cada bioreactor.



Figura 17. Kit de filtrado con kitasato para extracción de biomasa

Fuente: Elaboración propia

5.2.10. Efecto de Medio de cultivo y Fotoperíodo en el crecimiento de biomasa de *Spirulina*

Como ya se ha mencionado con anterioridad el crecimiento de biomasa de *Spirulina* es dependiente de factores físico-químicos y ambientales, en especial para el objeto de estudio de este trabajo monográfico en condiciones controladas se propuso un modelo en el cual se pudieran analizar los efectos tanto de las variaciones de medio de cultivo como la modificación de los fotoperíodos.

Para determinar las mejores condiciones para la obtención de la biomasa, se realizaron ensayos experimentales, para lo cual se propuso un modelo de diseño de experimentos tipo factorial 2², este modelo se presenta en la Tabla 13.

Tabla 13. Factores y niveles propuestos para identificar las condiciones óptimas de cultivo de *Spirulina* para la obtención de biomasa

Factores	Nivel Bajo	Nivel Alto
Medio de cultivo	“Medio de cultivo Básico”	“Medio de cultivo Zarrouk modificado”
Fotoperíodo	Ciclo L/D 12:12	Ciclo L/D 16:8

Fuente: Elaboración propia

Asimismo, se utilizó la relación matemática expresada en la ecuación 20, para determinar la máxima productividad obtenida para cada una de las combinaciones de factores y niveles que se muestran en la tabla anterior:

$$\theta = \frac{\max(X(t))}{t} \quad (20)$$

En donde max (X (t)) representa el máximo valor de concentración obtenido en el tiempo y t el tiempo en el que se obtuvo esa lectura máxima de concentración.

5.3. Modelación matemática de la cinética de crecimiento de *Arthrospira platensis* mediante los modelos logístico y de Monod

Para ajustar la cinética de crecimiento de *Spirulina* obtenida durante la fase experimental a un modelo matemático se empleó como herramienta el *curve fitting toolbox* de MATLAB para ajuste de regresión de los parámetros señalados en la sección 3.8 del presente documento.

5.4. Estimación de las condiciones óptimas de crecimiento de *Spirulina*

La determinación de las condiciones óptimas de crecimiento se realizó a partir del análisis de los parámetros cinéticos obtenidos mediante el ajuste de los datos experimentales al modelo de Monod. Como criterios principales de evaluación se consideraron la productividad del cultivo y el tiempo requerido para alcanzar la mayor concentración de biomasa.

La productividad se utilizó como indicador de eficiencia del proceso, ya que permite comparar qué tan rápido cada sistema de cultivo produce biomasa. Por otro lado, el análisis del tiempo de crecimiento permitió identificar si el cultivo lograba completar su ciclo de desarrollo dentro del periodo experimental.

Ambos criterios se analizaron de forma conjunta para seleccionar las mejores condiciones de cultivo, priorizando aquellos tratamientos que permitieran alcanzar

la máxima producción de biomasa en el menor tiempo posible dentro del periodo experimental.

Adicionalmente, se evaluó el comportamiento de crecimiento a largo plazo, considerando la capacidad de los cultivos para continuar creciendo más allá del tiempo experimental. Esto permitió diferenciar entre sistemas adecuados para ciclos cortos de producción, enfocados en una alta productividad diaria, y sistemas orientados a ciclos largos de cultivo, enfocados en la acumulación de biomasa total.

Para el análisis e interpretación de los resultados obtenidos, se realizó un contraste con estudios previos relacionados con el crecimiento de *Spirulina* bajo diferentes condiciones de cultivo. Este análisis incluyó investigaciones desarrolladas en distintos medios de cultivo y bajo diversos regímenes de iluminación, similares a los evaluados en el presente trabajo.

Los resultados fueron analizados considerando las concentraciones finales de biomasa en medio Zarrouk modificado, la duración del periodo experimental y el comportamiento de la cinética de crecimiento bajo distintos fotoperíodos. Este enfoque permitió identificar comportamientos similares y evaluar la influencia conjunta del medio de cultivo y la iluminación sobre el crecimiento de la microalga.

De esta manera, la integración de estos estudios permitió contextualizar los resultados y facilitar una interpretación más clara y fundamentada del comportamiento del cultivo.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Materiales, equipos, reactivos e instrumentos

Durante el desarrollo del experimento el conjunto de materiales, equipos e instrumentos seleccionados demostraron ser adecuados para el montaje del sistema cerrado. El sistema montado con las hieleras de poliestireno, bioreactores incluyendo todo el sistema de aireación conformado por bombas, mangueras y piedras difusoras funcionaron conforme a lo previsto. Asimismo, la cristalería de laboratorio, el kit de filtración al vacío y el espectrofotómetro ultravioleta permitieron realizar tanto el barrido espectral como las mediciones diarias requeridas.



Figura 18. Materiales, equipos, reactivos y materiales utilizados

Fuente: Elaboración propia

6.2. Influencia del medio de cultivo y el fotoperíodo en el crecimiento de *Arthrospira platensis*

6.2.1. Análisis de agua

Una vez realizadas las pruebas de dureza total por el método manual y automático los resultados obtenidos se presentan las Tablas 14 y 15 respectivamente. Para determinar si la variación entre los resultados obtenidos fue significativa se calculó la desviación estándar y coeficiente de variación existente entre los resultados finales de ambos métodos obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 16 (Figura 19).



Figura 19 . Determinación de dureza total a 9 muestras de agua

Fuente: Elaboración propia

Los resultados que se muestran en la Tabla 14 y Tabla 15 señalan que no existen variación significativa entre ambos métodos, por lo que una vez realizada la comparación de los resultados mostradas con anterioridad las dos marcas de aguas que tienen los valores de dureza total más altos corresponden a las marcas Evian y Luna.

Tabla 14. Dureza total método manual

N°	Marca	V ₁ [mL]	V ₂ [mL]	DT ₁ [mg/L]	DT ₂ [mg/L]	$\widehat{DT}$ [mg/L]
1	Economax	3.8	3.7	152	148	150
2	Luna	4.3	4.1	172	164	168
3	Fuente pura	2.5	2.5	100	100	100
4	Aqua	0	0	0	0	0
5	Cool Wave	2.7	2.7	108	108	108
6	Zephyrhills	1.7	1.7	68	68	68
7	Alpina	0.3	0.3	12	12	12
8	Pure life	0.6	0.5	24	20	22
9	Evian	7.4	7.5	296	300	298

Fuente: Elaboración propia (V₁: primer volumen de titulación, V₂: Segundo volumen de titulación, DT₁: primera Dureza total, DT₂: Segunda dureza total, DT: Promedio de ambas durezas)

Tabla 15. Dureza total método automático

N°	Marca	V ₁ [mL]	V ₂ [mL]	DT ₁ [mg/L]	DT ₂ [mg/L]	$\widehat{DT}$ [mg/L]
1	Economax	3.594	3.592	145.48	145.40	145.44
2	Luna	4.078	4.352	165.07	176.16	170.62
3	Fuente pura	2.618	2.56	105.97	103.62	104.8
4	Aqua	0.068	0.072	2.752	2.91	2.8336
5	Cool Wave	2.614	2.716	105.81	109.94	107.88
6	Zephyrhills	1.62	1.684	65.57	68.16	66.873
7	Alpina	0.334	0.326	13.52	13.19	13.358
8	Pure life	0.516	0.52	20.88	21.04	20.969
9	Evian	8.132	8.174	329.18	330.88	330.03

Fuente: Elaboración propia (V₁: primer volumen de titulación, V₂: Segundo volumen de titulación, DT₁: primera Dureza total, DT₂: Segunda dureza total, DT: Promedio de ambas durezas)

Al momento de seleccionar la marca de agua a utilizar, los criterios que se emplearon fue tanto el valor de dureza total como el costo que este representaría para la investigación. Debido al volumen requerido para los experimentos, se decidió optar por la marca Luna, una marca de agua purificada nacional, la cual es tratada, embotellada y distribuida por la Compañía Licorera de Nicaragua, ubicada en el departamento de Chinandega específicamente en el municipio de Chichigalpa. Geográficamente se encuentra sobre el cinturón de fuego del Pacífico, lo que indica que las fuentes de agua ubicados en este lugar tienen mayor presencia de sales, lo que a su vez tiene repercusión sobre la dureza del agua, y es debido a sus características de dureza total que esta marca de agua cumple con los requerimientos para ser utilizada en este trabajo monográfico (Figura 17).

Tabla 16. Desviación estándar y coeficiente de variación entre ambos métodos

Titulación manual	Titulación automática	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación
150	146	148	2.82	0.019
168	167	167	0.7	0.004
100	100	100	0	0
0	0	0	0	-
108	107	107	0.70	0.006
68	65	66	2.12	0.031
12	12	12	0	0
22	24	23	1.41	0.061
298	267	282	21.92	0.077

Fuente: Elaboración propia

6.2.2. Determinación de intensidad lumínica (LUX)

Las luces empleadas durante el experimento fueron colocadas de manera centrada en las tapas de las hieleras, de tal manera que esta disposición permitió tener una distribución homogénea de la luz en el interior del sistema, lo que garantizó que todos los bioreactores recibieron una intensidad lumínica similar (Figura 20).



Figura 20 . Disposición de las luces en la tapa de la hielera

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de las pruebas realizadas utilizando la aplicación *Lux Light Meter Pro* se presentan en la Tabla 17, en donde se detallan los tres tipos de temperatura de color: amarilla, blanca y combinada y los diez niveles de intensidad para cada tipo de luz (Figura 18).

Tabla 17. Determinación de Lux para cada tipo de Luz

Nivel de intensidad	Luz amarilla	Luz blanca	Luz combinada
1	507 LUX	455 LUX	554 LUX
2	865 LUX	818 LUX	944 LUX
3	1175 LUX	1146 LUX	1263 LUX
4	1506 LUX	1437 LUX	1615 LUX
5	1840 LUX	1760 LUX	1979 LUX
6	2160 LUX	2079 LUX	2332 LUX
7	2423 LUX	2359 LUX	2622 LUX
8	2764 LUX	2659 LUX	2973 LUX
9	3123 LUX	2964 LUX	3350 LUX
10	3449 LUX	3280 LUX	3719 LUX

Fuente: Elaboración propia

Durante las pruebas previas a la instalación de las luces LED se verificó que, aunque estas contaban con tres tipos de temperatura de color y un control para encender, apagar y regular la intensidad, dicho control impedía su encendido automático al conectarlas a los temporizadores (timer).

Al observar que, al restablecerse el suministro eléctrico mediante los timer, las luces no se activaban de manera automática, se decidió realizar una adecuación la cual se basó en retirar el control original y dejarlas en conexión de corriente directa. Esta modificación permitió que las luces funcionaran conforme a lo programado en los timer.

Una vez realizada la adecuación se procedió a conectar las luces y se observó que con la conexión directa estas únicamente contaban con una sola temperatura de color luz blanca, posteriormente se colocaron las luces dentro de la hielera de poliestireno y se midió nuevamente la intensidad lumínica empleando la aplicación *Lux Light Meter Pro* donde como resultado un valor de 2575 LUX, valor que se encontraban dentro del rango de intensidad lumínica requerido para cultivos de *Spirulina* (2000-5000 LUX).



Figura 21 . Medición de intensidad luminica

Fuente: Elaboración propia

6.2.3. Determinación de flujo volumétrico de aire

La determinación del flujo volumétrico de aire utilizado se realizó empleando la técnica de desplazamiento de agua para recolección de gases esta técnica se detalla en el acápite 5.4, los resultados de las pruebas realizadas empleando dicho método se señalan en la Tabla 18.

Tabla 18. Determinación del flujo volumétrico de aire

Nivel de la bomba	Volumen (mL)	Tiempo (s)	Flujo volumétrico de aire (mL/s)
Mínima potencia	500	92	5.43
¼ de potencia	500	11.60	43.10
½ de potencia	500	6.68	74.85
Máxima potencia	500	4.78	104.60

Fuente: Elaboración propia

La intensidad de la bomba seleccionada correspondió a el nivel ¼ de potencia, esto debido a que el flujo volumétrico inicial se dividió de forma equitativa a los 12 bioreactores que estaban conectados a la bomba, correspondiendo un flujo de aire a cada bioreactor de 3.6 mL/s, valor ideal que se encuentra dentro del rango de 2 a 5 mL/s que se ha utiliza para cultivos de Spirulina en fotobioreactores a escala de laboratorio (Huarachi, y otros, 2015).

Para garantizar un flujo equitativo se realizó una prueba previa, en donde se colocaron dentro de cada hielera Erlenmeyer de 250 mL con agua a un nivel medio su distribución se observa en la Figura 22, se utilizó el nivel de la bomba $\frac{1}{4}$ de potencia y por inspección visual se ajustaron las válvulas de control para garantizar un burbujeo equitativo a cada Erlenmeyer, este ajuste se mantuvo durante toda la fase experimental.



Figura 22 . Distribución de bioreactores y ajuste de flujo volumétrico

Fuente: Elaboración propia

6.2.4. Montaje del sistema y bioreactores

Durante la fase experimental, el sistema instalado y los bioreactores tuvieron un funcionamiento adecuado. Las luces conectadas a los temporizadores operaron según lo programado, permitiendo cumplir sin problemas los ciclos de luz y oscuridad establecidos para cada tratamiento.

En cuanto al sistema de aireación, sus componentes trabajaron de manera correcta; sin embargo, en algunos días se observó que ciertas mangueras conectadas a las válvulas reguladoras de flujo se desconectaban. Este inconveniente no afectó el desarrollo del experimento, ya que los muestreos diarios permitieron detectar y corregir la situación.

Dado que el sistema permaneció aislado, fue posible mantener un control adecuado sobre las variables de operación, como la temperatura, el pH y las lecturas de biomasa. Esto aseguró condiciones estables durante todo el periodo experimental y facilitó la recolección de datos de forma continua (Figura 23).



Figura 23 . Elementos y montaje del sistema y bioreactores

Fuente: Elaboración propia.

6.2.5. Preparación de medios de cultivo

Los medios de cultivo constituyen una de las variables de mayor relevancia analizadas en el presente trabajo. En el caso del medio Zarrouk modificado, este mostró una disolución homogénea de sus sales y oligoelementos, presentando la coloración transparente blanquecina característica de su formulación. En la Figura 24 se muestran todos los reactivos que se utilizaron para la preparación de ambos medios de cultivo, con su respectiva codificación asignada para este proyecto. Los mismos se encuentran detallados en la Tabla A.3 en Anexos.

Durante toda la fase experimental mantuvo un pH estable con lecturas correspondientes a 11, No se observó la presencia de precipitados, cambios de color o cualquier variación que sugiriera alteraciones en su composición.



Figura 24 . Reactivos utilizados para la preparacion de los medios de cultivo
Fuente: Elaboración propia.

En contraste con el medio Zarrouk modificado, el medio básico presentó algunas características menos favorables para el seguimiento del cultivo. Aunque mantuvo un pH de 11 durante toda la fase experimental, mostró una coloración amarillenta que dificultó la observación visual del crecimiento de *Spirulina*, especialmente en las primeras etapas. Además, se evidenció la formación de precipitados de sales en el fondo del recipiente, lo cual no es deseable en un medio de cultivo porque puede indicar que no hay una distribución adecuada de todos los nutrientes.



Figura 25 . Medios de cultivo utilizados en la fase experimental. De izquierda a derecha: medio Zarrouk modificado y medio básico.

Fuente: Elaboración propia.

6.2.6. Acondicionamiento de la microalga

El cultivo de Spirulina se desarrolló en un recipiente previamente esterilizado, en el cual se dispusieron 2000 mL de medio de cultivo Zarrouk modificado y 350 mL de inóculo proporcionado por *Algae Research and Supply* (Figura 26).

Durante la etapa de acondicionamiento del inóculo de Spirulina, el cultivo mostró inicialmente una coloración verde pálido, indicativa de baja concentración celular y de un posible estrés derivado del tiempo de transporte y de la falta de aireación y luz. Durante los dos primeros días posteriores a la inoculación en el medio Zarrouk modificado, no se observó crecimiento visible, manteniéndose una ligera sedimentación de la biomasa en el fondo del biorreactor (Figura 27).



Figura 26 . Esterilización de bioreactores
Fuente: Elaboración propia.



Figura 27 . Liberación de aduana e inoculación de Spirulina
Fuente: Elaboración propia.

A partir del tercer día, tras exponer el fotobiorreactor a luz solar directa durante aproximadamente dos horas diarias, se registró una leve intensificación del color verde, lo que sugirió la reactivación metabólica y el inicio de la adaptación al nuevo medio. La aireación continua suministrada por la bomba y la estabilidad del pH cercano a 11 contribuyeron a la recuperación progresiva del cultivo. Hacia el cuarto día se evidenció una dispersión más homogénea de la biomasa y la formación de agregados filamentosos característicos de *Spirulina*.

Al cabo de aproximadamente una semana, el cultivo presentó un tono verde más intenso y una mayor turbidez, confirmando el restablecimiento de la actividad fotosintética y la normalización del crecimiento. No obstante, debido a las condiciones deficientes durante su importación, el proceso completo de acondicionamiento tuvo una duración total de 16 días, superando ampliamente el tiempo previsto inicialmente (≤ 5 días). La exposición controlada a luz solar directa durante tres días consecutivos fue un factor clave para acelerar su adaptación (Figura 28).



Figura 28 . Exposición de inóculo de *Spirulina* a la luz solar

Fuente: Elaboración propia.

Tal como se puede apreciar en la Figura 29 el rasgo más evidente asociado a este resultado fue el marcado incremento en la intensidad de la coloración y la turbidez del cultivo, el cual presentó una coloración verde brillante característica de un alto contenido de biomasa activa. Este cambio visual, evidenció un aumento significativo en la densidad celular.

Estas características indicaron que el inóculo se encontraba en condiciones óptimas para iniciar el proceso de inoculación de los biorreactores correspondientes a la fase experimental, asegurando una adecuada disponibilidad de biomasa para el desarrollo de los ensayos de cinética de crecimiento.

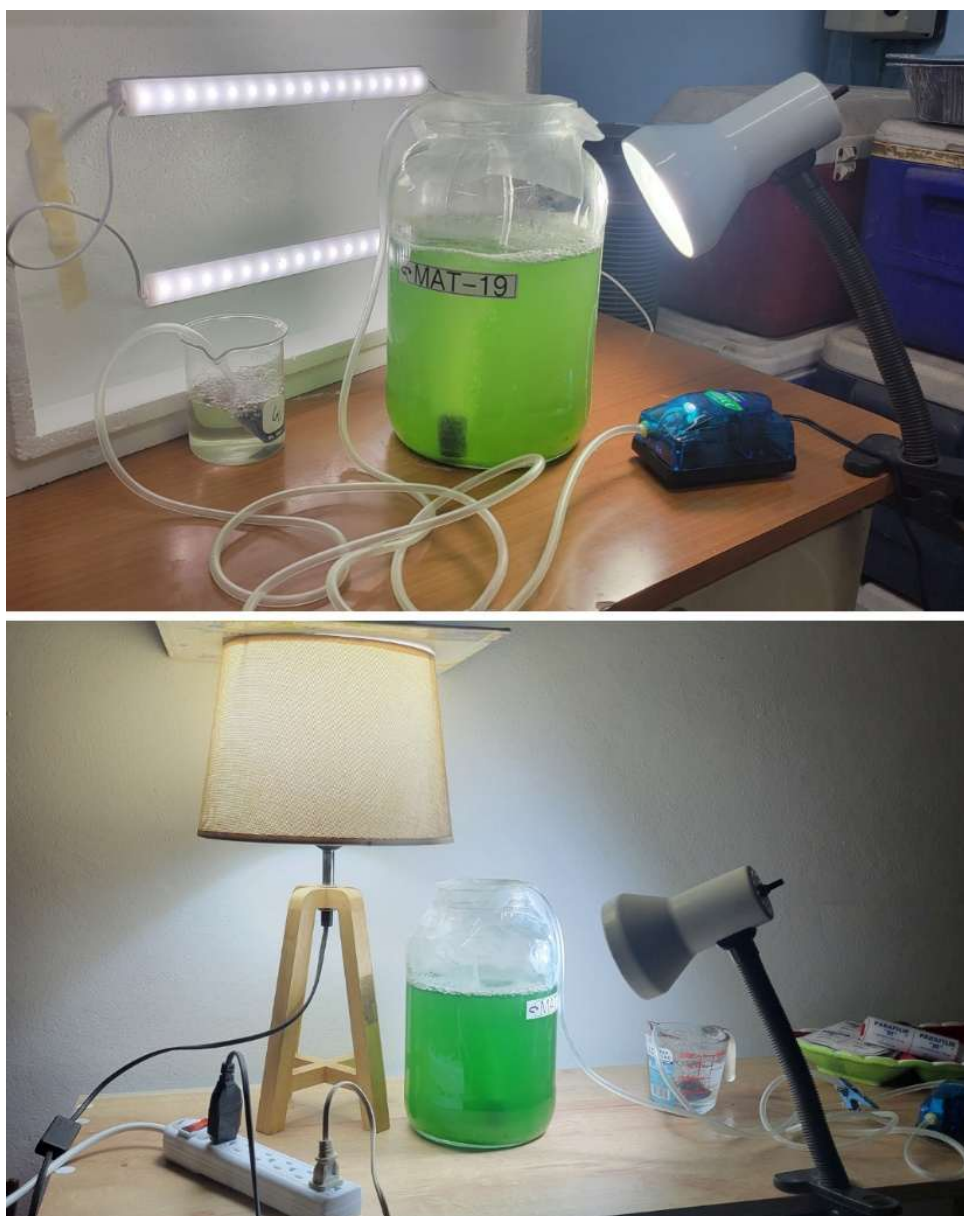


Figura 29 . Cultivo de *Spirulina* en condiciones idóneas para ser inóculo
Fuente: Elaboración propia.

6.2.7. Determinación de longitud de onda de lectura

Para la determinación de la longitud de onda en la que se iban a realizar las posteriores lecturas de absorbancia, se tomó una muestra de inóculo, la cual se colocó en una celda plástica dentro del equipo DR 6000 para realizar un barrido espectral, el cual arrojó que existía un pico en la longitud de onda correspondiente a 681 y 682 nm. Se decidió leer las muestras a una longitud de onda de 680nm durante todo el período de experimentación.

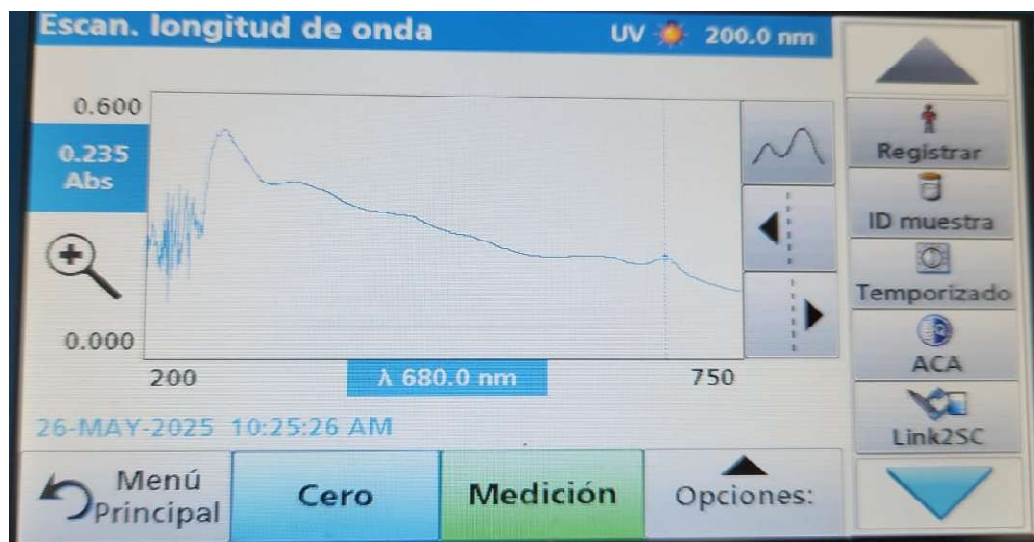


Figura 30. Gráfica de barrido para determinar longitud de onda de Spirulina

Fuente: Elaboración propia

Escan. longitud de onda					
UV 200.0 nm					
nm	Abs	Mín/Máx	nm	Abs	Mín/Máx
680.0	0.421	Pico	681.0	0.422	
682.0	0.422		683.0	0.421	
684.0	0.419		685.0	0.416	
686.0	0.413		687.0	0.408	
688.0	0.402		689.0	0.396	
690.0	0.390		691.0	0.383	

Figura 31. Tabla de barrido para determinar longitud de onda de Spirulina

Fuente: Elaboración propia

Una vez determinada la longitud de onda para realizar las lecturas de absorbancia, se procedió a realizar diluciones para ambos medios de cultivo, tanto medio Zarrouk modificado del 0-100% y medio básico del 0-80% en este caso debido a que el medio en el que inicialmente se encontraba la microalga correspondía a Zarrouk modificado (Figura 32).



Figura 32. Diluciones realizadas para elaborar curvas de calibración

Fuente: Elaboración propia

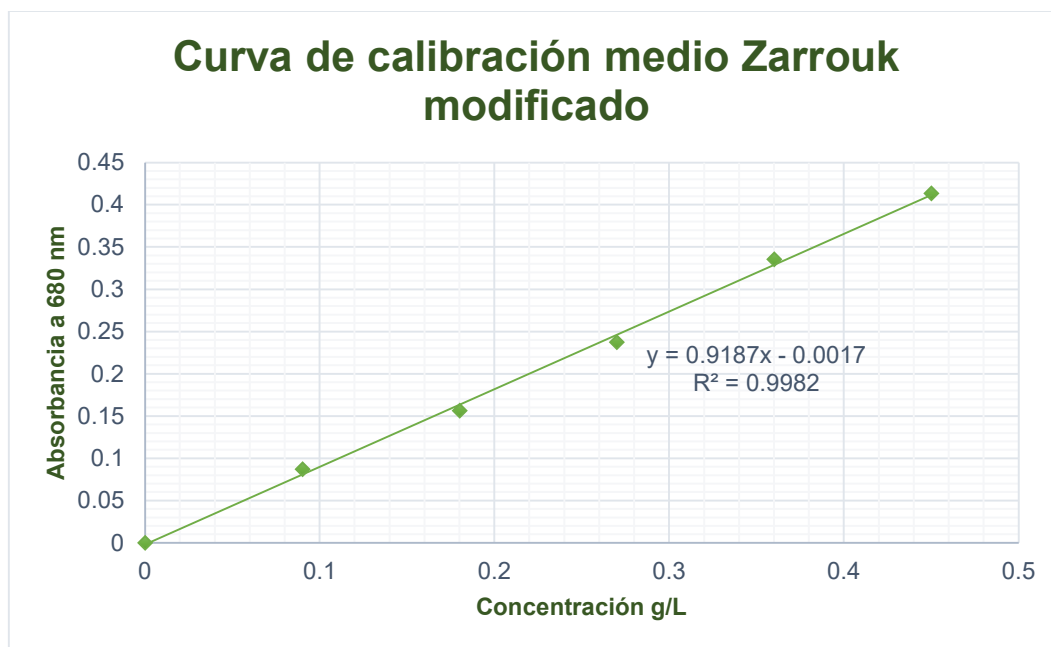
Los valores de las lecturas obtenidas a partir de las disoluciones realizadas a una longitud de onda de 680 nm corresponden a los señalados en la Tabla 19.

Tabla 19. Lecturas de absorbancia utilizadas en curvas de calibración

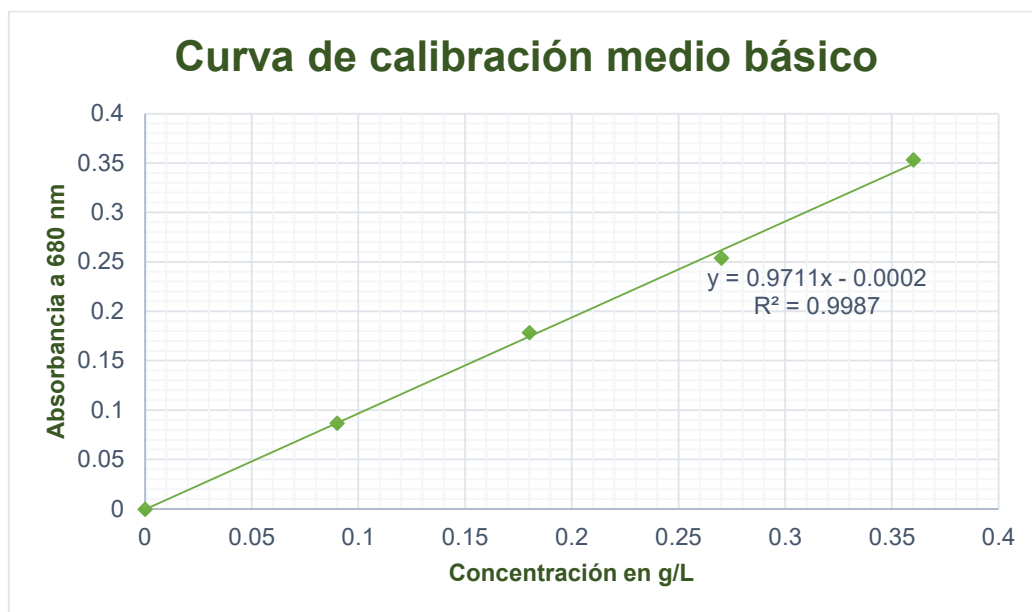
Medio	Concentración [%]	Concentración [g/L]	Abs ₁	Abs ₂	Abs _{prom}
Zarrouk modificado	0%	0	0	0	0
	20%	0.09	0.09	0.09	0.087
	40%	0.18	0.15	0.16	0.1565
	60%	0.27	0.24	0.24	0.2375
	80%	0.36	0.34	0.33	0.3355
	100%	0.45	0.41	0.42	0.4135
Medio básico	0%	0	0	0	0
	20%	0.09	0.09	0.084	0.087
	40%	0.18	0.177	0.18	0.1785
	60%	0.27	0.252	0.256	0.254
	80%	0.36	0.353	0.354	0.3535

Fuente: Elaboración propia (Lecturas de absorbancias fueron realizadas a 680nm)

En la figura 33 se muestra la curva de calibración obtenida para el medio Zarrouk modificado, utilizando como blanco para la lectura únicamente el medio de cultivo. En la gráfica es posible observar que se obtuvo un buen ajuste debido a que el R^2 mostrado en la curva corresponde a 0.9982.



En la Figura 34 se muestra la curva de calibración obtenida para el medio básico, utilizando como blanco para la lectura únicamente el medio de cultivo. En la gráfica es posible observar que se obtuvo un buen ajuste debido a que el R^2 mostrado en la curva corresponde a 0.9987.



6.2.8. Siembra del inóculo en los bioreactores

Una vez terminado el montaje de los fotobioreactores y las hieleras donde estarían contenidos, lo primero a considerar fue la cantidad de inóculo que se estaría sembrando en cada envase. Para ello, se realizó una lectura empleando el Secchi disk y con ayuda del gráfico brindado por el proveedor, se determinó que la concentración del inóculo madre en ese momento correspondió a 0.3g/L en peso seco de Spirulina (Figura 35).



coloque una manguera con piedra difusora las cuales se encuentran conectadas a la bomba, esta será la encargada de proporcionar agitación controlada a los cultivos. A su vez las luces led son conectadas a los temporizadores, los cuales ya tienen ajustados sus periodos de luz-oscuridad según cada hielera, en el caso de la hielera A corresponde al ciclo 16/8 L/D y en la hielera B el ajuste corresponde a ciclo 12/12 L/D, finalizando el montaje del sistema colocando un trozo de parafina en la parte superior de cada fotobioreactor y las tapas con las luces led a cada hielera.

6.2.9. Ensayos cinéticos

La duración de ensayos cinéticos fue de 25 días, en los que de manera diaria se realizaban lecturas de pH, temperatura, concentración en peso seco (teórica) y absorbancias.



Figura 36. Muestreos realizados durante 25 días de fase experimental
Fuente: Elaboración propia

Dentro de las variables que se estuvieron monitoreando constantemente durante los 25 días de experimentos se encuentra el pH. Utilizando cintas de pH estas eran sumergidas en cada experimento, obteniendo lecturas diarias de 11 para ambos medios de cultivo, indicando que se cumplía con la alcalinidad requerida para el crecimiento y desarrollo de Spirulina.

De igual manera, se realizaron lecturas diarias de temperaturas las cuales se mantuvieron entre los valores de 24°C a 27°C. De acuerdo a respaldos bibliográficos las temperaturas ideales para el crecimiento de Spirulina están por encima de los 25°C hasta alrededor de los 40°C por lo que las lecturas obtenidas se mantuvieron dentro del rango requerido para lograr un buen desarrollo y crecimiento de Spirulina.

Por otra parte, se dieron algunas inconvenientes relacionados a la pérdida de volumen de los bioreactores, esto principalmente durante la primera semana de la fase experimental, debido a que la columna de líquido era alta y por la agitación generada por la bomba se generaron pérdidas de líquido en cada experimento, en algunos, más que en otros. Otro inconveniente que se presentó, fue que algunas mangueras se soltaron y por ende algunos bioreactores quedaron sin agitación por periodos cortos de tiempo, sin embargo, este problema se solucionó de manera pronta debido a que se hacía una revisión diaria.

Otra característica que se observó es que en aquellos bioreactores que contenían medio básico presentaban una mayor precipitación de sedimentos (sales) con una coloración amarillenta esto debido a la presencia de hierro como parte de los reactivos que lo componen, en relación al medio Zarrouk modificado cuya precipitación de sales era menor y de coloración blanca.

6.2.10. Efecto del medio de cultivo y fotoperiodo en el crecimiento de biomasa de Spirulina

Una vez culminado el experimento, con los datos obtenidos en las lecturas diarias, se identificaron los datos atípicos entre cada triplicado, que pudieron ser atribuidos a errores humanos, del equipo, o al mismo comportamiento de la microalga. Luego de esto, se normalizaron las lecturas obtenidas con respecto al día 0 y con esto se construyó la gráfica de la cinética de comportamiento del crecimiento de Spirulina.

En la Figura 37 se muestra la curva que representa la cinética de crecimiento de Spirulina la cual fue cultivada empleando el medio Zarrouk modificado, con un fotoperiodo de 16/8 durante un periodo experimental de 25 días. Durante los primeros días del experimento (días 0–2), el cultivo presentó una fase lag o fase de adaptación, caracterizada por valores bajos y constantes de concentración, esta etapa corresponde al proceso de aclimatación de la microalga a las nuevas condiciones del sistema de cultivo, incluyendo el medio cultivo, la iluminación y la aireación.

A partir del día 3 se observa el inicio de la fase exponencial de crecimiento en esta etapa la *Spirulina* ya se adaptó a las condiciones que le proporcionaba el sistema, este crecimiento exponencial se mantuvo hasta el día 25 en donde la *Spirulina* alcanza el valor máximo de concentración normalizada el cual corresponde $33.70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial.

Por otra parte, es importante señalar que el comportamiento irregular observado en la curva, caracterizado por la presencia de incrementos y descensos puntuales en la concentración, se asocia principalmente a la naturaleza del medio de cultivo, no se identificó relación directa de estas variaciones con las condiciones del sistema, tales como temperatura, agitación, disponibilidad de nutrientes, iluminación, ni con los días en los que las muestras fueron sometidas a congelación para su posterior análisis.

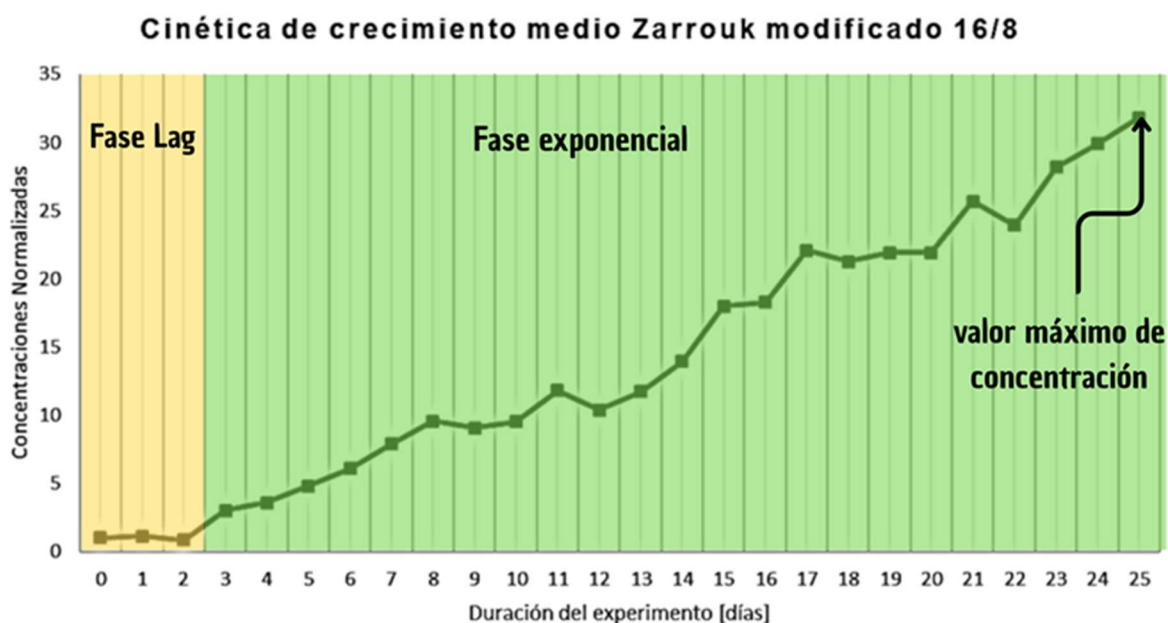


Figura 37. Curva de cinética de crecimiento de *Spirulina* en medio Zarrouk modificado 16/8
Fuente: Elaboración propia

En la Figura 38 se muestra la curva de la cinética de crecimiento de *Spirulina* cultivada empleando el medio Zarrouk modificado con fotoperiodo de 12/12, a lo largo de toda la fase experimental la cual correspondió a 25 días.

Analizando la curva entre los días 0-2 se representa una fase de adaptación, en la cual la *Spirulina* se adapta a las condiciones nuevas proporcionadas por el sistema. A partir del día 3, se observa el inicio de la fase exponencial de crecimiento, evidenciada por un incremento progresivo de la concentración. Este crecimiento se mantiene de forma continua a lo largo del periodo experimental, lo que indica una adaptación de la *Spirulina* a las condiciones de nutrientes proporcionados por el medio de cultivo, iluminación y agitación.

Para el día 25 el cultivo de *Spirulina* alcanza su valor de concentración normalizado más alto el cual corresponde a $26.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial. El comportamiento irregular de la curva, al igual que en el caso anterior tiene relación directa con la naturaleza del medio de cultivo debido a que dichas variaciones no mostraron correlación con factores del sistema, tales como temperatura, agitación, iluminación, disponibilidad de nutrientes ni con los procedimientos de muestreo y conservación de las muestras.

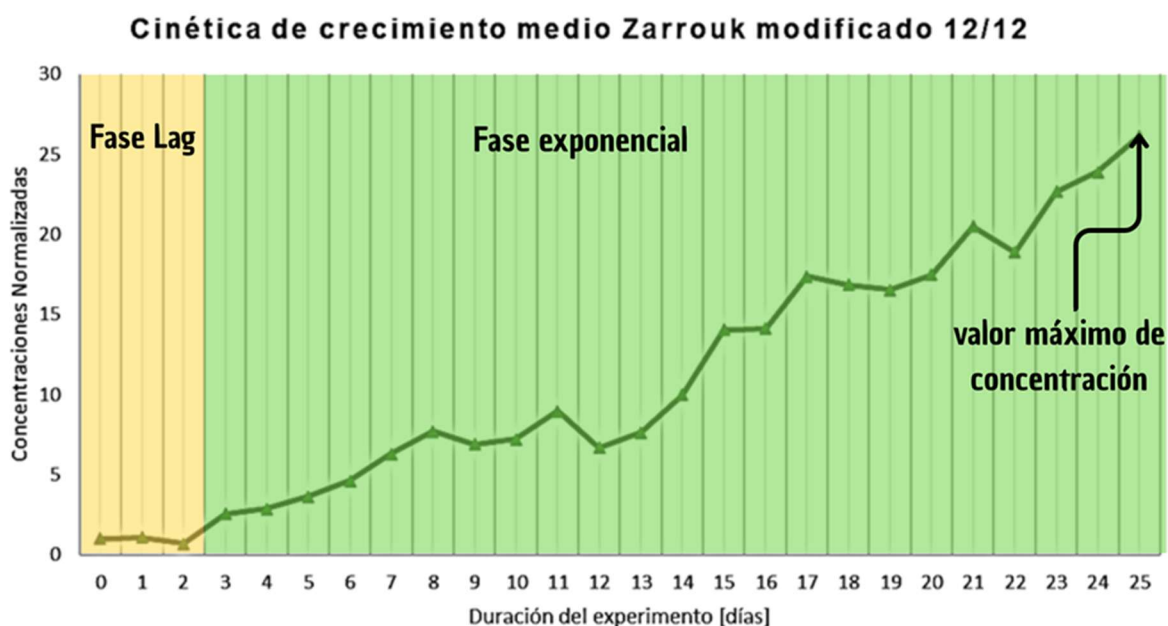


Figura 38. Curva de cinética de crecimiento de *Spirulina* en medio Zarrouk modificado 12/12
Fuente: Elaboración propia

En la figura 39 se presenta la curva de la cinética de crecimiento de *Spirulina* en medio básico con un fotoperiodo de 16/8, en esta se muestra el comportamiento de la cinética de crecimiento a lo largo de 25 días los cuales corresponden a la duración de la fase experimental y las concentraciones normalizadas obtenidas.

Entre los días 0-2 que se representa en la Figura 39 con color amarillo estos corresponden a la fase de adaptación de la *Spirulina* a las nuevas condiciones que le proporciona el sistema. A partir del día 3, se evidencia el inicio de una fase de crecimiento exponencial, reflejada por un incremento en la concentración. Esta etapa se mantiene a lo largo de la mayor parte del periodo experimental.

Hacia los días 22-23, el cultivo alcanza el valor máximo de concentración normalizada la cual correspondió a $17.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ inicial. Posteriormente, en los días 24-25, se observa la transición hacia una fase estacionaria, caracterizada por la estabilización e inicio de un ligero descenso en la concentración, debido a que los nutrientes proporcionados por el medio de cultivo fueron consumidos en la fase anterior.

Este medio de cultivo presenta un comportamiento estable con menor cantidad de fluctuaciones en las concentraciones normalizadas a lo largo de los 25 días de la fase experimental.

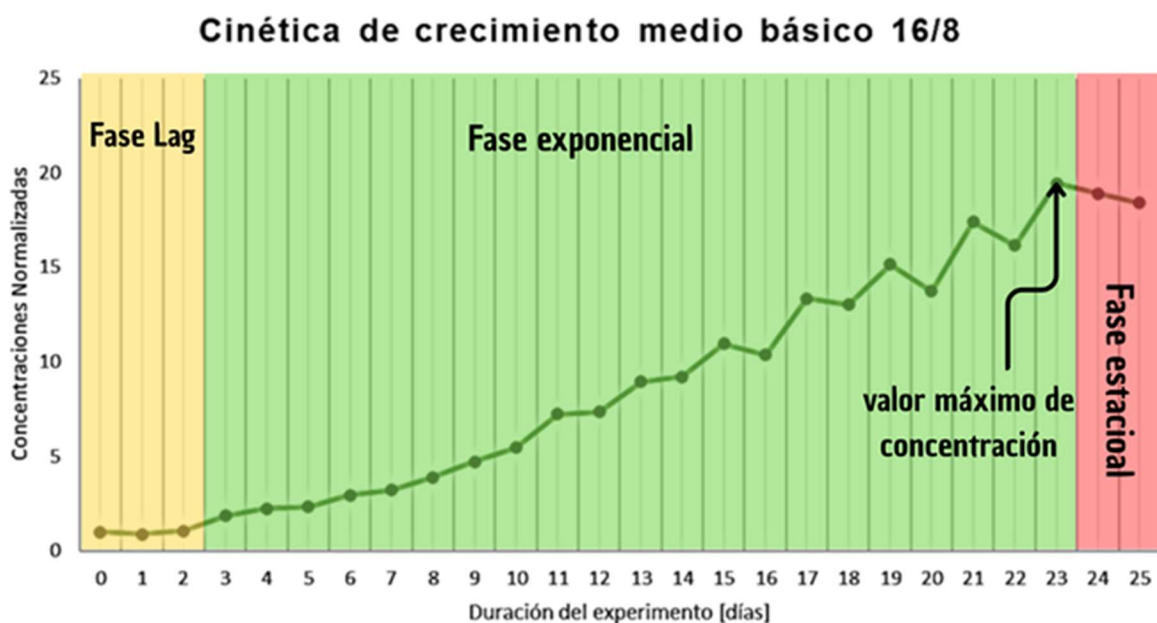


Figura 39. Curva de cinética de crecimiento de *Spirulina* en medio básico 16/8

Fuente: Elaboración propia

La curva presentada en la Figura 40 muestra la cinética de crecimiento de *Spirulina* cultivada en medio básico bajo un fotoperiodo 12/12. En el eje X se representa la duración de la fase experimental, correspondiente a 25 días de cultivo, mientras que en el eje Y se indican las concentraciones normalizadas de biomasa.

En la curva se observa que entre los días 0-3 corresponde a una fase de adaptación de *Spirulina* a las condiciones que se le proporcionan en el experimento, llegando al día 4 inicia la fase de crecimiento exponencial en el cual la microalga aumenta su crecimiento y por ende concentración debido a que aprovecha todas las condiciones prestadas en cuanto a nutrientes, iluminación y agitación, obteniéndose su mayor concentración normalizada correspondiente a 11.53 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ inicial para el día 23. Posterior al día 23 inicia la fase estacional en donde la concentración desciende debido a que la microalga ya ha consumido todos los nutrientes proporcionados por el medio básico.

En cuanto al comportamiento de la curva, se observa un crecimiento estable y continuo, sin fluctuaciones en la concentración. Sin embargo, este patrón cambia después del día 16, donde sí se presentan variaciones. Estas fluctuaciones pueden asociarse a cambios en la temperatura del sistema, dado que los valores más bajos de concentración coinciden con los días en los que se registraron las temperaturas mínimas, cercanas a 24 °C.

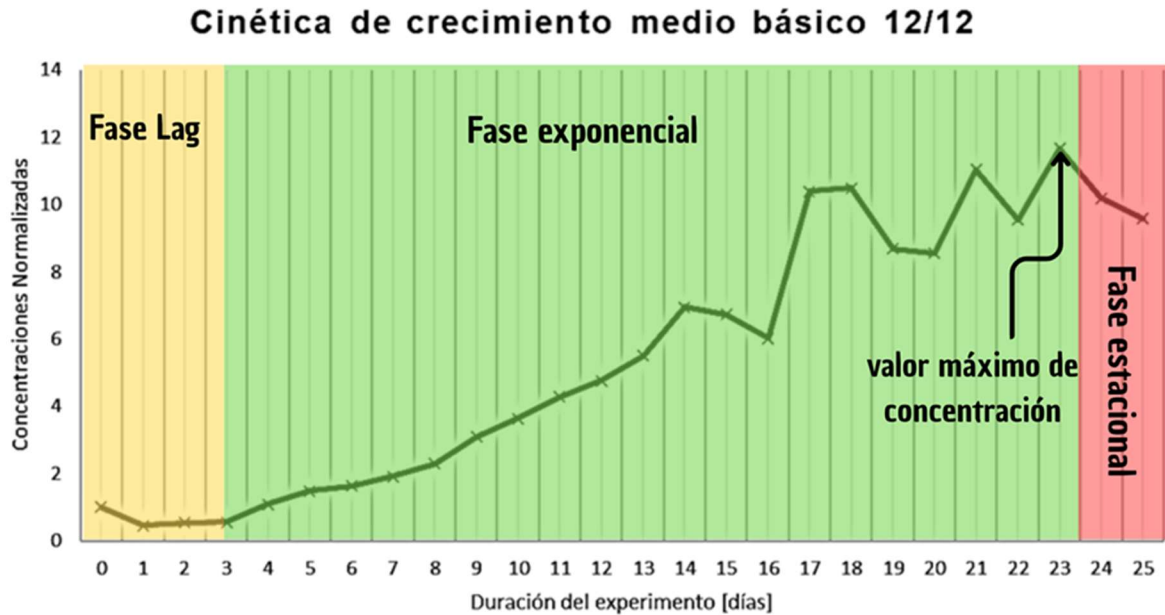


Figura 40. Curva de cinética de crecimiento de *Spirulina* en medio básico 12/12
Fuente: Elaboración propia

Las lecturas de absorbancia que se realizaron diariamente fueron con la finalidad de tener un registro del comportamiento y cinética de crecimiento de *Spirulina* a lo largo de los 25 días de la fase experimental, este comportamiento se ve reflejado en las curvas que se presentan en la Figura 41.

Realizando una comparación de entre las cuatro curvas se observa que las dos que se encuentran posicionadas en la parte superior corresponden al medio de cultivo Zarrouk modificado lo que confirma que este medio tiene buenas tasas de crecimiento, sin embargo, su comportamiento tiende a ser irregular a lo largo del tiempo, mientras que las dos curvas en la parte inferior corresponde a medio básico tienen un comportamiento controlado que permiten observar de forma clara la cinética de crecimiento de la *Spirulina*, pero sus tasas de crecimiento son menores.

Al comparar únicamente los experimentos realizados con el mismo medio de cultivo, se observa que las curvas de crecimiento correspondientes a los ensayos expuestos a 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad se encuentran en la parte superior. Esto indica que el tiempo de exposición a la luz constituye una variable significativa y determinante para alcanzar mayores valores de concentración.

A pesar de que los ciclos de luz oscuridad 12/12 imita el comportamiento que se encuentra idealmente en la naturaleza exponer a la *Spirulina* a mayor cantidades de luz incrementa la cinética de crecimiento y, por ende, disminuye los tiempos de espera entre siembras y cosechas, de la misma manera es importante resaltar que al realizar procesos fotosintéticos y obtener de la luz la energía necesaria para su crecimiento los tiempos de oscuridad también son importantes debido a que se evita el estrés lumínico y permite su fase de respiración celular, por lo que para mantener

este equilibrio con los datos obtenidos en este experimento y fundamentado con bases bibliográficas lo ideal son fotoperíodos de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

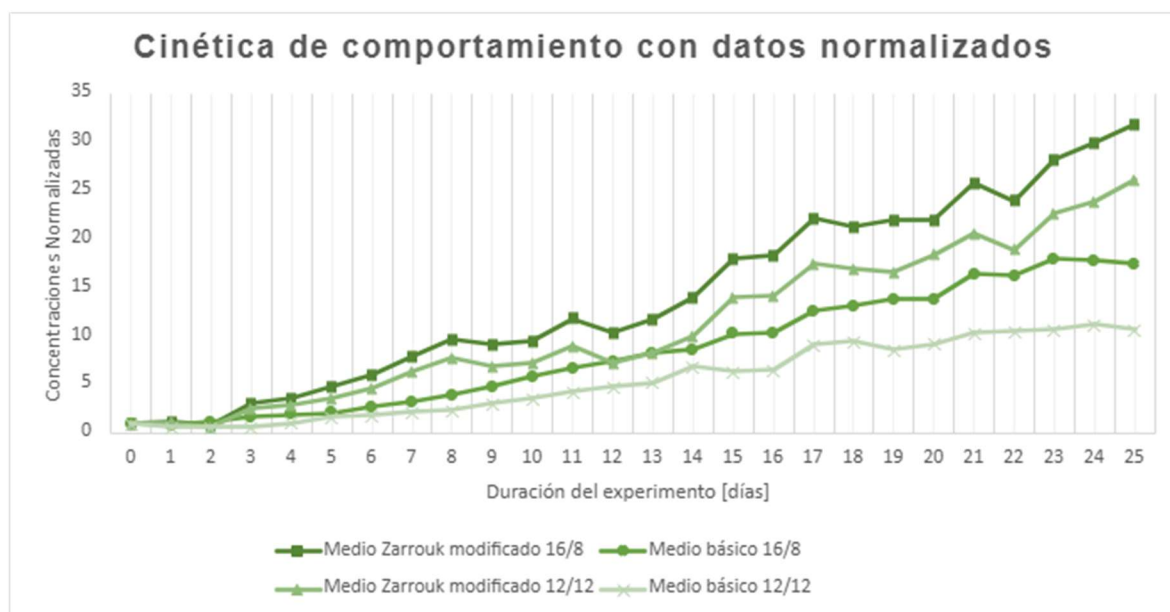


Figura 41. Gráfico del comportamiento de la cinética de crecimiento de Spirulina
Fuente: Elaboración propia

Las lecturas de absorbancia permiten tener una medida directa de la concentración, permitiendo conocer claramente el comportamiento de la cinética de crecimiento, sin embargo, otro factor importante a considerar es el rendimiento de biomasa final obtenido, de manera que se confirme el crecimiento de los cultivos de Spirulina.

Para inicialmente saber la concentración del inóculo madre se utilizó la herramienta conocida con Secchi disk y su respectivo gráfico del cual se hace mención en acápite anterior, la lectura inicial de las concentraciones de biomasa seca fue de 0.3 g de biomasa seca por litro. Las extracciones de biomasa promedio normalizadas para cada uno de los biorreactores corresponde a los resultados que se presentan en la Tabla 20 y Figura 42.

Tabla 20. Lecturas de absorbancia utilizadas en curvas de calibración

Medio	Fotoperíodo	Normalizado
Medio Zarrouk modificado	16/8	20,8467
Medio básico	16/8	14,4742
Medio Zarrouk modificado	12/12	18,3920
Medio básico	12/12	9,1154

Fuente: Elaboración propia

En la primera barra del gráfico presentado anteriormente se indica que la relación de concentración final es 20.85 veces mayor respecto a la concentración inicial del inóculo en el medio Zarrouk modificado expuesto a un fotoperíodo de 16/8 h, tal como se aprecia en el Figura 42 esta relación de crecimiento es la mayor de los cuatro tipos de tratamientos abordados, en contraste con la última barra de la Figura 42 en donde se observa que la concentración final es de 9.12 veces mayor a la del inóculo inicial en el medio básico con un fotoperíodo de 12/12 h. De igual manera, al comparar los cuatro tratamientos relacionando medio y fotoperíodo los que presentan un mayor aumento de la concentración final respecto a la que existía inicial siempre corresponde al medio Zarrouk modificado, por lo que es evidente que el crecimiento de biomasa en este medio ocurre de manera efectiva.

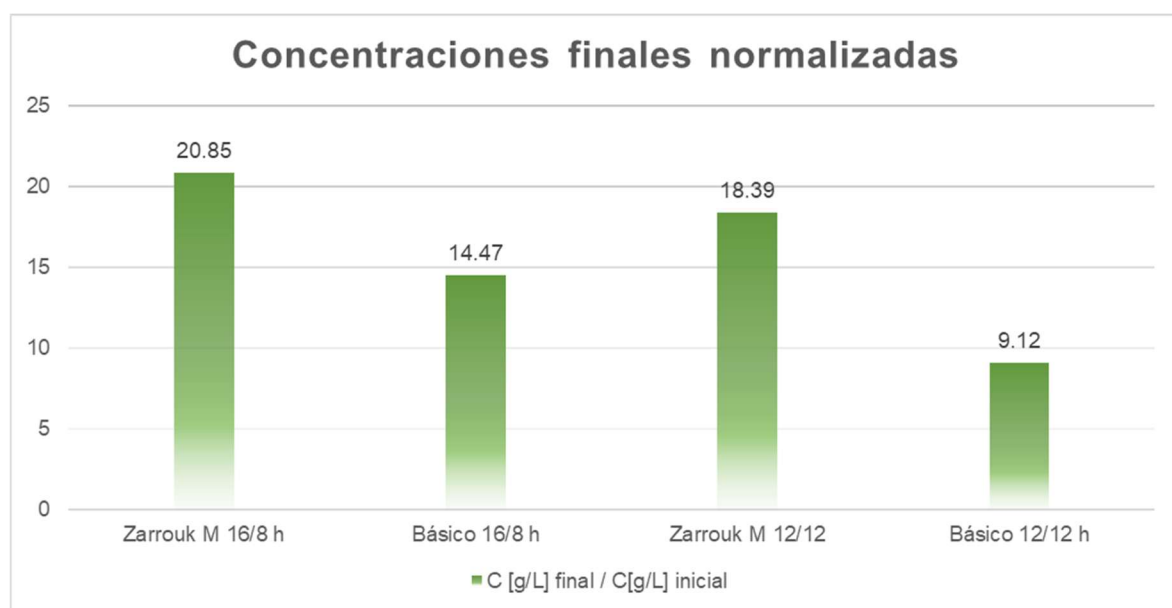


Figura 42. Concentraciones finales normalizadas

Fuente: Elaboración propia

6.3. Modelación matemática de la cinética de crecimiento de *Arthrospira platensis* mediante los modelos logístico y de Monod

Las curvas mostradas en el acápite anterior corresponden a los resultados del procesamiento y normalización de los datos obtenidos al largo de los 25 días de la fase experimental, evidenciando el comportamiento que a rasgos generales tiene el crecimiento de los cultivos de Spirulina.

Para además de conocer que es lo que sucedió de manera general en la fase experimental y determinar sus causas y posible comportamiento a futuro es necesario que los datos obtenidos sean ajustados a un modelo matemático que en el caso de este trabajo monográfico corresponde al modelo de Monod.

Como ya se explicó en la sección 3.8, el modelo de Monod permite describir las tasas de crecimiento en función de ya sea, la concentración de un sustrato, o de la biomasa presente en el biorreactor. Al realizar un ajuste de las curvas obtenidas a este modelo permite que se obtengan parámetros cinéticos de gran importancia como lo son la tasa específica de crecimiento, concentración máxima y tiempo en el que se alcanza la máxima tasa de crecimiento.

Para ajustar la cinética de crecimiento de Spirulina obtenida durante la fase experimental al modelo matemático se empleó como herramienta el *curve fitting toolbox* de MATLAB para el ajuste de regresión de los parámetros señalados en el método de Monod. El gráfico con los datos ajustados a este modelo se muestra en la Figura 43.

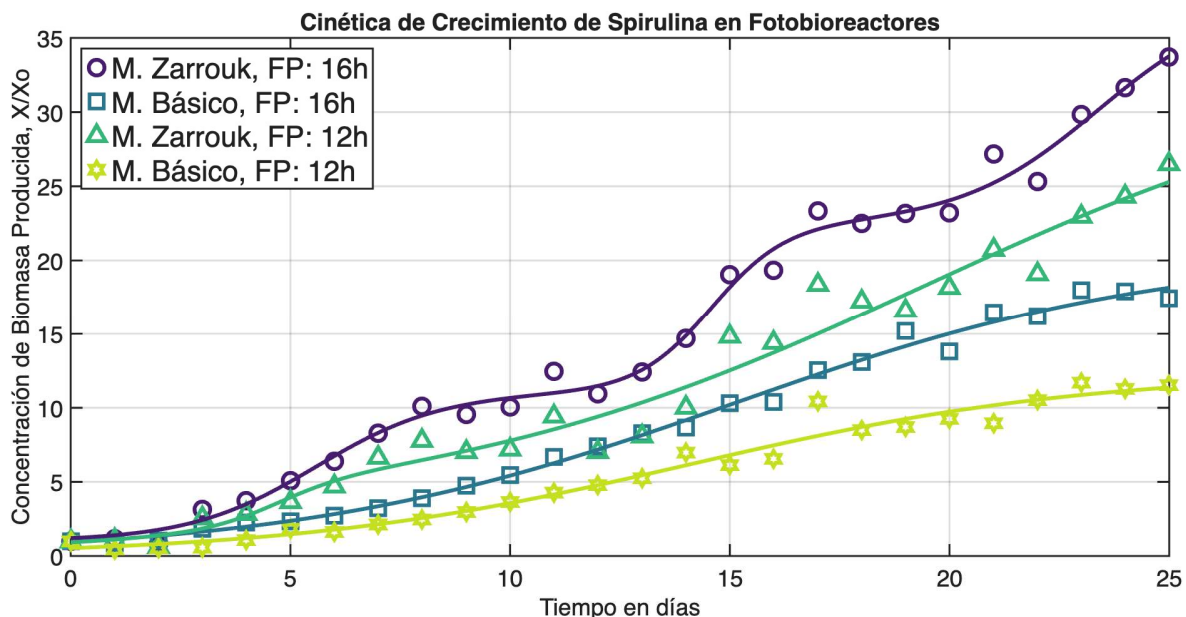


Figura 43. Gráfico de fase experimental ajustado al modelo de Monod

Fuente: Elaboración propia

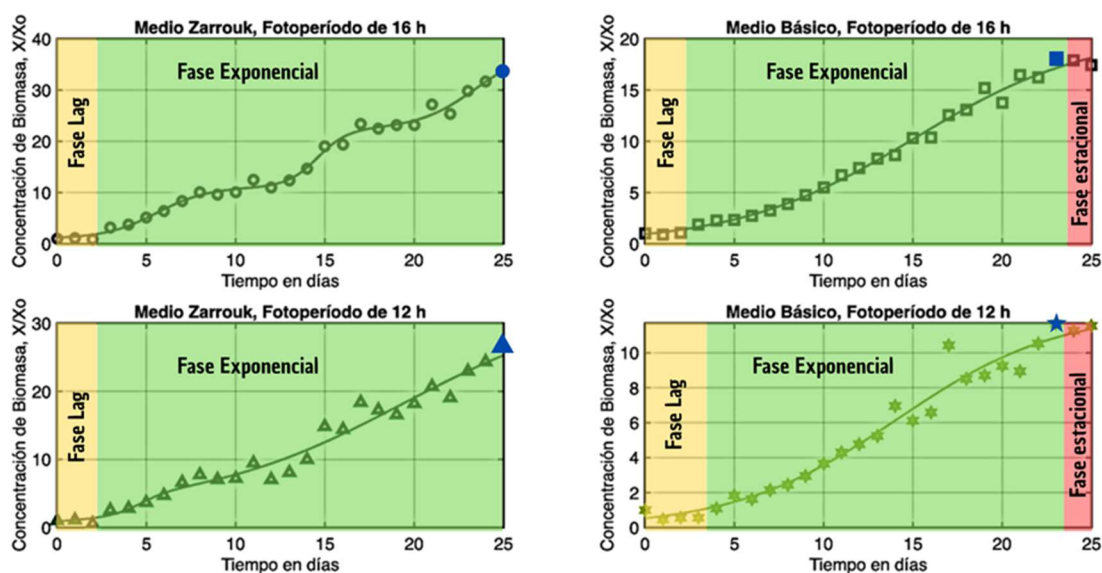


Figura 44. Gráfico de fase experimental ajustado al modelo de Monod para cada medio y fotoperíodo

Fuente: Elaboración propia

El ajuste de los datos al modelo matemático de Monod (Ecuaciones 14,15 y 16) permite determinar varios parámetros de crecimiento, entre ellos, la capacidad máxima de crecimiento (X_{max}) indicando la biomasa máxima alcanzada de Spirulina a esas condiciones experimentales. Este parámetro permite comparar la eficacia de crecimiento en distintos medios de cultivo y fotoperíodos, a valores mayores de X_{max} se puede alcanzar mayor biomasa.

El parámetro de tiempo de crecimiento exponencial (t_{exp}) indica el tiempo en el cual la biomasa alcanza su mayor tasa de crecimiento, de importancia porque tiempos menores indican que la Spirulina se adapta más rápido a las condiciones de cultivo. El parámetro de tasa de crecimiento específica de Monod (μ), indica la tasa de crecimiento del cultivo en el periodo exponencial, mientras mayor sea, mayor generación de biomasa se obtiene.

A las tres réplicas de cada tratamiento se le realizó un análisis estadístico, calculando el promedio y desviación estándar. Con esto, se excluyeron los valores atípicos que tuvieran un coeficiente de variación mayor a 0.10, y se obtuvo el promedio normalizado para cada tratamiento. Luego se realizó el ajuste de los datos al modelo de Monod, y se determinaron los parámetros cinéticos de cada tratamiento a los datos promedios y normalizados, dichos parámetros se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Parámetros cinéticos obtenidos del modelo Monod

Medio Zarrouk modificado 16/8 R²= 0.9933			
X_{max1} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp1} (día)	μ_1 (día⁻¹)	
10.058	5.588	0.6937	
X_{max2} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp2} (día)	μ_2 (día⁻¹)	
11.427	14.587	1.171	
X_{max3} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp3} (día)	μ_3 (día⁻¹)	
15.295	23.379	0.6384	
$X_{max\ total}$ (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	$t_{efectivo}$ (día)	$\mu_{promedio}$ (día⁻¹)	θ (g/L*día)
36.780	16.97	0.7768	0.04136
Medio Zarrouk modificado 12/12 R²= 0.9931			
X_{max1} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp1} (día)	μ_1 (día⁻¹)	
3.031	4.683	1.2496	
X_{max2} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp2} (día)	μ_2 (día⁻¹)	
30.448	19.414	0.1792	
$X_{max\ total}$ (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	$t_{efectivo}$ (día)	$\mu_{promedio}$ (día⁻¹)	θ (g/L*día)
33.479	28.04	0.3134	0.03339
Medio básico 16/8 R²= 0.9701			
X_{max1} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp1} (día)	μ_1 (día⁻¹)	
20.615	15.102	0.2020	
$X_{max\ total}$ (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	$t_{efectivo}$ (día)	$\mu_{promedio}$ (día⁻¹)	θ (g/L*día)
20.615	21.75	0.2020	0.04758
Medio básico 12/12 R²= 0.9714			
X_{max1} (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	t_{exp1} (día)	μ_1 (día⁻¹)	
12.404	14.120	0.2201	
$X_{max\ total}$ (g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial)	$t_{efectivo}$ (día)	$\mu_{promedio}$ (día⁻¹)	θ (g/L*día)
12.404	19.97	0.2201	0.03728

Fuente: Elaboración propia

Luego de realizar el ajuste de los resultados experimentales al modelo de Monod, se observan en la Tabla 21 presentada con anterioridad los parámetros cinéticos obtenidos, se debe destacar que se realizó un ajuste a cada tratamiento abordado, esto se reflejó en la Figura 44. Tal como se aprecia en dicha figura, existen dos curvas que presentan varios ciclos de crecimiento, ambas correspondientes al medio Zarrouk modificado, es por ello que en la Tabla 20 se muestran parámetros para cada ciclo, sin embargo, para fines de comparación se utilizaron los valores promedios calculados con las ecuaciones 17 a 19, colocados en la parte inferior de cada uno de los tratamientos.

El primer parámetro cinético presentado en la tabla corresponde a $X_{max\ total}$ cuya unidad de medida es g/L y representa el valor máximo de concentración que puede

llegar a alcanzar cada uno de los tratamientos, al realizar una comparación de los valores presentados en la primera columna es evidente que el medio Zarrouk modificado bajo un fotoperíodo de 16/8 h es que obtiene el mayor valor correspondiente a $36.780 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ inicial, indicando entonces que este es el valor máximo de concentración de biomasa micro algal que puede llegar a alcanzar. Esto contrasta con los resultados de los experimentos cultivados en medio básico con fotoperíodos de 12/12 h el cual representa el valor más bajo de $12.404 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ inicial. Al realizar una comparación general de los 4 experimentos es claro que el medio Zarrouk modificado es el que presenta mejores condiciones para que dichos experimentos logren alcanzar valores de concentraciones máximas elevadas.

En la siguiente columna en la parte superior de cada uno de los tratamientos el parámetro que se cuantificó corresponde a t_{exp} cuyas unidad de medición es días, es importante señalar que aunque los experimentos del medio Zarrouk modificado presentan más de un ciclo de crecimiento el t_{exp} el que se tomará corresponde al del primer ciclo, esto debido a que dicho parámetro lo que indica es el tiempo que le toma a la microalga adaptarse e iniciar su crecimiento, en este caso aquel experimento que obtenga un valor bajo de este parámetro es el mejor, lo que significa que el experimento cuenta con las condiciones necesarias para una rápida adaptación, lo que acelera el tiempo de inicio de la fase de crecimiento. De acuerdo a los resultados presentados en la tabla claramente el medio Zarrouk modificado independientemente de sus fotoperíodos es el que destaca como el mejor.

De igual manera si se considera la combinación de los parámetros $t_{efectivo}$ el cual indica el tiempo efectivo en el que realmente está creciendo la biomasa microalgal y $\mu_{promedio}$ la cual indica la tasa de crecimiento promedio, al comparar estos parámetros se determina que aquel experimento que tiene un tiempo efectivo menor en contraste con una tasa de crecimiento promedio alta representan las mejores condiciones, esta combinación se aprecia para el medio Zarrouk modifica con fotoperíodo de 16/8 h con t_{exp} correspondiente a 16.97 días , el menor de todos los experimentos y una $\mu_{promedio}$ de 0.7768 día^{-1} , la mayor de todos los tratamientos, lo que indica que estas condiciones de medio y fotoperíodo son las que presentan mejores resultados.

El último parámetro a analizar corresponde a la productividad la cual se representa como θ y cuyas unidades corresponden a $\text{g/L}\cdot\text{día}$ esta tiene especial utilidad al indicar la eficiencia y rentabilidad que tendría este proceso a escala industrial, en este sentido se espera alcanzar valores altos. Para este parámetro los mayores valores alcanzados corresponden al medio básico con un fotoperíodo de 16/8 h con un valor de $0.04758 \text{ g/L}\cdot\text{día}$, al observar el ajuste de las curva de crecimiento se aprecia que el medio básico logra alcanzar su punto máximo de crecimiento en el día 23 seguido de una estacionaria, en contraste con el medio Zarrouk modificado que aun para el 25 sigue en fase de crecimiento exponencial, es por ello que el medio básico presenta los valores más altos de productividad ya que este si logra su punto máximo de crecimiento dentro del tiempo de la fase experimental.

6.4. Estimación de las condiciones óptimas de crecimiento de Spirulina

Considerando los parámetros cinéticos obtenidos del ajuste al modelo de Monod que se presentan en la Tabla 20, la estimación de las condiciones óptimas se centra en la productividad (θ) y el tiempo.

El parámetro θ , expresado en g/L·día, refleja la eficiencia del proceso de crecimiento y su potencial rentabilidad a escala industrial. Los mayores valores de productividad se obtuvieron en los tratamientos con medio básico y fotoperíodo 16/8 h (0.04758 g/L·día), seguido del medio Zarrouk modificado 16/8 h (0.04136 g/L·día). Esto se debe a que, en el medio básico, aunque la concentración máxima de biomasa es menor que en Zarrouk modificado, el cultivo logra alcanzar su punto máximo de crecimiento dentro del periodo experimental, optimizando la producción diaria de biomasa.

Para el medio básico 16/8 h, el cultivo alcanza su máxima concentración para el día 23 como se muestra en la Figura 44, mientras que en el medio Zarrouk modificado 16/8 h, el cultivo aún permanece en fase exponencial al día 25, lo que indica que no se logra aprovechar completamente el ciclo de crecimiento dentro del tiempo experimental. Por ello, el medio básico permite completar el ciclo de producción de forma más eficiente dentro del tiempo límite de 25 días que duró la fase experimental.

Al combinar ambos criterios, las condiciones óptimas de crecimiento considerando productividad y tiempo máximo alcanzable corresponden a el medio básico con fotoperíodo 16/8 h, ya que permite alcanzar un valor de productividad más alto (0.04758 g/L·día) y completar el ciclo de crecimiento dentro del periodo experimental de 25 días, maximizando la biomasa diaria producida.

Es importante mencionar que si se siguen analizando los parámetros cinéticos obtenidos el medio Zarrouk modificado alcanza una $X_{\max total}$ de 36.780 g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial, esto indica que, aunque el cultivo esté en fase exponencial al final del periodo experimental, la microalga tiene la capacidad de continuar creciendo y acumular más biomasa si se prolonga el tiempo de cultivo, es por ello que su productividad para el día 25 es menor, sin embargo con una mayor cantidad de tiempo esta presenta potencial de seguir aumentando, en cambio en el medio básico su productividad máxima ya se alcanzó, esto es especialmente relevante para aplicaciones industriales donde se busca maximizar la biomasa total más que la rapidez de producción diaria.

Por tanto, el medio básico es ideal para ciclos cortos con alta productividad diaria, mientras que el medio Zarrouk modificado se convierte en la mejor opción a largo plazo debido a su capacidad de mantener crecimiento activo y alcanzar el máximo de biomasa.

Adicionalmente, los resultados obtenidos en la presente investigación fueron comparados con estudios previos sobre el crecimiento de *Spirulina* bajo diferentes medios de cultivo y condiciones de iluminación, específicamente con la tesis de Silos Vega y el trabajo de Zabala Blanco y Suárez Hurtado.

La concentración máxima real de biomasa registrada durante la fase experimental de 25 días fue de 0.96 g/L (véase Anexo A7). Este valor es consistente con lo reportado por Silos Vega en el estudio *Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y valor nutricional de Arthrospira maxima*, donde se evaluó el crecimiento de *Arthrospira maxima* en medio Zarrouk modificado, alcanzándose una biomasa máxima de 1.07 g/L a los 33 días de cultivo, coincidiendo con el inicio de la fase estacionaria (Silos Vega, 2021). Esta similitud en los resultados confirma que el medio Zarrouk modificado favorece un crecimiento sostenido y una acumulación progresiva de biomasa cuando se dispone de periodos prolongados de cultivo.

Asimismo, al comparar las curvas de cinética de crecimiento, se observó de manera consistente que, aun cuando los tratamientos compartían el mismo medio de cultivo, las mayores tasas de crecimiento y concentraciones de biomasa correspondieron siempre a los tratamientos sometidos a fotoperíodos de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Este patrón coincide con lo reportado por Zabala Blanco y Suárez Hurtado en su estudio *Identificación del fotoperíodo más eficiente para incrementar el crecimiento de la microalga (Spirulina platensis) a partir de un sistema cerrado a escala de laboratorio*, en el cual se evaluaron fotoperíodos de 12/12, 14/10 y 16/8 horas de luz/oscuridad, utilizando exclusivamente medio Zarrouk modificado y diferentes flujos volumétricos de aireación. Los autores concluyeron que el fotoperíodo de 16/8 produjo la mayor concentración de biomasa de *Spirulina* (Zabala Blanco & Suárez Hurtado, 2023), lo que respalda directamente los resultados obtenidos en la presente investigación.

VII. CONCLUSIONES

Se determinó que las condiciones del medio de cultivo y del fotoperíodo influyen en el crecimiento de *Spirulina (Arthrospira platensis)* en fotobioreactores a escala de laboratorio. En los tratamientos evaluados, el medio de cultivo Zarrouk modificado con un fotoperíodo de 16/8 h mostró el mejor desempeño, demostrando que puede llegar a alcanzar una concentración máxima de biomasa de $X_{\max total}$ de 36.780 g·L⁻¹/g·L⁻¹ inicial y una tasa de crecimiento promedio correspondiente a 0.7768 día⁻¹.

El estudio de la cinética de crecimiento de *Spirulina (Arthrospira platensis)* permitió ajustar los datos experimentales y su comportamiento en los fotobioreactores al modelo matemático logístico de Monod. A partir de este ajuste se estimaron parámetros cinéticos relevantes como: $X_{\max total}$, t_{exp} , $t_{efectivo}$, $\mu_{promedio}$ y θ . Estos parámetros demuestran que la modelación matemática constituye una herramienta útil para predecir el rendimiento del cultivo y optimizar su comportamiento en sistemas a mayor escala.

A partir de los resultados obtenidos, se estimó que las condiciones óptimas para el cultivo corresponden al medio Zarrouk modificado con un fotoperíodo de 16/8 h, donde se alcanzó una $\mu_{promedio}$ (tasa de crecimiento promedio) de 0.7768 día⁻¹ y un $t_{efectivo}$ (tiempo efectivo) de 16.97 días. Estas condiciones representan el punto de equilibrio entre la intensidad lumínica, el suministro de nutrientes y el tiempo de exposición, garantizando una mayor eficiencia en la producción de biomasa de *Spirulina (Arthrospira Platensis)*.

Los resultados obtenidos permiten confirmar que la *Spirulina (Arthrospira platensis)* presenta un alto potencial para su cultivo en sistemas controlados, al obtener de 36.8 a 14.2 veces la concentración de inóculo inicial, dependiendo de las condiciones. Los mejores resultados dependerán de que se optimicen las condiciones de medio de cultivo, fotoperíodos y tiempo de cultivo. La aplicación de modelos matemáticos permitió describir con precisión la cinética de crecimiento ($R^2 > 0.97$ y > 0.99 para medio básico y Zarrouk modificado, respectivamente) y estimar parámetros fundamentales para la comprensión del comportamiento de *Spirulina (Arthrospira platensis)*. Los resultados obtenidos fortalecen el conocimiento sobre el comportamiento del cultivo de *Arthrospira platensis* y brindan una base útil para mejorar y aplicar este tipo de procesos en diferentes escalas de producción.

En conjunto, los resultados permitieron cumplir los objetivos planteados, al confirmar la influencia del medio de cultivo y del fotoperíodo en el crecimiento de *Spirulina (Arthrospira platensis)* en fotobioreactores a escala de laboratorio. La modelación matemática de la cinética de crecimiento permitió describir adecuadamente el comportamiento del cultivo y estimar parámetros cinéticos relevantes. Asimismo, el medio Zarrouk modificado con un fotoperíodo de 16/8 h se identificó como la condición óptima para la producción de biomasa de *Arthrospira platensis* a diferentes escalas.

VIII. RECOMENDACIONES

En futuras investigaciones, se recomienda tomar en cuenta las siguientes consideraciones: a la hora de realizar la inoculación, esperar hasta que el inóculo madre se encuentre en su fase estacionaria para que exista una saturación microalgal, así como utilizar una concentración mayor al 10% y trabajar en bioreactores cerrados de mayor capacidad al 70% de su capacidad máxima, esto para acelerar el tiempo en que la microalga alcance llegar a su fase estacionaria y disminuir errores e interferencias que puedan aparecer en las mediciones por pérdidas de volumen por aireación en los días iniciales y por muestreos y consumo de sustrato que sobrepasen el 50% del volumen inicial del biorreactor.

Así mismo, se recomienda realizar una filtración de los medios de cultivos una vez preparados y antes de ser dosificados a los experimentos, para evitar errores en las lecturas debido a sedimentos en los biorreactores por exceso de sales minerales. Igualmente, se recomienda realizar la inoculación de los bioreactores en concentraciones %p/v, con el peso húmedo del inóculo, con el fin de evitar ruido en las lecturas por realizar una mezcla entre ambos medios.

Para complementar los hallazgos de esta investigación, es necesario profundizar en el análisis de todo el conjunto de variables críticas que se requieren para garantizar el crecimiento de la microalga *Spirulina A. platensis*, para poder hacer un análisis global y determinar la combinación exacta de condiciones que se deben de cumplir para obtener las mejores tasas de crecimiento y la mayor productividad del sistema.

Es importante que los responsables de las áreas de investigación en las diversas instituciones nacionales consideren estos hallazgos y la relevancia de esta investigación en el campo de la biotecnología y la innovación nacional para que se les brinde el apoyo y el acompañamiento necesario a todos aquellos futuros estudiantes que tengan un interés en complementar y desarrollar aún más este tema, cumpliendo con lo establecido en el Plan Nacional de Desarrollo 2022-2026.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- AuYeung, C. (01 de Noviembre de 2025). *Gas Collection by Water Displacement*. Obtenido de flexbooks.ck12.org: <https://flexbooks.ck12.org/cbook/ck-12-chemistry-flexbook-2.0/section/14.14/primary/lesson/gas-collection-by-water-displacement-chem/>
- Barra, R. (2010). *Diseño de un Fotobioreactor industrial para cultivo de Spirulina (Arthrospira Platensis)*. Escuela superior politecnica del litoral.
- Becker. (2007). Microalgas como fuente de proteínas. *ELSEVIER*, 207-210.
- Blanco, C. Z., & Hurtado, O. S. (2023). *Identificación de fotoperiodo más eficiente para incrementar el crecimiento de la microalga (Spirulina Platensis) a partir de un sistema cerrado a escala de laboratorio*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.
- Cerdá, E. (2012). Energía obtenida a partir de biomasa. *Cuadernos economicos de ICE*, 117-138.
- Cruz, C. (2018). *Sistema automatizado de control de variables fisicoquimicas en un prototipo para favorecer la apropiación social del cultivo de Spirulina spp.* San Pedro Traqueplaque: INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE.
- Cruz, C. (2018). Sistemas automatizados de control de variables fisicoquimicas en un prototipo para favorecer la apropiación social del cultivo de spirulina spp. *INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS*.
- CULTIVO ARTESANAL DE SPIRULINA. (2005). Francia.
- Diaz, N., Barcena, J., Reyes, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado, J., . . . Túnez, I. (2010). ESPECTROFOTOMETRIA: Espectros de absorción y cantificación colorimétrica de biomoléculas. *Departamento de bioquímica y biología molecular*, 8.
- Duarte, A. (1996). Evaluación de los parámetros cinético de la ecuación de Monod. *Ingenieria e investigación*, 123-124.
- Fernandez, G., Reis, A., Wijffels, R., Barbosa, M., Verdelho, V., & Llamas, B. (2021). The role of microalgae in the bioeconomy. *ELSEVIER*, 99-107.
- Gomez, L. (2007). Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de quimica*, 3-20.

- Hernandez, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*.
- Huarachi, R., Yapo, Ú., Dueñas, Á., González, R., Condori, J., Pacheco, D., & Soto, J. (2015). Adaptabilidad de *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyta) en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales. *IDESIA*, 103-112.
- Huber, M. (2021). *Algae Culturing Manual*. Buena Vista Way: Algae Research and Supply, Inc.
- Laura, J. (2021). *Modelamiento matematico para la optimización de los factores que influyen en la produccion de biomasa de Spirulina (Arthrospira Platensis) como una alternativa de mitigación de la contaminación de aire por CO2 atmosferico*. Arequipa: Universidad nacional de San Agustin de Arequipa.
- López, C. C. (2018). *Sistema automatizado de control de variables fisicoquimicas en un un prototipo para favorecer la apropiacion social del cultivo de Spirulina spp*. San Pedro Tlaquepaque, Jalisco.
- Lopez, R. (2011). Caracterización de la biomasa producida por microalgas ante diferentes concentraciones de dióxido de carbono. *Research Gate*.
- Muñoz, F., Pineda, J., Barrigas, D., & Pineda, C. (2021). Producción de espirulina (*Arthrospira Platensis*): una revisión. *Revista Biorrefineria*.
- Pérez, L. (2019). Optimización de las operaciones de separación de biomasa algal. *Universidad de Vigo*.
- Ramos, L. (2019). *Analisis de experiencia de mejora continua en la produccion industrial de Spirulina. Una revisión sistemática*. Lima: Universidad privada del norte.
- Ribas, A., & Oliveira, M. (2020). Características nutracéuticas, herramientas de cultivo y estudio genotóxico de *Spirulina*. *Research Gate*.
- Richmond, A. (2004). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. ackwell Science Ltd a Blackwell Publishing company.
- Rodriguez, T. (2006). *Evaluación del pH en el cultivo de Spirulina spp. (=Arthrospira) bajo condiciones de laboratorio*. Bogotá D.C.
- Sandoval, J., & Rubio, D. (2018). Uso potencial de microalgas para mitigar los efectos de las emisiones de dióxido de carbono. *Research Gate*.

- Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental* . Mexico: CENGAGE Learning .
- Torres, A. D. (1996). Evaluación de los parámetros cinéticos de la ecuación de Monod. *INGENIERIA E INVESTIGACIÓN*, 123-124.
- Torres, B., & Correa, D. (2008). Diseño conceptual de un proceso de cultivo y obtención de Cyanobacteria *Arthrospira Platensis*. *Univrsidad Eafit*.
- UTEX, c. c. (2016). Material Safety Data Sheet. *5% F/2 Medium*. Austin, Texas, Estados unidos.
- Vasquez, V. M. (2017). Efecto de la intensidad de diodos electroluminosos y fotoperiodos en la optimizacion de la produccion de biomasa de Spirulina (Arthrospira). *Scientia Agropecuaria*, 43-55.
- Vega, C. S. (2021). *Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y valor nutricional de Arthrospira maxima*. San Luis Potosi: Universidad Autonoma de San Luis Potosi.
- Vonshak, A. (2002). *Spirulina (Arthrospira): Phisiology, Cell biology and biotechnology*. Negev: Taylor & Francis .

X. ANEXOS

A.1. Listado de equipos

Código	Nombre	Ubicación	Cantidad
EQU-01	Bomba de aire 4 salidas AP-204 AQUANET 0.013MPa 110-120V/60Hz 8.5W 300 GPH	Laboratorio Ambiental	1
EQU-02	Gramera OHAUS SCOUT 0.1 g blanca con rojo	Laboratorio Ambiental	1
EQU-03	Espectrofotómetro de UV-VIS DR6000 de la marca HACH	Laboratorio Metales Pesados – PIENSA UNI	1
EQU-04	Titulador automático marca Methrom serie brinkmann modelo 776 Dosimat y 728 Stirrer 110V color blanco con turquesa	Laboratorio FQ Aguas Naturales – PIENSA UNI	1
EQU-05	Horno de secado por convección forzada	Laboratorio Micropoluentes – PIENSA UNI	1
EQU-06	Bomba de presión y vacío	Laboratorio Ambiental	2
EQU-07	Campana extractora de gases color blanco	Laboratorio FQ Aguas Naturales – PIENSA UNI	1

Fuente: Elaboración propia

A.2. Listado de Materiales

Código	Nombre	Ubicación	Cantidad
MAT-01	Hielera de EPS capacidad 50L con tapa con dimensiones interiores de 620mm x 380mm x 360mm y dimensiones exteriores de 700mm x 400mm x 4580mm	Residencia propia	2
MAT-02	Recipientes cilíndricos de vidrio tapa negra de plástico de 16cm de alto y 9cm de diámetro	Residencia propia	12
MAT-03	Luces LED con cargador, móviles, 2 Pack GOODCA color blanco + tape doble contacto y soporte de cables 7.87x0.98x0.24"	Residencia propia	2
MAT-04	24 horas timer BN-LINK 2 Pack color blanco	Residencia propia	2
MAT-05	Válvulas de control color gris y blanco	Residencia propia	24
MAT-06	Válvulas de flujo tapa blanca y negra	Residencia propia	14
MAT-07	Copas de succión transparentes + soporte	Residencia propia	18
MAT-08	Conexiones / conectores triangulares	Residencia propia	20
MAT-09	Conexiones / conectores lineares	Residencia propia	20
MAT-10	Conexiones / conectores T	Residencia propia	20
MAT-11	Conexiones / conectores codo	Residencia propia	20
MAT-12	Divisor de bomba de aire / válvula de aire / control de flujo de aire de acero inoxidable pequeño de 3 vías	Residencia propia	4
MAT-13	Piedras de aire / piedras de burbujas / difusor de burbujas de piedra 1" de alto, 0.55" de diámetro y diámetro de boquilla de 3/16"	Residencia propia	12
MAT-14	Piedras de aire / piedra de burbujas / difusor de burbujas de piedra 1 ½" de	Residencia propia	4

	alto, 0.8" de diámetro y diámetro de boquilla de 3/16"		
MAT-15	Tubo de acuario transparente de 25 ft, tubo de línea aérea, manguera de aire estándar 3/16"	Residencia propia	1
MAT-16	Tubo de acuario transparente de 16x1ft, tubo de línea aérea	Residencia propia	1
MAT-17	Cajita de plástico transparente con rosado para almacenar puntas	Residencia propia	1
MAT-18	Envase de vidrio para descarte	Residencia propia	1
MAT-19	Envase de vidrio para almacenamiento del inóculo	Residencia propia	1
MAT-20	Regleta con extensión MAX 10A: 110V/220V 50/60HZ 2500W marca Lite No.: 413 blanca con celeste 3 puertos 110V/220V 2 puertos USB DC 5V 1A-2.1A	Residencia propia	1
MAT-21	Garrafón 18.9L plástico PET para elaboración de medio de cultivo proveedor	Residencia propia	1
MAT-22	Garrafón 18.9L plástico PET para elaboración de medio de cultivo nacional	Residencia propia	1
MAT-23	Regleta con extensión MAX 10A: 110V/300V 50/60HZ 2500W marca PAMIR No:918 blanca con Amarillo 8 puertos puertos USB DC 5V 1A-2.1A	Residencia propia	1
MAT-24	Rejilla metálica para secado color negra	Residencia propia	1
MAT-25	Sellador transparente marca hyStick	Residencia propia	1
MAT-26	Cinta doble contacto delgada color blanco marca Scotch	Residencia propia	1
MAT-27	Rollo parafilm 10cmx38m	Laboratorio Ambiental	1
MAT-28	Papel filtro de fibra de vidrio marca Whatman diámetro 47 mm, capacidad de retención de partículas de 45µm	Laboratorio Ambiental	100

MAT-29	Lámpara de mesa de madera con pantalla, de 4 patas color café y beige 110V	Residencia propia	1
MAT-30	Lámpara de escritorio regulable de metal color blanco con negro y base de clip 100V	Residencia propia	1

Fuente: Elaboración propia

A.3. Listado de Reactivos

Código	Nombre	Ubicación	Cantidad
REA-01	Jabón líquido multiusos	Residencia propia	1 gln
REA-02	Cloro 3%	Residencia propia	1 gln
REA-03	Limpia Vidrios	Residencia propia	1 gln
REA-04	Agua destilada	Residencia propia	5 gln
REA-05	Nitrato de potásico	Residencia propia	500 gr
REA-06	Sulfato de hierro heptahidratado	Residencia propia	500 gr
REA-07	Alcohol etílico 70%	Residencia propia	1 L
REA-08	EDTA 0.01M	Laboratorio de ambiental	250ml
REA-09	Indicador ENT	Laboratorio de ambiental	10ml
REA-10	Solución amortiguadora NH ₃	Laboratorio de ambiental	100 ml
REA-11	Cianuro de potasio	Laboratorio de ambiental	5g
REA-12	Sal común (Cloruro de sodio)	Residencia propia	100g
REA-13	Bicarbonato de sodio	Residencia propia	300
REA-14	Cal (Hidróxido de calcio)	Residencia propia	5g
REA-15	Sulfato de dipotasio	Laboratorio Alimentos	20g
REA-16	Fosfato monoamónico	Laboratorio Alimentos	5g
REA-17	Sulfato de magnesio heptahidratado	Laboratorio Alimentos	5g
REA-18	Carbonato de sodio	Laboratorio Alimentos	60g
REA-19	Nitrato de sodio	Laboratorio Alimentos	30g
REA-20	Nitrato de potasio	Laboratorio Alimentos	15g
REA-21	Ácido Nítrico 60-70%	Laboratorio Ambiental	15ml

Fuente: Elaboración propia

A.4. Listado de Instrumentos y Cristalería

Código	Nombre	Ubicación	Cantidad
UTE-01	Micropipeta 10-100 μ L Accumax PRO GK384641 blanca con celeste	Laboratorio Ambiental	1
UTE-02	Pizeta de plástico 250ml	Laboratorio Ambiental	1
UTE-03	Puntas amarillas desechables para micropipeta	Laboratorio Ambiental	300
UTE-04	Erlenmeyer 250 ml Pyrex graduado	Laboratorio de ambiental	10
UTE-05	Erlenmeyer 125 ml Pyrex graduado	Laboratorio de ambiental	10
UTE-06	Espátula de acero inoxidable	Laboratorio de ambiental	5
UTE-07	Pipeta de 25 ml graduada	Laboratorio de ambiental	2
UTE-08	Pipeta de 50 ml graduada	Laboratorio de ambiental	2
UTE-09	Pipeta de 2 ml graduada	Laboratorio de ambiental	1
UTE-10	Pera de goma	Laboratorio de ambiental	2
UTE-11	Gotero de plástico 3 ml	Laboratorio de ambiental	2
UTE-12	Bandejas para pesar de plástico	Laboratorio de ambiental	12
UTE-13	Pizeta de 25 ml graduada	Laboratorio de ambiental	3
UTE-14	Soporte universal	Laboratorio de ambiental	2
UTE-15	Beaker de 250 ml Pyrex graduado	Laboratorio de ambiental	2
UTE-16	Celda de plástico para espectrofotómetro UV capacidad 2.5ml	Laboratorio Ambiental	1

UTE-17	Matraz Kitasato de 150ml	Laboratorio Ambiental	2
UTE-18	Embudo para filtración	Laboratorio Ambiental	2
UTE-19	Adaptador o pinzas para kit de filtración	Laboratorio Ambiental	2
UTE-20	Pinzas para filtros de fibra de vidrio	Laboratorio Ambiental	2

Fuente: Elaboración propia

A.6. Mediciones diarias del experimento

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-A-01	0	Zarrouk modificado	16/8	10	25	>130	0.0280	0.0280	0.0280	0.0323	1.0000
A-A-02	0	Zarrouk modificado	16/8	10	26	>130	0.0280	0.000270	0.0275	0.0318	1.0000
A-A-03	0	Zarrouk modificado	16/8	10	26	>130	0.0300	0.0280	0.0290	0.0334	1.0000
A-B-01	0	Medio básico	16/8	10	26	65	0.0610	0.0630	0.0620	0.0641	1.0000
A-B-02	0	Medio básico	16/8	10	25	65	0.0560	0.0500	0.0530	0.0548	1.0000
A-B-03	0	Medio básico	16/8	10	26	65	0.0590	0.0530	0.0560	0.0579	1.0000
B-C-01	0	Zarrouk modificado	12/12	10	26	>130	0.0280	0.0270	0.0275	0.0318	1.0000
B-C-02	0	Zarrouk modificado	12/12	10	25	>130	0.0300	0.0290	0.0295	0.0340	1.0000
B-C-03	0	Zarrouk modificado	12/12	10	25	>130	0.0280	0.0260	0.0270	0.0312	1.0000
B-D-01	0	Medio básico	12/12	10	25	65	0.0790	0.0770	0.0780	0.0805	1.0000
B-D-02	0	Medio básico	12/12	10	26	65	0.0650	0.0650	0.0650	0.0671	1.0000
B-D-03	0	Medio básico	12/12	10	25	65	0.0740	0.0780	0.0760	0.0785	1.0000
A-A-01	1	Zarrouk modificado	16/8	11	25	>130	0.0320	0.0340	0.0330	0.0378	1.1684

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-A-02	1	Zarrouk modificado	16/8	11	25	>130	0.0310	0.0320	0.0315	0.0361	1.1370
A-A-03	1	Zarrouk modificado	16/8	11	25	>130	0.0320	0.0320	0.0320	0.0367	1.0977
A-B-01	1	Medio básico	16/8	11	25	70	0.0340	0.0310	0.0325	0.0337	0.5257
A-B-02	1	Medio básico	16/8	11	25	67	0.0460	0.0470	0.0465	0.0481	0.8778
A-B-03	1	Medio básico	16/8	11	25	77	0.0490	0.0500	0.0495	0.0512	0.8843
B-C-01	1	Zarrouk modificado	12/12	11	25	>130	0.0310	0.0320	0.0315	0.0361	1.1370
B-C-02	1	Zarrouk modificado	12/12	11	25	>130	0.0280	0.0310	0.0295	0.0340	1.0000
B-C-03	1	Zarrouk modificado	12/12	11	25	>130	0.0280	0.0310	0.0295	0.0340	1.0871
B-D-01	1	Medio básico	12/12	11	25	66	0.0620	0.0640	0.0630	0.0651	0.8082
B-D-02	1	Medio básico	12/12	11	25	85	0.0330	0.0300	0.0315	0.0326	0.4862
B-D-03	1	Medio básico	12/12	11	25	86	0.0330	0.0310	0.0320	0.0332	0.4226
A-A-01	2	Zarrouk modificado	16/8	11	25	>130	0.0230	0.0240	0.0235	0.0274	0.8485
A-A-02	2	Zarrouk modificado	16/8	11	24	>130	0.0250	0.0240	0.0245	0.0285	0.8973
A-A-03	2	Zarrouk modificado	16/8	11	25	>130	0.0220	0.0240	0.0230	0.0269	0.8046

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-01	2	Medio básico	16/8	11	25	90	0.0630	0.0620	0.0625	0.0646	1.0080
A-B-02	2	Medio básico	16/8	11	25	68	0.0590	0.0570	0.0580	0.0599	1.0940
A-B-03	2	Medio básico	16/8	11	24	73	0.0840	0.0850	0.0845	0.0872	1.5071
B-C-01	2	Zarrouk modificado	12/12	11	25	>130	0.0140	0.0160	0.0150	0.0182	0.5719
B-C-02	2	Zarrouk modificado	12/12	11	24	>130	0.0190	0.0210	0.0200	0.0236	0.6955
B-C-03	2	Zarrouk modificado	12/12	11	24	>130	0.0160	0.0190	0.0175	0.0209	0.6690
B-D-01	2	Medio básico	12/12	11	24	80	0.0400	0.0410	0.0405	0.0419	0.5205
B-D-02	2	Medio básico	12/12	11	25	92	0.0360	0.0380	0.0370	0.0383	0.5706
B-D-03	2	Medio básico	12/12	11	25	105	0.0790	0.0790	0.0790	0.0816	1.0394
A-A-01	3	Zarrouk modificado	16/8	11	25	85	0.0930	0.0890	0.0910	0.1009	3.1212
A-A-02	3	Zarrouk modificado	16/8	11	25	95	0.0880	0.0870	0.0875	0.0971	3.0548
A-A-03	3	Zarrouk modificado	16/8	11	25	95	0.0870	0.0890	0.0880	0.0976	2.9218
A-B-01	3	Medio básico	16/8	11	25	68	0.0720	0.0760	0.0740	0.0764	1.1929
A-B-02	3	Medio básico	16/8	11	25	70	0.0990	0.1020	0.1005	0.1037	1.8929

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-03	3	Medio básico	16/8	11	25	70	0.0980	0.1030	0.1005	0.1037	1.7918
B-C-01	3	Zarrouk modificado	12/12	11	25	100	0.0660	0.0700	0.0680	0.0759	2.3870
B-C-02	3	Zarrouk modificado	12/12	11	25	90	0.0810	0.0850	0.0830	0.0922	2.7147
B-C-03	3	Zarrouk modificado	12/12	11	25	105	0.0710	0.0730	0.0720	0.0802	2.5679
B-D-01	3	Medio básico	12/12	11	25	65	0.0410	0.0400	0.0405	0.0419	0.5205
B-D-02	3	Medio básico	12/12	11	25	65	0.0370	0.0390	0.0380	0.0393	0.5859
B-D-03	3	Medio básico	12/12	11	25	63	0.0810	0.0800	0.0805	0.0831	1.0591
A-A-01	4	Zarrouk modificado	16/8	11	26	66	0.0980	0.0960	0.0970	0.1074	3.3232
A-A-02	4	Zarrouk modificado	16/8	11	26	70	0.1100	0.1090	0.1095	0.1210	3.8082
A-A-03	4	Zarrouk modificado	16/8	11	26	68	0.1070	0.1100	0.1085	0.1200	3.5896
A-B-01	4	Medio básico	16/8	11	26	62	0.0830	0.0850	0.0840	0.0867	1.3537
A-B-02	4	Medio básico	16/8	11	26	50	0.1140	0.1120	0.1130	0.1166	2.1278
A-B-03	4	Medio básico	16/8	11	26	56	0.1330	0.1330	0.1330	0.1372	2.3701
B-C-01	4	Zarrouk modificado	12/12	11	26	72	0.0770	0.0780	0.0775	0.0862	2.7123

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-C-02	4	Zarrouk modificado	12/12	11	26	68	0.0960	0.1000	0.0980	0.1085	3.1955
B-C-03	4	Zarrouk modificado	12/12	11	26	75	0.0760	0.0770	0.0765	0.0851	2.7247
B-D-01	4	Medio básico	12/12	11	26	60	0.0800	0.0860	0.0830	0.0857	1.0639
B-D-02	4	Medio básico	12/12	11	26	60	0.0720	0.0740	0.0730	0.0754	1.1227
B-D-03	4	Medio básico	12/12	11	26	65	0.0820	0.0820	0.0820	0.0846	1.0787
A-A-01	5	Zarrouk modificado	16/8	11	26	65	0.1400	0.1380	0.1390	0.1532	4.7374
A-A-02	5	Zarrouk modificado	16/8	11	26	68	0.1430	0.1430	0.1430	0.1575	4.9555
A-A-03	5	Zarrouk modificado	16/8	11	26	65	0.1450	0.1460	0.1455	0.1602	4.7948
A-B-01	5	Medio básico	16/8	11	26	60	0.1040	0.1050	0.1045	0.1078	1.6833
A-B-02	5	Medio básico	16/8	11	26	49	0.1210	0.1250	0.1230	0.1269	2.3158
A-B-03	5	Medio básico	16/8	11	26	53	0.1310	0.1340	0.1325	0.1366	2.3612
B-C-01	5	Zarrouk modificado	12/12	11	26	68	0.1020	0.1020	0.1020	0.1129	3.5514
B-C-02	5	Zarrouk modificado	12/12	11	26	65	0.1200	0.1230	0.1215	0.1341	3.9487
B-C-03	5	Zarrouk modificado	12/12	11	26	74	0.0960	0.0960	0.0960	0.1063	3.4042

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-D-01	5	Medio básico	12/12	11	26	52	0.1240	0.1230	0.1235	0.1274	1.5818
B-D-02	5	Medio básico	12/12	11	26	53	0.1320	0.1380	0.1350	0.1392	2.0736
B-D-03	5	Medio básico	12/12	11	26	51	0.1050	0.1060	0.1055	0.1088	1.3871
A-A-01	6	Zarrouk modificado	16/8	11	27	55	0.1810	0.1790	0.1800	0.1978	6.1178
A-A-02	6	Zarrouk modificado	16/8	11	27	58	0.1850	0.1840	0.1845	0.2027	6.3767
A-A-03	6	Zarrouk modificado	16/8	11	27	56	0.1760	0.1750	0.1755	0.1929	5.7720
A-B-01	6	Medio básico	16/8	11	27	50	0.1400	0.1420	0.1410	0.1454	2.2701
A-B-02	6	Medio básico	16/8	11	27	46	0.1540	0.1560	0.1550	0.1598	2.9173
A-B-03	6	Medio básico	16/8	11	27	45	0.1660	0.1690	0.1675	0.1727	2.9840
B-C-01	6	Zarrouk modificado	12/12	11	27	56	0.1300	0.1310	0.1305	0.1439	4.5274
B-C-02	6	Zarrouk modificado	12/12	11	27	52	0.1530	0.1520	0.1525	0.1678	4.9423
B-C-03	6	Zarrouk modificado	12/12	11	27	62	0.1240	0.1270	0.1255	0.1385	4.4321
B-D-01	6	Medio básico	12/12	11	27	50	0.1270	0.1270	0.1270	0.1310	1.6266
B-D-02	6	Medio básico	12/12	11	27	48	0.1570	0.1680	0.1625	0.1675	2.4954

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-D-03	6	Medio básico	12/12	11	27	50	0.1230	0.1250	0.1240	0.1279	1.6299
A-A-01	7	Zarrouk modificado	16/8	11	26	50	0.2240	0.2280	0.2260	0.2479	7.6667
A-A-02	7	Zarrouk modificado	16/8	11	26	46	0.2410	0.2350	0.2380	0.2609	8.2089
A-A-03	7	Zarrouk modificado	16/8	11	26	49	0.2330	0.2390	0.2360	0.2587	7.7427
A-B-01	7	Medio básico	16/8	11	26	40	0.1880	0.1770	0.1825	0.1881	2.9373
A-B-02	7	Medio básico	16/8	11	26	38	0.1800	0.1740	0.1770	0.1825	3.3308
A-B-03	7	Medio básico	16/8	11	26	40	0.1910	0.1890	0.1900	0.1959	3.3843
B-C-01	7	Zarrouk modificado	12/12	11	26	45	0.1760	0.1750	0.1755	0.1929	6.0685
B-C-02	7	Zarrouk modificado	12/12	11	26	40	0.2060	0.2040	0.2050	0.2250	6.6250
B-C-03	7	Zarrouk modificado	12/12	11	26	50	0.1790	0.1760	0.1775	0.1951	6.2439
B-D-01	7	Medio básico	12/12	11	26	47	0.1420	0.1430	0.1425	0.1469	1.8248
B-D-02	7	Medio básico	12/12	11	26	45	0.1640	0.1700	0.1670	0.1722	2.5644
B-D-03	7	Medio básico	12/12	11	26	45	0.1550	0.1490	0.1520	0.1567	1.9974
A-A-01	8	Zarrouk modificado	16/8	11	25	43	0.2830	0.2800	0.2815	0.3083	9.5354

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-A-02	8	Zarrouk modificado	16/8	11	25	42	0.2930	0.2950	0.2940	0.3219	10.1267
A-A-03	8	Zarrouk modificado	16/8	11	25	45	0.2760	0.2780	0.2770	0.3034	9.0782
A-B-01	8	Medio básico	16/8	11	25	37	0.2300	0.2270	0.2285	0.2355	3.6768
A-B-02	8	Medio básico	16/8	11	25	34	0.2020	0.2050	0.2035	0.2098	3.8289
A-B-03	8	Medio básico	16/8	11	25	34	0.2360	0.2340	0.2350	0.2422	4.1851
B-C-01	8	Zarrouk modificado	12/12	11	25	44	0.2120	0.2110	0.2115	0.2321	7.3014
B-C-02	8	Zarrouk modificado	12/12	11	25	39	0.2580	0.2580	0.2580	0.2827	8.3237
B-C-03	8	Zarrouk modificado	12/12	11	25	46	0.2140	0.2100	0.2120	0.2326	7.4460
B-D-01	8	Medio básico	12/12	11	25	35	0.1740	0.1770	0.1755	0.1809	2.2468
B-D-02	8	Medio básico	12/12	11	25	40	0.1790	0.1800	0.1795	0.1850	2.7561
B-D-03	8	Medio básico	12/12	11	25	38	0.1810	0.1780	0.1795	0.1850	2.3583
A-A-01	9	Zarrouk modificado	16/8	11	26	40	0.2690	0.2700	0.2695	0.2952	9.1313
A-A-02	9	Zarrouk modificado	16/8	11	26	39	0.2740	0.2750	0.2745	0.3006	9.4589
A-A-03	9	Zarrouk modificado	16/8	11	26	42	0.2630	0.2620	0.2625	0.2876	8.6059

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-01	9	Medio básico	16/8	11	26	33	0.2660	0.2680	0.2670	0.2752	4.2958
A-B-02	9	Medio básico	16/8	11	26	32	0.2790	0.2760	0.2775	0.2860	5.2199
A-B-03	9	Medio básico	16/8	11	26	31	0.2590	0.2640	0.2615	0.2695	4.6566
B-C-01	9	Zarrouk modificado	12/12	11	26	41	0.1920	0.1920	0.1920	0.2108	6.6336
B-C-02	9	Zarrouk modificado	12/12	11	26	35	0.2270	0.2290	0.2280	0.2500	7.3622
B-C-03	9	Zarrouk modificado	12/12	11	26	42	0.1910	0.1900	0.1905	0.2092	6.6969
B-D-01	9	Medio básico	12/12	11	26	34	0.2160	0.2170	0.2165	0.2231	2.7711
B-D-02	9	Medio básico	12/12	11	26	38	0.2040	0.2060	0.2050	0.2113	3.1472
B-D-03	9	Medio básico	12/12	11	26	36	0.2600	0.2520	0.2560	0.2638	3.3622
A-A-01	10	Zarrouk modificado	16/8	11	25	32	0.2710	0.2730	0.2720	0.2979	9.2155
A-A-02	10	Zarrouk modificado	16/8	11	25	31	0.3000	0.2980	0.2990	0.3273	10.2979
A-A-03	10	Zarrouk modificado	16/8	11	25	35	0.2790	0.2760	0.2775	0.3039	9.0945
A-B-01	10	Medio básico	16/8	11	25	30	0.3140	0.3080	0.3110	0.3205	5.0032
A-B-02	10	Medio básico	16/8	11	25	30	0.3130	0.3160	0.3145	0.3241	5.9154

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-03	10	Medio básico	16/8	11	25	32	0.3780	0.3740	0.3760	0.3874	6.6940
B-C-01	10	Zarrouk modificado	12/12	11	25	40	0.1890	0.1920	0.1905	0.2092	6.5822
B-C-02	10	Zarrouk modificado	12/12	11	25	30	0.2460	0.2480	0.2470	0.2707	7.9712
B-C-03	10	Zarrouk modificado	12/12	11	25	41	0.2020	0.2000	0.2010	0.2206	7.0627
B-D-01	10	Medio básico	12/12	11	25	35	0.2760	0.2720	0.2740	0.2824	3.5064
B-D-02	10	Medio básico	12/12	11	25	36	0.2590	0.2500	0.2545	0.2623	3.9064
B-D-03	10	Medio básico	12/12	11	25	32	0.2690	0.2630	0.2660	0.2741	3.4934
A-A-01	11	Zarrouk modificado	16/8	11	24	30	0.3400	0.3420	0.3410	0.3730	11.5387
A-A-02	11	Zarrouk modificado	16/8	11	24	29	0.3660	0.3590	0.3625	0.3964	12.4726
A-A-03	11	Zarrouk modificado	16/8	11	24	31	0.3500	0.3470	0.3485	0.3812	11.4072
A-B-01	11	Medio básico	16/8	11	24	28	0.3470	0.3440	0.3455	0.3560	5.5579
A-B-02	11	Medio básico	16/8	11	24	27	0.4010	0.4030	0.4020	0.4142	7.5602
A-B-03	11	Medio básico	16/8	11	24	29	0.3850	0.3880	0.3865	0.3982	6.8808
B-C-01	11	Zarrouk modificado	12/12	11	24	35	0.2410	0.2440	0.2425	0.2658	8.3630

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-C-02	11	Zarrouk modificado	12/12	11	24	29	0.2900	0.2940	0.2920	0.3197	9.4135
B-C-03	11	Zarrouk modificado	12/12	11	24	38	0.2600	0.2580	0.2590	0.2838	9.0836
B-D-01	11	Medio básico	12/12	11	24	33	0.2980	0.2950	0.2965	0.3055	3.7941
B-D-02	11	Medio básico	12/12	11	24	34	0.2980	0.2940	0.2960	0.3050	4.5429
B-D-03	11	Medio básico	12/12	11	24	30	0.3470	0.3390	0.3430	0.3534	4.5039
A-A-01	12	Zarrouk modificado	16/8	11	24	31	0.2910	0.2920	0.2915	0.3191	9.8721
A-A-02	12	Zarrouk modificado	16/8	11	24	28	0.3360	0.3320	0.3340	0.3654	11.4966
A-A-03	12	Zarrouk modificado	16/8	11	24	30	0.2990	0.2960	0.2975	0.3257	9.7459
A-B-01	12	Medio básico	16/8	11	24	25	0.4180	0.4180	0.4180	0.4306	6.7235
A-B-02	12	Medio básico	16/8	11	24	23	0.4290	0.4310	0.4300	0.4430	8.0865
A-B-03	12	Medio básico	16/8	11	24	26	0.4110	0.4070	0.4090	0.4214	7.2811
B-C-01	12	Zarrouk modificado	12/12	11	24	31	0.1940	0.1910	0.1925	0.2114	6.6507
B-C-02	12	Zarrouk modificado	12/12	11	24	28	0.2600	0.2600	0.2600	0.2849	8.3878
B-C-03	12	Zarrouk modificado	12/12	11	24	34	0.1900	0.1910	0.1905	0.2092	6.6969

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-D-01	12	Medio básico	12/12	11	24	31	0.3390	0.3370	0.3380	0.3483	4.3248
B-D-02	12	Medio básico	12/12	11	24	33	0.3300	0.3300	0.3300	0.3400	5.0644
B-D-03	12	Medio básico	12/12	11	24	29	0.3740	0.3720	0.3730	0.3843	4.8976
A-A-01	13	Zarrouk modificado	16/8	11	24	26	0.3400	0.3420	0.3410	0.3730	11.5387
A-A-02	13	Zarrouk modificado	16/8	11	24	25	0.3750	0.3730	0.3740	0.4089	12.8664
A-A-03	13	Zarrouk modificado	16/8	11	24	25	0.3290	0.3340	0.3315	0.3627	10.8534
A-B-01	13	Medio básico	16/8	11	24	24	0.4230	0.4290	0.4260	0.4389	6.8521
A-B-02	13	Medio básico	16/8	11	24	22	0.4720	0.4790	0.4755	0.4899	8.9417
A-B-03	13	Medio básico	16/8	11	24	23	0.5020	0.5060	0.5040	0.5192	8.9715
B-C-01	13	Zarrouk modificado	12/12	11	24	27	0.2180	0.2190	0.2185	0.2397	7.5411
B-C-02	13	Zarrouk modificado	12/12	11	24	26	0.2960	0.2930	0.2945	0.3224	9.4936
B-C-03	13	Zarrouk modificado	12/12	11	24	30	0.2210	0.2200	0.2205	0.2419	7.7422
B-D-01	13	Medio básico	12/12	11	24	27	0.3630	0.3690	0.3660	0.3771	4.6829
B-D-02	13	Medio básico	12/12	11	24	26	0.3760	0.3720	0.3740	0.3853	5.7393

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-D-03	13	Medio básico	12/12	11	24	27	0.4010	0.4050	0.4030	0.4152	5.2913
A-A-01	14	Zarrouk modificado	16/8	11	24	25	0.4000	0.4050	0.4025	0.4400	13.6094
A-A-02	14	Zarrouk modificado	16/8	11	24	23	0.4420	0.4360	0.4390	0.4797	15.0925
A-A-03	14	Zarrouk modificado	16/8	11	24	22	0.4000	0.3990	0.3995	0.4367	13.0684
A-B-01	14	Medio básico	16/8	11	24	22	0.4640	0.4680	0.4660	0.4801	7.4952
A-B-02	14	Medio básico	16/8	11	24	20	0.4920	0.4990	0.4955	0.5105	9.3177
A-B-03	14	Medio básico	16/8	11	24	21	0.5170	0.5090	0.5130	0.5285	9.1317
B-C-01	14	Zarrouk modificado	12/12	11	24	25	0.2780	0.2780	0.2780	0.3045	9.5788
B-C-02	14	Zarrouk modificado	12/12	11	24	25	0.3430	0.3410	0.3420	0.3741	11.0160
B-C-03	14	Zarrouk modificado	12/12	11	24	23	0.2660	0.2680	0.2670	0.2925	9.3624
B-D-01	14	Medio básico	12/12	11	24	23	0.5200	0.5240	0.5220	0.5377	6.6777
B-D-02	14	Medio básico	12/12	11	24	23	0.4650	0.4640	0.4645	0.4785	7.1273
B-D-03	14	Medio básico	12/12	11	24	23	0.5340	0.5380	0.5360	0.5522	7.0367
A-A-01	15	Zarrouk modificado	16/8	11	24	24	0.5320	0.5140	0.5230	0.5711	17.6667

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-A-02	15	Zarrouk modificado	16/8	11	24	22	0.5680	0.5540	0.5610	0.6125	19.2705
A-A-03	15	Zarrouk modificado	16/8	11	24	21	0.5290	0.5170	0.5230	0.5711	17.0912
A-B-01	15	Medio básico	16/8	11	24	21	0.5440	0.5590	0.5515	0.5681	8.8698
A-B-02	15	Medio básico	16/8	11	24	20	0.6120	0.6080	0.6100	0.6284	11.4699
A-B-03	15	Medio básico	16/8	11	24	20	0.5860	0.5860	0.5860	0.6036	10.4306
B-C-01	15	Zarrouk modificado	12/12	11	24	24	0.4000	0.4010	0.4005	0.4378	13.7740
B-C-02	15	Zarrouk modificado	12/12	11	24	24	0.4510	0.4540	0.4525	0.4944	14.5577
B-C-03	15	Zarrouk modificado	12/12	11	24	22	0.3990	0.3900	0.3945	0.4313	13.8049
B-D-01	15	Medio básico	12/12	11	24	22	0.5260	0.5140	0.5200	0.5357	6.6522
B-D-02	15	Medio básico	12/12	11	24	22	0.4470	0.4410	0.4440	0.4574	6.8129
B-D-03	15	Medio básico	12/12	11	24	22	0.4100	0.4130	0.4115	0.4240	5.4029
A-A-01	16	Zarrouk modificado	16/8	11	25	22	0.5170	0.5190	0.5180	0.5657	17.4983
A-A-02	16	Zarrouk modificado	16/8	11	25	20	0.5750	0.5730	0.5740	0.6266	19.7158
A-A-03	16	Zarrouk modificado	16/8	11	25	21	0.5390	0.5410	0.5400	0.5896	17.6450

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-01	16	Medio básico	16/8	11	25	20	0.5950	0.5980	0.5965	0.6145	9.5932
A-B-02	16	Medio básico	16/8	11	25	18	0.5540	0.5520	0.5530	0.5697	10.3985
A-B-03	16	Medio básico	16/8	11	25	20	0.6280	0.6180	0.6230	0.6417	11.0890
B-C-01	16	Zarrouk modificado	12/12	11	25	23	0.3980	0.3960	0.3970	0.4340	13.6541
B-C-02	16	Zarrouk modificado	12/12	11	25	22	0.4720	0.4710	0.4715	0.5151	15.1667
B-C-03	16	Zarrouk modificado	12/12	11	25	21	0.3880	0.3890	0.3885	0.4247	13.5958
B-D-01	16	Medio básico	12/12	11	25	19	0.4780	0.4740	0.4760	0.4904	6.0895
B-D-02	16	Medio básico	12/12	11	25	19	0.4950	0.5000	0.4975	0.5125	7.6334
B-D-03	16	Medio básico	12/12	11	25	20	0.4520	0.4560	0.4540	0.4677	5.9606
A-A-01	17	Zarrouk modificado	16/8	11	25	20	0.6440	0.6490	0.6465	0.7056	21.8249
A-A-02	17	Zarrouk modificado	16/8	11	25	19	0.6760	0.6780	0.6770	0.7388	23.2432
A-A-03	17	Zarrouk modificado	16/8	11	25	20	0.6490	0.6460	0.6475	0.7067	21.1466
A-B-01	17	Medio básico	16/8	11	25	19	0.6710	0.6780	0.6745	0.6948	10.8473
A-B-02	17	Medio básico	16/8	11	25	17	0.6960	0.6970	0.6965	0.7174	13.0959

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-03	17	Medio básico	16/8	11	25	18	0.7620	0.7690	0.7655	0.7885	13.6246
B-C-01	17	Zarrouk modificado	12/12	11	25	22	0.4760	0.4770	0.4765	0.5205	16.3767
B-C-02	17	Zarrouk modificado	12/12	11	25	21	0.5660	0.5620	0.5640	0.6158	18.1314
B-C-03	17	Zarrouk modificado	12/12	11	25	20	0.5040	0.5050	0.5045	0.5510	17.6376
B-D-01	17	Medio básico	12/12	11	25	18	0.7730	0.7780	0.7755	0.7988	9.9194
B-D-02	17	Medio básico	12/12	11	25	18	0.7080	0.7100	0.7090	0.7303	10.8773
B-D-03	17	Medio básico	12/12	11	25	19	0.4910	0.4890	0.4900	0.5048	6.4331
A-A-01	18	Zarrouk modificado	16/8	11	25	19	0.6400	0.6350	0.6375	0.6958	21.5219
A-A-02	18	Zarrouk modificado	16/8	11	25	18	0.6470	0.6540	0.6505	0.7099	22.3356
A-A-03	18	Zarrouk modificado	16/8	11	25	19	0.6100	0.6130	0.6115	0.6675	19.9739
A-B-01	18	Medio básico	16/8	11	25	18	0.8080	0.8020	0.8050	0.8292	12.9453
A-B-02	18	Medio básico	16/8	11	25	16	0.6850	0.6840	0.6845	0.7051	12.8703
A-B-03	18	Medio básico	16/8	11	25	17	0.7470	0.7480	0.7475	0.7700	13.3043
B-C-01	18	Zarrouk modificado	12/12	11	25	21	0.4740	0.4780	0.4760	0.5200	16.3596

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-C-02	18	Zarrouk modificado	12/12	11	25	20	0.5680	0.5560	0.5620	0.6136	18.0673
B-C-03	18	Zarrouk modificado	12/12	11	25	19	0.4680	0.4580	0.4630	0.5058	16.1916
B-D-01	18	Medio básico	12/12	11	25	18	0.5770	0.5790	0.5780	0.5954	7.3939
B-D-02	18	Medio básico	12/12	11	25	18	0.6520	0.6520	0.6520	0.6716	10.0031
B-D-03	18	Medio básico	12/12	11	25	19	0.8330	0.8370	0.8350	0.8601	10.9606
A-A-01	19	Zarrouk modificado	16/8	11	24	18	0.6530	0.6520	0.6525	0.7121	22.0269
A-A-02	19	Zarrouk modificado	16/8	11	24	16	0.6820	0.6820	0.6820	0.7442	23.4144
A-A-03	19	Zarrouk modificado	16/8	11	24	16	0.6230	0.6180	0.6205	0.6773	20.2671
A-B-01	19	Medio básico	16/8	11	24	16	0.6970	0.7010	0.6990	0.7200	11.2412
A-B-02	19	Medio básico	16/8	11	24	15	0.8400	0.8480	0.8440	0.8693	15.8684
A-B-03	19	Medio básico	16/8	11	24	15	0.8110	0.8150	0.8130	0.8374	14.4698
B-C-01	19	Zarrouk modificado	12/12	11	25	16	0.4700	0.4610	0.4655	0.5085	16.0000
B-C-02	19	Zarrouk modificado	12/12	11	25	15	0.5720	0.5680	0.5700	0.6223	18.3237
B-C-03	19	Zarrouk modificado	12/12	11	25	18	0.4390	0.4370	0.4380	0.4786	15.3206

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-D-01	19	Medio básico	12/12	11	25	17	0.6320	0.6330	0.6325	0.6515	8.0908
B-D-02	19	Medio básico	12/12	11	25	15	0.6240	0.6220	0.6230	0.6417	9.5583
B-D-03	19	Medio básico	12/12	11	25	18	0.6410	0.6380	0.6395	0.6587	8.3950
A-A-01	20	Zarrouk modificado	16/8	11	24	16	0.6570	0.6590	0.6580	0.7181	22.2121
A-A-02	20	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.6900	0.6870	0.6885	0.7513	23.6370
A-A-03	20	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.6010	0.6200	0.6105	0.6664	19.9414
A-B-01	20	Medio básico	16/8	11	24	15	0.7800	0.7810	0.7805	0.8039	12.5514
A-B-02	20	Medio básico	16/8	11	24	14	0.7670	0.7610	0.7640	0.7869	14.3647
A-B-03	20	Medio básico	16/8	11	24	14	0.8150	0.7950	0.8050	0.8292	14.3274
B-C-01	20	Zarrouk modificado	12/12	11	25	15	0.4920	0.4930	0.4925	0.5379	16.9247
B-C-02	20	Zarrouk modificado	12/12	11	25	14	0.6260	0.6280	0.6270	0.6843	20.1506
B-C-03	20	Zarrouk modificado	12/12	11	24	16	0.5170	0.5160	0.5165	0.5641	18.0557
B-D-01	20	Medio básico	12/12	11	24	16	0.6700	0.6630	0.6665	0.6865	8.5256
B-D-02	20	Medio básico	12/12	11	25	15	0.6900	0.6840	0.6870	0.7077	10.5399

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-D-03	20	Medio básico	12/12	11	24	17	0.6550	0.6530	0.6540	0.6737	8.5853
A-A-01	21	Zarrouk modificado	16/8	11	24	16	0.7880	0.7770	0.7825	0.8536	26.4040
A-A-02	21	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.7980	0.7880	0.7930	0.8650	27.2158
A-A-03	21	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.7120	0.7200	0.7160	0.7812	23.3779
A-B-01	21	Medio básico	16/8	11	24	14	0.8990	0.8910	0.8950	0.9218	14.3923
A-B-02	21	Medio básico	16/8	11	24	14	0.9590	0.9570	0.9580	0.9867	18.0113
A-B-03	21	Medio básico	16/8	11	24	14	0.9490	0.9390	0.9440	0.9723	16.8007
B-C-01	21	Zarrouk modificado	12/12	11	24	15	0.5850	0.5910	0.5880	0.6419	20.1952
B-C-02	21	Zarrouk modificado	12/12	11	24	15	0.6970	0.6990	0.6980	0.7616	22.4263
B-C-03	21	Zarrouk modificado	12/12	11	24	16	0.5400	0.5420	0.5410	0.5907	18.9094
B-D-01	21	Medio básico	12/12	11	24	16	0.7080	0.6920	0.7000	0.7210	8.9540
B-D-02	21	Medio básico	12/12	11	24	15	0.8590	0.8560	0.8575	0.8832	13.1549
B-D-03	21	Medio básico	12/12	11	24	16	0.6780	0.6800	0.6790	0.6994	8.9134
A-A-01	22	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.7310	0.7350	0.7330	0.7997	24.7374

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-A-02	22	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.7220	0.7290	0.7255	0.7916	24.9041
A-A-03	22	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.6770	0.6790	0.6780	0.7398	22.1401
A-B-01	22	Medio básico	16/8	11	24	14	0.9410	0.9490	0.9450	0.9733	15.1961
A-B-02	22	Medio básico	16/8	11	24	14	0.8630	0.8580	0.8605	0.8863	16.1786
A-B-03	22	Medio básico	16/8	11	24	14	0.9620	0.9610	0.9615	0.9903	17.1121
B-C-01	22	Zarrouk modificado	12/12	11	24	15	0.5310	0.5310	0.5310	0.5798	18.2432
B-C-02	22	Zarrouk modificado	12/12	11	24	15	0.6410	0.6430	0.6420	0.7007	20.6314
B-C-03	22	Zarrouk modificado	12/12	11	24	16	0.5130	0.5060	0.5095	0.5564	17.8118
B-D-01	22	Medio básico	12/12	11	24	15	0.7530	0.7480	0.7505	0.7730	9.5997
B-D-02	22	Medio básico	12/12	11	24	15	0.8070	0.8090	0.8080	0.8323	12.3957
B-D-03	22	Medio básico	12/12	11	24	16	0.7200	0.7240	0.7220	0.7437	9.4777
A-A-01	23	Zarrouk modificado	16/8	11	24	14	0.8640	0.8680	0.8660	0.9445	29.2155
A-A-02	23	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.8610	0.8430	0.8520	0.9292	29.2363
A-A-03	23	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.7990	0.7980	0.7985	0.8710	26.0651

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-01	23	Medio básico	16/8	11	24	14	0.9210	0.9280	0.9245	0.9522	14.8666
A-B-02	23	Medio básico	16/8	11	24	14	1.0810	1.0830	1.0820	1.1144	20.3421
A-B-03	23	Medio básico	16/8	11	24	14	1.0560	1.0300	1.0430	1.0742	18.5623
B-C-01	23	Zarrouk modificado	12/12	11	24	14	0.6210	0.6150	0.6180	0.6745	21.2226
B-C-02	23	Zarrouk modificado	12/12	11	24	13	0.7630	0.7740	0.7685	0.8384	24.6859
B-C-03	23	Zarrouk modificado	12/12	11	24	16	0.6310	0.6370	0.6340	0.6920	22.1498
B-D-01	23	Medio básico	12/12	11	24	15	0.8620	0.8800	0.8710	0.8971	11.1407
B-D-02	23	Medio básico	12/12	11	24	15	0.7920	0.7960	0.7940	0.8178	12.1810
B-D-03	23	Medio básico	12/12	11	24	16	0.6480	0.6490	0.6485	0.6680	8.5131
A-A-01	24	Zarrouk modificado	16/8	11	24	14	0.9070	0.9000	0.9035	0.9853	30.4781
A-A-02	24	Zarrouk modificado	16/8	11	24	14	0.9160	0.9200	0.9180	1.0011	31.4966
A-A-03	24	Zarrouk modificado	16/8	11	24	15	0.8580	0.8420	0.8500	0.9271	27.7427
A-B-01	24	Medio básico	16/8	11	24	13	0.9740	0.9750	0.9745	1.0037	15.6704
A-B-02	24	Medio básico	16/8	11	24	13	0.9880	0.9810	0.9845	1.0140	18.5094

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
A-B-03	24	Medio básico	16/8	11	24	12	1.0930	1.0750	1.0840	1.1165	19.2918
B-C-01	24	Zarrouk modificado	12/12	11	24	14	0.6620	0.6720	0.6670	0.7279	22.9007
B-C-02	24	Zarrouk modificado	12/12	11	24	13	0.8060	0.8020	0.8040	0.8770	25.8237
B-C-03	24	Zarrouk modificado	12/12	11	24	15	0.6590	0.6570	0.6580	0.7181	22.9861
B-D-01	24	Medio básico	12/12	11	24	14	0.8030	0.8140	0.8085	0.8328	10.3414
B-D-02	24	Medio básico	12/12	11	24	14	0.8700	0.8710	0.8705	0.8966	13.3543
B-D-03	24	Medio básico	12/12	11	24	15	0.7680	0.7640	0.7660	0.7890	10.0551
A-A-01	25	Zarrouk modificado	16/8	11	24	13	0.9240	0.9260	0.9250	1.0087	31.2020
A-A-02	25	Zarrouk modificado	16/8	11	24	13	0.9980	0.9960	0.9970	1.0871	34.2021
A-A-03	25	Zarrouk modificado	16/8	11	24	14	0.9240	0.9220	0.9230	1.0065	30.1205
A-B-01	25	Medio básico	16/8	11	24	12	0.9600	0.9510	0.9555	0.9841	15.3650
A-B-02	25	Medio básico	16/8	11	24	13	0.9560	0.9570	0.9565	0.9852	17.9831
A-B-03	25	Medio básico	16/8	11	24	12	1.0530	1.0610	1.0570	1.0887	18.8114
B-C-01	25	Zarrouk modificado	12/12	11	24	14	0.7470	0.7400	0.7435	0.8111	25.5205

ID	Día	Medio	Ciclo L/D	pH	T [°C]	mm	Abs_1	Abs_2	Abs_x	C [g/L]	Normalizado
B-C-02	25	Zarrouk modificado	12/12	11	24	13	0.8870	0.8830	0.8850	0.9652	28.4199
B-C-03	25	Zarrouk modificado	12/12	11	24	15	0.7000	0.7030	0.7015	0.7654	24.5017
B-D-01	25	Medio básico	12/12	11	24	14	0.7870	0.7800	0.7835	0.8070	10.0217
B-D-02	25	Medio básico	12/12	11	24	14	0.8400	0.8360	0.8380	0.8631	12.8558
B-D-03	25	Medio básico	12/12	11	24	15	0.6910	0.6990	0.6950	0.7159	9.1234

Fuente: Elaboración propia (El cálculo de los valores normalizados se realizó dividiendo los valores de absorbancia de cada experimento entre los valores de absorbancia reportados en el día 0).

A.7. Rendimientos reales normalizados para cada experimento

ID	Ciclo L/D	Volumen final [ml]	Peso bandeja [g]	Peso húmedo [g]	Peso seco [g]	Biomasa seca [g]	C final real [g/ml]	C final real [g/L]	C inicial teórica [g/L]	Normalizado
A-A-01	16/8	320	2.6	3.1	2.8	0.2	0.000625	0.6250	0.0323	19.3329
A-A-02	16/8	365	2.8	3.6	3.1	0.3	0.000822	0.8219	0.0317	25.8594
A-A-03	16/8	345	2.7	3.2	2.9	0.2	0.00058	0.5797	0.0334	17.3478
A-B-01	16/8	360	2.7	3.9	3	0.3	0.000833	0.8333	0.0640	13.0104
A-B-02	16/8	400	2.7	4.1	3	0.3	0.00075	0.7500	0.0547	13.6903
A-B-03	16/8	310	2.7	4.4	3	0.3	0.000968	0.9677	0.0578	16.7219
B-C-01	12/12	340	2.8	3.8	3	0.2	0.000588	0.5882	0.0317	18.5072
B-C-02	12/12	285	2.7	3.1	2.9	0.2	0.000702	0.7017	0.0339	20.6635
B-C-03	12/12	400	2.8	3.9	3	0.2	0.0005	0.5000	0.0312	16.0052
B-D-01	12/12	355	2.8	4	3	0.2	0.000563	0.5633	0.0805	6.9961
B-D-02	12/12	380	2.8	5.2	3.1	0.3	0.000789	0.7894	0.0671	11.7585
B-D-03	12/12	445	2.8	4.2	3.1	0.3	0.000674	0.6741	0.0784	8.5915

Fuente: Elaboración propia (El cálculo de los valores normalizados se realizó dividiendo los valores de concentración final real de cada experimento entre los valores de concentración inicial teórica reportados en el día 0).

A.8. Requisitos Fitosanitarios para importación de nuevos productos

REPUBLICA DE NICARAGUA
INSTITUTO DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA
 Km. 5 1/2 Carretera Norte, Puente Desnivel 100 mts. al este, 50 mts. al Sur
 RUC No. J0810000219519

IPSA
 INSTITUTO DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA

FECHA: **27-02-2025** RECIBO OFICIAL DE CAJA SERIE "A" No. **0000253051**
 RECIBIMOS DE: **NATHALYA PAOLA REYES OROZCO**
 RUC: **0012512001018G** MHCP-TGR-INGRESOS-IPSA CTALCTE#101202103

EN CONCEPTO DE LOS SIGUIENTES SERVICIOS

CODIGO	DESCRIPCION	CANTIDAD	PREC. UNITARIO	TOTAL
100042010101010000700	COSTO DE REQUISITO FITO PARA IMPORTACION DE NUEVOS PRODUCTOS (POR CADA PRODUCTO), POR PAIS DE ORIGEN	1.00	20.000000	20.00
VALOR EN LETRAS		VEINTE DOLARES 00 /100		
CONCEPTO: PAGO DE REQUISITO FITOSANITARIO PARA IMPORTAR ALGA SPIRULINA, ORIGEN Y PROCEDENCIA DE ESTADOS UNIDOS.			EFFECTIVO	20.00
			CHEQUE	
			DOCTO	
TIPO DE MONEDA Dolares	TIPO DE CAMBIO	36.3243		
CHEQUE No. 1350	BANCO:	DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA		
ORDEN DE PAGO	TRANSFERENCIA:	BANCA MINUTAS		
		MERCEDES DEL SOCORRO MIRANDA SILVA FIRMA DE CAJA		

Nota: este recibo no es válido sin la firma y el Sello de Caja. No es válido con borrones o enmiendas.
 ORIGINAL: CLIENTE - COPIA ROSADO: CAJA - COPIA AMARILLA: ARCHIVO - COPIA DEL ESTABLECIMIENTO

CANCELADO

Fuente: Instituto de Protección y Salud Agropecuaria. (2025, 27 de febrero). Recibo N° 0253051: Costo de requisito fitosanitario para la importación de Siplulina de procedencia de los Estados Unidos.

A.9. Requisitos Fitosanitarios para el ingreso de Spirulina al país



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional
El Pueblo, Presidente!



Managua, 03 de Abril de 2025

Señora
Nathalya Paola Reyes Orozco
Sus Manos

Estimada Señora:

Por medio del presente, le remito Requisitos Fitosanitarios proporcionados por la Unidad de Análisis de Riesgo (ARP) para la importación de Alga de *Arthrospira platensis gomont* conocido con el nombre de Spirulina con origen y procedencia Estados Unidos utilizado para Investigación.

- Inspección en el punto de ingreso.
- Deberá cumplir con el Acuerdo Ministerial 006-2012 de IPSA.
- Presentar copia de este documento en cada importación en el Puesto de Cuarentena de Ingreso.

Sin más sobre el particular, le saludo.

Atentamente,

¡CAMINO, SIGUENOS POR ALMA
EN UNA VIDA Y VERDAD!
EN FUERZA INDETERMINABLE, EN SOL DE LIBERTAD
EN LUCHA INDETERMINABLE, EN NO RETROCEDER!
CON DANIEL Y EL FRENTE
DE LA REVOLUCIÓN!
¡PEZ CON DIGNIDAD!
¡CADA VEZ LA REVOLUCIÓN!



Lidia
Ing. Lidia Torrez Avilez
Jefa Dpto. Cuarentena Vegetal
IPSA

- Lic. Vivian Jaime-Responsable del Departamento de Importaciones.
- Archivo



¡CRISTIANA, SOCIALISTA, SOLIDARIA!

INSTITUTO DE PROTECCION Y SANIDAD GROPECUARIA-DIRECCION DE CUARENTENA
AGROPECUARIA-DEPARTAMENTO DE IMPORTACION Y VENTANILLAS-KM 6 CARRETERA
CONTIGUA A ERACAL TEL: 22981330 - 22981347 EXT. 139

Fuente: L. Torrez, (comunicación personal, 03 de abril de 2025)

A.10. Factura de compra de Inóculo de Spirulina

Commercial Invoice

AWB No: 8221957590 Invoice Date: 2025-05-03 Invoice No: MGA-4NC1YH

SHIP FROM:
ALGAE RESEARCH AND SUPPLY INC
DAPHNE WARREN
1405 BUENA VISTA WAY
CARLSBAD CA 92008-1538
NA
CARLSBAD, 92008
CA
UNITED STATES OF AMERICA
7604833626
service@algaeresearchsupply.com
Trader Type:
VAT No:001-251200-1018G
EORI:
TAX ID:

SHIP TO:
NATHALYA PAOLA REYES OROZCO
NATHALYA PAOLA REYES OROZCO
RESD. LOMAS DEL VALLLE AGUJA
5C ESTE,
NA
MANAGUA, 0000

NICARAGUA
50582739903
nathpro25@gmail.com
Trader Type:
VAT No:
EORI:

SOLD TO:
NATHALYA PAOLA REYES OROZCO
NATHALYA PAOLA REYES OROZCO
RESD. LOMAS DEL VALLLE AGUJA
5C ESTE,
NA
MANAGUA, 0000

NICARAGUA
50582739903
Trader Type:
VAT No:
EORI:

Shipper Reference: n/a
Receiver Reference:

Remarks:

Item	Description	Commo- dity Code	GST paid	Net / Gross Weight	COO	Reference Type & ID	QTY	Unit Value	Sub Total Value
1	ARTHROSPIRA PLATENSIS: MORE GROWING MEDIUM			1.50 kg 1.50 kg	US		1PCS	91.41 USD	91.41 USD

Total Goods Value: 91.41 USD
Total Invoice Amount: 91.41 USD
Currency Code: USD
Terms of Payment:
Terms of Trade: FCA
Place of Incoterm: NICARAGUA
Reason for Export: Samples
Type of Export: PERMANENT
Total Net Weight: 1.5 kg
Total Gross Weight: 1.5 kg

Total line items: 1
Number of Pallets:
Total units: 1
Package Marks / Other Info:

Payer of GST / VAT:

I/We hereby certify that the information contained in the invoice is true and correct and that the contents of this shipment are as stated above.

Name: DAPHNE WARREN
Position: Shipper
Date of Signature: 2025-05-03

Signature: Company Stamp

Fuente: Algae Research. (2025, 03 de mayo). Factura N° MGA-4NC1YH: Orden de compra de kit completo de cultivo de Spirulina y Spirulina en estado acuoso.

A.11. Factura de servicio de envío de Spirulina, agencia DHL

BAC
SE CERO SPINORUM DEL DUTIN
DR. COUNTER PORTERFIELD
BAC
GRACIAS POR PREFERENCIAS

DHL

FACTURA CONTADO (Serie C) No. 101 0079873

RUC: 001-251200-1018G
FACTURADO POR: JUDITH REYES SALDIVAR

BAC
AUTO.: 000201
REF: 87684365
TOTAL
C5,847.34

COMPRA
*****1795-L
FACT: 000107
REF: 01 25 11 33

OROZCO
EAGLIA 5C ESTE, NA

EXPRESS WORLDWIDE (P)

PRODUCTO	PESO	MONTO	DESCUENTO	TOTAL
Fuel	1.50	\$ 33.66		\$ 33.66
Extratargas		\$ 17.25		\$ 17.25
Sub - Total		\$ 225.79		\$ 225.79
I.V.A. 15%				\$ 33.87
Total		36.6240		\$ 259.66
Tipo de Cambio				C\$ 9,509.74

AUTORIZADO POR DGI: ASFC 01/0049/04/2022/B
Monto Córdobas: \$ setenta y tres mil novecientos sesenta y seis con sesenta y seis centavos

FORMA DE PAGO: CASH ☒ TARJETA ☐ CHEQUE ☐ OTRO ☐

ORIGINAL: CLIENTE / CELESTE: CONTABILIDAD / AMARILLO: TESORERIA

FORMULARIOS STANDARD INC. S.A. RUC No. J0310000011280 C.T. No. 4618511 2.5 M. DEL No. 78001 AL No. 80500
11/2024 AMP/310024/04 2024 ACPT/1219711-2024 O.T. 6221/11-2024

EXPRESS WORLDWIDE
CNA # 301199-1203
De: ALGAE RESEARCH AND SUPPLY INC
From: ALGAE RESEARCH AND SUPPLY INC
146 BUENA VISTA WAY
CARLSBAD CA 92008-1538
NA
NA
UNITED STATES OF AMERICA

SDM
NATHALYA PAOLA REYES
Tel: 50582739903
service@algaerearchsupply.com

Contacto/Contact:
NATHALYA PAOLA REYES
OROZCO
Tel: 50582739903
nathpro25@gmail.com

Para: NATHALYA PAOLA REYES OROZCO
To: RESD. LOMAS DEL VALLE AGUJA
5C ESTE,
NA
MANAGUA MANAGUA 0000
NICARAGUA

NI-MGA-MGA

C

Account Number: 001251200-1018G
Shipment Ref: 20250503
Content: 15TH SPIRULINA PLATENSIS MORE GROWING MEDIUM
User: Jureysa

Pickup Date: 20250503
Package/Weight: 1.50 KG
Pieces: 1

Weight: 1.50 KG
Dimensions (LxWxH):
Total Awt: N/A
Declared Value: USD\$ 91.41
Protection Value: USD\$ 91.41
Type of Export: N/A

Waybill: 82 2195 7590

From: (J)JD 0146 0001 2110 4220 54
To: (J)JD 0146 0001 2110 4220 54

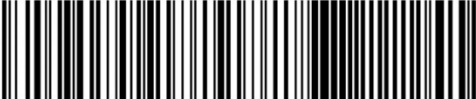
Cliente/Client

INSTITUTO DE PROTECCION Y SANIDAD AGRICOLA-IPSA
PUERTO DE CUARENTENA ADUANA CENTRAL AEREA-ACA-402
IMPORTACIONES
Inspeccionada por: *[Signature]*
Firma: *[Signature]*
Fecha: 09-05-25 Hora: 09:30am

Do not attach to shipment

Fuente: DHL. (2025, 03 de mayo). Factura N° 1010079873: comprobante de pago de servicios de logística de transporte para la importación de Spirulina procedente de Baja California, Estados Unidos.

A.12. Manifiesto de carga, servicio de mensajería internacional y seguimiento de paquetes DHL

EXPRESS WORLDWIDE		WPX	DHL
CRA 48.35.1 / 88-1203 De: ALGAE RESEARCH AND SUPPLY INC. From: DAPHNE WARREN 1405 BUENA VISTA WAY CARLSBAD CA 92008-1538 NA CARLSBAD CA 92008 UNITED STATES OF AMERICA		Origen/Origin: SDM	
Para: NATHALYA PAOLA REYES OROZCO To: RESD. LOMAS DEL VALLE AGUJA 5C ESTE, NA MANAGUA MANAGUA 0000 NICARAGUA		Contacto/Contact: NATHALYA PAOLA REYES OROZCO	
NI-MGA-MGA			
C		Día/Day: Hora/Time:	
Account Number: IMPXONL Shipment Ref: 001-251200-1018G	Pickup Date: 20250503	Package/Shipment Weight: 1.50 KG	Pieces: 1
Content: ARTHROSPIRA PLATENSIS MORE GROWING MEDIUM User: jureyess Service Point: MGA Route: NIS5			
 WAYBILL 82 2195 7590		Weight: 1.50 KG Dimensions (LxWxH): 12.00x10.00x45.00cm Total Awb: NBO 9 509 74 Declared Value: USD\$ 91.41 Protection Value: USD(USD) 91.41 Type of Export:	
 (2L) NI:MGA MGA+48000001			
 (J)JD 0146 0001 2110 4220 54			

Doblar aquí / Fold here

Fuente: DHL (2025, 03 de mayo). Manifiesto de carga.

From: (J)JD 0146 0001 2110 4220 54
To: (J)JD 0146 0001 2110 4220 54

Do not attach to shipment

AVISO IMPORTANTE:

[illegible][illegible]

Autorización y firma del Remitente (requerido)

Declaro que este envío no contiene dinero en efectivo o artículos peligrosos. Si
nóblemente Exonera a DHL en caso de incumplimiento a la ley contra fotos
cambianos.

A.13. Inspección fitosanitaria por parte de IPSA en el punto de ingreso al país de Spirulina

 Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional
"Que Pueblo, ¿Presidente!"

REPÚBLICA DE NICARAGUA
INSTITUTO DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA
PUESTO DE CUARENTENA - ADUANA CENTRAL AEREA
Telf.: 2298-1330 ext. 415
RUC: J0810000219519

IPSA
Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria

FECHA: 09-05-25 RECIBO OFICIAL DE CAJA SERIE "D" N° 37876

RECIBIMOS DE: Nathalya Paola Reyes Orozco

RUC:

EN CONCEPTO DE LOS SIGUIENTES SERVICIOS

CODIGO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	PREC. UNITARIO	TOTAL
7	Inspección Fitosanitaria	1	\$3.00	\$3.00

Valor en letras: Tres Dolares Netos

CONCEPTO: Pago por inspección Fitosanitaria de 1.5 kg Res 175-2006

MONEDA: Dolar TIPO DE CAMBIO 36.6243

CHEQUE N° BANCO LA FISE

ORDEN DE PAGO TRANSFERENCIA MINUTA:

EFFECTIVO

CHEQUE

\$3.00

FIRMA DEL CAJERO

Nota: Este recibo no es válido sin la firma y sello de caja. No es válido con borroneo o emblema.

Original, Verde, Rosado y Amarillo C.G.T.M.C. RUC 80910000100800 / 150 B. de 50 L / N° 30501-38000 / ANMP/4/0113/12-2022 / AC/80/95/3-2023 / OT/2170/3-2023

Fuente: Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria. (2025, 09 de mayo). Recibo N° 37876: comprobante de pago de inspección fitosanitaria de la carga, una vez presente en las instalaciones de DHL ubicadas en Parque Industrial Portezuelos, Managua.

A.14. Acta de Reoonocimiento de mercancía correspondiente al ingreso al país de Spirulina



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional
El Pueblo, Presidente!

2025
4619
Siempre + allá!
AVANZANDO EN LA REVOLUCIÓN!

ACTA DE RECONOCIMIENTO

Aduana: 0110

En la ciudad de Managua departamento de Managua a las 10:55 AM del 10/05/2025 Yo: Miguel Medina, funcionario de Aduana, al practicar el reconocimiento de la mercancía referenciada conforme el artículo 32 de la ley que establece el autodespacho para la importación, exportación y otros regímenes, resulto lo siguiente

CONCEPTOS	CORRECTOS		VARIACION 100%	
	SI	NO	SI	NO
1.- Clasificación arancelaria	☒	☐	☐	☐
2.- Cantidad	☒	☐	☐	☐
3.- Valor	☒	☐	☐	☐
4.- Estado	☒	☐	☐	☐
5.- Naturaleza	☒	☐	☐	☐
6.- Origen	☒	☐	☐	☐
7.- Restricciones no arancelarias	☐	☒	☐	☐
8.- Documentos anexos	☒	☐	☐	☐

Observaciones: (ACTA Original en ACCA)

De acuerdo con la autorización previa, se llevó a cabo la revisión física y documental de las mercancías contenidas en UN BULTOS, bajo el número de GUÍA AÉREA 8221957590 y con registro de RESA número 2025 3545. Este proceso de revisión y valoración fue realizado en su totalidad por la funcionaria de aduana Miguel Medina, en presencia de Nathaly Paola Reyes Orozco, con número de cédula: 001-251200-1018G a la mercancía consistente Micro Organismo Vivos (Algas Marinas), con un valor de aduana de PCA 432.18. Se determina que la Obligación Tributaria Aduanera es de PCA 137.42. Se procede a realizar el cobro manual debido que el SIDUNEA WORD presenta fallas al momento de realizar la declaración de oficio y debido a la naturaleza de la mercancía no puede permanecer en un ambiente sin las condiciones óptimas.

Firman: Agente Aduanero

CC.: Original anexo declaración
1 copia: Agente

Firman: Funcionario Aduanero

VoBo Administrador o Jefe Dep. Téc.



SOMOS
PUEBLO
QUE VENCE!

CRISTIANA, SOCIALISTA, ¡SOLIDARIA!
DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS ADUANEROS
km 4 ½ carretera norte. teléfonos 2249-3151/53
consultas@dga.gob.ni www.dga.gob.ni

Fuente: Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (2025, 10 de mayo). Acta de Reconocimiento de la mercancía importada, conteniendo el kit de cultivo de Spirulina y Spirulina en estado acuoso.



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional
El Pueblo, Presidente!

INSTITUTO DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA
DIRECCIÓN DE CUARENTENA AGROPECUARIA
HOJA DE INSPECCIÓN AGROPECUARIA

ROC: 37876

Información de la Inspección

ID de Inspección	INSP_0120250509224245832	Fecha de Inspección	09/05/2025	Puesto	PCA A.C.A
------------------	--------------------------	---------------------	------------	--------	--------------

Importador Nathalya Paola Reyes Orozco

País Origen	Estados Unidos	País Procedencia	Estados Unidos
-------------	----------------	------------------	----------------

Certificado Sanitario	Certificado de Origen	Coincidencia Producto Permiso
☐	☐	☐

Detalle de Productos

Permiso	Producto	Cantidad	Cantidad Permiso	País Origen
	Subproducto de Origen Vegetal	1.500000 Kilos	0.000000	Estados Unidos

Manejo del Producto

Manejo Adecuado Producto	☒	Muestra Tomada	☐	Plaga Interceptada	☐
--------------------------	-------------------------------------	----------------	--------------------------	--------------------	--------------------------

Total Contenedores Inspeccionados 0

Medidas Fitosanitarias Aplicadas

Tratado	☐	Retenido	☐	Liberado	☒	Rechazado	☐	Decomisado	☐
---------	--------------------------	----------	--------------------------	----------	-------------------------------------	-----------	--------------------------	------------	--------------------------

Observaciones

Producto inspeccionado en DHL empacado sellado caducidad vigente en buen estado fitosanitario al momento de la inspección no se encontraron plagas factura # MGA-4NC1YH

Nombre, Firma y sello del especialista del PCA



Nombre, Firma e identificación del Usuario

Nathalya Paola Reyes Orozco



INSTITUTO DE PROTECCIÓN Y SANIDAD AGROPECUARIA
Dirección General de Sanidad Agropecuaria.
Managua-Nicaragua-www.ipsa.gob.ni

Fuente: Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (2025, 10 de mayo). Acta de Reconocimiento de la mercancía importada, conteniendo el kit de cultivo de Spirulina y Spirulina en estado acuoso.

A.15. Impuestos establecidos por DGA por ingreso al país de Spirulina

Nicaragua, 10 de mayo de 2025
 Dirección General de Servicios Aduaneros
 Republica de Nicaragua

Comprobante de Pago

Customs office 0110 - ADUANA CENTRAL DE CARGA AEREA
 Fecha Decl. 10/05/2025

Referencia de declaración

Model Customs reference
 IMO4 10/05/2025

Declarante Company
 830284 850043
 DECLARACION ADUANERA DE OFICIO IMPORTADOR OCASIONAL
 (DGA) *****

Global taxes

Tax code	Tax description	Tax value in PCA	Rectificado in PCA
DOF	Despacho de oficio	40.00	40.00
SPE	SERVICIO POR TRASMISION ELECTRONICA	11.00	11.00
Total Global taxes		51.00	

Items taxes

Tax code	Tax description	Tax value in PCA	Rectificado in PCA
DAI	DERECHO ARANCELARIO DE IMPORTACION	00.00	00.00
ISC	IMPUESTO SELECTIVO AL CONSUMO	00.00	00.00
IVA	IMPUESTO AL VALOR AGREGADO	86.42	86.42
Total Items taxes		86.42	
Total assessed amount for the declaration		137.42	
Total amount paid:		137.42	

PCA: Peso Centroamericano
 Impuestos: 86.72
 Servicios: SIEMPRE MÁS 11.00

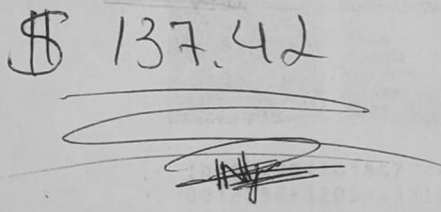
EN LUZ, VIDA Y VERDAD
 DOF: 40.00
 EN FUERZA INSOBORNABLE, EN SOL DE LIBERTAD
 EN LUCHA INCLAUDICABLE, EN NO RETROCEDER !
 CON DANIEL Y EL FRENTE
 EL PUEBLO-PRESIDENTE

USUARIO
 NATHALY PAOLA REYES OROZCO

PAZ CON DIGNIDAD ! Signature
 46/19 VIVA LA REVOLUCION ! Norlan Ismael Triana E.

SOMOS PUEBLO QUE VENCE!
 CRISTIANA, SOCIALISTA, ¡SOLIDARIA!
 DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS ADUANEROS
 km 4 ½ carretera norte. teléfonos 2249-3151/53
 consultas@dga.gob.ni www.dga.gob.ni

Fuente: Dirección General de Ingresos. (2025, 10 de mayo). Declaración de impuestos referentes a la importación de Spirulina al país.

SIDUNEA WORLD		NICARAGUA	
MINISTERIO DE HACIENDA Y CREDITO PUBLICO DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS ADUANEROS ADUANA CENTRAL DE CARGA AEREA			
REPORTE DE ENTRADAS Y SALIDAS DE ALMACEN			
DATOS DEL VIAJE			
Número de Viaje	: LC506-2	Fecha de Salida	: 09/05/2025
Número de Registro	: 2025 3545	Fecha de Llegada	: 09/05/2025
Código del Lugar de Salida	: CRSJO		
Lugar de Salida del Embarque	: SAN JOSE		
DATOS DEL TRANSPORTE			
Nombre del Medio	: NICA	Nacionalidad	: NICARAGUA
		Código de Nac.	: NI
DATOS DEL DOCUMENTO DE TRANSPORTE			
	Línea Seleccionada	: 1	
	Documento de Transporte Seleccionado	: 8221957590	
	Código de Embalaje	: 4G - Caja de Carton	
	Número de Bultos	: 1	
	Peso Total	: 1.51	
	Bultos Restantes	: 1	
	Peso Restante	: 1.51	
	Estado	: HSE	
Información de Sobrantes y Faltantes			
1 CTN REINT			
			
Consignatario	: NATHALY PAOLA REYES OROZCO		
Localización	: 1010-BOD-01 DHL		
Descripción	: ARTHROSPIRA PLATENSIS MORE GROWING MEDIUM		

Fuente: Dirección General de Ingresos. (2025, 10 de mayo). Impuesto sobre el Valor Añadido referente a la importación de Spirulina al país.