



**Efecto de la luz roja en la producción de ficocianina en *Espirulina (Arthrospira platensis)*  
y estimuladas con Ácido indol 3- acético bajo condiciones controladas**

Curipallo Rivadeneira, Alejandra Estefanía

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal, Ph.D.

10 de agosto del 2023



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería Agropecuaria**

**Certificación:**

Certifico que el trabajo de titulación: **Efecto de la luz roja en la producción de ficocianina en *Espirulina (Arthrospira platensis)* y estimuladas con Ácido indol 3- acético bajo condiciones controladas**, fue realizado por la señorita: **Curipallo Rivadeneira, Alejandra Estefanía**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 10 de agosto del 2023



**Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal, Ph.D.**

C. C 1709998163

## Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos



### CURIPALLO TT 2023 (copy leaks).docx

#### Scan details

Scan time:  
August 10th, 2023 at 20:18 UTC

Total Pages:  
36

Total Words:  
8801

#### Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	1.1%	94
Minor Changes	1%	89
Paraphrased	2.7%	238
Omitted Words	0%	0

#### AI Content Detection



Text coverage  
 AI text  
 Human text

#### Plagiarism Results: (17)

##### T-IASA I-005379.pdf

2%

<https://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/14508...>

diana carolina sandoval

I DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA...

##### T-IASA I-005379.pdf

1.8%

<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/14508/1/t-...>

diana carolina sandoval

I DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA...

##### T-IASA I-004416.pdf

0.5%

<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/26768/1/t-...>

PC

1 Carátula Carátula Efecto de fertilización con Zn y Fe dopadas en nanopartículas sobre el rendimiento y calidad del grano de chocho (Lu...



INGENIERO EN INGENIERÍA AGROPECUARIA  
JUAN CRISTOBAL  
ORTIZ TIRADO

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal, Ph.D.

C. C 1709998163



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera de Ingeniería Agropecuaria**

**Responsabilidad de Autoría:**

Yo, **Curipallo Rivadeneira, Alejandra Estefanía** con cédula de ciudadanía No. 1714752126, de claro que el contenido, ideas y criterios del trabajo titulación: **Efecto de la luz roja en la producción de ficocianina en *Espirulina (Arthrospira platensis)* y estimuladas con Ácido indol 3- acético bajo condiciones controladas**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 10 de agosto del 2023

**Curipallo Rivadeneira Alejandra Estefanía**

C.C.: 1714752126



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

**Autorización de Publicación:**

Yo, Curipallo Rivadeneira, Alejandra Estefanía con cédula de ciudadanía No. 1714752126 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Efecto de la luz roja en la producción de ficocianina en *Espirulina (Arthrospira platensis)* y estimuladas con Ácido Indol 3 acético bajo condiciones controladas** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 10 de agosto del 2023

**Curipallo Rivadeneira, Alejandra Estefanía**

C.C.: 1714752126

## **Dedicatoria**

Mi trabajo se lo dedico a,

Mi papi Gonzalo (+), sus consejos, los valores, el esfuerzo, la persistencia y resiliencia enseñada me han formado y enseñado a continuar pese a las adversidades de la vida.

Mi mami Marina, quien me ha acompañado en mi proceso de realización personal, enseñándome a ser constante, dándome ánimos para no abandonar mis metas y objetivos.

A mi hermana Cristina, que compartió conmigo noches de desvelo, por los momentos felices por el innegable apoyo y ganas de ver bien a su hermanita.

A mi hijo Leonardo, que me acompañó durante el proceso de realización de la tesis mi mayor motivo para continuar y ser mejor.

A mi sobrino Eduardo, por formar parte de mí, y alegrarme mis días.

A Darío, mi compañero de futuras batallas, que me ha brindado su apoyo desde que nos conocimos.

A Wendy, mi amiga de toda la carrera, nos apoyamos en los buenos y malos momentos y logramos conseguir nuestro objetivo profesional.

Por formar parte de mí y ayudarme a escalar un peldaño más de mi carrera profesional, mis agradecimientos.

**ALEJANDRA ESTEFANÍA CURIPALLO RIVADENEIRA**

## Agradecimiento

A mi familia que estuvo presente en todo momento y me supo apoyar en cada decisión tomada.

Agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, a la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuaria IASA I, por brindarme la oportunidad de haber adquirido los conocimientos y un Título, que me permitirá desarrollar mi carrera profesional.

A mis profesores, que contribuyen al crecimiento y desarrollo personal, los conocimientos adquiridos

A mi director de tesis, Dr. Juan Ortiz, por el apoyo incondicional, por los consejos, por el tiempo y la paciencia brindados, su guía me permitió desarrollar de la manera más adecuada mi tema de tesis.

A la Ing. Daisy Muñoz, por su amistad, su apoyo en los laboratorios, sus consejos y facilidades brindadas para el desarrollo de mi trabajo.

A mis revisores el Ing. Pablo Landázuri e Ing. Miguel Tipán, por su guía en la realización de este proyecto.

A mis amigas Wendy, Lorena, Jessica, juntas compartimos experiencias únicas y agradables que no se olvidan.

A Leisly Columba, mi amiga y gran compañera de tesis, juntas logramos desarrollar nuestros temas, te agradezco los consejos y experiencias compartidas.

## Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación: .....	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría: .....	4
Autorización de Publicación .....	5
Dedicatoria .....	6
Agradecimiento .....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	13
Resumen.....	15
Abstract.....	16
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
Antecedentes.....	17
Justificación .....	18
Objetivos.....	19
Objetivo general .....	19
Objetivo específico.....	19
Hipótesis .....	19
Hipótesis nula.....	19
Hipótesis alterna .....	20
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>21</b>
<b>MARCO REFERENCIAL.....</b>	<b>21</b>



Morfología de <i>Arthrospira platensis</i> .....	21
Ciclo de vida .....	22
Procesos fisiológicos .....	23
Producción de pigmentos .....	23
Ficobiliproteínas .....	23
Ficocianina .....	23
Crecimiento de <i>Arthrospira platensis</i> .....	24
Fase de adaptación.....	25
Fase de crecimiento exponencial .....	25
Fase de crecimiento lineal .....	25
Fase estacionaria.....	25
Fase de muerte .....	25
Condiciones de cultivo .....	26
Fotoperiodo .....	26
Intensidad de luz .....	26
Pigmentos fotosintéticos .....	26
Luz roja.....	27
Temperatura.....	27
pH.....	27
Medios de cultivo .....	28
Medio de mantenimiento.....	28
Medio de masificación.....	29
Auxinas .....	30
Ruta metabólica de AIA .....	30
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>32</b>
<b>METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>32</b>

Ubicación y características del área de estudio .....	32
Métodos .....	32
Producción de Espirulina.....	32
Fase 1.....	32
Fase 2.....	34
Preparación y aplicación del Ácido Indol -3- Acético (AIA).....	34
Diseño experimental.....	36
Factores.....	36
Modelo matemático .....	37
Croquis del diseño.....	37
Análisis estadístico .....	38
Mediciones experimentales.....	38
Variables de estudio .....	38
Densidad celular de <i>Arthrospira platensis</i> en campo.....	38
Espectrofotometría UV.....	40
Velocidad de crecimiento.....	40
Tiempo de duplicación de <i>Arthrospira platensis</i> en campo .....	41
Concentración de ficocianina.....	41
Biomasa.....	42
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>44</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>44</b>
Densidad y absorbancia.....	44
Cinética del crecimiento en el cultivo de la cianobacteria ( <i>Arthrospira platensis</i> ) .....	49
Producción de biomasa.....	50
Temperatura .....	51
Potencial hidrógeno evaluado bajo condiciones de invernadero.....	52

Concentración de ficocianina .....	52
<b>Discusión.....</b>	<b>54</b>
Cinética de crecimiento del cultivo de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).....	54
Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación .....	54
Producción de biomasa de espirulina ( <i>Arthrospira platensis</i> ).....	55
Parámetros ambientales .....	56
Temperatura y potencial hidrógeno pH.....	56
Evaluación de la concentración de la ficocianina .....	57
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>59</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>59</b>
Conclusiones .....	59
Recomendaciones.....	59
<b>Bibliografía .....</b>	<b>61</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Medio de mantenimiento para <i>Arthrospira platensis</i> .....	28
<b>Tabla 2</b> Medio de masificación para <i>Arthrospira platensis</i> .....	29
<b>Tabla 3</b> Factores y niveles de la investigación .....	36
<b>Tabla 4</b> Descripción de los tratamientos.....	36
<b>Tabla 5</b> Densidad celular, de <i>Arthrospira platensis</i> en cuatro tratamientos bajo invernadero. .	44
<b>Tabla 6</b> Promedio $\pm$ desviación estándar del crecimiento celular y absorbancia de <i>Arthrospira platensis</i> de cuatro tratamientos bajo invernadero. ....	45
<b>Tabla 7</b> Promedio $\pm$ desviación estándar de los parámetros cinéticos del crecimiento celular en <i>Arthrospira platensis</i> bajo condiciones de invernadero. ....	50
<b>Tabla 8</b> Promedio $\pm$ desviación estándar de la producción de biomasa bajo aplicación de tratamientos T1, T2, T3, T4 .....	51
<b>Tabla 9</b> Contenido de ficocianina en <i>Arthrospira platensis</i> . ....	53

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b>	<i>Ciclo de vida de Spirulina</i> .....	22
<b>Figura 2</b>	<i>Estructura de la ficocianina</i> .....	24
<b>Figura 3</b>	<i>Vista aérea de área de laboratorio de acuicultura e invernadero cuarentenario</i> .....	32
<b>Figura 4</b>	<i>Cultivo de Spirulina en laboratorio</i> .....	33
<b>Figura 5</b>	<i>Cultivo de Spirulina en invernadero</i> .....	34
<b>Figura 6</b>	<i>Diagrama de reproducción de Arthrospira platensis</i> .....	35
<b>Figura 7</b>	<i>Croquis del diseño experimental en fase de campo</i> .....	37
<b>Figura 8</b>	<i>Determinación de la densidad celular de Arthrospira platensis</i> .....	39
<b>Figura 9</b>	<i>Crecimiento celular por espectrofotometría</i> .....	40
<b>Figura 10</b>	<i>Obtención de la concentración de ficocianina</i> .....	41
<b>Figura 11</b>	<i>Concentración de ficocianina</i> .....	42
<b>Figura 12</b>	<i>Cosecha de Spirulina</i> .....	43
<b>Figura 13</b>	<i>Curva de crecimiento de Arthrospira platensis con la aplicación de Tratamientos: T1, T2, T3, T4 bajo invernadero.</i> .....	46
<b>Figura 14</b>	<i>Comportamiento del crecimiento de Arthrospira platensis por espectrofotometría UV</i> .....	47
<b>Figura 15</b>	<i>Curva de crecimiento de densidad celular de Arthrospira platensis con respecto al tiempo y el efecto de la luz roja con AIA 10</i> .....	47
<b>Figura 16</b>	<i>Relación entre la absorbancia y densidad celular de Arthrospira platensis, tratamientos: Luz blanca más Ácido Indol 3 acético 0 (LbAIA0); Luz blanca más AIA 10 (LbAIA10)</i> .....	48
<b>Figura 17</b>	<i>Relación entre la absorbancia y densidad celular de Arthrospira platensis, tratamientos: Luz roja más Ácido Indol 3 acético 0 (LrAIA0); Luz roja más AIA 10 (LrAIA10)</i> .....	49
<b>Figura 18</b>	<i>Comportamiento de la temperatura durante los 60 días de evaluación</i> .....	51

**Figura 19** *Relación positiva entre el pH y tiempo bajo invernadero* ..... 52

## Resumen

La espirulina es una cianobacteria de importancia nutricional por su alto contenido de proteína, aminoácidos esenciales, vitaminas, carbohidratos, minerales y compuestos bioactivos que lo vuelven un alimento beneficioso para la salud humana y animal. Estados Unidos y Japón, producen esta cianobacteria a nivel industrial como suplemento alimenticio; aditivo de materia prima para producir alimentos; bebidas y productos cosméticos. Al ser una cianobacteria verde azulada posee en su composición pigmentos fotosintéticos como las ficobiliproteínas que a su vez están compuestas de ficoeritrinas, ficocianinas y aloficocianinas. Bajo este contexto la presente investigación evaluó el efecto de la luz roja en la concentración de ficocianina en *Espirulina (Arthrospira platensis)* y estimuladas con Ácido indol 3 acético bajo condiciones controladas, además de la cantidad de biomasa microalgal ( $\text{g L}^{-1}$ ). El experimento utilizó un diseño experimental DCA bifactorial 2x2 con 4 repeticiones; el cultivo se mantuvo bajo condiciones de pH (9,3 a 10.4) y temperatura de ( $18^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$ ) durante 60 días; cuyos resultados demostraron que al aplicar el Tratamiento 4 con luz roja (10:14 horas luz/oscuridad) y adición de  $10 \text{ mgL}^{-1}$  AIA, promovió el crecimiento celular e incrementó la cantidad de biomasa en 40% hasta 15, 25  $\text{g L}^{-1}$ . De la misma forma el tratamiento 4 ( $F=54,97$ ;  $p<0,0001$ ) presentó mayor concentración de ficocianina ( $0,215 \pm 0,008 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Se puede concluir que al aplicar luz roja durante (10 horas luz/ 14 oscuridad), produjo el incremento de ficocianina y la adición de AIA ( $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) incrementó el contenido de biomasa.

**Palabras clave:** *ARTHROSPIRA PLATENSIS*, FICOCIANINA, LUZ LED ROJA, ÁCIDO INDOL -3 ACÉTICO (AIA).

## Abstract

Espirulina is a cyanobacterium of nutritional importance due to its high content of protein, essential amino acids, vitamins, carbohydrates, minerals and bioactive compounds that make it a beneficial food for human and animal health. The United States and Japan produce this cyanobacterium at an industrial level as a food supplement, raw material additive to produce food, beverages, and cosmetic products. Being a blue-green cyanobacterium, it has in its composition photosynthetic pigments such as phycobiliproteins, which in turn are composed of phycoerythrins, phycocyanins and allophycocyanins. In this context, the present investigation evaluated the effect of red light on the concentration of phycocyanin in Spirulina (*Arthrospira platensis*) and stimulated with indole-3-acetic acid under controlled conditions, as well as the amount of microalgal biomass (AIA  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ). The investigation was developed under a 2x2 Bifactorial DCA experimental design with four replications; the culture was maintained under conditions of pH (9.3 to 10.4) and temperature ( $18^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$ ) for 60 days; whose results showed that the application of Treatment 4 with red light (10:14 hours light / dark) and addition of indole-3-acetic acid (AIA  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) promoted cell growth and increased the amount of biomass by 40% with 15, 25  $\text{g L}^{-1}$ . The same form treatment 4 ( $F=54.97$ ;  $p<0.0001$ ) presented higher concentration of phycocyanin ( $0.215\pm 0.008 \text{ mg mL}^{-1}$ ), it can be concluded that the application of red light during (10 hours light/ 14 hours dusk), produced the increase of phycocyanin and the addition of AIA ( $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) increased the biomass content.

**Keywords:** *ARTHROSPIRA PLATENSIS*, PHYCOCYANIN, RED LED LIGHT, INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA).



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### Antecedentes

El cultivo de cianobacterias como la espirulina presenta un interés en la industria, y a nivel mundial existen 500 empresas que producen 6000 toneladas/año. Estados Unidos y Japón son los principales productores de espirulina a nivel mundial. En USA, la empresa Earthrise Farms posee el cultivo más grande y tecnificado en el mundo, así como, Cyanotech la segunda mayor industria productora ubicada en Hawai (Bermúdez y Ruiz, 2007).

Las cianobacterias son usadas en un 70% como suplemento alimenticio, el 20 % como aditivo de materia prima para la producción de alimentos, bebidas y el 10% para productos cosméticos (Asero, 2014).

La espirulina puede ser modificada en su composición bioquímica alterando las condiciones del cultivo: nitrógeno, oxígeno, hormonas, etc.; y/o adecuando las condiciones ambientales: periodos de exposición a radiación UV, temperatura, exposición a ondas específicas de luz, con la finalidad de estimular la producción de metabolitos y biomasa, asiéndola más atractiva a nivel biotecnológico y nutricional (Fernández *et al.*, 2014).

La intensidad de luz y longitud de onda cumplen con un papel determinante en la actividad fotosintética, lo que permite un adecuado crecimiento debido a que los fotosistemas catalizan la reacción de conversión de energía lumínica que es captada en una forma utilizable por las moléculas de clorofila excitadas y que a su vez generan productos de alto valor (Vásquez *et al.*, 2017).

A nivel industrial existen diversas especies de *Espirulina* que poseen características nutracéuticas y una de las más estudiadas es *Arthrospira platensis*, una cianobacteria característica por su color azul-verdoso cuyo desarrollo rápido se da por la conversión de la energía solar en energía química, mediante la fotosíntesis, además del dióxido de carbono y

minerales que se encuentran en aguas alcalinas zonas calientes o ambientes controlados (Ramos, 2011).

Las fico-biliproteínas son uno de los compuestos que se encuentra formando parte de *Arthrospira platensis*, característica por su color intenso, éstas se dividen en 4 grupos: ficoeritrinas, ficocianinas, aloficocianinas y ficoeritrocianinas cada una de estas posee propiedades espectrofotométricas que facilitan su identificación analítica; así las ficoeritrinas absorben entre 540 – 570 nm, las fico-cianinas entre 620 - 652 nm, las aloficocianinas entre 650 - 655 nm y las fico-eritrocianinas 570 – 595 nm (Ramos, 2011).

Por lo anterior, se pretende estudiar al cultivo de *A. platensis* en recipientes bajo condiciones controladas en laboratorio e invernadero, donde se garantizaron los procesos de adaptación de la cepa, crecimiento, masificación y producción de biomasa con la adición de Ácido Indol – 3 Acético, además de la generación de metabolitos de interés como la ficocianina.

### **Justificación**

En la industria de alimentos procesados, los consumidores prefieren productos naturales que presenten beneficios para la salud, con excelentes cualidades nutritivas y sensoriales positivas. El uso de colorantes sintéticos se percibe hoy en día como indeseables, dañinos, responsables de reacciones alérgicas e incluso causantes de intolerancias (Batista *et al.*, 2006).

La producción de pigmentos naturales genera interés por el contenido de pigmentos fotosintéticos y sus propiedades nutraceuticas características; por lo que en el presente estudio se integró las investigaciones de Sandoval (2017) con el uso de medios específicos para la realimentación de espirulina y con el estudio de Benalcázar (2022) que registró como mejor dosis  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de AIA para el incremento celular. Con la adición de luz roja, para el incremento de ficocianina; producidas a partir de fuentes naturales de *A. platensis*.

En el estudio realizado por Álvarez (2018) evidenció que el uso de 1500 lux o 20, 25  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  representa una opción considerable para la obtención de biomasa e incremento de ficocianina sin afectar la composición bioquímica de *Spirulina platensis*. Lo que beneficiaría la producción en términos de cantidad y contenido de pigmentos.

Por lo tanto, este estudio evaluará el contenido de ficocianina y cantidad de biomasa producida a partir de *A. platensis*, usando un protocolo establecido en el laboratorio para la adaptación y crecimiento de la cianobacteria, así como también del desarrollo y masificación en invernadero bajo condiciones controladas evaluando el efecto de la luz roja y adición de Ácido Indol -3- Acético.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Evaluar el efecto de la luz roja en la producción de ficocianina en espirulina (*Arthrospira platensis*) estimuladas con Ácido Indol -3- Acético en la Hcda El Prado a 2800 msnm.

### **Objetivo específico**

- Valorar los parámetros ambientales y productivos de *A. platensis* con adición de auxinas naturales  $10 \text{ mgL}^{-1}$  AIA bajo la acción de la luz roja.
- Determinar la producción de ficocianina en el cultivo de *A. platensis* con adición de auxinas naturales  $10 \text{ mgL}^{-1}$  AIA bajo la acción de la luz roja.

## **Hipótesis**

### **Hipótesis nula**

“Los tratamientos bajo la interacción luz roja (10:14 luz/oscuridad) y adición de ácido indol -3- acético ( $10 \text{ mg L}^{-1}$  AIA) no tiene efectos sobre la producción de biomasa y concentración de ficocianinas de espirulina (*A. platensis*)”.

### ***Hipótesis alterna***

“Los tratamientos bajo la interacción luz roja (10:14 luz/oscuridad) y adición de ácido indol -3- acético ( $10 \text{ mgL}^{-1}$  AIA) tiene efectos sobre la producción de biomasa y concentración de ficocianinas de espirulina (*A. platensis*)”.

## CAPITULO II

### MARCO REFERENCIAL

#### ***Arthrospira platensis***

La espirulina es una cianobacteria filamentosa fotosintética de color verde azulado con capacidad de fijar el nitrógeno del aire, por esta razón forman poblaciones en aguas tropicales y subtropicales en donde los niveles de carbonato, bicarbonato y pH son elevados. Su distribución se encuentra en África, Asia tropical, subtropical en América del Sur, y en Europa (González *et al.*, 2021).

Ponce (2013) menciona que, Espirulina contiene 65% de proteínas y aminoácidos esenciales como: isoleucina 5,6%, leucina 8,7%; lisina 4,7%, metionina 2,3%; fenilalanina 4,5%; treonina 5,2%; triptófano 1,5% y valina 6,5%.

Aminoácidos no esenciales como: ácido glutámico, 14,6% y ácido aspártico 9,8%, 55 unidades de lípidos, 7% de minerales; 20% de hidratos de carbono y 3% de humedad (Gómez, 2020).

El aporte de vitaminas por 10 g de espirulina en función de la dieta es: vitamina A (beta-carotenos) 4,60 veces; vitamina B1 (0,21); vitamina B2 riboflavina (0,21); vitamina B3 (niacina) 0,07; vitamina B6 (piridoxina) 0,04; vitamina B12 5,33 veces; vitamina E alfa-tocoferol 0,03 (Ponce, 2013).

Adjali *et al.* (2022) mencionan que *A. platensis* posee la capacidad de captar oxígeno reactivo y actividad quelante de metales, eliminando toxinas como los materiales pesados (hierro, cobre, cadmio) mediante intercambio iónico y quelación en anillos quelados de 5 miembros.

#### **Morfología de *Arthrospira platensis***

*Arthrospira platensis* posee tricomas o filamentos, en forma de hélice abierta que llegan a medir 100 – 500 µm, son cilíndricas de 3 a 12 µm de ancho, cuyo diámetro oscila entre 20 a

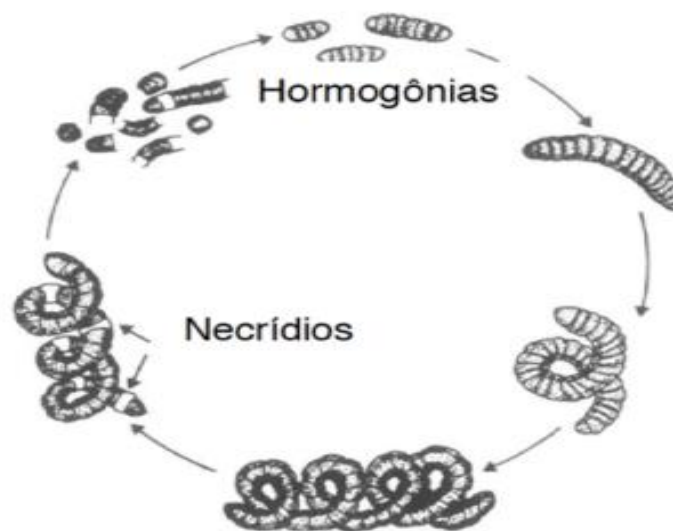
100  $\mu\text{m}$  dependiendo de las condiciones ambientales y de crecimiento (Rodríguez y Olveira, 2006).

### Ciclo de vida

En la primera fase celular, espirulina está dispuesta en filamentos, tienen la facultad de multiplicarse por bipartición, en el que involucra la ruptura de los tricomas en segmentos más pequeños como resultado de la lisis celular de células especializadas llamadas necridios a intervalos de 4 a 6 células. La segunda fase se produce desde la forma corta y desenrollada llamada hormogonia. Finalmente, las células de cada hormogonia se dividen para formar el tricoma en espiral (Borba y Ferreira, 2019).

### Figura 1

*Ciclo de vida de Spirulina*



*Nota.* Recuperado de Borba y Ferreira (2019).

## **Procesos fisiológicos**

### ***Producción de pigmentos***

La producción de pigmentos depende de parámetros físico-químicos como: la temperatura, la aireación, concentración de CO<sub>2</sub>, fuentes de carbono, intensidad de luz, pH y concentración de nutrientes, nitrógeno o fósforo (Romero *et al.*, 2017).

Es por eso que los pigmentos varían dependiendo de lo que se quiere obtener de *Espirulina*, por ejemplo; a mayor tiempo en exposición a la luz se obtendrá más cantidad de biomasa y por el contrario si el objetivo es producir pigmentos, se tendrá que regular las horas de exposición a la luz, (Álvarez, 2018). Así obtendremos pigmentos como carotenoides, xantofilas, clorofila y ficobiliproteínas (Romero *et al.*, 2017).

### ***Ficobiliproteínas***

Son proteínas fluorescentes solubles en agua, unidas covalentemente a grupos tetrapirroles cromóforos, conocidos como bilinas que forman parte del aparato fotosintético de las cianobacterias (Ferreira *et al.*, 2015).

Se sitúan en la superficie de la membrana tilacoides, actuando como pigmentos antena, cuya función principal es absorber la luz y transferir la energía de excitación al centro de reacción. Su estructura está constituida por tres cilindros y un núcleo central, cada uno tiene cuatro discos agrupados y seis varillas radiales ubicadas en el núcleo central compuestas por discos, estos se organizan según su máxima absorción siendo las ficoeritrinas las que se encuentran en la periferia, ficocianinas en el centro y las alo-ficocianinas en la membrana tilacoidal (Toloza, 2019).

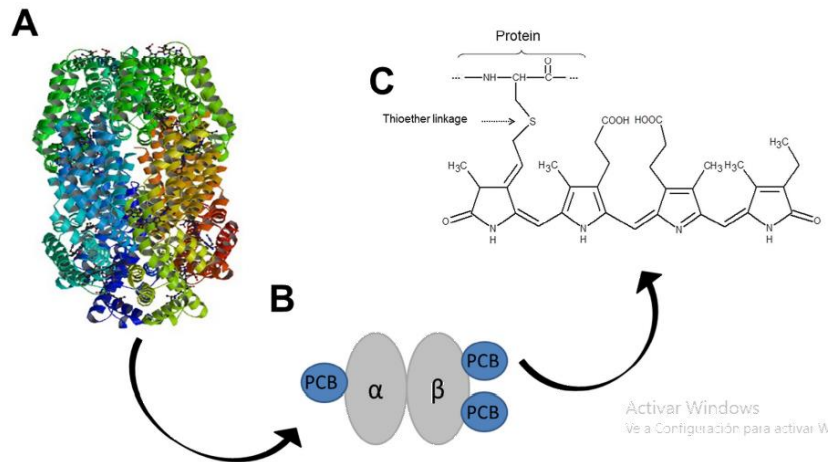
### ***Ficocianina***

La ficocianina (PC) es un pigmento fotosintético de las ficobiliproteínas, considerado como el principal componente de actividad antioxidante en las cianobacterias, se encuentra en un 20% de la fracción proteica y es característico por su color azul brillante (González *et al.*, 2021).

La composición de la ficocianina (PC) consta de dos sub unidades homólogas, tipos de cadena  $\alpha$  y  $\beta$  globina unidas covalentemente al tipo ficocianobilina (PCB) por enlace tioéter

## Figura 2

### Estructura de la ficocianina



Nota. Recuperado de Fernández *et al.*, (2014).

La pureza de la ficocianina (PC) se evalúa en función de la relación absorbancia ( $A_{620}/A_{280}$ ); dichas absorbancias (620 y 280 nm) corresponden a ficocianina y proteína total respectivamente. Se considera que la ficocianina es de calidad alimentaria cuando las absorbancias ( $A_{620}/A_{280}$ ) son  $\leq 0,7$ ; de grado reactivo cuando las absorbancias ( $A_{620}/A_{280}$ ) están entre  $\leq 0,7 - 3,9$  y de grado analítico cuando las absorbancias ( $A_{620}/A_{280}$ ) son  $\geq 4,0$  (González *et al.*, 2021).

### Crecimiento de *Arthrospira platensis*

*Arthrospira platensis* se desarrolla en un medio controlado por fases y bajo condiciones pre establecidas, su crecimiento dura aproximadamente de 30 a 45 días, dependiendo las condiciones ambientales y medio de nutrientes que se le proporcione al cultivo.



### ***Fase de adaptación***

Es la fase inicial y de adaptación de la cepa, su crecimiento es lento, esto se debe a que los filamentos empiezan adaptarse a un nuevo medio, los cambios en el pH, temperatura e iluminación pueden provocar la muerte de las células (Tolozá, 2019).

### ***Fase de crecimiento exponencial***

Una vez adaptadas al medio y condiciones ambientales, empieza su crecimiento exponencial a una velocidad específica con respecto al tiempo, aquí empieza la división celular dando origen a nuevas células que tienen la capacidad de dividirse y multiplicarse (Lavoie *et al.*, 2007).

### ***Fase de crecimiento lineal***

Las cianobacterias se han adaptado a las condiciones de cultivo, empieza la multiplicación a una velocidad específica con respecto al tiempo (Lavoie *et al.*, 2007).

### ***Fase estacionaria***

Ocurre cuando el crecimiento de células se detiene, existe una disminución en la tasa de división, esto se debe a que las condiciones del cultivo disminuyen. En la fase de estabilización del cultivo, los filamentos se mantienen constantes por la limitación de nutrientes y área para su multiplicación. Se considera que es el mejor momento para la cosecha cuando existe  $6,8 \times 10^5 \pm 3333$  (filamentos<sup>-1</sup>mL) (Sandoval, 2017).

### ***Fase de muerte***

Se determina que está en fase de muerte cuando el crecimiento de filamentos ha llegado a su máximo de crecimiento en población, es aquí donde el crecimiento celular se detendrá y la curva de crecimiento empieza a descender; se observa un cambio de coloración de verde intenso a café, los filamentos de *A. platensis* flotan en la superficie con una coloración café claro intensa. Para evitar pérdidas y muerte total de la cepa, se debe cosechar la biomasa en buen estado y realimentar con medio nutritivo Zarrouk (Sandoval, 2017).

## **Condiciones de cultivo**

### ***Fotoperiodo***

Se llama fotoperiodo a los ciclos de luz y oscuridad, teniendo efectos sobre los ciclos de vida y actividades metabólicas de las microalgas; los ciclos de luz cumplen un rol importante en los procesos de fijación de nitrógeno, fotosíntesis y división celular.

Álvarez (2018) señala que, largas horas de exposición de la cianobacteria a la luz mejora la productividad de *Spirulina sp*, sin embargo, disminuye el contenido de ficocianina (PC), esto se debe a que espirulina es sensible a altas intensidades de luz, superiores a  $500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  y durante largos periodos de tiempo.

### ***Intensidad de luz***

Es un factor importante en el crecimiento de los microorganismos fotosintéticos y representa una fuente principal de energía. Las cepas en mantenimiento necesitan de luz artificial de 40 W, así se puede controlar las necesidades del cultivo. La intensidad de luz que se utiliza puede diferir del cultivo y especie. Para el uso de matraz Erlenmeyer la cantidad de iluminación necesaria es de  $13.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ , en volúmenes mayores se requiere una intensidad luminosa de 67.5 a  $135 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$

### ***Pigmentos fotosintéticos***

Las cianobacterias presentan una pigmentación diversa permitiendo que la actividad fotosintética sea altamente efectiva y neta con una baja intensidad de luz, siendo las ficobiliproteínas las que le dan esta ventaja (Lavoie *et al.*, 2007).

Estas cianobacterias tienen la característica de modificar la composición de los pigmentos-proteínas en sus complejos captadores de luz lo que les da un color diferente dependiendo de las longitudes de onda en las que crecen (Lavoie *et al.*, 2007).

El campo óptico humano capta longitudes de onda de 390 a 750 nm. Por otro lado, los microorganismos fotosintéticos son capaces de captar solo una fracción de la radiación

fotosintética activa (PAR) se mide en micrones por metro por segundo ( $\mu\text{mol. m}^2\text{s}^{-1}$ ) y se observa típicamente en longitudes de onda de 400 a 700 nm que les impulsa a realizar la fotosíntesis, esto debido a que no todas las longitudes de onda del espectro son absorbidas por los pigmentos fotosintéticos. Es así que la iluminación artificial debe emitir longitudes de onda específicas, las cuales van a ser absorbidas por los pigmentos (Markou, 2012).

La ficocianina (PC) es una proteína pigmentaria captadora de luz que combinado con los ficobilisomas del fotosistema (PSII) absorben luz en un amplio rango de longitud de onda del espectro visible y transfieren la energía de excitación cuya absorción es a una longitud de onda de 615 nm Álvarez (2018).

### **Luz roja**

La luz es una fuente indispensable de energía para los procesos fotosintéticos de las plantas, estas son capaces de responder a la intensidad y color de la luz por medio de sus fotoreceptores. Los LEDS poseen una intensidad lumínica de 14,7 a 55,5  $\text{W/m}^2$ , con emisión de energía a una longitud de onda entre 400 a 500 nm, lo que incrementa la tasa de crecimiento.

Un diodo emisor es una fuente de luz constituida por un material semiconductor dotado de dos terminales de diodo unión p-n liberando energía en forma de fotones, denominándolo electro-luminiscencia Álvarez (2018).

### **Temperatura**

La temperatura es un factor de gran importancia, valores por debajo de los 17 °C limita el crecimiento, llegando a un estado de dormancia más no de muerte del cultivo. Se considera que la temperatura óptima para el crecimiento es de 35 °C y temperaturas superiores como 38°C inhibe el crecimiento hasta la muerte del cultivo (Arora *et al.*, 2017).

### **pH**

El rango óptimo de pH para el cultivo de *Espirulina* es de 9.4 a 10.4. Las concentraciones de sales, en el medio varían de entre 10 a 90  $\text{g L}^{-1}$  cuya principal fuente de

carbono es el bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), esta sal se disocia en  $\text{CO}_2$  iones  $\text{OH}^-$  y agua así el  $\text{CO}_2$  es fijado mediante el Ciclo de Calvin para la síntesis de compuestos orgánicos y los iones hidroxilo elevan el valor pH a 11, tolerado por la cianobacteria (Rodríguez y Triana, 2006).

### **Medios de cultivo**

Un organismo fotosintético requiere de fuentes nutricionales esenciales para el adecuado crecimiento y desarrollo. Espirulina crece en medios salinos, por lo que en agua salobre es necesario aplicar sal para que la cianobacteria no sufra un choque osmótico al estar en contacto con el agua dulce. Entre los requerimientos nutricionales se encuentran el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y  $\text{CO}_2$ ; también requiere de microelementos esenciales como el azufre (S), Magnesio (Mg), calcio (Ca) y hierro (Fe) además de la adición de bicarbonato (Sandoval, 2017).

### **Medio de mantenimiento**

Es un medio ideal para mantener la cepa espirulina, pudiendo adaptar la cepa en tubos de ensayo por tiempos prolongados y bajo condiciones controladas de luz y aireación. El medio posee dos soluciones (A y B) las cuales deben ser preparadas adecuadamente para evitar precipitaciones al momento de autoclavar los medios (Tabla 1).

**Tabla 1**

*Medio de mantenimiento para *Arthrospira platensis**

<b>Solución A</b>		
Agua destilada	500	mL
$\text{NaHCO}_3$	13,61	g
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	4,03	g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,50	g

### Solución B

Agua destilada	500	mL
NaNO <sub>3</sub>	2,50	g
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,00	g
NaCl	1,00	g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,20	g
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,04	g
Solución metal PIV	6	mL
Solución de micronutrientes	1	mL
Vitamina B12 (15 µg/100 ml H <sub>2</sub> O)	1	mL

*Nota.* Macro y micronutrientes. Adaptado de Sandoval (2017).

### Medio de masificación

Es un medio que cuenta con los nutrientes necesarios que requiere el cultivo de espirulina, este medio le permite un mayor crecimiento, una vez la cepa se haya adaptado a las condiciones iniciales. Cada elemento utilizado en el medio se preparó para un litro de solución, sin embargo, se puede modificar las cantidades según las necesidades del cultivo (Sandoval, 2017).

### Tabla 2

*Medio de masificación para (Arthrospira platensis)*

Medio de cultivo		
Elemento	Cantidad	Unidad
<i>NaHCO<sub>3</sub></i>	10	g
<i>NaCl</i>	5	g
Macronutrientes	20	mL
Micronutrientes	1	mL
Macronutrientes 500 mL		
KNO <sub>3</sub>	50	gr
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5	gr
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,25	gr
Mg SO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25	gr

### Micronutrientes 250 mL

Sulfato de Hierro Quelatado	0,25	gr
--------------------------------	------	----

---

*Nota.* Recuperado de Sandoval (2017). Soluciones para el cultivo de *Espirulina* desde la fase de crecimiento exponencial.

### Auxinas

Las auxinas son un grupo de hormonas naturales que regulan el desarrollo y crecimiento de plantas y microalgas; a nivel celular intervienen en los procesos de división, elongación y diferenciación celular (Garay *et al.*, 2014). Los niveles de auxinas están modulados por su biosíntesis, degradación, conjugación, transporte e interacción con otros reguladores de crecimiento vegetal (RCV); existen diversas rutas de biosíntesis del ácido indol-3-acético (AIA) dependientes de precursores de triptófano (Trp).

Intervienen en el metabolismo y crecimiento de las microalgas, en bajas concentraciones influye en el aumento de biomasa y estimula la fijación de grasas, síntesis de proteína y pigmentos de microalgas. Las auxinas tienen un efecto mediado por enzimas secuestradoras de oxígeno (ROS) así las hormonas endógenas de ácido indol-3-acético (AIA) aumenta su actividad, relacionado al proceso de organogénesis. El peróxido de hidrógeno y el oxígeno son metabolizados por la “maquinaria celular antioxidante” que controlan las auxinas exógenas, generando una respuesta fisiológica en microalgas como la producción de metabolitos y división celular (Piowtroska y Bajguz, 2014).

### ***Ruta metabólica de AIA***

Las Auxinas se sintetizan principalmente en tejidos jóvenes, con dos vías de síntesis; específicamente en los cloroplastos, aquí inicia la ruta dependiente del Triptófano (Trp), que tiene cuatro precursores que son: el 3-indol acetamida (IAM), el 3-indol acetaldoxima (IAOx), la triptamina (TAM), y el ácido 3-indol pirúvico (IPA); la segunda ruta independiente de triptófano se deriva de un precursor; y para que exista una interacción estas vías dependen de estímulos

externos como: la luz, nutrientes, el frío, así como también de estímulos internos (Garay *et al.*, 2014).

La ruta indol – 3 – piruvato (IPA) permite en las células procariotas sintetizar AIA en donde el triptófano es convertido a piruvato (IPA) por una reacción química al transferir un grupo amino a un cetoácido formando nuevos aminoácidos que posteriormente son descarboxilados a Indol 3- acetaldehído (AIAld) por indol 3- piruvato descarboxilasa (IPDC) y finalmente (AIAld) es oxidado y convertido en ácido indol 3 acético (Quintero, 2016).

## CAPITULO III

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### Ubicación y características del área de estudio

El estudio se desarrolló en dos fases, la primera se efectuó en el Laboratorio de Acuicultura y la segunda en el Invernadero cuarentenario perteneciente al Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura IASA I, en la Universidad de las Fuerzas Armadas. Estas instalaciones están ubicadas en las siguientes coordenadas: Longitud 78° 24'44" E y una altitud 0° 23'20" S, en la Parroquia de San Fernando, Cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha.

#### Figura 3

*Vista aérea de área de laboratorio de acuicultura e invernadero cuarentenario*



*Nota.* Ubicación del proyecto de investigación donde se desarrolló la fase experimental. a. Laboratorio de acuicultura; b. Invernadero cuarentenario. Tomado de Google Earth (2022).

#### Métodos

##### *Producción de Espirulina*

##### *Fase 1*

La investigación se realizó en dos fases de producción, la primera fase que consistió en el mantenimiento y desarrollo de la cepa, la segunda fase se realizó bajo invernadero con protocolos establecidos.



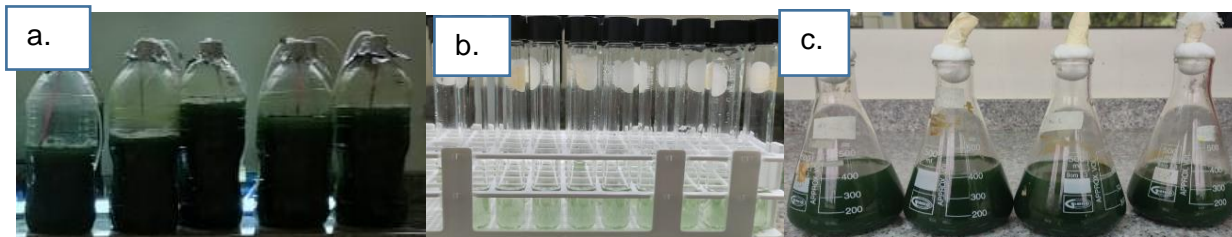
Para la producción de *Arthrospira platensis*, se inició desde cultivos puros del laboratorio de Acuicultura; donde las cepas se encuentran conservadas en frascos de producción de medio de cultivo. Para la selección de las cepas se escogieron cultivos con las mejores características (pureza, filamentos bien constituidos y definidos), luego se las reactiva tomando 1 mL de medio microalgal a una densidad de  $2 \times 10^4$  filamentos  $\text{mL}^{-1}$  con 3 mL de medio de mantenimiento (Tabla 1) y se colocó en tubos de ensayo previamente autoclavados. Una vez realizado este procedimiento, se colocó a los tubos en luz LED blanca por el lapso de 15 días. Para reemplazar tubos, que pueden perderse por distintos factores (contaminación o muerte celular) se realizaron 12 réplicas adicionales.

Pasado los 15 días se colocó el contenido de un tubo de ensayo, con medio microalgal en matraces Erlenmeyer de 500 mL, con 100 mL de medio de mantenimiento (Tabla 1); para evitar contaminación se taparon los matraces con tampones de algodón; para una mejor adaptación del cultivo se evitó la aireación constante hasta llegar a los  $300 \text{ mL}^{-1}$ , volumen en el que empezó la aireación; la realimentación se la realizó cada 4 días hasta llegar a los  $500 \text{ mL}^{-1}$ .

Completados los  $500 \text{ mL}^{-1}$  en Matraz, se trasvasó a botellones de  $4 \text{ L}^{-1}$  de capacidad con 1 litro de medio de masificación (Tabla 2), estos botellones se los colocó en luz LED blanca y la realimentación se realizó cada 4 días hasta llegar a los 4 litros de capacidad (Figura 4).

#### Figura 4

*Cultivo de Spirulina en laboratorio*



*Nota.* El gráfico representa a. fase de crecimiento exponencial, botellones de 4L. b. cultivo seleccionado en tubos de ensayo; c. fase de aceleración, cultivo en matraces de 500 ml. Autoría propia.

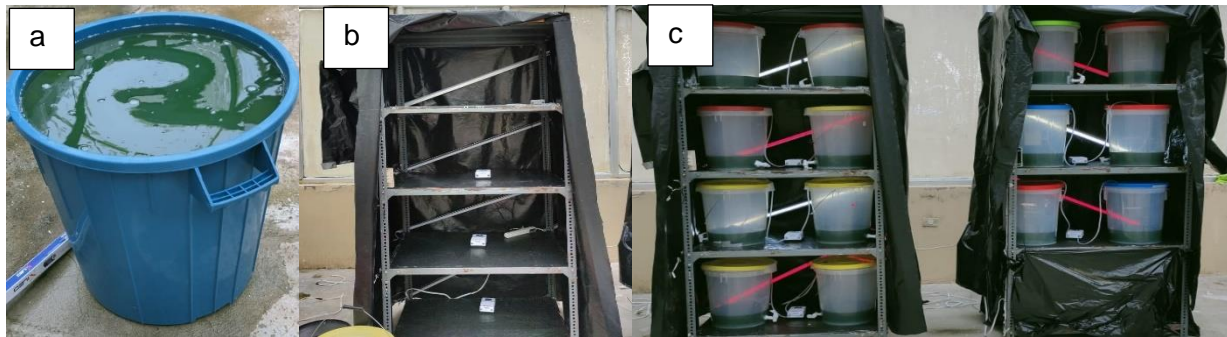
## Fase 2

Una vez alcanzado el volumen de cuatro litros en los botellones, se midió la absorbancia para conocer el crecimiento de la microalga, previamente, se preparó el invernadero, los baldes, y los estantes que fueron forrados con plástico negro para evitar el paso de luz solar y permitir el paso de la luz blanca y roja (Figura 5).

Para homogenizar el cultivo se empleó la fórmula de concentraciones  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$  en y se colocó en un balde de  $70 \text{ L}^{-1}$  en el que se añadió el medio de masificación (Tabla 2) y medio microalgal; se midió constantemente la absorbancia hasta llegar a  $0,4 \text{ nm}$  equivalente a  $(5,9 \times 10^4 \pm 4546 \text{ filamentos mL}^{-1})$ , para luego sembrar  $4 \text{ L}^{-1}$  en baldes de  $20 \text{ L}^{-1}$ .

### Figura 5

*Cultivo de Esprulina en invernadero*



*Nota.* El gráfico representa el proceso de siembra de las cianobacterias en invernadero. a. preparación del medio, balde de  $70 \text{ L}^{-1}$ ; b. instalación del ensayo; c. cultivo sembrado según los tratamientos. Autoría propia.

### **Preparación y aplicación del Ácido Indol -3- Acético (AIA)**

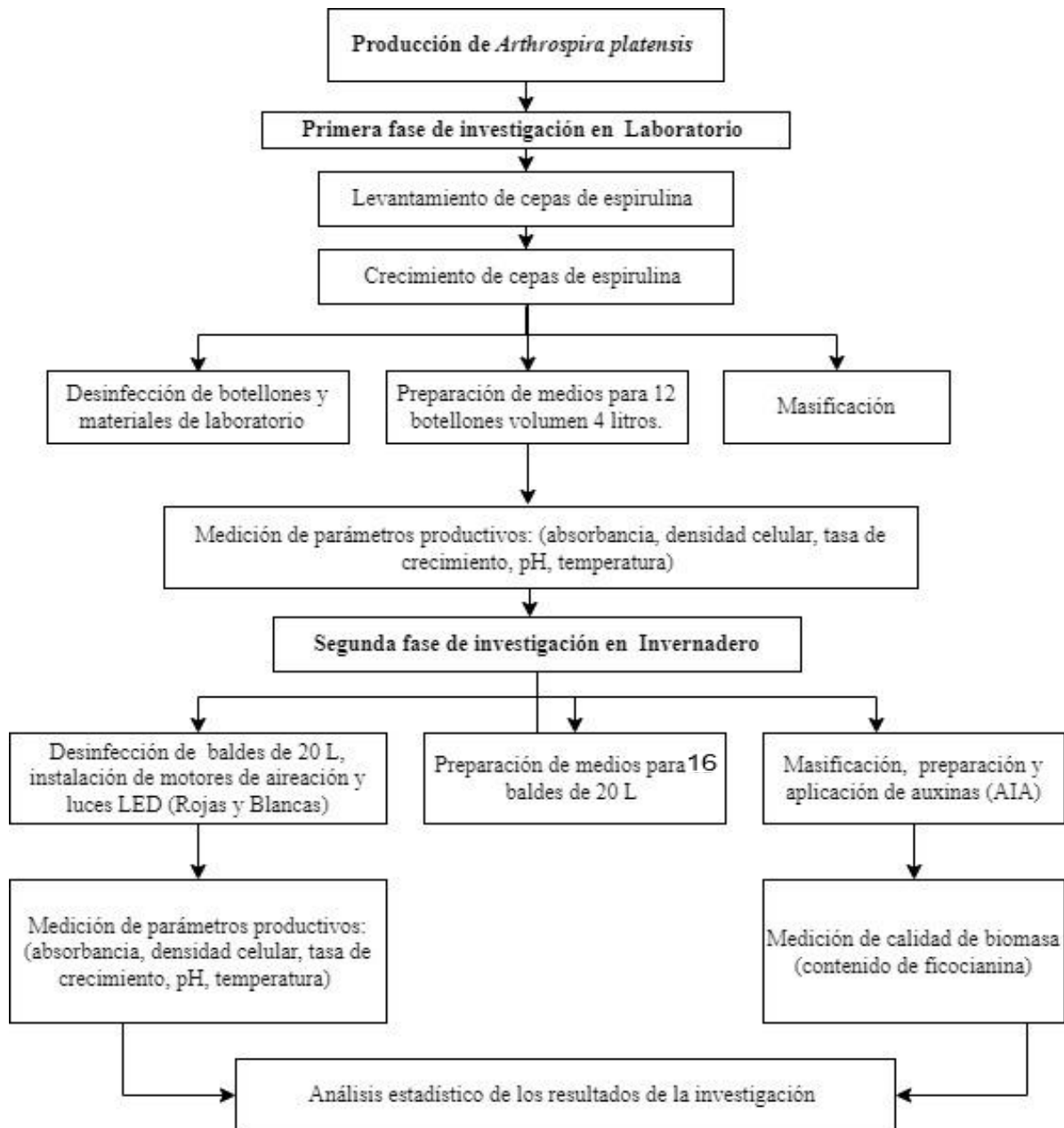
Se preparó una solución madre de ácido indol 3-acético  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , añadiendo  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido indol 3-acético (AIA) y  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de etanol absoluto, mediante vortex se homogenizó la solución y se esterilizó por medio de un filtro  $0,22 \mu\text{M}$ .

La dosis aplicada en los distintos tratamientos se lo realizó en cuatro aplicaciones la primera a los 15 días de sembrado el cultivo, la segunda dosis a los 30 días, la tercera a los 45

días y la cuarta a los 60 días, en etapas de crecimiento y aceleración del cultivo, para lo cual, se utilizó una relación v/v a 1% para evitar daños a nivel celular.

**Figura 6**

*Diagrama de reproducción de Arthrospira platensis*



*Nota.* El diagrama representa el proceso de producción en laboratorio y campo. Autoría propia.

## Diseño experimental

### Factores

En la fase experimental de laboratorio se mantuvo la cepa hasta la etapa de crecimiento del cultivo. En la segunda fase experimental se evaluó el efecto de la luz roja y blanca (10:14 luz/oscuridad) en la producción de pigmentos de ficocianina. Se realizaron cuatro aplicaciones cada 15 días después de sembrado el cultivo, se adicionó (ácido indol-3-acético  $10 \text{ mgL}^{-1}$ ) y se evaluó la mejor producción de biomasa con respecto a luz (Tabla 3).

**Tabla 3**

*Factores y niveles de la investigación*

FACTOR	NIVEL	CÓDIGO
Luz	Blanca (control)	Lb
	Roja	Lr
Ácido indol-3-acético ( $10 \text{ mgL}^{-1}$ )	$0 \text{ mgL}^{-1}$ (control)	AIA0
	$10 \text{ mgL}^{-1}$	AIA10

*Nota.* Factores y niveles con códigos de la investigación llevada a cabo en campo. Autoría propia.

**Tabla 4**

*Descripción de los tratamientos*

Tratamiento	Código	Descripción
1	LbAIA0	Luz blanca más $0 \text{ mg mL}^{-1}$ ácido indol 3 acético.
2	LbAIA10	Luz blanca más $10 \text{ mg mL}^{-1}$ ácido indol 3 acético.
3	LrAIA0	Luz roja más $0 \text{ mg mL}^{-1}$ ácido indol 3 acético.
4	LrAIA10	Luz roja más $10 \text{ mg mL}^{-1}$ ácido indol 3 acético.

*Nota.* Autoría propia.

## Modelo matemático

Para el experimento se utilizó un modelo lineal bifactorial con interacciones bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA con arreglo bifactorial 2X2 con 4 repeticiones). Mediante el siguiente modelo matemático.

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + A_j + (LA)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$ =Productividad de biomasa y pigmentos de ficocianina,

$\mu$ =Media general,

$L_i$ =Efecto de la  $i$ -ésima luminosidad,

$A_j$ =Efecto de la  $j$ -ésima dosis de auxina,

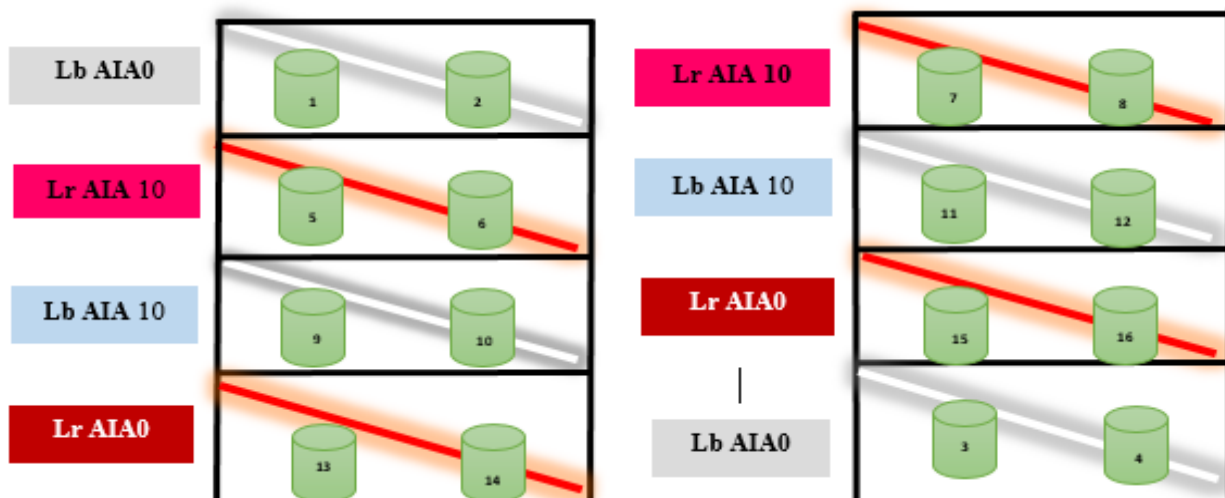
$(LA)_{ij}$ =Efecto de la interacción luminosidad\*auxinas,

$\varepsilon_{ijk}$ = Error experimental.

## Croquis del diseño

Figura 7

*Croquis del diseño experimental en fase de campo*



*Nota.* La figura representa los tratamientos distribuidos en forma aleatoria, sobre las unidades experimentales en los estantes bajo condiciones de invernadero. Autoría propia.

## **Análisis estadístico**

Las variables evaluadas se calcularon mediante estadística descriptiva empleando media y desviación estándar, para determinar el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Se realizó análisis de varianza para determinar diferencias significativas en las variables evaluadas en los distintos tratamientos empleando un análisis de comparación Tukey ( $\alpha < 0.05$ ) bajo un nivel de confiabilidad del 95%.

## **Mediciones experimentales**

Se tomó datos de pH, temperatura, absorbancia y conteo de filamentos; en el invernadero, en cada balde que contenía la cianobacteria *A. platensis*. Las mediciones se realizaron 3 veces a la semana y para las variables absorbancia y conteo de filamentos se tomó un solo dato a las 9:00 am, mientras que para temperatura y pH se realizaron tres veces al día en horarios de 9:00 am, 12:00 pm y 3:00 pm, tomando las temperaturas máximas y mínimas. Las mediciones se tomaron durante todo el periodo del experimento que duró 60 días.

Para la medición de la variable ficocianina se tomó las mediciones en el espectrofotómetro UV con las absorbancias (620nm y 652 nm) a los 15, 30, 45 y 60 días

La cosecha se realizó a los 60 días de sembrado el cultivo, para lo cual se dejó el cultivo sin aireación y se retiró la luz LED durante tres días.

## **Variables de estudio**

### ***Densidad celular de Arthrospira platensis en campo***

Para la evaluación del crecimiento, se realizó el conteo de filamentos, recolectando muestras cada tres días. En el laboratorio, utilizando una Micropipeta se colocó  $100 \mu\text{L}^{-1}$  de inóculo (espirulina) en un tubo eppendorf, seguidamente se colocó en el mismo tubo eppendorf  $900 \mu\text{L}^{-1}$  de agua destilada, se agitó y se colocó en un porta objetos  $10 \mu\text{L}^{-1}$  de la dilución

(1:10), se cubrió con un porta objetos previamente modificado. Para cada unidad experimental se realizó el conteo por triplicado.

Para determinar la densidad celular se utilizó la siguiente fórmula (Sandoval, 2017).

$$DC_{in\acute{o}culo} = \frac{N \times 10^3}{10} \times FD$$

Donde:

$DC_{in\acute{o}culo}$ : Densidad celular inóculo (filamentos  $mL^{-1}$ )

$N$ : Promedio de células presentes. De acuerdo con el promedio de filamentos contados.

$10^3$ : Factor de conversión de 10  $\mu L$  a 1 mL.

$FD$ : Factor de dilución.

10: Celdas modificadas para la medición

### Figura 8

*Determinación de la densidad celular de Arthrospira platensis*



*Nota.* El gráfico representa el proceso para determinar densidad celular de *Arthrospira platensis*. Autoría propia.

## ***Espectrofotometría UV***

Para determinar el crecimiento celular se recolectó muestras cada tres días, y por medio del espectrofotómetro se obtuvo la absorbancia del medio de cultivo a 540 nm (Sandoval, 2017).

### **Figura 9**

*Crecimiento celular por espectrofotometría*



*Nota.* El gráfico representa el análisis de absorbancia de las muestras de crecimiento de *Arthrospira platensis*. Autoría propia.

### ***Velocidad de crecimiento***

La tasa de crecimiento ( $\mu$ ) se determinó mediante la siguiente fórmula Arredondo & Voltolina

$$\mu = \frac{\ln x_1 - \ln x_0}{t_1 - t_0}$$

Donde:

$\mu$ =velocidad de crecimiento (filamento hora<sup>-1</sup>)

$t_1, t_0$ =Tiempo final e inicial

$x_1, x_0$ =Densidad celular final e inicial en fase logarítmica



### ***Tiempo de duplicación de Arthrospira platensis en campo***

El tiempo de duplicación (Td) se determinó mediante la siguiente fórmula Arredondo y Voltolina (2007) .

$$T_d = \frac{\ln(2)}{\mu}$$

Donde:

Td= Tiempo de duplicación.

Ln (2) = Logaritmo natural base dos.

$\mu$ = Velocidad de crecimiento (células hora<sup>-1</sup>)

### ***Concentración de ficocianina***

Para la medición de la concentración de ficocianina se preparó un tampón buffer acetato (20 mM; pH -5,10); en un tubo eppendorf se colocó 5mL de biomasa en fase logarítmica (15 días), se centrifugó a 4000 rpm obteniendo así un sedimento en el que se suspendió 1,5 mL de buffer acetato (50 mM y ácido de sodio 0,002 M), para seguidamente centrifugar en el vortex y llevarla al congelador. La ficocianina se extrajo por congelación a -20°C y descongelación a temperatura ambiente hasta lograr el color azul. Los residuos se eliminaron por centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se utilizó para determinar la concentración de ficocianina mediante espectrofotometría.

### **Figura 10**

*Obtención de la concentración de ficocianina*



*Nota.* El gráfico representa el proceso para determinar la concentración de ficocianina a. aplicación de buffer acetato en tubos con biomasa; b. tubos con Buffer y biomasa centrifugados en vortex; c. tubos congelados. Autoría propia.

Para la determinación de la concentración de PC en extracto puro ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) se empleó la siguiente fórmula (Fernández *et al.*, 2014).

$$[\text{PC}] = \frac{\text{O.D}_{620\text{nm}} - 0.474(\text{O.D}_{652\text{nm}})}{5,34}$$

Donde:

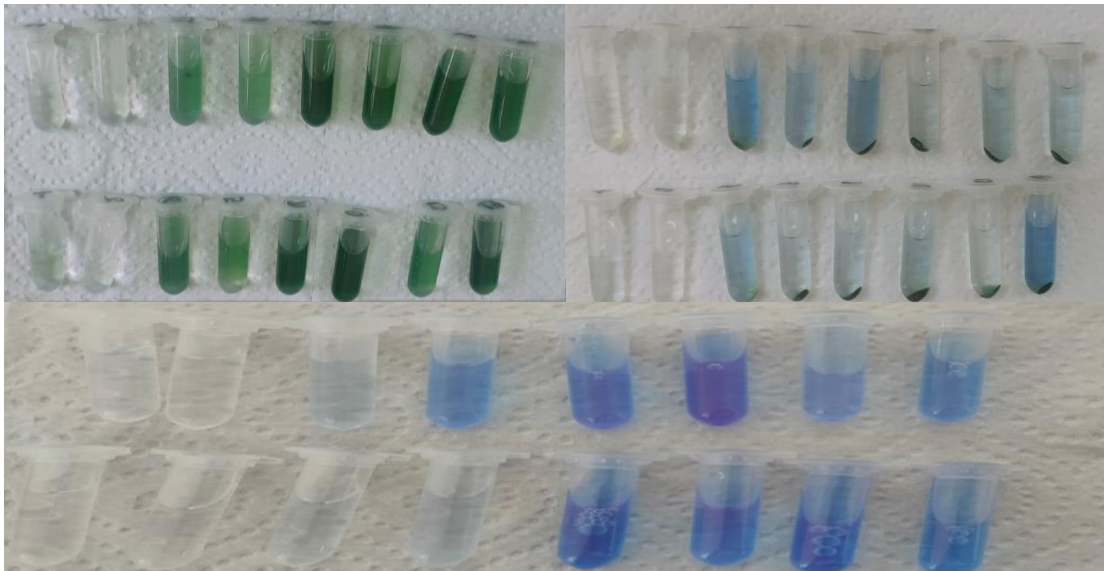
PC: Concentración de ficocianina ( $\text{mg mL}^{-1}$ )

O.D.<sub>620</sub>= Densidad óptica de la muestra a 620 nm

O.D.<sub>652</sub>= Densidad óptica de la muestra a 652 nm

### Figura 11

#### Concentración de ficocianina



*Nota.* El gráfico representa la concentración de ficocianina observada en tres extracciones. a. Extracción 1; b. extracción 2; c. extracción 3.

#### **Biomasa**

El contenido de biomasa se determinó a los sesenta días del experimento, se realizó la medición de absorbancia para determinar que el cultivo había alcanzado su máximo crecimiento (1,4 de absorbancia). Previamente para la cosecha se retiró el oxígeno y la luz

durante 3 días, lo que permitió que asciendan los filamentos a la parte superior de los baldes; el tercer día se cosechó y la biomasa se colocó en cajas Petri, posteriormente se midió el peso en húmedo (Figura 12).

### Figura 12

#### *Cosecha de Spirulina*



*Nota.* El gráfico representa el proceso de cosecha para la obtención de biomasa. a. filtrado de medio microalgal; b. cosecha de biomasa; c. biomasa húmeda en cajas Petri. Autoría propia.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Densidad y absorbancia

A los 60 días de analizados los datos de densidad y absorbancia de la cianobacteria *Arthrospira platensis* presentó un efecto significativo para la densidad celular con respecto intensidad de luz ( $F_{1,12}=8,14$ ;  $P<0,145$ ).

La prueba de comparación de medias de; Tukey ( $p<0,05$ ), presentó diferencias significativas, al someter a *Arthrospira platensis* a Luz roja más ácido indol 3 acético 10 mg mL<sup>-1</sup> (LrAIA10), presentó mayor densidad celular con  $7,20 \times 10^5$  filamentos mL<sup>-1</sup>, que las cianobacterias sometidas a (LbAIA0) que obtuvo una densidad celular de  $6,22 \times 10^5$  filamentos mL<sup>-1</sup>. (Tabla 5).

#### Tabla 5

*Densidad celular, de Arthrospira platensis en cuatro tratamientos bajo invernadero*

Tratamiento	Media $\pm$ DE		
	Luz	AIA	( $10^5$ filamentos mL <sup>-1</sup> )
T4	Lr	10	$7,20 \pm 2,02a$
T2	Lb	10	$6,69 \pm 2,02ab$
T3	Lr	0	$6,86 \pm 2,02ab$
T1	Lb	0	$6,22 \pm 2,02b$

*Nota.* La tabla representa los promedios y las desviaciones estándar de la densidad celular para *Arthrospira platensis*. T1: LbAIA0; T2: LbAIA10; T3: LrAIA0; T4:LrAIA10. Medidas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey;  $p<0,05$ ). Lr: Luz roja.; Lb: Luz blanca; AIA. Ácido Indol acético. Autoría propia.

**Tabla 6**

*Promedio ± desviación estándar del crecimiento celular y absorbancia de Arthrospira platensis de cuatro tratamientos bajo invernadero*

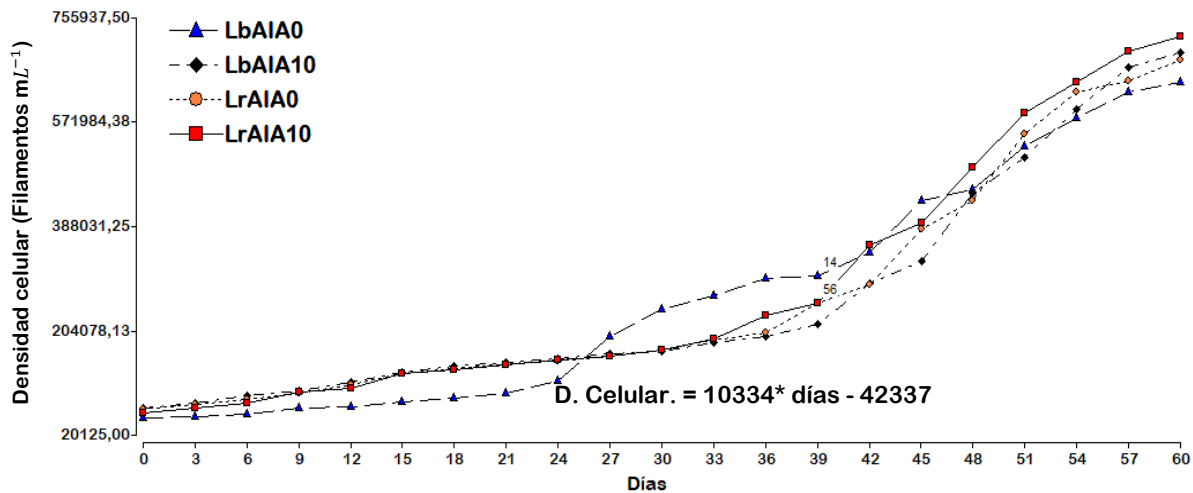
Días	Crecimiento celular	Absorbancia
	(filamentos mL <sup>-1</sup> )	(concentración <sup>-1</sup> longitud <sup>-1</sup> )
	Media ±D.E.	Media ±D.E.
0	5,90E+04±4546,06	0,461±0,045
3	6,70E+04±4546,06	0,443±0,069
6	7,63E+04±4645,79	0,460±0,088
9	9,58E+04±9032,35	0,476±0,094
12	1,03E+05±4645,79	0,483±0,096
15	1,22E+05±4645,79	0,501±0,097
18	1,34E+05±9810,71	0,516±0,089
21	1,38E+05±8500,00	0,589±0,087
24	1,44E+05±8500,00	0,637±0,081
27	1,52E+05±8500,00	0,689±0,072
30	1,61E+05±8500,00	0,736±0,051
33	1,73E+05±8500,00	0,781±0,057
36	2,10E+05±34412,93	0,836±0,057
39	2,53E+05±14773,29	0,900±0,060
42	2,95E+05±24392,62	0,993±0,061
45	3,94E+05±23895,61	1,047±0,111
48	4,94E+05±23895,60	1,256±0,078
51	5,89E+05±15066,52	1,279±0,068
54	6,43E+05±15066,52	1,380±0,114
57	6,98E+05±15066,52	1,417±0,089
60	7,23E+05±14952,70	1,463±0,063

*Nota.* La tabla representa el tiempo de crecimiento de la cianobacteria en filamentos por ml y absorbancia. Autoría propia.

Para la evaluación del crecimiento celular se mantuvo el cultivo bajo los parámetros de mantenimiento de la cepa, tanto en laboratorio, como en invernadero; iniciando con una densidad de  $5,9 \times 10^4$  filamentos por  $\text{mL}^{-1}$  y manteniendo el cultivo con aireación constante de 3 L min, un rango de longitud de onda roja de  $34,30 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  y onda blanca de  $30,18 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , con un fotoperiodo de 10 horas luz y 14 oscuridad; alcanzado una densidad máxima de  $7,23 \times 10^5$  filamentos por  $\text{mL}^{-1}$ .

**Figura 13**

*Curva de crecimiento de Arthrospira platensis con la aplicación de Tratamientos: T1, T2, T3, T4 bajo invernadero*

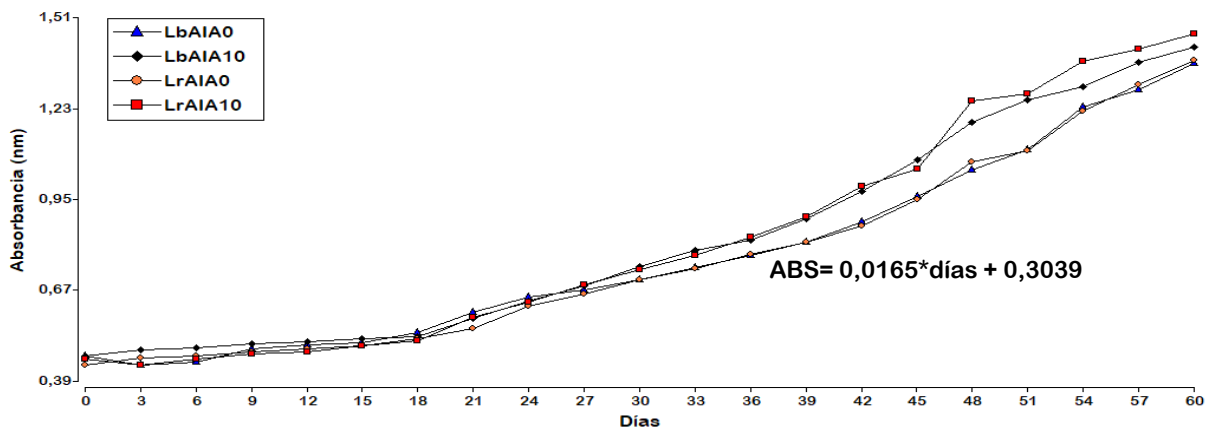


*Nota.* El gráfico representa el comportamiento del crecimiento de *Arthrospira platensis* con la aplicación de T1: LbAIA0; T2: LbAIA10; T3: LrAIA0; T4: LrAIA10. Lr: Luz roja.; Lb: Luz blanca; AIA. Ácido Indol acético. Autoría propia.

Se puede observar en la (Figura 13) el crecimiento con el tiempo de los filamentos; se evidencia diferencias significativas a partir del día 12 ( $F_{54,29}=94,08$ ;  $p<0,0001$ ), ajustándose al modelo matemático,  $D.C. = 10334 \cdot \text{días} - 42337$ , por lo tanto la D. Celular crece en  $1,03 \times 10^4$  filamentos por  $\text{mL}^{-1}$  día.

**Figura 14**

Comportamiento del crecimiento de *Arthrospira platensis* por espectrofotometría UV

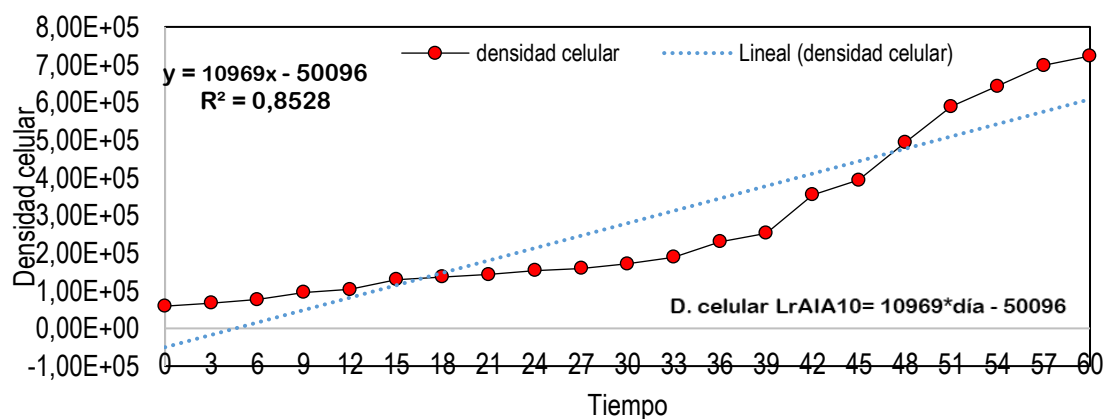


Nota. El gráfico representa el comportamiento del crecimiento de *Arthrospira platensis* con la aplicación de luz roja, blanca y 0, 10 AIA. Autoría propia.

En la (Figura 14) se observa el comportamiento del crecimiento por espectrofotometría UV cuyo modelo matemático se ajusta a la ecuación:  $ABS = 0,0165 \cdot \text{días} + E0\ 3039$ .

**Figura 15**

Curva de crecimiento de densidad celular de *Arthrospira platensis* con respecto al tiempo y sobre el efecto de la luz roja.



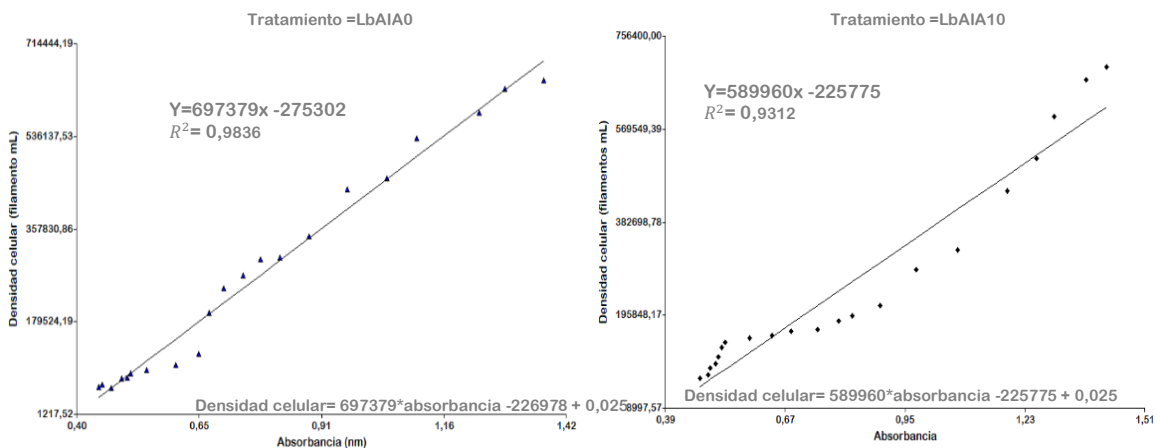
Nota. Autoría propia

En la (Figura 15) se observa el crecimiento celular aplicando el tratamiento 4 con longitud de onda roja y la adición  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  AIA, este presenta una fase de crecimiento lento hasta el día quince con  $1,25 \times 10^5$  filamentos por  $\text{mL}^{-1}$  equivalente a 0,501 de espectrofotometría UV; este crecimiento lento se debe a las altas temperaturas que presentó el invernadero cuarentenario en horarios específicos de 12:00 a 15:00 pm, con temperaturas de  $35^\circ\text{C}$  a  $40^\circ\text{C}$ . Las aplicaciones de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  AIA, iniciaron a partir del día quince; incrementando en  $1,1 \times 10^4$  filamentos por  $\text{mL}^{-1}$  diarios, ajustándose al modelo matemático:

D. celular LrAIA10=  $10969 \cdot \text{día} - 50096$ ; las posteriores aplicaciones presentaron un incremento acelerado a partir del día treinta y seis con  $2,101 \times 10^5$  filamentos por  $\text{mL}^{-1}$  equivalente a 0,836 unidades por espectrofotometría UV.

### Figura 16

Relación entre la absorbancia y densidad celular de *Arthrospira platensis*, tratamientos: Luz blanca más Ácido Indol 3 acético 0 (LbAIA0); Luz blanca más AIA 10 (LbAIA10)



*Nota.* La grafica representa la relación positiva entre variables densidad y absorbancia; con sus respectivos modelos matemáticos. Autoría propia.

Existe una relación positiva entre la densidad celular y la absorbancia para el tratamiento (LbAIA0) ( $T=33,73$ ,  $R=0,98$   $p<0,0001$ ), ajustándose al modelo matemático:  $\text{Densidad celular} = 6,9 \times 10^5 \cdot \text{absorbancia} - 226978 + 0,025$ . Existe también una correlación

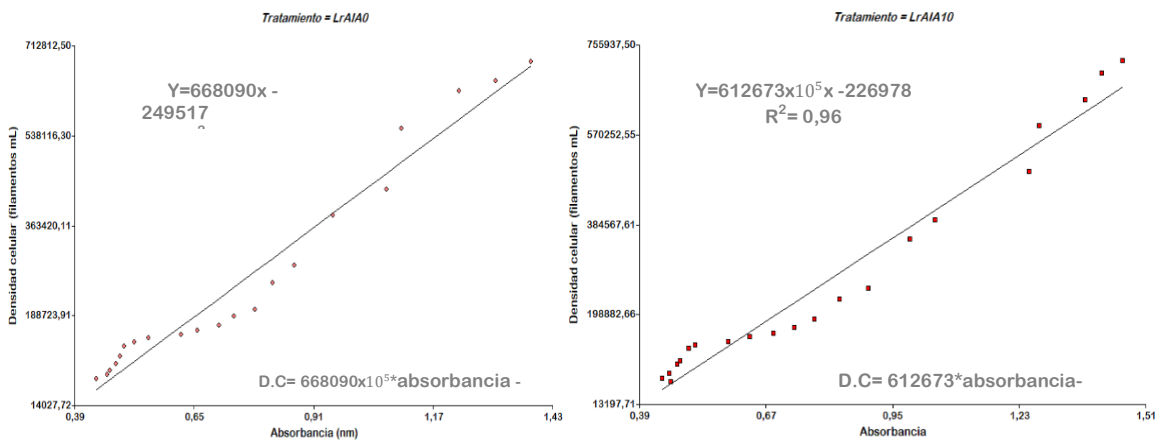


positiva entre la densidad celular y la absorbancia para el tratamiento (LbAIA10) ( $T=16,04$ ,  $R=0,93$ ,  $p < 0,0001$ ), ajustándose al modelo matemático:

Densidad celular =  $6,8 \times 10^5 \cdot \text{absorbancia} - 225775 + 0,025$  (Figura 16).

### Figura 17

Relación entre la absorbancia y densidad celular de *Arthrospira platensis*, tratamientos: Luz roja más Ácido Indol 3 acético 0 (LrAIA0); Luz roja más AIA 10 (LrAIA10)



*Nota.* La grafica representa la relación positiva entre variables densidad y absorbancia; con sus respectivos modelos matemáticos. Autoría propia.

Con respecto al tratamiento: Luz roja más ácido indol 3 acético (LrAIA0) existe una relación positiva entre la densidad celular y absorbancia ( $T=21,65$ ,  $R=0,96$ ,  $P < 0,0001$ ) con el modelo matemático  $D.C = 6,7 \times 10^5 \cdot \text{absorbancia} - 249517 + E0,025$ . Para el tratamiento, Luz roja más Ácido indol 3 acético (LrAIA10) presentó una relación positiva entre la densidad celular y absoluta ( $T=22,50$ ,  $R=0,96$ ,  $P < 0,0001$ ) ajustándose al modelo matemático:

$D.C = 612673 \cdot \text{absorbancia} - 226978 + E0,025$  (Figura 17).

### Cinética del crecimiento en el cultivo de la cianobacteria (*Arthrospira platensis*)

Con los resultados obtenidos de la densidad celular se pudo calcular los parámetros cinéticos: velocidad específica ( $\mu$ ) y tiempo de duplicación ( $T_d$ ) de los tratamientos: T1, T2, T3, T4 (Tabla 7).

**Tabla 7**

*Promedio ± desviación estándar de los parámetros cinéticos del crecimiento celular en Arthrospira platensis bajo condiciones de invernadero*

Tratamiento	Velocidad de crecimiento ( $\mu$ ) ( $1 \times 10^3$ Filamentos día <sup>-1</sup> )	Tiempo de duplicación (Td) (h <sup>-1</sup> )
T4	0,195±0,01a	10,46±0,64a
T2	0,089±0,01b	7,99±0,64ab
T3	0,118±0,01b	5,93±0,64b
T1	0,068±0,01b	5,43±0,64b

*Nota.* La tabla representa el crecimiento de filamentos y el tiempo de duplicación por hora de los tratamientos con luz blanca, roja y AIA 0-10. Medidas con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey;  $p > 0,05$ ).

El análisis de varianza presentó diferencias significativas para la velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación en la interacción intensidad de luz por concentración de AIA (LrAIA10), con ( $F=13$ ;  $p < 0,0004$ ) y ( $F=19,56$ ;  $p < 0,0001$ ) respectivamente. El tratamiento T4 registró la mayor velocidad de crecimiento con ( $0,195 \pm 0,01$  ( $1 \times 10^3$  Filamento día<sup>-1</sup>) seguida de los tratamientos: T2; T3 y T1 con ( $\mu$ ) de ( $0,118 \pm 0,01$ ;  $0,089 \pm 0,01$ ;  $0,068 \pm 0,01$ ) ( $1 \times 10^3$  Filamento día<sup>-1</sup>) respectivamente. *Arthrospira platensis* presentó un tiempo de duplicación más rápido con ( $10,46 \pm 0,64$ ) y ( $7,99 \pm 0,64$ ) (h<sup>-1</sup>) respectivamente.

### **Producción de biomasa**

La producción de la biomasa presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $F_{3,12} = 38,10$ ;  $p < 0,001$ ). Una vez que el cultivo de *Arthrospira platensis* llegó a su máximo crecimiento de  $7,23 \times 10^5$  filamentos mL<sup>-1</sup> equivalente a una absorbancia de 1,463 de espectrofotometría UV. Se realizó la cosecha a partir del día 63, esperando que todos los filamentos suban a la superficie, así se obtienen los siguientes datos de cosecha (Tabla 8).

**Tabla 8**

Promedio  $\pm$  desviación estándar de la producción de biomasa bajo aplicación de tratamientos T1, T2, T3, T4

Tratamiento	Biomasa producida (g L <sup>-1</sup> )
T4	12,25 $\pm$ 0,65a
T2	9,50 $\pm$ 0,65b
T3	7,00 $\pm$ 0,65b
T1	2,75 $\pm$ 0,65b

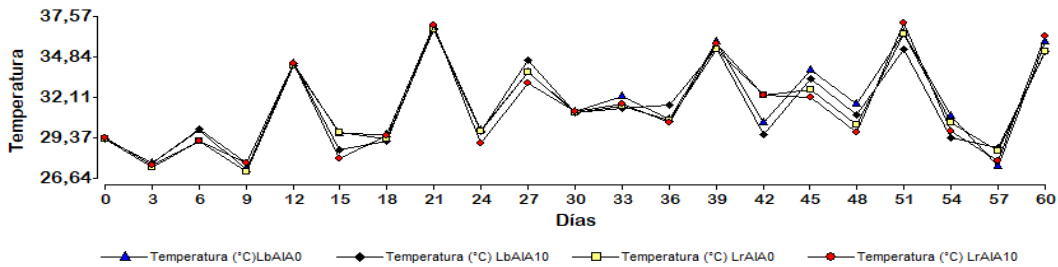
Nota. Producción con tratamientos. Medias con una letra común no son significativamente diferente ( $p > 0,05$ ).

### Temperatura

La temperatura cumplió con un papel fundamental en la producción de la cianobacteria *Arthrospira platensis*; los datos de temperatura fueron recolectados cada 3 días durante 60 días en el invernadero cuarentenario en el cual se determinó una temperatura máxima de 35 a 40°C, y temperaturas mínimas 18°C y una media de 29°C.

**Figura 18**

Comportamiento de la temperatura durante los 60 días de evaluación



Nota. La gráfica representa las temperaturas por tratamiento, en el invernadero cuarentenario, durante la fase de experimentación. Autoría propia.

La temperatura presentó diferencias significativas entre los días de evaluación ( $F_{20,63}=105,78$ ;  $p < 0,0001$ ), las temperaturas bajas ( $< 27^\circ\text{C}$ ) se observa en los días 3, 9, 15 y

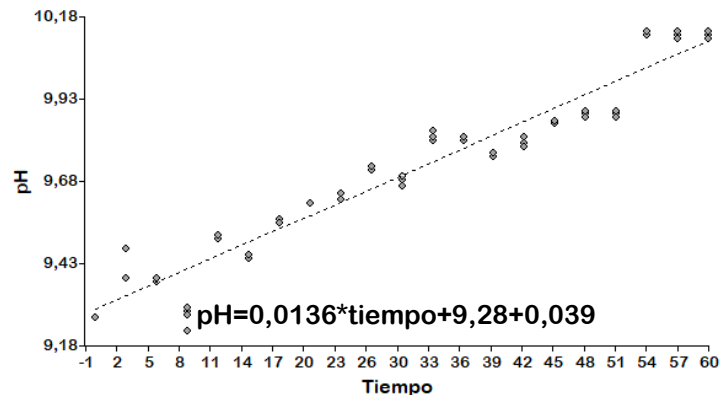
57 y los días con mayor temperatura ( $> 35^{\circ}\text{C}$ ) se observa en los días 12, 21, 27, 39, 51, 60 (Figura 18).

### **Potencial hidrógeno evaluado bajo condiciones de invernadero**

El potencial hidrógeno es un valor que permite determinar el comportamiento del crecimiento del cultivo. La (Figura 19) demuestra una relación positiva entre el pH y el tiempo, en el área de invernadero cuarentenario ( $T=34,78$ ,  $R=0,94$ ,  $p<0,0001$ ), y se ajusta al modelo matemático  $\text{pH}=0,0136*\text{tiempo}+9,28+0,039$ .

### **Figura 19**

*Relación positiva entre el pH y tiempo bajo invernadero*



*Nota.* La gráfica representa el comportamiento del pH con relación al tiempo. INFOSTAT.

### **Concentración de ficocianina**

El contenido de ficocianina presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $F_{3,12}=54,97$ ;  $p>0,0001$ ). La prueba de comparación de medias Tukey determinó que la luz blanca más ácido indol 3 acético ( $0 \text{ mg. mL}^{-1}$ ) presentó menor contenido de ficocianina con ( $0,064 \pm 0,008 \text{ mg. mL}^{-1}$ ) y el mayor contenido de ficocianina mostró el tratamiento con luz roja más ácido indol 3 acético ( $10 \text{ mg. mL}^{-1}$ ) con ( $0,215 \pm 0,008 \text{ mg. mL}^{-1}$ ).

**Tabla 9**

*Contenido de ficocianina en Arthrospira platensis*

<b>Tratamiento</b>	<b>Ficocianina (mg. mL<sup>-1</sup>)</b>
<i>T4</i>	0,22 ± 0,01a
<i>T3</i>	0,13 ± 0,01b
<i>T2</i>	0,13 ± 0,01b
<i>T1</i>	0,06 ± 0,01c

Nota. Autoría propia.

## Discusión

Uno de los motivos para la realización de la presente investigación, fue analizar el crecimiento y contenido de pigmentos fotosintéticos, específicamente la ficocianina, que se encuentra en *Arthrospira platensis*, utilizando luz LED de color rojo y blanco, además, de la aplicación de dosis de 10 mg mL<sup>-1</sup> AIA, así se identificó que las cianobacterias sometidas a luz roja más 10 mg mL<sup>-1</sup> AIA presentaron un crecimiento en la densidad celular con 7,20x10<sup>5</sup> filamentos mL<sup>-1</sup> y una absorbancia de 1,463 de espectrofotometría UV a los 60 días de sembrado el cultivo. Algo semejante ocurre con el estudio realizado por Benalcázar (2022) que evaluó el efecto de distintas dosis (0; 5; 10; 20; 40; y 80 mg mL<sup>-1</sup> AIA) y determinó que la dosis de 10 mg mL<sup>-1</sup> AIA incrementó la densidad celular en 6,48 x10<sup>5</sup> filamentos mL<sup>-1</sup> equivalente a una absorbancia de 1,34 de espectrofotometría UV a los 35 días de sembrado el cultivo de *Arthrospira platensis*. Por otra parte, Auz (2019) determinó que aplicar dosis de 30 mg mL<sup>-1</sup> AIA en *Chorella* biotipo 1 y 3, presentaron un incremento de la densidad celular hasta 17,44x10<sup>6</sup> ±0,28 células ml<sup>-1</sup>. Por lo cual, los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que el crecimiento celular y los procesos fisiológicos están influenciados por las Especies de oxígeno reactivas (ROS) como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que es utilizado por la catalasa como enzima antioxidante y que durante el metabolismo se induce a la división celular. Para que este proceso fisiológico tenga los mejores resultados, se añaden fitohormonas capaces de duplicar o triplicar la densidad celular y biomasa (Piotrowska y Bajguz, 2014).

### **Cinética de crecimiento del cultivo de espirulina (*Arthrospira platensis*)**

#### **Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación**

La intensidad de luz rojas más 10 mg mL<sup>-1</sup> AIA en el cultivo de *Arthrospira platensis* evidenció un crecimiento significativo de 195±10 filamentos día<sup>-1</sup> y un tiempo promedio de duplicación de 10,46 ± 0,64 filamentos h<sup>-1</sup> (Tabla 7), De acuerdo con Álvarez (2018) en su

estudio analizó la cianobacteria *S.platensis* bajos distintos ciclos de luz (L12:12; L6:18; L18:6; L24:0); obtuvo como mejores resultados de velocidad de crecimiento a (L24:0) con  $320 \pm 10$  filamentos día<sup>-1</sup> y tiempo de duplicación de 2,16 h<sup>-1</sup>. Por otro lado, en el estudio de Benalcázar (2022) al evaluar los parametros cinéticos solo con la aplicación de 10 mg mL<sup>-1</sup> AIA, obtuvo una velocidad de crecimiento de 93 filamentos día<sup>-1</sup> y un tiempo de duplicación más rápido de 7,47 horas<sup>-1</sup>. Mientras que, Hussin *et al.* (2021) utilizando un bioreactor bajo diferentes intensidades de luz obtuvo una velocidad de crecimiento de (391±12 filamento día<sup>-1</sup>). En otro estudio, Yaquiong *et al* (2014) aislaron y produjeron *Halomicronema hongdechloris*, una cianobacteria filamentosa, bajo condiciones de luz roja obteniendo una velocidad de crecimiento óptima de 220±2 filamentos día<sup>-1</sup> y tiempo de duplicación de 3,1 horas<sup>-1</sup> Valores diferentes a los presentados en esta investigación; esto se debe a que en la evaluación del AIA, se añadió las intensidades de luz roja (L10;O14) factores que actuaron sobre la cianobacteria *Arthrospira platensis* de una manera positiva.

### **Producción de biomasa de espirulina (*Arthrospira platensis*)**

La biomasa es el producto del crecimiento máximo de filamentos por m L<sup>-1</sup>, una vez que se alcanzó la densidad celular máxima de  $7,23 \times 10^5$  filamentos m L<sup>-1</sup>, equivalente a una lectura de 1,463 por espectrofotometría UV, se realizó la cosecha (Tabla 8) obteniendo un efecto favorable al aplicar el tratamiento LrAIA10 expuesto a una longitud de onda de 34  $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ . en cuya cosecha se obtuvo 12,25 g L<sup>-1</sup> de biomasa, comparando con el tratamiento de LbAIA0 expuesto a una longitud de onda de 30  $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$  se obtuvo 3 g L<sup>-1</sup> de biomasa durante los 60 días de investigación, de este modo se puede evidenciar el efecto positivo a la exposición de longitudes de onda rojas frente a la producción de biomasa, estos resultados no concuerdan con el estudio de Ferreira *et al.* (2015) ya que mencionan que la producción de biomasa de *Arthrospira platensis*, a una Intensidad de luz blanca de 150  $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ , produce 2, 12 g L<sup>-1</sup> de

biomasa. Por otro lado Chen *et al.* (2013) implementó estrategias que permitieron mejorar la producción de biomasa, ficocianina y de CO<sub>2</sub> obteniendo valores de producción de biomasa de 2,25 gL<sup>-1</sup> con distintas intensidades de luz desde 100 a 700 μmol.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> datos que conuerdan con el estudio de (Ferreira *et al.*, 2015) . Así podemos mencionar que el contenido de biomasa y ficocianina se puede ver alterado por varios factores como: tener un cultivo al aire libre, exposicion a altas ondas de luz durante tiempos prolongados, además de la temperatura, mismas que pueden fluctuar y afectar el crecimiento celular, así como tambien del contenido de biomasa.

## **Parámetros ambientales**

### **Temperatura y potencial hidrógeno pH**

La temperatura es un parámetro que influye de manera directa en el desarrollo y fijación de carbono en *Arthrospira platensis*. Temperatura por debajo de los 15° presentan un estado de letargo en el desarrollo de los filamentos y temperaturas superiores los 35°C presentan un desarrollo lento y se evidencia muerte celular. Por lo que se considera temperaturas adecuadas para su desarrollo un rango entre 16 a 30°C (Álvarez, 2018).

En laboratorio, el cultivo mantuvo un crecimiento adecuado con una temperatura promedio de 18°C, en cambio, en el invernadero cuarentenario las temperaturas presentaron fluctuaciones desde los 18°C hasta los 39 °C, llegando a tener una temperatura promedio de 29°C. De este modo en el estudio realizado por Kumar *et al.* (2011) evalúan diferentes intensidades de luz y temperaturas las cuales van desde los 20 hasta 40° C incrementando su temperatura 5°C durante un período de 25 días, obteniendo como resultados que, a temperaturas desde los 20 a 35°C se obtienen mayores cantidades de biomasa; sin embargo, en el presente estudio se debe resaltar que, a temperaturas de 29°C, se obtuvo un desarrollo adecuado de los filamentos.

Otro de los parámetros principales es el pH, este determina la solubilidad del dióxido de carbono y de minerales en los cultivos, infiriendo directa o indirectamente en su metabolismo.



Es una medida que nos permite evaluar el comportamiento del cultivo sano y su crecimiento, ya que cuando aumenta la cantidad de filamentos incrementa el pH (Fuenmayor *et al.*, 2009). Benalcázar (2022) en su estudio, documenta que en el invernadero cuarentenario existe una correlación positiva ( $T=18,33$ ,  $R=0,93$ ,  $p>0,001$ ) entre el tiempo y pH, datos similares a los presentados en esta investigación ya que al analizar la relación existente entre el tiempo y pH se obtuvo una correlación positiva de ( $T=34,78$ ,  $R=0,94$ ,  $p<0,0001$ ). Por otro lado, en el estudio de Yu *et al.* (2017) evaluaron la adición de diferentes fitohormonas entre ellas AIA sobre la participación del carbono y su morfología celular, mencionando que, al adicionar AIA en microalgas disminuye el pH e incrementa la permeabilidad de las células, esto debido a que se activan enzimas de polisacáridos que rompen enlaces químicos de glucosa, promoviendo la expulsión de protones de  $H^+$  que generan una disminución en el pH. Sandoval (2017), evalúa la adición de distintos medios de cultivo y menciona que a medida que el cultivo de *Arthrospira platensis* crece, el pH también incrementa.

### **Evaluación de la concentración de la ficocianina**

La presencia de pigmentos como la clorofila, carotenoides y ficobiliproteínas permiten la captación de energía en las regiones del espectro de luz visible, de esta manera los pigmentos de *A. platensis* absorben las longitudes de onda entre los 620 a 670 nm que le corresponde al campo de onda de luz roja (Wang *et al.*, 2007). De esta forma al aplicar en el cultivo ondas de luz roja  $34,6 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  se obtuvo una concentración de ficocianina de  $0,215 \text{ mg. mL}^{-1}$  en comparación con el tratamiento (LbAIA0  $\text{mg mL}^{-1}$ ), cuyo contenido correspondió a  $0,064 \text{ mg. mL}^{-1}$  de ficocianina (Tabla 9). En el estudio de Toloza (2019) produjo espirulina en un fotobiorreactor con una intensidad de luz de 3600 Lux equivalente a  $48,6 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y un fotoperíodo de 12 horas luz :12 horas oscuridad, obteniendo un contenido de ficocianina de  $0,390 \text{ mg. mL}^{-1}$ ; valores distintos a los presentados en este estudio. Por otro lado, Álvarez (2018) obtuvo un contenido de ficocianina mayor, de  $133,8 \text{ mg. mL}^{-1}$  empleando seis horas luz

y dieciocho oscuridad (L6:O18) con una intensidad de luz de  $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  este incremento en la cantidad de ficocianina puede deberse a los periodos de luz cortos y largos periodos de oscuridad. En otro estudio Chaiklahan *et al.* (2022) emplearon distintas intensidades de luz de 635, 980, 1300, 2300  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , obteniendo mejores resultados con la exposición a 2300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  cuya producción fue  $123 \text{ mg L}^{-1}$ , datos que contrastan con el estudio de Álvarez (2018) ya que a mayor intensidad de luz disminuye el contenido de ficocianina. Ferreira *et al* (2015) por otro lado trabajarón bajo tres niveles de intensidad de luz de 50, 100 y 150  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  obteniendo 215,24  $\text{mg L}^{-1}$  de concentración de ficocianina estos valores difieren de los obtenidos en las investigaciones antes descritas, esto puede deberse a distintos factores como: las condiciones de cultivo, el método de extracción o tiempo de exposición a la luz, como menciona Chen *et al.* (2010) que a mayor intensidad de luz mejora la la cantidad de biomasa y afecta la concneración de ficocianina.

## CAPÍTULO V

### Conclusiones y recomendaciones

#### Conclusiones

- El cultivo de espirulina (*Arthrospira platensis*), presentó los mejores resultados cinéticos con respecto a la velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación, para el tratamiento con luz roja y 10 mg L<sup>-1</sup> de AIA obteniendo 195 filamentos día<sup>-1</sup> y 10,46±0,64 h<sup>-1</sup> respectivamente.
- El tratamiento de Luz roja con dosis de 10 mg L<sup>-1</sup> AIA en espirulina (*Arthrospira platensis*) potenciaron su productividad, sin embargo, temperaturas superiores a los 35°C durante los primeros 15 días provocaron un crecimiento lento en la cianobacteria, por lo tanto, su crecimiento en el tiempo se prolongó a 60 días, teniendo un efecto positivo en la densidad celular con 7,23x10<sup>5</sup> filamentos mL<sup>-1</sup>.
- La producción de biomasa presentó los mejores resultados con la aplicación del tratamiento con Luz roja y 10 mg L<sup>-1</sup> AIA, obteniendo 12,25 g L<sup>-1</sup>.
- Las interacciones entre los factores Luz y AIA además de las condiciones ambientales influyeron en la producción de ficocianina, siendo esta significativamente diferente a los demás tratamientos. El tratamiento de Luz roja con 10 mg L<sup>-1</sup> AIA produjo una concentración de 0,215 mg mL<sup>-1</sup>.

#### Recomendaciones

- Se recomienda el uso de luz roja más la aplicación de 10 mg mL<sup>-1</sup> AIA debido a que presentó los mejores promedios en densidad celular, cantidad de biomasa y contenido de ficocianina.
- Se recomienda controlar la temperatura y no exceder los límites recomendados sobre 35°C ya que temperaturas superiores provocan muerte celular.
- Se recomienda realizar una investigación con distintas irradiaciones de luz LED roja

desde 50, 100, 150 y 600  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  más la aplicación de dosis de 10  $\text{mg L}^{-1}$  AIA para evaluar si las distintas irradiaciones aumentan las concentraciones de ficocianina una vez extraída.

- Se recomienda aplicar otras técnicas de extracción (congelación, uso de diferentes buffers, etc.) para una mayor extracción de ficocianina, además de evaluar la pureza y calidad del producto.

## Bibliografía

- Adjali, A., Clarot, I., Chen, Z., Marchioni, E., y Boudier, A. (2022). Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: *A short review. Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(12), 406-414.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.12.005>
- Álvarez, E. (2022). *Efecto de la composición espectral de luz en la composición bioquímica y estandarización de procedimientos para el análisis de la expresión genética de Arthrospira (Espirulina) maxima* [Maestría en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada].  
[https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3687/1/tesis\\_Eugenio\\_Garc%C3%ada%20%81lvarez\\_26%20feb%202022.pdf](https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3687/1/tesis_Eugenio_Garc%C3%ada%20%81lvarez_26%20feb%202022.pdf)
- Álvarez, P. (2018). *"Influencia de la luz sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de Spirulina platensis LMP55"*. [Tesis de Maestría, Universidad Tecnológica Nacional].  
<https://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12272/3901/ALVAREZ%20PAOLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arora, R., Sudhakar, K., y Rana, R. (2017). Spirulina e From growth to nutritional product: A review. *Journal Trends in Food Science & Technology*, 69(1) 157-171.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Arredondo, B., y Voltolina, D. (2007). *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.*
- Asero, L. (2014). *Obtención de la Spirulina en polvo por secado al vacío para el enriquecimiento nutricional de los productos alimenticios.* [Tesis de Grado, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2880/1/T-UCE-0017-82.pdf>

- Auz, E. (2019). *Efecto del Ácido Indol -3-Acético (AIA) exógeno en la productividad de tres biotipos de Chlorella endémica del Ecuador*. [Trabajo de Titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/26764>
- Bastidas, A., Raymundo, A., Sousa, I., y Empis, J. (2006). Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. *Journal Food Hydrocolloids*, 20(1), 44- 52.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.02.009>
- Benalcázar, A., Ruiz D. (2022). Evaluación del efecto estimulante de ácido indol-3 acético sobre la productividad de Espirulina (*Arthrospira Platensis*). [Trabajo de Titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].  
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/35870/1/IASA%20I-TT-%200004.pdf>
- Bermúdez, I., Ruiz, D., (2007). *Estudio exploratorio del mercado para la importación de Espirulina y su comercialización en Colombia*. [Trabajo de grado, Universidad Piloto de Colombia] <http://repository.unipiloto.edu.co/handle/20.500.12277/7278>
- Borba, V., y Ferreira, L. (2019). CIANOBACTERIA Arthrospira (Espirulina) platensis: Biotecnologia e Aplicações. *Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz*, 1(1), 1-23.  
[http://revista.oswaldocruz.br/Content/pdf/Edicao\\_19\\_Vivian\\_Borba.pdf](http://revista.oswaldocruz.br/Content/pdf/Edicao_19_Vivian_Borba.pdf)
- Carvalho, A., Soccol, V., Bisinella, A., Ghiggi, V., y Soccol, C. (2011). Study of Phycocyanin Production from *Espirulina platensis* Under Different Light Spectra . *Revista Brazilian Archives of Biology and Technology an Interenational Journal Vol. 54(4)*, 675-682.  
<https://www.scielo.br/j/babt/a/xFnkPrJgrMqBX5RDvPw6qdm/?format=pdf&lang=en>
- Fernández, B., Hernández, J., y Pedraza, J. (2014). Nutraceutical properties of phycocyanin. *Journal of functional food* 2(1), 375-392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.011>
- Ferreira, R., y Gomez, K. (junio de 2015). Production of phycobiliproteins by *Arthrospira platensis* under different lightconditions for application in food products. *Journal Food*

- Sci. Technol, 35(2), 247-252.  
<https://www.scielo.br/j/cta/a/97fLdRt3F9NQTPvRZYFwBJv/?lang=en#>
- Fuenmayor, G., Jonte, L., y Rosales, N. (2009). Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria* sp. MOF-06 en relación al pH en cultivos discontinuos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(1), 21-25.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562009000100005](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000100005)
- González, L., González, B., Garrido, A. (2021). Caracterización de la ficocianina por espectrofotometría de masas. *Revista Padi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías de ICBI*, 9(2), 149-156.  
<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/7985/8694>
- Lavoie, I., Laurion, I., Warren, A., y Vincent, W. (2007). *LES FLEURS D'EAU DE CYANOBACTÉRIES* [archivo PDF]: <https://espace.inrs.ca/id/eprint/534/1/R000916.pdf>
- Markou, G. (2012). Alteration of the biomass composition of *Arthrospira* (*Espirulina*) *platensis* under various amounts of limited phosphorus. *Journal Bioresource Technology*, 116, 533-535. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.022>
- Peleato, M. L. (16 de junio del 2011). *Las cianobacterias: cooperación versus competencia*. [Discurso de ingreso leído].  
<http://www.raczar.es/webracz/ImageServlet?mod=publicaciones&subMod=discursos&archivo=PeleatoD.pdf>
- Piotrowska, A., y Bajguz, A. (2013). The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Journal Plant Growth Regulation* 73(1), 57–66.  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10725-013-9867-7>
- Ponce, E. (abril de 2013). Super alimento para un mundo en crisis: *Espirulina* a bajo costo. *Revista de IDESIA*, 31(1), 135-139. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/idesia/v31n1/art16.pdf>

- Ramírez, L., y Olvera, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Espirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). *Revista Interciencia*, 31(9) 657-663.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442006000900008](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000900008)
- Ramos, A. (2011). *Obtención y purificación de ficocianinas mediante cromatografía de adsorción en lecho expandido. escaldado del proceso, caracterización físicoquímica y aplicación como colorantes naturales*. [Tesis Doctoral, Universidad de Jaén].  
<https://ruja.ujaen.es/bitstream/10953/353/1/9788484396529.pdf>
- Rodríguez, R., y Triana, F. (2006). *Evaluación del pH en el cultivo de *Espirulina* spp. (*Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio*. [Trabajo de Grado, Pontificia Universidad Javeriana].  
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8281/tesis261.pdf?sequence=1>
- Romero Maza, L., Guevara, M., y Bernal, J. F. (2017). Crecimiento y pigmentos de *Espirulina* subsalsa cultivada a diferentes salinidades y concentraciones de nitrógeno. *Revista tiempo & economía*, 1 (2), 2-17.  
<http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/86/86613003/86613003.pdf>
- Romero, L., Romero, M., Gómez, B., Arredondo, B., Cortez, R., & Licet, B. (2019). Producción de pigmentos procedentes de *Arthrospira* cultivada en fotobiorreactores. *Revista Colombiana Biotecnol*, 19(1), 108-114. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v19n1/0123-3475-biote-19-01-00108.pdf>
- Ruma, S., Sudhakar, k., y Rana, R. (2017). *Espirulina* e From growth to nutritional product: A review. *Journal Trends in Food Science & Technology*, 69, 157-171.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Sandoval, D. (2017). *Evaluación del crecimiento de *Espirulina* (*Arthrospira platensis*) mediante alternativas de fertilización orgánica e inorgánica y su masificación en condiciones de campo en La HCDA. El Prado*. [Trabajo de Titulación, Universidad de las Fuerzas



Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/14508/T-IASA%20I-005379.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Tolosa, G. (2019). *Producción de ficocanina a partir de Spirulina maxima en biorreactor PBR tubular para la industria de alimentos*. [Trabajo de grado, Universidad de Santander UDES]. <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/c6270f2f-a3cb-4e1a-9256-38afba9bdd4a/content>

Vásquez, V. (2017). Efecto de la intensidad de diodos electroluminosos y fotoperiodo en la optimización de la producción de biomasa de Spirulina. *Revista Scientia Agropecuaria*, 8(1), 43-55. <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v8n1/a04v8n1.pdf>

Wang, C.-Y., Fu, C. C., y Liu, Y. C. (2007). Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Journal Biochemical Engineering Journal* 37(1), 21-25. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X07001295#:~:text=It%20was%20found%20that%20the,and%20the%20smallest%20Monod%20constant.>