

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**Estudio de las variables de proceso para el mejoramiento morfológico de
espirulina (*Arthrospira platensis*) en la empresa Musuq Kawsay**

Tesis para optar el título profesional de:
Ingeniero Agroindustrial

Presentado por:
Bach. Rafael David Bendezu Najarro

Asesor:
Ing. Jack Hernández Mávila

Ayacucho - Perú

2024

Dedicatoria

A mis padres Rosa V. Najarro Castro y Claudio Bendezú Salazar, cuyo amor incondicional y exigencia siempre me ha motivado a seguir adelante.

A mi hermano, Anghel M. Bendezú Najarro por su amparo durante su estancia en la tierra.

A mis familiares, en especial a mis tíos Eloy y Gregorio y tías Miriam, Elena y Elsa.

Agradecimientos

Al Ing. Jack Edson Hernández y Blga. Katherin Ruth Taco Quispe, por su paciencia y apoyo constante e incondicionalidad al momento de transmitir su conocimiento durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mi alma máter, la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, quienes, a través de sus enseñanzas, despertaron el interés mío por un área particular, que se traduce en el presente trabajo de investigación.

A la empresa Musuq Kawsay, por el reto que propuso el estudio de la morfología de la espirulina.

A mi familia y amigos, que me apoyaron directa e indirectamente durante la ejecución y culminación del presente trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	xiii
CAPITULO I.....	1
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA SITUACIÓN PROBLEMÁTICA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2.1. Problema general	2
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.4.1. Hipótesis general.....	3
1.4.2. Hipótesis específicos	3
1.5. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
CAPITULO II.....	5
II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. ANTECEDENTES.....	5
2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES.....	5
2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES.....	7
2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES	8
2.2. BASES TEÓRICAS	8

2.2.1. Espirulina.....	8
<i>Clasificación taxonómica de espirulina</i>	9
Ciclo de vida	10
Composición nutricional	11
<i>Contenido de macronutrientes de la espirulina</i>	12
<i>Contenido de micronutrientes de la espirulina</i>	13
Parámetros de cultivo	13
Sistemas de producción de espirulina	17
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	23
CAPITULO III	24
III. DISEÑO METODOLÓGICO	24
3.1. Tipo de investigación	24
3.2. Nivel de investigación	24
3.3. Diseño de investigación.....	24
3.4. Población y muestra	25
3.5. VARIABLES E INDICADORES	25
3.5.1. Variable independiente	25
3.5.2. Variable dependiente	25
<i>Variables de investigación</i>	26
3.6. Lugar de ejecución	26
3.7. MATERIALES	27
3.7.1. Materia prima.....	27
3.7.2. Materiales de laboratorio.....	27
3.7.3. Equipos.....	27
3.8. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	28
3.8.1. Recolección y aislamiento.....	28
3.8.2. Mantenimiento y escalamiento	29
3.8.3. Condiciones experimentales	30

<i>Tabla de experimentación</i>	30
3.8.4. Evaluación de cultivos.....	31
3.9. Diseño estadístico	33
CAPITULO IV	34
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1. Parámetros físico-químicos	34
4.2. Efecto de la temperatura en la morfología de <i>A. platensis</i>	35
4.3. Efecto de la concentración y la temperatura en la morfología de <i>A. platensis</i>	39
4.4. Efecto de la intensidad de luz en la morfología de <i>A. platensis</i>	42
V. CONCLUSIONES	45
VI. RECOMENDACIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
VII. ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Clasificación taxonómica de espirulina</i>	9
Tabla 2 Contenido de macronutrientes de la espirulina	12
Tabla 3 Contenido de micronutrientes de la espirulina.....	13
Tabla 4 <i>Variables de investigación</i>	26
Tabla 5 <i>Tabla de experimentación</i>	30
Tabla 6 Parámetros fisicoquímicos de la espirulina en los distintos tratamientos ejecutados	34
Tabla 7 Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología de espirulina (énfasis temperatura)	35
Tabla 8 Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología de espirulina (énfasis en temperatura y concentración).....	39
Tabla 9 Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología de espirulina (énfasis en Lux)	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Morfología de la espirulina</i>	9
Figura 2 Ciclo de vida de la espirulina (A. Platensis)	10
Figura 3 Intensidad lumínica y tasa fotosintética en cianobacterias	14
Figura 4 Efecto de la temperatura en el crecimiento de A.maxima.....	15
Figura 5 Efecto de la temperatura en el crecimiento de A. platensis.....	16
Figura 6 Efecto de la turbulencia en la producción de Spirulina a diferentes revoluciones (A), 7 rpm (lento); (B), 17 rpm (rápido)	16
Figura 7 <i>Estanques tipo raceway</i>	18
Figura 8 <i>Fotobioreactor de capa delgada</i>	19
Figura 9 <i>Fotobioreactor tubular en serie</i>	20
Figura 10 <i>Fotobioreactor de placa plana</i>	21
Figura 11 <i>Fotobioreactor tipo airlift</i>	22
Figura 12 <i>Placa petri con agar Zarrouk y espirulina</i>	28
Figura 13 Tricomas de espirulina en medio agar Zarrouk a escala 100X.....	29
Figura 14 Representación esquemática del proceso de recolección y escalamiento.....	30
Figura 15 <i>Cámara de crecimiento y experimentación</i>	31
Figura 16 Representación esquemática del procedimiento para la evaluación de tricomas lineales y helicoidales	33
Figura 17 Efecto de la temperatura en la morfología Arthrospira platensis.....	35
Figura 18 Proceso de cambio morfológico en Arthrospira Platensis debido al incremento de temperatura	38
Figura 19 Parámetros de optimización para la morfología helicoidal de A.platensis	39
Figura 20 Efecto de la concentración y temperatura en la morfología de A. platensis.....	41
Figura 21 Efecto de la concentración y temperatura en la morfología de A.platensis	41
Figura 22 Efecto de la luz en la morfología de A. platensis	43

Figura 23 Tricomias de <i>A.platensis</i> bajo tratamiento 10000 Lux, concentracion 1X	44
---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Porcentaje de tricomas helicoidales de espirulina.....	53
Anexo 2 Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología.....	53
Anexo 3 Morfología de la <i>Arthrospira platensis</i> a 100X bajo el tratamiento de 5000 LUX.....	54
Anexo 4 Morfología de la <i>Arthrospira platensis</i> a 100X bajo el tratamiento de 10000 LUX.....	55
Anexo 5 Morfología de <i>Arthrospira platensis</i> a 40X bajo el tratamiento de 5000 LUX.....	56
Anexo 6 Morfología de <i>Arthrospira platensis</i> a 40X bajo el tratamiento de 10000 LUX.....	57
Anexo 7 Curva de crecimiento de <i>Arthrospira platensis</i> a diferentes temperaturas.....	58
Anexo 8 Medio de cultivo Zarrouk modificado.....	59
Anexo 9 Escalamiento de tricomas aislados de espirulina a 20mL.....	60
Anexo 10 Escalamiento de tricomas aislados de espirulina a 500 mL.....	61
Anexo 11 Escalamiento de tricomas aislados de espirulina.....	61
Anexo 12 Conteo de tricomas helicoidales de la espirulina en el microscopio.....	62
Anexo 13 Diluciones seriales para aislamiento de tricomas.....	62
Anexo 14 Tricomas de <i>A.platensis</i> provenientes de la poza para ser aislados.....	63
Anexo 15 Agar Zarrouk como medio de crecimiento semisólido.....	63
Anexo 16 Cámaras de crecimiento en 5000 lux y 35°C.....	64
Anexo 17 Cámaras de crecimiento a 5000 Lux, y 30°C.....	65
Anexo 18 Cámaras de crecimiento a 5000 Lux y 25 °C.....	66
Anexo 19 Cámaras de crecimiento a 10000 Lux y 25°C.....	67
Anexo 20 Cámaras de crecimiento a 10,000 Lux y 30°C.....	68
Anexo 21 Cámaras de crecimiento a 10,000 Lux y 35°C.....	69

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar las variables de proceso adecuadas para el mejoramiento morfológico de espirulina (*A. platensis*) de la empresa Musuq Kawsay. Las variables estudiadas fueron temperaturas de 25°C, 30°C y 35°C, concentración de medio de cultivo de 0,5X, 1X y 2X, y Lux de 5000 y 10000. Los resultados mostraron que, tanto la temperatura como la concentración del medio tuvieron un efecto significativo en el cambio morfológico de helicoidal a lineal. Los tratamientos a temperaturas de 25°C, 30°C y 35°C fueron los que generaron el mayor efecto en la morfología, exhibiendo valores de 89,88%, 90,71% y 74,52% para tricomas helicoidales respectivamente. Igualmente, la concentración del medio exhibió un efecto atenuante en el tratamiento a 35°C, ya que los valores obtenidos fueron de 74,79%, 68,03% y 80,75% de tricomas helicoidales para las concentraciones de 0,5X, 1X Y 2X. Por otro lado, los tratamientos de Lux de 5000 y 10000 no mostraron un impacto significativo en la morfología de la espirulina (*A.platensis*). Además, se determinó que los parámetros óptimos para mantener un porcentaje helicoidal de 94,26% son una concentración de 1X, una temperatura de 30°C y una iluminación de 5000 Lux.

Palabras Claves: Espirulina, morfología, temperatura, concentración, lux

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the appropriate process variables for the morphological improvement of spirulina (*A. platensis*) from the Musuq Kawsay company. The variables studied were temperatures of 25°C, 30°C and 35°C, culture medium concentration of 0.5X, 1X and 2X, and Lux of 5000 and 10000. The results showed that both temperature and medium concentration had a significant effect on the morphological change from helical to linear. The treatments at temperatures of 25°C, 30°C and 35°C generated the greatest effect on morphology, exhibiting values of 89.88%, 90.71% and 74.52% for helical trichomes, respectively. Likewise, the concentration of the medium exhibited an attenuating effect in the 35°C treatment, since the values obtained were 74.79%, 68.03% and 80.75% of helical trichomes for the 0.5X, 1X and 2X concentrations. On the other hand, Lux treatments of 5000 and 10000 showed no significant impact on spirulina (*A.platensis*) morphology. Furthermore, the optimal parameters for maintaining a helical percentage of 94.26% were determined to be a concentration of 1X, a temperature of 30°C and an illumination of 5000 Lux.

Key words: Spirulina, morphology, temperature, concentration, lux.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el cultivo de cianobacterias ha estado tomando relevancia alrededor del mundo, destacando principalmente el cultivo de espirulina (*Arthrospira platensis*), la cual crece naturalmente en distintos lagos en África, América y Europa (Gallego, 2012). Esta cianobacteria es una gran fuente de nutrientes, sobresaliendo por su alto contenido de proteínas entre 50-70%, 140 mg de betacaroteno, y 34.5 mg de hierro por 100 gramos de espirulina deshidratada (Gallego, 2012), son precisamente estas características que lo convierten en un arma para combatir la malnutrición que devasta a los países más pobres, pues en 1974 la ONU lo declaró como la mejor fuente alternativa de alimento para el futuro. Así mismo, Gonçalvesi et al. (2022) nos menciona que la espirulina actúa como agente immunoestimulador, neuroprotector, anti-inflamatorio, e hipoglucémico, debido a su contenido de compuestos bioactivos entre ellos carotenoides, clorofila, compuestos fenólicos y filicoproteínas. Además, se ha demostrado su gran potencial para la industria cosmética, actuando como agente antienvjecimiento, y antiacé, siendo Estados Unidos , Japón y Europa los principales importadores de espirulina para uso cosmético (Ragusta et al., 2021).

La producción industrial de espirulina ha ido en aumento los últimos años siendo 90 000 toneladas la producción anual en 2014, cuyos principales países productores son China, Estados Unidos, India y Japón (Gutierrez Vergaray & Tello Echevarría, 2018). Su cultivo es relativamente fácil, y requiere de parámetros como temperatura, agitación, pH, y nutrientes para un crecimiento adecuado (Kropshofer, 2019). Esta cianobacteria se cultiva principalmente en biorreactores abiertos y cerrados, sin uso de pesticidas o herbicidas, y con un uso reducido de agua en comparación a la agricultura convencional (Ragusta et al., 2021).

Una de las etapas más importantes del cultivo de espirulina es la filtración, cuyo proceso incluye el uso de mallas de 40-50 micras con el objetivo de separar la biomasa del medio de cultivo (Vonshak, 1997). La empresa Musuq Kawsay, dedicada al cultivo de espirulina, presenta deficiencias en la etapa de filtración, el líquido de filtrado muestra una coloración verdosa, tiempo de filtración prolongado y textura líquida de la “torta de filtración”. Los problemas mencionados anteriormente tendrían su origen en la morfología de los filamentos, como lo explica Cuellar-Bermudez et al. (2019), quien observó que aquellos tricomas que tienen una forma helicoidal presentan mayor flujo de

filtración, mientras que aquellos tricomas con forma alargada presentan menor flujo filtrante, así mismo Hu (2003) menciona que aquellos tricomas lineales disminuyen la productividad, y podrían ser confundidos con otros microorganismos con morfología similar, como la *Oscillatoria*, que puedan producir citotoxinas, que es uno de los problemas más graves en el cultivo de espirulina, igualmente (Zhi Ping & Ying, 2005) reportaron que los tricomas lineales presentan un contenido protéico considerablemente inferior en comparación con los tricomas helicoidales. En otras palabras, la alteración morfológica de helicoidal a lineal podría afectar la calidad nutricional, resultando en un producto final con un valor nutricional reducido. Los problemas mencionados en líneas anteriores impactan severamente a las empresas dedicadas a este rubro, repercutiendo en su economía. Por ende, en este trabajo se pretende estudiar las variables de proceso para el mejoramiento de la morfología de la espirulina (*Arthrospira platensis*) en la empresa Musuq Kawsay.

CAPITULO I

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA SITUACIÓN PROBLEMÁTICA

Según la Organización Panamericana de la Salud (2022) la malnutrición inhibe el desarrollo cognitivo y fisiológico de los niños, lo cual afecta directa e indirectamente el desarrollo económico y social de un país, ya que estos son la base del desarrollo humano, por lo que los países deben abordar esta situación y establecer acciones que permitan superar estos índices que perjudican el avance social. De acuerdo a cifras del Banco Mundial (2020) el porcentaje de desnutrición de la población en Perú, ha disminuido para 2020 a un 8,0 % del total poblacional, sin embargo, se busca seguir disminuyendo y mantener índices que no sean tan elevados como se presentó en décadas pasadas en donde para el 2003 se presentaba un índice superior a los 22%.

Según (Gallego, 2012) la espirulina es una de las mejores alternativas de alimento sostenible para el futuro ya que destaca por su alto contenido de nutrientes. Así mismo, se podría llegar a considerar como superalimento, ya que contiene la concentración más alta de nutrientes que cualquier otra planta, grano o hierba (Piccolo, 2011). Además, se concluyó que una dosis de 4 g de espirulina después de los alimentos en un lapso de 30 días, llevo a aumentar la hemoglobina de 10,9 a 13,2 (Diaz, 2018).

La espirulina crece naturalmente en aguas alcalinas en diferentes continentes tales como; Africa, Europa, Asia y América (Gallego, 2012). Para su crecimiento requiere de ciertos parámetros óptimos tales como: temperatura, iluminación, agitación y pH (Jourdan, 2006). El cultivo comercial se realiza en estanques tipo "Raceway" y fotobiorreactores, siendo el último el que mayor productividad tiene, sin embargo, su uso no está muy distribuido ya que resulta demasiado caro para competir con los estanques (Gallego, 2012).

En el territorio nacional la espirulina creció naturalmente en las regiones de Ica y Lima, siendo las lagunas de Orovilca y Huacachina las más relevantes, no obstante, la agricultura intensiva en la zona generó una reducción en el caudal de los ramales que

alimentan a las lagunas, ante lo cual se hizo uso de fuentes artificiales de agua para mantener el volumen constante, esto ocasionó que la alcalinidad del medio disminuya conllevando a su desaparición (Bionutrec, 2020). Las variedades Orovilca y Paracas fueron aisladas de las respectivas lagunas y son aún cultivadas hoy en día, siendo la variedad Orovilca la más distribuida. (Castro, 2020)

La empresa ayacuchana Musuq Kawsay S.A.C dedicada al cultivo de espirulina en estanques Raceway, posee deficiencias en el proceso de filtración mostrando el líquido filtrado las siguientes características: coloración verdosa del residuo, textura líquida de la biomasa filtrada y tiempo de filtración muy prolongado. Según Cuellar-Bermudez et al. (2019) menciona que el tiempo de filtración se podría atribuir a la morfología del tricoma, ya que la “torta de filtración” formada por tricomas helicoidales tiene una estructura más porosa, por consiguiente, se obtiene un mayor flujo de filtrado, a comparación de una con tricomas lineales donde los filamentos tienden a formar una estructura compacta que incrementa la resistencia de esta, así disminuyendo el flujo de filtrado. La linealidad del filamento disminuye significativamente el índice de crecimiento, los filamentos son más difíciles de filtrar, y debido a una similitud morfológica con el género *Oscillatoria*, esta resultaría difícil de identificar en caso hubiese contaminación por parte de esta, lo que podría ocasionar citotoxinas, que es uno de los problemas más serios para la industria de la espirulina (Hu, 2003), por otro lado (Zhi Ping & Ying, 2005) reportaron que los tricomas lineales tiene un contenido mucho más bajo de proteínas frente a los helicoidales, afectando grandemente la calidad nutricional del producto final. Por otro lado Mühling et al. (2003) refiere que los factores que influyen la forma del tricoma son la iluminación y la temperatura y la reversibilidad morfológica de helicoidal a lineal podría ser posible si se toma en cuenta los parámetros ya mencionados. Es bastante evidente que los problemas mencionados anteriormente perjudican grandemente al cultivador de espirulina, por lo tanto se pretende estudiar las variables de proceso a escala laboratorio para el mejoramiento de la morfología de la espirulina (*Arthrospira platensis*) en la empresa Musuq Kawsay..

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

¿Qué variables de proceso serán adecuadas para el mejoramiento morfológico de espirulina (*A.platensis*) de la empresa Musuq Kawsay?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Existe relación entre la intensidad de luz y la morfología de la espirulina (*A.platensis*)?
- ¿Existe relación entre la concentración de nutrientes en el medio de cultivo y la morfología de la espirulina (*A. platensis*)?
- ¿Existe relación entre la temperatura y la morfología de la espirulina (*A.platensis*)?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Determinar las variables de proceso adecuadas para el mejoramiento morfológico de espirulina (*A. platensis*) de la empresa Musuq Kawsay.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la relación entre la intensidad de luz y la morfología de la espirulina (*A. platensis*)
- Determinar la relación entre la concentración de nutrientes en el medio de cultivo y la morfología de la espirulina (*A. platensis*)
- Determinar la relación entre la temperatura y la morfología de la espirulina (*A. platensis*)

1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Hipótesis general

Las variables de proceso que influyen en el mejoramiento morfológico de la espirulina (*A.platensis*) serían: intensidad de luz, temperatura, y concentración de nutrientes

1.4.2. Hipótesis específicos

- La intensidad de luz permitiría el mejoramiento morfológico de la espirulina (*A.platensis*) .
- La temperatura permitiría el mejoramiento morfológico de la espirulina (*A.platensis*)
- La concentración de nutrientes permitiría el mejoramiento morfológico de la espirulina (*A.platensis*)

1.5. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En los últimos diez años ha aumentado el interés en torno al cultivo de espirulina en territorio nacional. Su interés se debe principalmente a sus propiedades nutricionales

que se perfilan como un potente agente para combatir los altos niveles de desnutrición que azotan el país, además, su cultivo requiere de menor cantidad de agua en comparación a otros cultivos tradicionales, beneficiando así al medio ambiente.

Estas características lo hacen atractivo como oportunidad de emprendimiento. Estas microempresas en muchos casos carecen del suficiente conocimiento teórico-práctico para llevar un cultivo adecuado de la espirulina (*A. platensis*), resultando en baja productividad y bajo rendimiento de cosecha lo que genera problemas para el productor. Tal es el caso de la empresa Musuq Kawsay, dedicada al cultivo de espirulina en la región de Ayacucho, que presenta deficiencias en la morfología de las células de espirulina, ocurriendo una alteración morfológica de helicoidal a lineal, esto estaría causando dificultades en la etapa de filtración, afectando su eficiencia, lo cual se traduce en pérdidas económicas para la empresa.

La presente investigación, precisamente, se enfocará en el estudio de las variables de proceso para el mejoramiento de la morfología de la espirulina (*A.platensis*) de la empresa Musuq Kawsay. El estudio se hará a escala de laboratorio, cuyos resultados obtenidos se podrán replicar a una escala mayor, profundizando los conocimientos teóricos sobre la relación entre las condiciones de cultivo y la morfología de la espirulina. Este conocimiento generado permitirá contribuir a que otras empresas dedicadas al rubro puedan dilucidar sus incertidumbres en caso presenten las mismas dificultades mencionadas anteriormente.

CAPITULO II

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Whitesides & Oliver, (1997) realizaron una investigación titulada “Resuscitation of *Vibrio vulnificus* from the Viable but Nonculturable State [Resucitación de *Vibrio vulnificus* del estado viable pero no cultivable]”; donde observaron que la estructura en forma de “varilla” es la morfología típica del *Vibrio vulnificus*, sin embargo, descubrieron que podía haber un cambio de la configuración a la forma “cocoide” en las células si estas eran incubadas a baja temperatura (5°C). Así mismo, retornaba a la forma celular original si esta era expuesta a temperaturas mayores (23°C). Los autores sugirieron que para la reanimación de dicha bacteria un factor determinante podría ser la temperatura.

Van Eykelenburg & Fuchs, (1980) en su trabajo de investigación “Rapid reversible macromorphological changes in *Spirulina platensis* [Cambios macromorfológicos rápidamente reversibles en *Spirulina platensis*]” refieren que la *Spirulina sp.* presenta alteraciones en su morfología en diferentes condiciones de cultivo. Además, observaron un cambio veloz en la morfología de la *Spirulina sp.* esta variación tomó lugar en dos procesos distintos, siendo la primera variación de helicoidal a espiral y la segunda alteración de espiral a helicoidal, cuando los investigadores vertieron gotas de agua lentamente sobre la superficie de la célula, esta adquirió una forma helicoidal. Posiblemente el cambio en humedad relativa llevó a la alteración en la morfología celular suponen los autores.

Kebede, (1997) en su trabajo titulado “Response of *spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia, to salinity stress from sodium salts [Respuesta de la *spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) del lago Chitu, Etiopía, al estrés de salinidad por sales de sodio]” investigó el desarrollo de *Spirulina sp.* en respuesta al cambio de salinidad y componente iónico. La salinidad del medio experimental tuvo un rango de 13 a 88 gL⁻¹ por medio de la adición de NaHCO₃, NaCl y Na₂SO₄, dando como resultado que el índice de crecimiento se vea reducido frente al aumento de la salinidad.

Además, las células en medio de alta salinidad presentaron una alteración en la longitud de los tricomas y el grado de enrollamiento (helicidad), por otra parte en el medio de cultivo de menor salinidad (13 gL^{-1}) se reportó que los tricomas de mayor longitud forman conglomerados. En las evaluaciones al mismo nivel de salinidad pero con la presencia de sulfato, las células cambiaron de grado de enrollamiento, en contraste al medio rico en bicarbonato y cloruro. La salinidad no podría ser el único factor que afecta la morfología celular, sino esta también depende de los componentes aniónicos, concluyeron los autores.

Van Eykelenburg C. (1979) realizó un estudio titulado “The ultrastructure of *Spirulina platensis* in relation to temperature and light intensity [La ultraestructura de la *Spirulina platensis* en relación con la temperatura y la intensidad luminosa]”, donde observó que cuando la temperatura de crecimiento aumentó de $13,5$ a 40°C , hubo un incremento en agregados y disminuyó en cianofina y concentración de granulos de poliglucano. Además, observó que el cambio de temperatura afectó la morfología de los tricomas, por ejemplo causó la mutación de células a tricomas cortos y apretados, no obstante, no se observó un cambio sustancial en el grosor de la capa de peptidoglicano si esta se mantenía en temperaturas de crecimiento comprendidas entre $13,5$ a $38,5^\circ\text{C}$. El autor sugiere que el cambio morfológico podría ser el resultado de formaciones de capa de peptidoglicano de la pared celular.

Zhi Ping & Ying. (2005) en su trabajo de investigación “Morphological reversion of *Spirulina (ARTHROSPIRA) platensis (Cyanophyta)*: from linear to helical [Reversión morfológica de *Spirulina (ARTHROSPIRA) platensis (Cyanophyta)*: de lineal a helicoidal]”, menciona que la *Spirulina sp.* se caracteriza por sus tricomas helicoidales, sin embargo, en ciertas condiciones dicha forma puede cambiar a formas irregulares e incluso lineales. Se había considerado como una variabilidad irreversible o permanente, no obstante, se encontró que los filamentos lineales podrían revertirse espontáneamente a la forma helicoidal. En otros estudios señaló que las cualidades ultraestructurales fisiológicas y bioquímicas de los filamentos lineales eran distintos de los filamentos originales, mientras que eran idénticos para los filamentos revertidos y originales. El análisis SDS-PAGE que condujo reveló que al menos cuatro subunidades o proteínas relacionadas con la morfogénesis de la espirulina: las proteínas $21,9\text{-kDa}$ y el $20,3\text{-kDa}$ se expresaron grandemente en los filamentos helicoidales, mientras que las proteínas $52,0 \text{ kDa}$ y $31,8\text{kDa}$ se expresan en los filamentos lineales. Además, condujo un análisis polimórfico amplificado al azar de ADN y mostró que el origen genético de los filamentos revertidos era el mismo al de los filamentos originales, pero distinto al de los filamentos lineales. Finalmente el autor menciona que estos resultados

indican que la reversibilidad de los filamentos lineales es posible bajo ciertas condiciones y que sus rasgos característicos son recuperados.

Cuellar-Bermudez et al. (2019) en su trabajo de investigación “Harvesting of *Arthrospira platensis* with helicoidal and straight trichomes using filtration and centrifugation [Recolección de *Arthrospira platensis* con tricomas helicoidales y rectos mediante filtración y centrifugación]” describe que la *Spirulina sp.* bajo ciertas circunstancias puede cambiar su morfología a lineal. Además, en su investigación comparó la cosecha utilizando centrifugación y filtración entre tricomas helicoidales y lineales. La filtración de gravedad empleando membranas de nylon resultó en gran eficiencia de filtrado para ambas cepas, pero el flujo de filtración fue muy lento para la cepa lineal. Así mismo la filtración bombeada resultó en un incremento en el flujo de filtrado para ambas cepas (12 a 20 m³m⁻²h⁻¹) pero hubo una gran reducción en la eficiencia de filtrado para la cepa lineal. El autor concluye que “estos resultados demostraron la importancia al momento de seleccionar el método adecuado de cosecha dependiendo de la morfología de la cepa. Mientras que la cepa helicoidal podría ser fácilmente cosechada por filtración, es preferible usar centrifugación a baja *fuerza g* para la cepa lineal”.

Sritana (2001) en su trabajo de investigación titulado “Factors affecting coiling and uncoiling of *Spirulina platensis* C1 [Factores que afectan al enrollamiento y desenrollamiento de la *Spirulina platensis* C1]” investigó los factores ambientales que potencian la transformación de helicoidal a lineal, mediante la concentración de nutrientes, alta temperatura, y alta intensidad de luz. Los resultados demuestran que dichos factores no promueven la transformación morfológica a lineal en las condiciones ya mencionadas. No obstante, comprobó que los factores mencionados tienen impacto en la helicidad de la célula. En el estudio de la irradiación UV que llevo a cabo, determinó que dicha condición no induce a mutación, resultando en la ausencia de tricomas lineales. Las formas rectas o lineales se encontraron cuando los cultivos estuvieron bajo condiciones estáticas prolongadas a temperatura ambiente. El autor concluye que el cambio morfológico de tricoma helicoidal a recto podría ser una mutación espontánea.

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Ortiz Escriba & Huamaní Alvarado (2021) en su trabajo de investigación titulado “Productividad de biomasa de *Arthrospira platensis* “espirulina”, de las cepas Orovilca y Paracas en biorreactores tipo *Raceways* en Ica”; tuvo como objetivo determinar la productividad volumétrica y superficial, así como la curva de crecimiento y adaptabilidad morfológica y productividad de pigmentos. Utilizaron las cepas *Orovilca* y *Paracas*, los cuales fueron escalados en fotobiorreactores cerrados hasta 18L de volumen. El

volumen final del estudio fue 1200 L en sistema abierto tipo *Raceway* bajo condiciones de iluminación natural y agitación por medio de paletas mecánicas. A lo largo del estudio se hicieron pre y post-cosechas. Los resultados obtenidos en la curva de crecimiento fueron los siguientes: la cepa Orovilca tuvo una cinética de crecimiento de $0,0035 \text{ (g/L)h}^{-1}$ en la etapa pre-cosecha, mientras que la cepa Paracas obtuvo $0,0015 \text{ (g/L) h}^{-1}$. La adaptabilidad de la cepa Paracas fue inferior contando con 68% de tricomas helicoidales y 32% rectos; mientras que la cepa Orovilca obtuvo 98% y 2% respectivamente. En términos de productividad volumétrica y superficial al final de los 30 días la cepa Paracas obtuvo $1,9972 \text{ g/m}^2/\text{día}$ y $0,0100 \text{ g/L/día}$ y $3,6711 \text{ g/m}^2/\text{día}$ y $0,0374 \text{ g/L/día}$ con Orovilca. En la determinación de pigmentos obtuvieron los siguientes datos: concentración de ficocianina de 10,1047%, clorofila "a" $11,1660 \text{ µg/L}$ y carotenoides $10,0205 \text{ µg/L}$ con la cepa Orovilca, mientras que la cepa Paracas $2,5990\%$, $4,4112 \text{ µg/L}$ y $6,6102 \text{ µg/L}$. Los investigadores obtuvieron 391g y 369 g de biomasa seca en la etapa pre-cosecha de las cepas Orovilca y Paracas respectivamente. Finalmente, los autores concluyen que no existe una diferencia significativa entre ambas cepas en términos de rendimiento superficial, volumétrico y biomasa seca.

2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES

En el contexto de este trabajo de investigación, no se ha identificado ninguna fuente local que haya abordado previamente el estudio de la espirulina (*A.platensis*). En consecuencia, se deduce que esta investigación se posiciona como la pionera en explorar los factores determinantes que conducen a la transición morfológica de helicoidal a lineal en la espirulina a nivel regional.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Espirulina

La espirulina es un microorganismo perteneciente al grupo de las cianobacterias, cuya taxonomía se muestra en la Tabla 1, que se obtiene de una amplia gama de entornos como agua marina, suelo, aguas salobres y agua fresca. Se puede encontrar prevaleciendo en aguas salinas con pH hasta 11, un ambiente poco favorable para la mayoría de especies de algas. La espirulina se encuentra naturalmente en muchos lagos alcalinos de América y África (Sritana, 2001, p. 06). Las especies más importantes son la *Spirulina máxima* y la *Spirulina platensis* (Schwarz, 2007). Se le llama espirulina en referencia a la forma espiralada de esta diminuta cianobacteria, cuyo tamaño no supera el medio milímetro (Gallego, 2012). Debido a su contenido de pigmentos naturales tales como clorofila-a, carotenoides y ficocianina esta tiene un color verde-azul, dichos pigmentos tienen grandes beneficios para la salud humana (Schwarz, 2007).

Igualmente, en los últimos años se viene investigando el potencial uso de cianobacterias para producir biodiesel, dado que el biodiesel de algas es renovable, biodegradable, no tóxico y tiene potencial como combustible alternativo ecológico para motores de combustión interna y además posee un rendimiento de 200 veces más frente a los aceites vegetales (Rahman et al. 2017).

Tabla 1

Clasificación taxonómica de espirulina

Dominio	Bacteria
Filo	Cyanobacteria
Clase	Cyanophyceae
Subclase	Oscillatoriophyceae
Orden	Oscillatoriales
Familia	Phormidaceae
Subfamilia	Phormidioideae
Género	Arthrospira
Especie	<i>Arthrospira platensis</i>

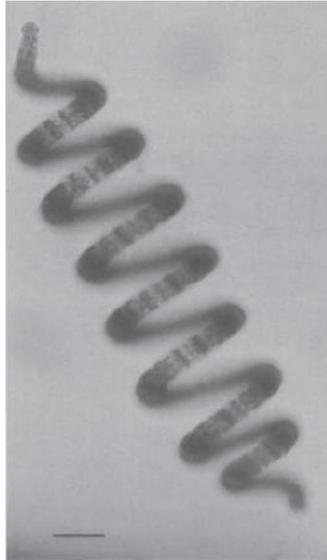
Fuente. De *Monographie des oscillariées* (p.179), por M. Gomont, 1892, Annales des Sciences Naturelles, Botanique, 7 (16).

Morfología

La espirulina es reconocible gracias a su principal característica morfológica del género, apreciable en la Figura 1, que consiste en tricomas cilíndricos con un hélice abierto hacia la izquierda a lo largo de su longitud (Vonshak, 1997).

Figura 1

Morfología de la espirulina



Fuente. Tomado de *Spirulina Platensis(Arthrospira)Physiology, Cell-biology and Biotechnology*(p.3), por A.Vonshak, 1997, Taylor&Francis.

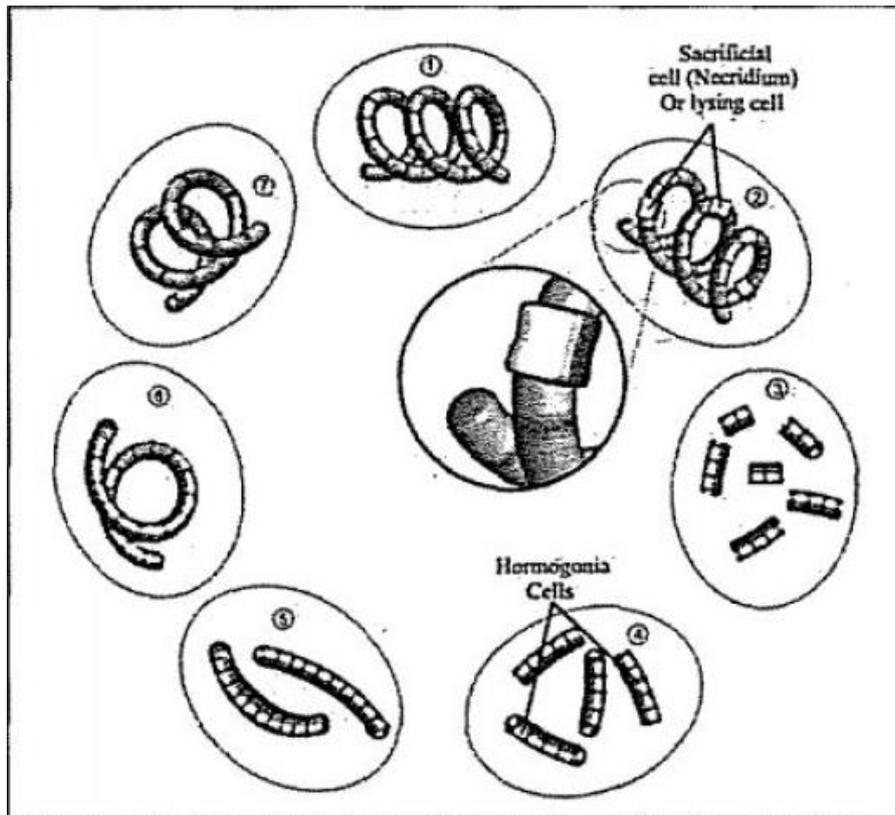
La helicidad de los tricomas varía dependiendo de las especies. El ancho de los tricomas, compuesto por células cilíndricas más cortas que anchas, varían entre 6 a 12 μm con variedad de formas, la distancia entre hélices varía entre 12 a 72 μm , y el diámetro entre 30 a 70 μm (Sritana, 2001). La temperatura, condiciones físicas y químicas, podrían afectar la geometría del hélice (Van Eykelenburg, 1979), no obstante la helicidad de los tricomas no podría usarse como un criterio taxonómico para la separación de la espirulina de otro género en la Oscillatoriaceae (Sritana, 2001).

Ciclo de vida

El ciclo de vida de la *Arthrospira platensis* es básicamente un ciclo de vida celular, como se aprecia en la Figura 2, comenzando de un espiral, para luego dividirse en hormogonios, las cuales con el tiempo vuelven a convertirse en una sola espiral (Sánchez et al. 2003).

Figura 2

Ciclo de vida de la espirulina (A. Platensis)



Fuente. Tomado de "Spirulina(Arthrospira) an edible microorganism"(p.11), por Sánchez et al., 2003, Universitas Scientarium, 3 (1).

Este proceso se da inicio mediante la descomposición de un tricoma maduro por medio de células especializadas llamadas necridia. Estas células experimentan un cambio llamado lisis, que conlleva al surgimiento de cadenas de células (entre 2 o 4). Éstos fragmentos llamados hormogonia pierden la porción adjunta a la célula necridal dando como resultado un nuevo tricoma con bordes redondeados a los extremos (Ciferri, 1983).

Composición nutricional

Las espirulina destaca por sus propiedades nutricionales. Sobresaliendo especialmente por su alto contenido de proteínas como se muestra en la Tabla 2 y 3 superando en muchos casos a otros alimentos, además, es muy rico en vitaminas, fitonutrientes, y minerales (Gallego, 2012). Cabe precisar que la composición nutricional puede variar dependiendo de la cepa, y condiciones de cultivo (Gutierrez Vergaray & Tello Echevarría, 2018). Esta cantidad elevada de nutrientes permite a las personas con desnutrición recuperarse con rapidez y mantener la salud en buenas condiciones (Diaz, 2018).

Tabla 2*Contenido de macronutrientes de la espirulina*

Contenido	Valor en 100 g	Unidades
Energía *	335	kcal
Proteínas	57,5	g
Grasas	5,4	g
Ácidos grasos saturados	2,65	g
Ácido mirístico	0,0075	g
Ácido palmítico	2,496	g
Ácido esteárico	0,077	g
Ácidos grasos monoinsaturados	0,675	g
Ácido palmitoleico	0,328	g
Ácido oléico	0,347	g
Ácido oléico	2,08	g
Ácidos grasos poliinsaturados	0,823	g
Ácido linoléico	1,254	g
Ácido gamma-linolénico		
Carbohidratos	13,9	g
Azúcares	3,1	g
Fibra	3,6	g

Fuente. La energía expresado en kilocalorías (kcal). De *Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha* (p.20), por Gutierrez Vergaray & Tello Echevarría ,2018

Tabla 3*Contenido de micronutrientes de la espirulina*

Contenido	Unidades	Valor en 100 g
Vitamina A, IU	IU	570,00
Vitamina E, mg	mg	5,00
Vitamina K, µg	µg	25,50
Tiamina, mg	mg	2,38
Riboflavina, mg	mg	3,67
Niacina, mg	mg	12,82
Vitamina B6, mg	mg	0,36
Vitamina B9, µg	µg	94,00
Calcio, mg	mg	120,00
Hierro, mg	mg	28,50
Fósforo, mg	mg	118,00
Magnesio, mg	mg	195,00
Sodio, mg	mg	1048,00
Zinc, mg	mg	2,00
Potasio, mg	mg	1363,00

Fuente. De Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha (p.20), por Gutierrez & Tello, 2018

Parámetros de cultivo

Los parámetros involucrados en la producción de espirulina (*A.platensis*) son los siguientes:

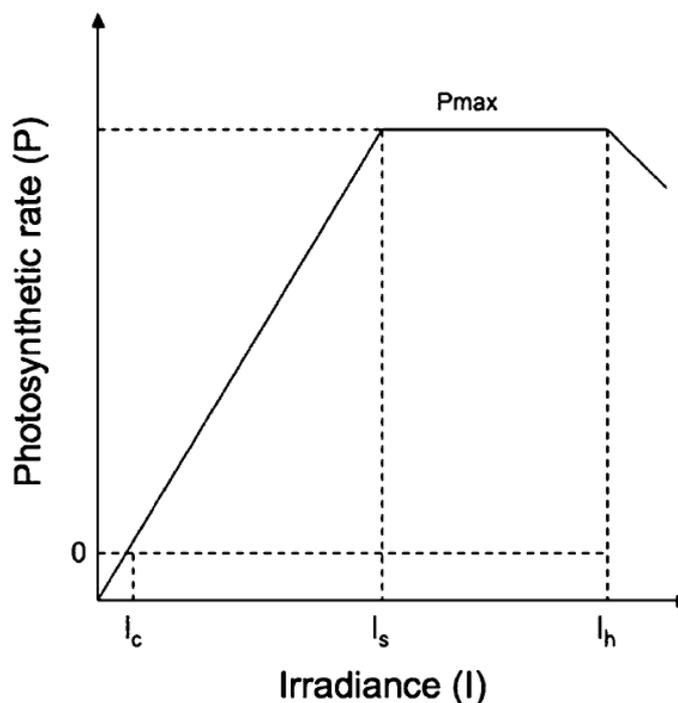
a. Iluminación

La espirulina (*Arthrospira platensis*) es un microorganismo fotosintético, en consecuencia la luz es un factor importante de crecimiento, además este no puede acumularse y se le considera como sustrato limitante (Vanegas & Hernández-Benítez, 2018). Según Vonshak (1997), niveles de Klux entre 25-30 inhiben el crecimiento de

Spirulina, también se determinó que había una saturación en el rango de 150-200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Siendo esta entre 10 a 15 por ciento de la radiación solar total en el rango de 400-700 nm. Así mismo, menciona que dichos valores van a depender de la concentración de la biomasa en el cultivo, pues a mayor concentración de biomasa menor biodisponibilidad de luz. Carvalho et al. (2011) describe el efecto de la intensidad de luz y su repercusión en la fotosíntesis, se plantea que el crecimiento celular está ligado al flujo de fotones. En la Figura 3 se puede distinguir tres zonas principales: (1) una región limitada de luz por lo que los fotones suministrados son aprovechados completamente, por ende la un incremento en la irradiancia acrecenta la eficiencia fotosintética; las células comienzan a crecer a intensidades de luz que delimitan dicha región (I_c), y el punto en el que no ocurre mayor crecimiento después de haber alcanzado una intensidad de luz (I_s). (2) una región de saturación de luz, donde la capacidad de procesamiento fotosintético está en su punto máximo. La región (3) muestra la relación entre intensidad de luz y fotoinhibición (I_h), valores mayores se expresan en bajo índice de crecimiento y eventualmente en daño fotónico llevando a la muerte del cultivo.

Figura 3

Intensidad lumínica y tasa fotosintética en cianobacterias



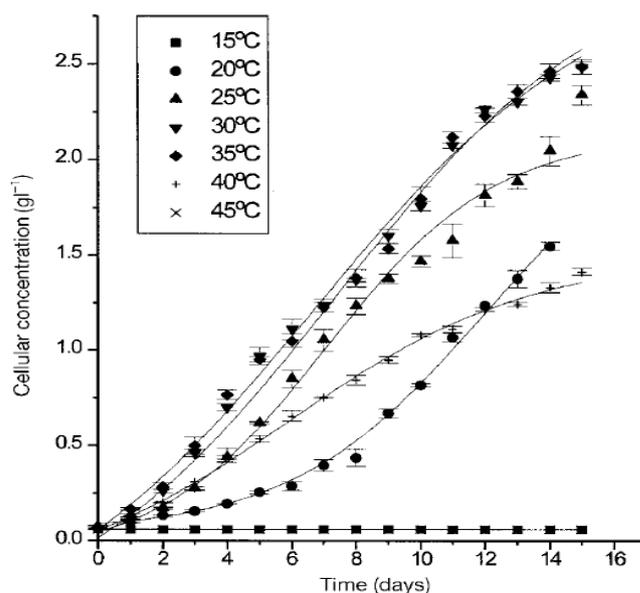
Fuente. (I_c) denota crecimiento mínimo, (I_s) crecimiento idóneo y (I_h) fotoinhibición. P_{max} es la tasa fotosintética máxima a una intensidad lumínica dada entre I_s y I_h . Tomado de "Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects" (p.1279), por Carvalho et al., 2011, Applied Microbiology Biotechnology, 89.

b. Temperatura

La temperatura afecta las actividades metabólicas y es sin duda alguna el factor más fundamental en todo organismo vivo. En microorganismo acuosos la temperatura afecta la disponibilidad y absorción de nutrientes, así como sus propiedades físicas. (Vonshak, 1997). La espirulina crece naturalmente en masas de agua con temperaturas relativamente altas. En cultivo de laboratorio la temperatura óptima de crecimiento se sitúa entre 35-38 °C (Vonshak, 1997). Según Oliveira et al. (1999) la temperatura óptima de crecimiento y sus sensibilidad a rangos extremos dependerá de la cepa. También observó que la mayor producción celular de 2.4 g L⁻¹ se obtuvo en el rango de 30-35°C para *A.maxima* y 25-30 °C para *A.platensis* respectivamente. Además, se reportó en el trabajo de Richmond, (1988) que temperaturas mayores a 40°C y menores a 15°C son perjudiciales reduciendo el crecimiento junto con la disminución de la pigmentación verdosa. En las figuras 4 y 5 se puede apreciar el efecto de la temperatura en el crecimiento de diferentes cepas. Se sabe que la temperatura también tiene cierta relación con la morfología de la espirulina, de acuerdo a Sritana (2001) temperaturas altas dan como resultado una morfología suelta y poco definida.

Figura 4

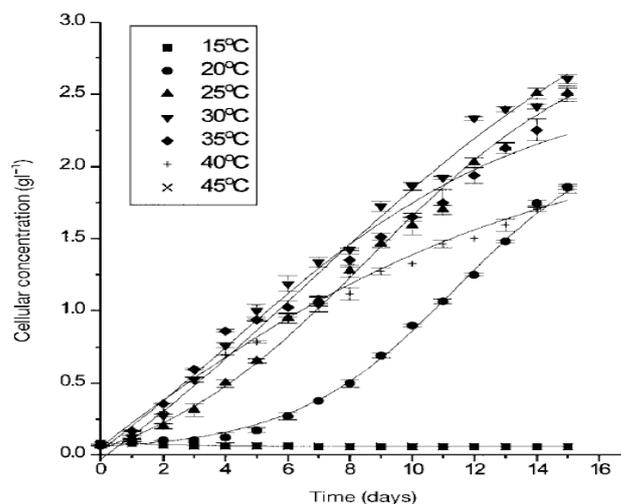
Efecto de la temperatura en el crecimiento de A.maxima.



Fuente. Tomado de "Growth and chemical composition of Spirulina maxima and Spirulina platensis biomass at different temperatures"(p.265), por Oliveira et al., 1999, Aquaculture International, 7.

Figura 5

Efecto de la temperatura en el crecimiento de *A. platensis*.



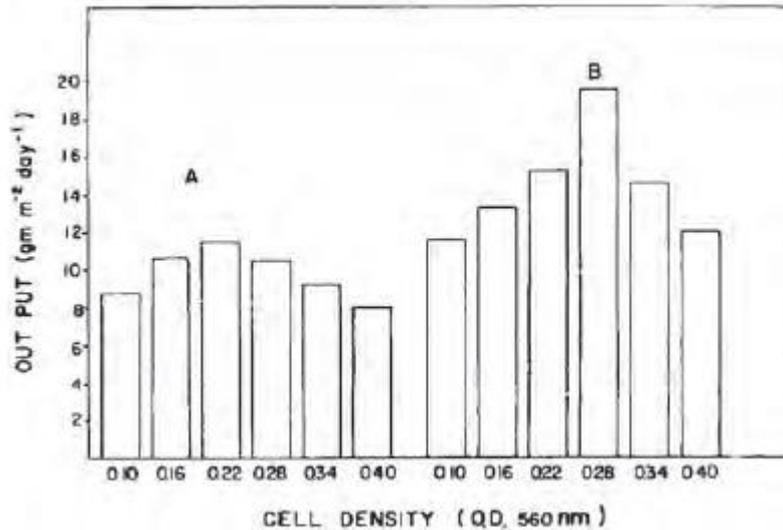
Fuente. Tomado de "Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures"(p.265), por Oliveira et al., 1999, Aquaculture International, 7.

c. Agitación

La espirulina tiende a flocular naturalmente acumulándose en la parte superior del fotobiorreactor donde la exposición a luz es alta lo cual significa un aumento de temperatura y fotoinhibición (Spirulina, 2018). La agitación provee homogeneidad en el cultivo, mejor disponibilidad de nutrientes y mayor eficiencia fotosintética, expresándose en incremento de la producción (Vanegas & Hernández-Benítez, 2018). Según Jourdan (2006) la agitación puede ser mecánica o manual, además se reportó en el trabajo de (Chisti, 2013) que para fotobiorreactores tipo Raceway el flujo de velocidad óptimo para cultivo de algas es 0.3ms^{-1} al cual se llega mediante paletas mecánicas que generen un número de reynolds de 257,000. En un trabajo previo Vonshak (1997) también corroboró que un flujo turbulento incrementa la productividad, como se puede apreciar en la Figura 6, sin embargo, altas revoluciones causan estrés hidrodinámico generando ruptura y descenso de la producción (Barbosa, 2003).

Figura 6

Efecto de la turbulencia en la producción de *Spirulina* a diferentes revoluciones (A), 7 rpm (lento); (B), 17 rpm (rápido)



Fuente. Tomado de *Spirulina Platensis(Arthrospira)Physiology, Cell-biology and Biotechnology*(p.84), por A.Vonshak, 1997, Taylor&Francis.

d. pH

La espirulina es un ser alcalófilo y puede desarrollarse en valores de pH entre 8.5-11 (Vanegas & Hernández-Benítez, 2018). El pH tiene efecto en la calidad de proteína, pigmentos, productividad y composición fitoquímica del cultivo. Según Chepe Delgado & Barreto Gonzáles (2021) la spirulina presenta un porcentaje de proteína de 60,72% en un pH = 9 frente a un 38,2% en un pH = 10, así mismo, reportaron una biomasa de 1,53 g/L frente a 0,801 g/L. La preferencia de un pH = 9 es evidente pues Mostafa Mahmoud *et al.* (2016) verificó que el mayor contenido de clorofila, carotenoides y fenólicos fue a un pH = 9,5, mientras que la máxima producción de ficobiliproteínas se obtuvo en un pH = 9,0. El pH aumenta junto al incremento de la biomasa debido al consumo de dióxido de carbono de parte de esta (Gallego, 2012). Para poder mantener un nivel óptimo de pH es necesario añadir CO₂ en forma gaseosa o ya sea por medio de NaHCO₃ (Chisti, 2013).

Sistemas de producción de espirulina

Las especies de cianobacterias más cultivadas actualmente debido a sus propiedades nutracéuticas son chlorella (*Chlorella vulgaris*), espirulina (*Arthrospira platensis*), dunaliella (*Dunaliella salina*) y haematococcus (*Haematococcus pluvialis*). Estos son cultivados en sistemas cerrados y abiertos (Gallego, 2012). Estos fotobioreactores

utilizan una fuente de luz y CO₂ para producir biomasa, así como otros nutrientes dependiendo del tipo de microorganismo (Tsang, 2017).

a. Sistema abierto

Los estanques abiertos tipo Raceway son por lo general utilizados para el cultivo de microalgas y cianobacterias (Chisti, 2013). Los Raceway son rentables, eficientes, y de mantenimiento simple (Tsang, 2017). Este tipo de cultivo se utiliza comercialmente en diferentes partes del mundo y el 98% de la biomasa se utiliza para productos nutricionales de alto valor y biocombustibles (Chisti, 2013; Benemann, 2000). La configuración de un Raceway, apreciable en la Figura 7, es un canal de flujo recirculado donde la altura promedio del cultivo es entre 0.2-0.3 m (Becker, 1994). El cultivo se mezcla y recircula en el sistema mediante el uso de paletas mecánicas. El área puede variar grandemente (Chisti, 2013), pero generalmente la relación entre el largo y el ancho recomendable de un estanque de situa entre 10-20. Si la proporción entre largo y ancho esta por debajo de lo recomendado, el flujo se ve afectado en la parte recta del estanque (Acién et al. 2017; Chisti, 2013), además, la evaporación, contaminación y control de temperatura son algunos inconvenientes de este sistema (Pulz, 2001).

Figura 7

Estanques tipo raceway



Fuente. Tomado de *Photobioreactors: Advancements, Applications and Research* (p.130), por Yiu Fai Tsang, 2017, Nova Science Publishers, Inc.

Fotobioreactores de capa delgada

Los sistemas de capa delgada se remontan al año 1960 en el Instituto de Microbiología en Trebon. Estos sistemas consisten en superficies inclinadas (1% a 3%) en direcciones opuestas de entrada y salida del flujo como se muestra en la Figura 8. El cultivo circula

en una capa fina (5-10 mm) el cual debido a la gravedad alcanza el final del sistema desembocando en un tanque en la parte baja (Acién et al. 2017). Este sistema funciona en condiciones externas y tiene como fuente principal de fotones la luz solar, el pH y la temperatura no son controlados (Tsang, 2017). La mayor ventaja de este sistema es su alto índice de superficie/volumen lo cual da como resultado una fotosíntesis eficiente traduciéndose así en mayor productividad, además, debido a su fina capa el O₂ producido se disipa en la atmósfera, evitando la fotooxidación (Jerez et al. 2014). De acuerdo a Tsang (2017) en este tipo de sistemas se puede llegar a producir 1.8 veces más biomasa que en los estanques tipo Raceway y 1.2 más biomasa que en los fotobiorreactores tubulares.

Figura 8

Fotobiorreactor de capa delgada



Fuente. Adaptado de *Photobioreactors for the production of microalgae* (p.32), por Acién et al., 2017, *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*.

b. Sistema cerrado

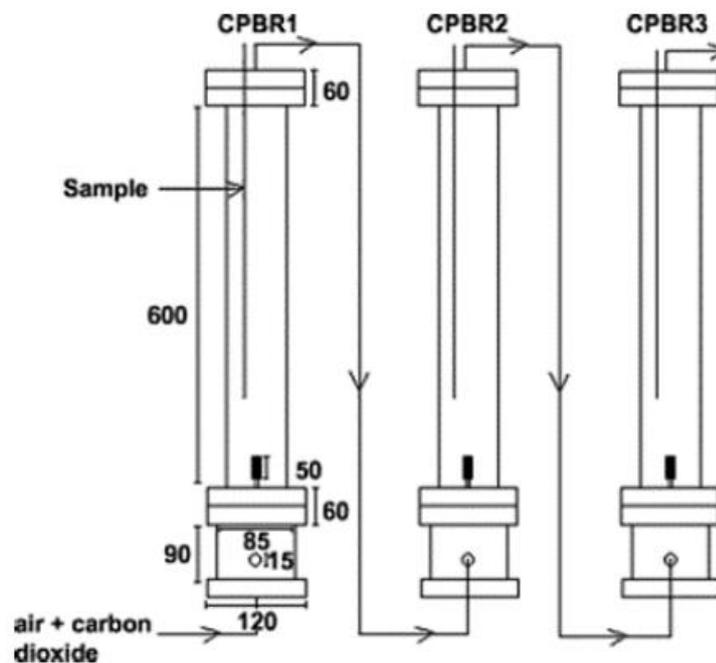
Fotobiorreactores tubulares

Los fotobiorreactores tubulares son el diseño más común en los sistemas cerrados para cultivo de microalgas en escala industrial (Acién et al., 2017). Consisten en cilindros transparentes, por lo general de plástico o vidrio, cuyo diámetro puede variar entre 0,1 a 0.2 m (Tsang, 2017). Estos fotobiorreactores pueden utilizar luz tanto artificial como natural. Los fotobiorreactores tubulares se pueden clasificar en vertical, horizontal o

inclinados como se muestra en la Figura 9, dicha posición tiene como fin una mayor o menor incidencia de luz (Costa & Morais, 2014). Un control de temperatura es necesario ya que puede absorber grandes cantidades de calor durante el medio día. Entre algunos métodos de control de temperatura se encuentran , el sombreado, intercambiadores de calor o rociado de agua fría en la superficie del fotobioreactor (Tsang, 2017). El sistema es agitado mediante corrientes de aire o bombas, el objetivo es llegar a una velocidad de flujo entre 30 a 50 cm s⁻¹ (Chisti, 2007). La ventaja de este sistema es su índice de superficie/volumen, el cual da lugar a mayor fijación de CO₂ y mejor productividad en el cultivo (Tsang, 2017).

Figura 9

Fotobioreactor tubular en serie



Fuente. Adaptado de *Photobioreactors: Advancements, Applications and Research* (p.131), por Yiu Fai Tsang, 2017, Nova Science Publishers, Inc.

Fotobioreactores de placa plana

Este sistema de cultivo ha estado tomando relevancia los últimos años debido a su alta eficiencia fotosintética (Tamburic et al., 2011). Estos fotobioreactores consisten de paneles traslúcidos y delgados que por lo general un grosor de 10 mm tal como se puede apreciar en la Figura 10. Usualmente son hechos de PVC, policarbonato, vidrio o polietileno (Acién et al., 2017). La orientación del panel varía dependiendo de la fuente de luz, siendo verticales aquellos que usan luz artificial y ligeramente inclinados si se usa la energía solar (Tamburic et al., 2011). La gran ventaja de este sistema, aparte de

su fácil mantenimiento y bajo costo, es su alto índice de área/volumen, llegando a valores volumétricos de biomasa mayores a $2\text{gL}^{-1}\text{d}^{-1}$. El sistema cuenta con tubos horizontales en la parte inferior del panel por donde ingresa el CO_2 y el sistema de agitación por bombas, es posible contar con tanques de desgasificación para evitar la acumulación de O_2 y sus posibles efectos adversos en el cultivo (Tsang, 2017). Las limitaciones del sistema son su escalabilidad, problemas de sedimentación y control de temperatura (Tamburic et al., 2011).

Figura 10

Fotobioreactor de placa plana



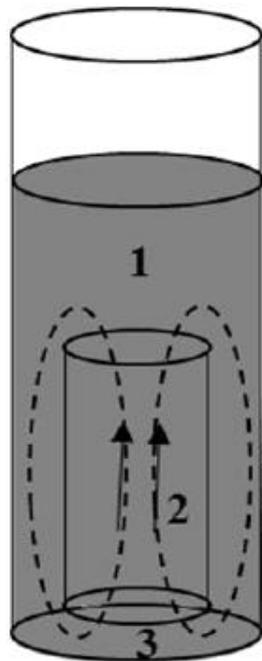
Fuente. Adaptado de de *Photobioreactors for the production of microalgae* (p.25), por Acién et al., 2017, *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*.

Fotobioreactores airlift

Los fotobioreactores airlift tienen una geometría tubular y cuentan con un conducto de succión en el centro presente en la Figura 11. Este diseño permite un flujo turbulento, mejorando la circulación, transferencia de calor, homogenización del medio e inhibición del proceso fotoinhibitorio (Razzar et al., 2013). El sistema es agitado mediante aireación, junto con inyección de CO₂. Este tipo de fotobioreactor tienen un costo relativamente alto, el escalamiento es complicado y posee un bajo índice de superficie/área (Tsang, 2017). Además, el sistema de agitación genera estrés en el cultivo, dificultando el crecimiento. (Ning et al.,2021).

Figura 11

Fotobioreactor tipo airlift



Fuente. Adaptado de *Photobioreactors: Advancements, Applications and Research* (p.133), por Yiu Fai Tsang,2017, Nova Science Publishers, Inc.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- **Alcalófilo:** se dice de aquellos microorganismos que proliferan en ambientes de pH entre 8,5 y 11.
- **Fotoinhibición:** es el exceso de radiación, que impide la fotosíntesis.
- **Irradiancia:** magnitud para cuantificar la cantidad de radiación en una superficie
- **Lux:** unidad que describe la iluminancia de un espacio expresado en lumen por metro cuadrado.
- **Lisis celular:** consiste en el quebrantamiento y ruptura celular ocasionando fuga del material celular.
- **Cianobacteria:** Microorganismo procariota capaz de realizar fotosíntesis dándole un color azul verdosa.
- **Raceway:** canal artificial de agua en el cual se realiza cultivo de peces o microorganismos tales como algas y cianobacterias.

CAPITULO III

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

El siguiente trabajo de investigación se desarrollará dentro del tipo de investigación básica como aplicada, entendida entre los términos de Vara Horna (2015), según el cual, “Las investigaciones tienen más valor si sus resultados aportan opciones para resolver problemas y si contribuyen aumentando las arcas del conocimiento científico” (p.202). Pues tal es el caso del presente trabajo que pretende determinar los parámetros adecuados para el mejoramiento morfológico de espirulina (*A.platensis*) de la empresa Musuq Kawsay, así como, generar el conocimiento necesario para que los interesados puedan hacer uso de ello en aras del saber humano.

3.2. Nivel de investigación

Ñaupas et al. (2018) define que “el nivel explicativo es un nivel más complejo, más profundo y más riguroso, de la investigación básica, cuyo objetivo principal es la verificación de hipótesis causales o explicativas”(p.135). El presente trabajo busca verificar las variables de proceso que influyen en el mejoramiento morfológico de espirulina (*A.platensis*) de la empresa Musuq Kawsay, por ende, el nivel explicativo se alinea a las características de investigación del trabajo mencionado anteriormente, ya que se busca contrastar las hipótesis, que involucran una relación de causalidad entre variables dependientes e independientes.

3.3. Diseño de investigación

Según Vara Horna (2015) el diseño experimental posee variables independientes que pueden ser manipuladas deliberadamente para observar sus efectos a través de la

experimentación, la cual es parte fundamental del método científico. En el presente trabajo se cuenta con variables independientes (iluminación, temperatura, y concentración de medio de cultivo) que serán empleadas para estudiar sus efectos (morfología) mediante la experimentación, la cual buscará ofrecer explicaciones con la mayor credibilidad y validez, por tanto, el diseño de investigación experimental se alinea dentro las características de este trabajo.

3.4. Población y muestra

La elección de la población para el siguiente trabajo de investigación, se hizo bajo el término de Vara Horna (2015), según el cual “la población es el conjunto de sujetos o cosas que tienen una o más propiedades en común, se encuentran en un espacio o territorio y varían en el transcurso del tiempo”(p.221). Siendo todas las células de espirulina el estanque de cultivo existente en las instalaciones de la empresa Musuq Kawsay la población de estudio del presente trabajo, mientras que la muestra se considera al grupo de sujetos extraídos de la población y seleccionados mediante algún método plausible (Vara Horna, 2015), la muestra biológica será la cepa de espirulina (*A.platensis*) del estanque de cultivo la cual será tomada mediante un método de muestreo probabilístico simple.

3.5. VARIABLES E INDICADORES

3.5.1. Variable independiente

- Temperatura (°C)
- Intensidad de luz (Lux)
- Concentración del medio de cultivo (0,5X, 1X, 2X); donde “X” representa el multiplicador de la concentración normal del medio de cultivo. La concentración normal es 1X, mientras que 0,5X implica reducir a la mitad la concentración del medio Zarrouk modificado, según se detalla en el Anexo8, y 2X implica duplicar dicha concentración

3.5.2. Variable dependiente

- Morfología de la espirulina (porcentaje de tricomas helicoidales)

Tabla 4*Variables de investigación*

VARIABLES	DIMENSIONES	CONCEPTO OPERACIONAL	INDICADORES
X Parámetros de operación (VARIABLES INDEPENDIENTES)	X1 X2 X3	Intensidad de luz Temperatura Concentración de nutrientes en medio de cultivo	La cantidad de lux que recibira el cultivo Las diferentes temperaturas de crecimiento La cantidad de nutrientes proveidos al cultivo
Y (VARIABLES DEPENDIENTES)	Y1	Morfología de cultivo	X1.1 Lux(5000,10000) X2.1 C°(25,30,35) X3.1 g/L(0.5X,1X,2X) Y1.1 Forma (porcentaje de tricomas helicoidales)

3.6. Lugar de ejecución

Todo el proceso que involucró el trabajo de investigación se llevó a cabo entre el 13 de marzo al 21 de Julio del año 2023 en las instalaciones de la empresa Musuq Kawsay, ubicado en el departamento de Ayacucho, la provincia de Huamanga y distrito de San Juan Bautista con las coordenadas -13.173190,-74.201418.

3.7. MATERIALES

3.7.1. Materia prima

El objeto de estudio de esta investigación fue la espirulina, la cual se obtuvo de los pozos de cultivo pertenecientes a la empresa Musuq Kawsay SAC.

3.7.2. Materiales de laboratorio

- Probeta de 500 mL
- Micropipeta de 10.0 μ
- Jeringa 30G
- Matraz de erlenmeyer
- Termómetro digital
- Ph metro digital (HANNA)
- Bomba de aire (5watts)
- Foco térmico (25 watts)
- Foco térmico (50 watts)
- Pipeta de 10 MI
- Termostato
- Focos de 50W
- Cámara Sedgewick rafter
- Porta objetos
- Pipeta pasteur
- Medio de cultivo zarrouk modificado
- Filtro de 40 μ
- Vaso precipitado

3.7.3. Equipos

- Balanza analítica de 300 g
- Microscopio (Siedentopf)

3.8. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.8.1. Recolección y aislamiento

Se recolectó una muestra de 50 mL de espirulina (*A.platensis*) de los estanques tipo "Raceway". Las muestras fueron recolectadas con pipetas pasteur para luego ser puestas en tubos de ensayo. Para poder aislar los tricomas lineales de los helicodales se hizo mediante el procedimiento de diluciones seriales de un factor 10, para lo cual se extrajo 1 mL de alícuota y se vertió a un tubo de ensayo con 9 mL de medio de cultivo hasta llegar a una concentración de 1/1000 como se muestra en el Anexo 13 y 14, posteriormente se aisló los tricomas helicoidales con ayuda de una aguja 30G y se añadió los tricomas aislados a una placa petri con agar Zarrouk, y fue puesto en una cámara de crecimiento a temperatura de 30°C y con luz tenue por un período de 2 semanas, una vez alcanzado un crecimiento denso, como se muestra en la Figura 12 y 13, se procedió a retirar muestras de la placa petri y fueron añadidas a medio de cultivo zarrouk líquido en tubos de ensayo de 20 mL para continuar con su escalamiento posterior, como se muestra en el Anexo 9 y 10.

Figura 12

Placa petri con agar Zarrouk y espirulina

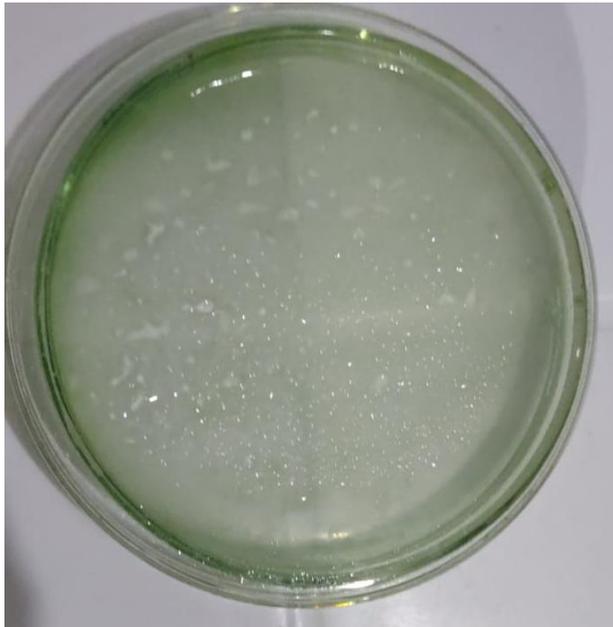


Figura 13

Tricomas de espirulina en medio agar Zarrouk a escala 100X

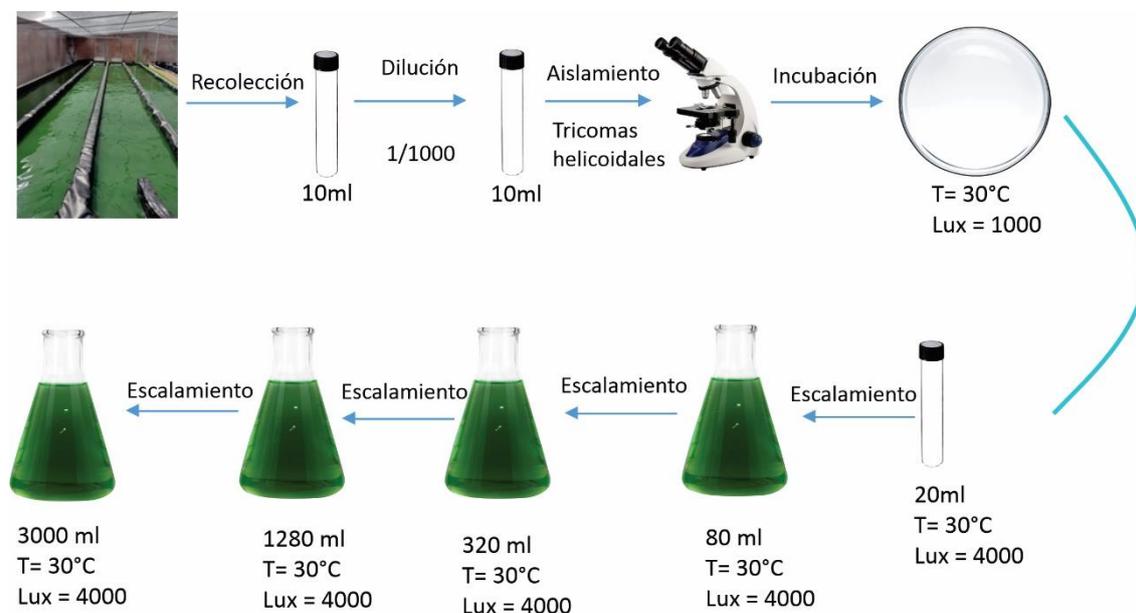


3.8.2. Mantenimiento y escalamiento

El inóculo fue escalado de acuerdo a la representación esquemática de la Figura 14, el cual consiste en escala a volúmenes mayores en una proporción de 1:3, para lo cual se hizo uso del medio de cultivo Zarrouk modificado presente en la Anexo 8, posteriormente se mantuvo en cámaras de crecimiento en un ciclo de luz/oscuridad de 12/12h a 4000 Lux, y a una temperatura de 30°C (Kumar et al. 2011) con agitación mediante una bomba de aire de 5 watts, con filtros de aire, hasta obtener un denso crecimiento, como se muestra en el Anexo 9. El volumen final fue de 3000 mL, el cual fue usado como cultivo madre para las pruebas posteriores.

Figura 14

Representación esquemática del proceso de recolección y escalamiento



3.8.3. Condiciones experimentales

Los experimentos a fin de determinar los factores que afectan la morfología de la espirulina fueron conducidos bajo la modalidad discontinua o por lotes en cámaras de crecimiento, como se puede ver en la Figura 15, bajo los parámetros que se muestran en la Tabla 5. Se utilizó 0,05 L de inóculo extraído del cultivo madre y 0,2 L de medio de cultivo para la concentración normal (1X), mientras que para las demás concentraciones (0,5X y 2X) se hizo un filtrado y lavado para su inoculación a fin de evitar desbalance químico.

Tabla 5

Tabla de experimentación

LUX	Temperatura								
	25°C			30°C			35°C		
5000	0.5X	1X	2X	0.5X	1X	2X	0.5X	1X	2X
10000	0.5X	1X	2X	0.5X	1X	2X	0.5X	1X	2X

Figura 15

Cámara de crecimiento y experimentación



3.8.4. Evaluación de cultivos

Parámetros físico-químico.

Estos parámetros se evaluaron partiendo desde la etapa de inoculación hasta crecimiento con el objetivo de asegurar los parámetros óptimos de crecimiento. La medición se dió en cada cultivo experimental por separado.

- Parámetros físicos: se hizo una evaluación diaria en reposición de agua por evaporación, correcta iluminación y temperatura correcta.
- Parámetros químicos: se hizo una evaluación interdiaria del pH con un pHmetro de la marca HANNA(HI98103)

Evaluación de morfología

Para esta prueba se hizo uso de la cámara de conteo Sedgewick-Rafter, con el fin de precisar el número de tricomas helicoidales y rectos como se muestra en la Figura 16 y el Anexo 12 . Para determinar el momento adecuado de la realización del conteo se hizo previamente una determinación de curva de crecimiento de la espirulina, tras lo cual se obtuvo que en el día 3 el crecimiento aún se encontraba en la fase exponencial, mientras

que a partir del 4to día se iniciaba la fase estacionaria y posteriormente el decrecimiento, como se muestra en el Anexo 7, por ende se determinó por conveniente realizar el conteo durante la etapa exponencial, a fin de evitar posible interacciones con la morfología en la fase de decrecimiento. Para la realización el conteo se utilizó la siguiente metodología:

- Se tomó una alícuota de 1mL de las pruebas experimentales y se vertió en la cámara de Sedgewick- Rafter con su respectivo cubreobjetos y se dejó reposar la muestra por 15 minutos.
- Se observó utilizando un microscopio binocular de la marca Siedentopf (B120c) a una amplitud de 40X.
- Se hizo el conteo representativo de 3 filas y 4 columnas, y se obtuvo un promedio (\bar{x}).
- El número de tricomas helicoidales y rectos fue determinado usando la siguiente ecuación (Escriba & Huamaní, 2021):

$$N^{\circ}.mL^{-1} = (N^{\circ}. \text{ de tricomas contados})(N^{\circ}. \text{ Total de cuadrados})(\text{dilución})$$

donde:

N°.total de cuadrados: 1000

dilución = 1

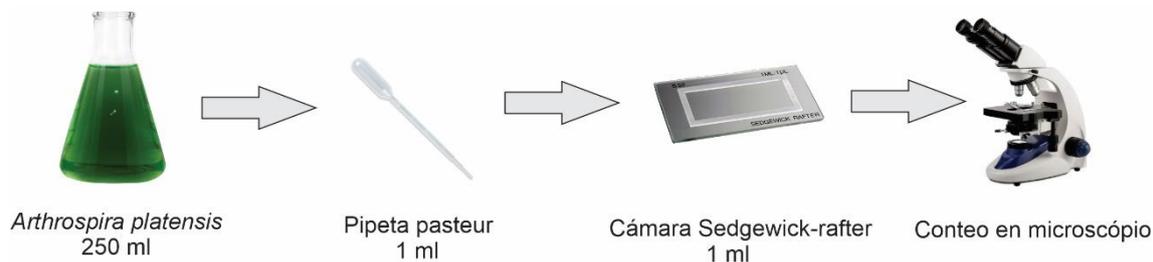
- El porcentaje de tricomas helicoidales y lineales se determinó de la siguiente forma:

$$\% \text{ de tricomas helicoidal} = \frac{N^{\circ} \text{ de tricomas helicoidales}}{N^{\circ} \text{ de tricomas total}} \times 100$$

$$\% \text{ de tricomas rectos} = \frac{N^{\circ} \text{ de tricomas rectos}}{N^{\circ} \text{ de tricomas total}} \times 100$$

Figura 16

Representación esquemática del procedimiento para la evaluación de tricomas lineales y helicoidales



3.9. Diseño estadístico

La elección del diseño estadístico se hizo dentro de los términos planteados por Quevedo & Pérez (2008), según los cuales “Cuando se habla de análisis de varianza con clasificaciones cruzadas o diseños factoriales, hay experimentos que involucran más de dos factores, lo cual nos lleva al análisis de varianza de clasificaciones en tres sentidos o factorial 3k”(p.346). En el trabajo a desarrollar se cuenta con 3 factores (2 niveles de Iluminación, 3 niveles de concentración de nutrientes, y 3 niveles temperatura). Lo cual nos da como resultado 18 unidades experimentales utilizando el Modelo de Análisis de varianza de tres sentidos: diseño completamente aleatorizado con efectos fijos

CAPITULO IV

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros fisico-químicos

Tabla 6

Parámetros fisicoquímicos de la espirulina en los distintos tratamientos ejecutados

Concentración		LUX					
		5000			10000		
		Temperatura			Temperatura		
		25°C	30°C	35°C	25°C	30°C	35°C
0 horas	0.5X	8.9±0.3	8.9±0.3	8.8±0.3	8.8±0.1	8.8±0.1	8.7±0.2
	1X	8.9±0.2	8.8±0.1	9.0±0.1	8.9±0.3	8.9±0.3	8.9±0.3
	2X	9.0±0.4	8.9±0.4	8.9±0.4	8.7±0.3	8.6±0.2	8.5±0.2
72 horas	0.5X	10.8±0.1	10.8±0.1	11.1±0.1	10.7±0.2	10.8±0.6	10.9±0.5
	1X	10.3±0.2	10.3±0.2	10.4±0.1	10.4±0.2	10.3±0.2	10.3±0.5
	2X	10.0±0.1	10.1±0.1	10.1±0.1	10.2±0.4	10.3±0.1	10.0±0.3

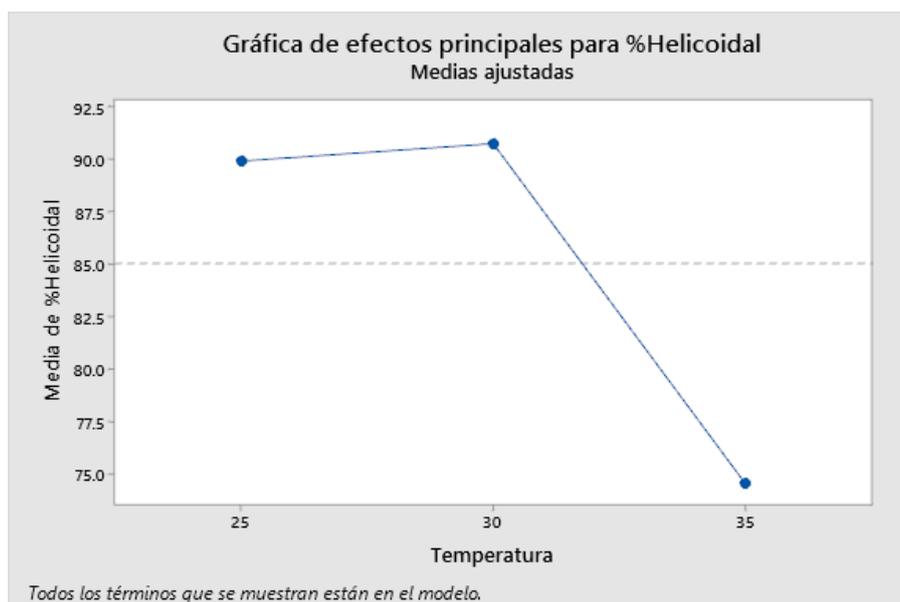
Durante el desarrollo del trabajo de investigación se hizo monitoreo de parámetros como temperatura, lux, y pH y precisamente los datos obtenidos se muestran en la Tabla 6. Según Arora et al. (2019) los valores pH del medio de cultivo de la espirulina óptimos para el crecimiento y obtención de antioxidantes deberían situarse entre 8,5 a 10,5

idealmente, sin embargo como se muestra en la Tabla 6, especialmente en el tratamiento de concentración 0.5X se observa valores de pH más altos a las 72 horas, según Vonshak (1997) debido a que la concentración de nutrientes el medio de cultivo es menor, el CO₂ disponible del medio es utilizado durante la fotosíntesis con mayor rapidez, dando como resultado un incremento de la concentración de oxígeno y una reducción en la concentración de dióxido de carbono, dando lugar a un ambiente alcalino, en contraste a las concentraciones 1X y 2X donde se puede observar un pH menor a las 72 horas. Es necesario mencionar que este trabajo de investigación se realizó por lotes y a escala laboratorio, mientras que normalmente en cultivos continuos tipo raceway se hace una reducción de pH del medio mediante la adición de CO₂ gaseoso para mantener los niveles dentro del rango óptimo de crecimiento durante períodos más largos, además, valores de pH por encima de 9.5 son necesarios para evitar potencial contaminación por otras algas (Vonshak, 1997).

4.2. Efecto de la temperatura en la morfología de *A. platensis*

Figura 17

Efecto de la temperatura en la morfología de Arthrospira platensis



La figura muestra una disminución de tricomas helicoidales a 35°C

Tabla 7

Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología de espirulina (énfasis temperatura)

Fuente	GL	SC		Valor F	Valor p
		Ajust.	MC Ajust.		
Modelo	17	3702.76	217.81	7.45	0.000
Lineal	5	3203.13	640.63	21.91	0.000

Temperatura	2	2990.84	1495.42	51.15	0.000
Interacciones de 2 términos	8	457.72	57.22	1.96	0.081
Concentración*Temperatura	4	399.37	99.84	3.42	0.018
Lux*Temperatura	2	30.03	15.01	0.51	0.603
Interacciones de 3 términos	4	41.91	10.48	0.36	0.836
Concentración*Lux*Temperatura	4	41.91	10.48	0.36	0.836

Del análisis estadístico que se muestra en la Tabla 7, se observa que el valor p de la temperatura es menor a 0.05; es así que este factor es estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 95%.

Estos resultados tienen cierta vinculación con las observaciones de Mühling et al. (2003), quien reportó un cambio en la orientación del hélice en tres cepas cuando estas fueron sometidas a temperaturas mayores a 30°C entre el rango de 32°C-34°C, dicho efecto fue reversible si la temperatura era reducida a 30°C, sin embargo, no se reportó un cambio morfológico de helicoidal a lineal como se pudo observar en el presente trabajo de investigación, esto se debería al uso de otras variedades y especies del género *Arthrospira*, si bien en el presente trabajo se hizo uso de la variedad Orovilca, en el trabajo mencionado anteriormente se hizo uso de 34 muestras distintas lo que ayudaría a entender una posible relación entre el cambio morfológico y la variedad del género *Arthrospira*.

La Figura 17 no ha sido objeto de discusión previa en relación a la constatación de un aumento significativo en el porcentaje de conversión morfológica de la estructura helicoidal en la variedad Orovilca, específicamente en condiciones de temperaturas superiores a 30°C este cambio estaría relacionado con la expresión de las proteínas 21.9 y 20.3 kDa como lo menciona Ping & Ying, (2005), la expresión de dichas proteínas se inactivan mediante el cambio de helicoidal a lineal, mientras que las proteínas 52 y 31.8 kDa se activan, no obstante el proceso mediante el cual este mecanismo opera aún no se comprende completamente y demanda una investigación más exhaustiva.

Otra posibilidad se daría por el peptidoglucano presente en la pared celular de los tricomas, pues el peptidoglucano determina la forma de los procariontes y en las bacterias grampositivas y cianobacterias consta de muchas capas individuales, si en la etapa de crecimiento estas capas de peptidoglucano sufren algún estrés por temperatura estas seran añadidas a la pared celular, en caso el peptidoglucano sea suficiente para sustituir a capas anteriores de la célula y el número de células sea suficiente ocurría el cambio morfológico (Mühling, Harris, Belay, & Whitton, 2003), esta hipótesis se ve respaldada

por las observaciones de Zhao et al. (2022), pues reporta que los tricomas lineales tienen mayor síntesis de peptidoglucanos frente a los helicoidales donde es más regulado, así mismo, reportó que en tricomas helicoidales existe una mejor regulación en la expresión de las proteínas fotosintéticas y del metabolismo de nitrógeno, mientras que en los tricomas lineales una actividad fotosintética reducida.

Toda la información proporcionada anteriormente podría ayudar a entender mejor el proceso de cambio morfológico ocurrido en este trabajo de investigación, pues parece haber una relación entre la temperatura y el peptidoglucano, lo cual ocasionaría el cambio morfológico. Este cambio de morfología es un proceso gradual, que inicia con la alargamiento de la estructura, lo que resulta en una reducción inicial de la distancia entre hélices, posteriormente, la forma se vuelve menos definida, tal como se ilustra en la Figura 18A. Como consecuencia, los helicoides comienzan a desaparecer de manera gradual, como se muestra en la Figura 18B, hasta llegar finalmente a una configuración recta, como se representa en la Figura 18C, una vez alcanzada la forma lineal esta tiene una heredabilidad estable, dando lugar posteriormente a más tricomas rectos.

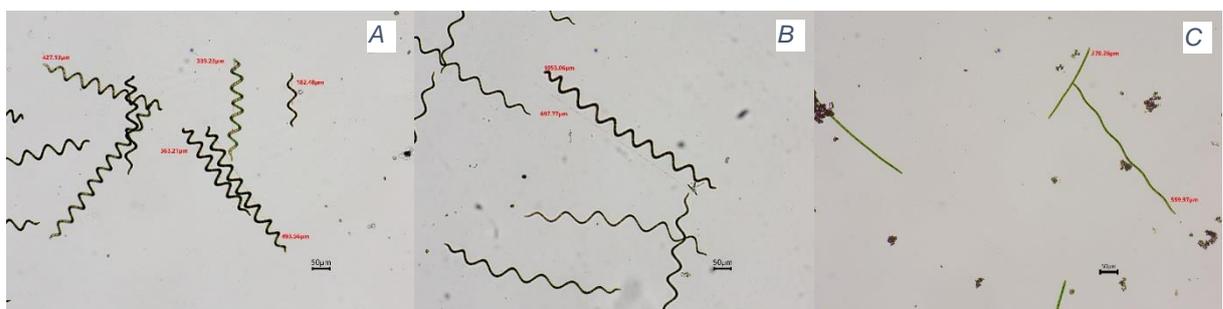
Cabe resaltar que dicho cambio morfológico dependería no solo de la temperatura, pues Van Eykelenburg (1979), demostró en *A. platensis*, aislada del lago Nakuru en África, mostraban una morfología más apretada y corta cuando la temperatura se aumentaba de 13,5 a 40°C. Por otro lado Sritana (2001), observó una morfología más suelta a mayor temperatura, cuyos resultados se aproximan al presente trabajo, como se muestra en la Figura 20 B y 21 E donde el distanciamiento entre hélices es mayor (89.37 µm.). Otros autores como Huarachi-Olivera et al. (2015) y Escriba & Huamaní (2021) adjudican dicho cambio a la adaptabilidad de la cepa al medio donde este se cultiva, pero claro dicha adaptabilidad estaría relacionado con factores como temperatura, concentración y lux, siendo esta adaptabilidad un resultado de los distintos factores a los que es expuesto la cianobacteria, lo cual determinaría finalmente el porcentaje de tricomas lineales y helicoidales. Dichas variaciones en resultados dependería no solo de los factores ambientales, si no también de la cepa, pues según Scheldeman et al. (1999) se tiene registro de 51 cepas aisladas provenientes de diferentes partes del mundo, las cuales estarían sujetos a específicos factores ambientales para una variación morfológica por lo que es necesario llevar a cabo investigaciones adicionales con diferentes cepas con el fin de obtener una comprensión más clara del proceso.

De la Figura 17 se puede observar que temperaturas entre 25 a 30°C favorecen una morfología relativamente constante, lo que indicaría una relación entre el rango óptimo de crecimiento y la morfología, en efecto Arora Soni et al. (2019) concluyó que temperaturas en el rango de 25 a 30°C promueven el rendimiento ideal en *Arthrospira*

platensis, no obstante Torzillo, et al. (1991) determinaron que una temperatura de 35°C era superior a 25°C en términos de crecimiento, hasta un 23%. Estas discrepancias en resultados se debería posiblemente a la cepa utilizada en cada trabajo de investigación, se hace mencion de lo anterior ya que en el presente trabajo se utilizó la cepa Orovilca y como se muestra en la Figura 19, para poder conservar un porcentaje morfológico de 94.26 % de tricomas helicoidales se debe cultivar a una temperatura de 30°C, 1x de concentración y 5000 Lux, aunque dichos parámetros son ideales para una buena morfología helicoidal y deben ser tomados en cuenta por futuros cultivadores de espirulina, es necesario determinar en futuros trabajos el mejor rango de temperatura que favorezca tanto el crecimiento como la morfología en la cepa Orovilca. Por otro lado, surge la siguiente disyuntiva, si la espirulina tiende a sufrir un cambio morfológico de helicoidal a lineal debido al estrés de temperaturas mayores a 30°C, variedades como la Orovilca que provienen de oasis ubicados en el desierto de Ica, donde la temperatura durante verano llega a más de 30°C, indicaría que existe un proceso de reversibilidad de helicoidal a lineal, pues al ser un microorganismo de aproximadamente 3465 millones de años aún mantiene su forma característica en su hábitat natural, con lo que respecta a esto Zhi Ping & Ying, (2005) plantearon que dicha reversibilidad ocurriría espontáneamente a temperaturas de 20°C con una frecuencia de 0,00001, no obstante, esta frecuencia no resultaría plausible para mantener la forma helicoidal durante períodos prolongados de tiempo hasta el día de hoy, en consecuencia se requiere una mayor investigación en esta área para comprender mejor el mecanismo de reversibilidad.

Figura 18

Proceso de cambio morfológico en *Arthrospira Platensis* en el tratamiento de 35°C



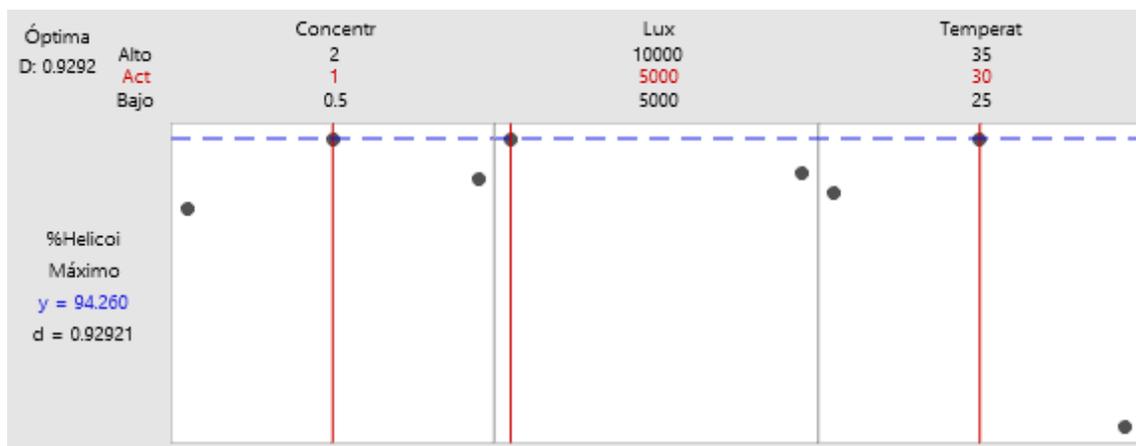
A: Tratamiento con 35°C, 5000 Lux y 2X

B: Tratamiento con 35°C, 5000 Lux y 1X

C: Tratamiento con 35°C, 5000 Lux y 0.5X

Figura 19

Parámetros de optimización para la morfología helicoidal de A.platensis



El análisis estadístico muestra que una temperatura de 30°C, concentración de 1x y Lux de 5000 son favorables para una morfología helicoidal

4.3. Efecto de la concentración y la temperatura en la morfología de A. platensis

Tabla 8

Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología de espirulina (énfasis en temperatura y concentración)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	17	3702.76	217.81	7.45	0.000
Lineal	5	3203.13	640.63	21.91	0.000
Concentración	2	175.89	87.94	3.01	0.062
Interacciones de 2 términos	8	457.72	57.22	1.96	0.081
Concentración*Temperatura	4	399.37	99.84	3.42	0.018
Interacciones de 3 términos	4	41.91	10.48	0.36	0.836
Concentración*Lux*Temperatura	4	41.91	10.48	0.36	0.836

Del análisis estadístico que se muestra en la Tabla 8, se observa que el valor p de la temperatura y concentración es menor a 0.05; es así que este factor es estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 95%.

De la Figura 20 se puede observar que a temperaturas mayores de 30°C una concentración mayor de nutrientes tiene mejor estabilidad morfológica, este fenómeno tendría la respuesta en la depleción de glicina en el peptidoglucano como observaron Zhou & Cegelski (2012) en el *Staphylococcus aureus*, dicha depleción generaba mayor engrosamiento del septum en la fase estacionaria, donde los niveles de glicina eran bajos, lo que indicaría que mayores concentraciones actuarían como stock de nutrientes para que la depleción de glicina en el peptidoglucano no ocurra, y así prevenir un posible cambio morfológico inducido por temperaturas altas, sin embargo como se puede apreciar en la Figura 20 un efecto contrario se esperaría para la concentración 0.5X, donde existe menor densidad de compuestos inorgánicos, esta divergencia significaría que tanto concentraciones bajas como altas serían adecuadas para una homeostasis nutricional que favorece una buena síntesis de compuestos precursores de glicina en el peptidoglucano, así evitando parcialmente el cambio morfológico, en contraste a la concentración 1X. Por otro lado, Sritana (2001) identificó que a mayor concentración de nutrientes los tricomas mostraban mayor elongación entre hélices y un proceso opuesto a menor concentración de nutrientes, sin embargo en el presente trabajo evidenció un efecto contrario, se pudo observar configuraciones apretadas en niveles altos de nutrientes Figura 21D con un promedio de distanciamiento entre hélices de 54.7µm para la concentración 2X, mientras que en concentraciones inferiores el distanciamiento entre hélice es mayor, como se muestra en la Figura 21 E Y F, con valores promedios de 89.37 µm para la concentración 1X y 79.74 µm para la concentración 0.5X, lo que indicaría una correlación entre los nutrientes y la distancia entre hélices como también lo menciona Tadesse & Demeke (2014). Esto significaría que dicho proceso no solo depende de la concentración del medio sino también de la variedad de la cepa, si bien Sritana (2001) utiliza la especie *platensis*, no especifica la cepa utilizada, mientras que en el presente trabajo se usó la variedad Orovilca.

Figura 20

Efecto de la concentración y temperatura en la morfología de espirulina

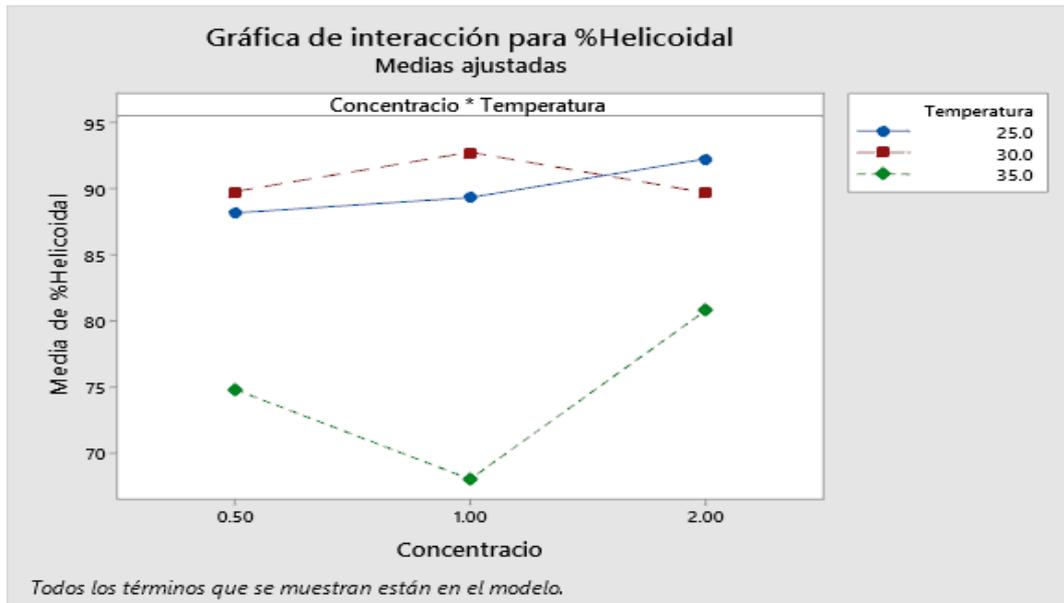
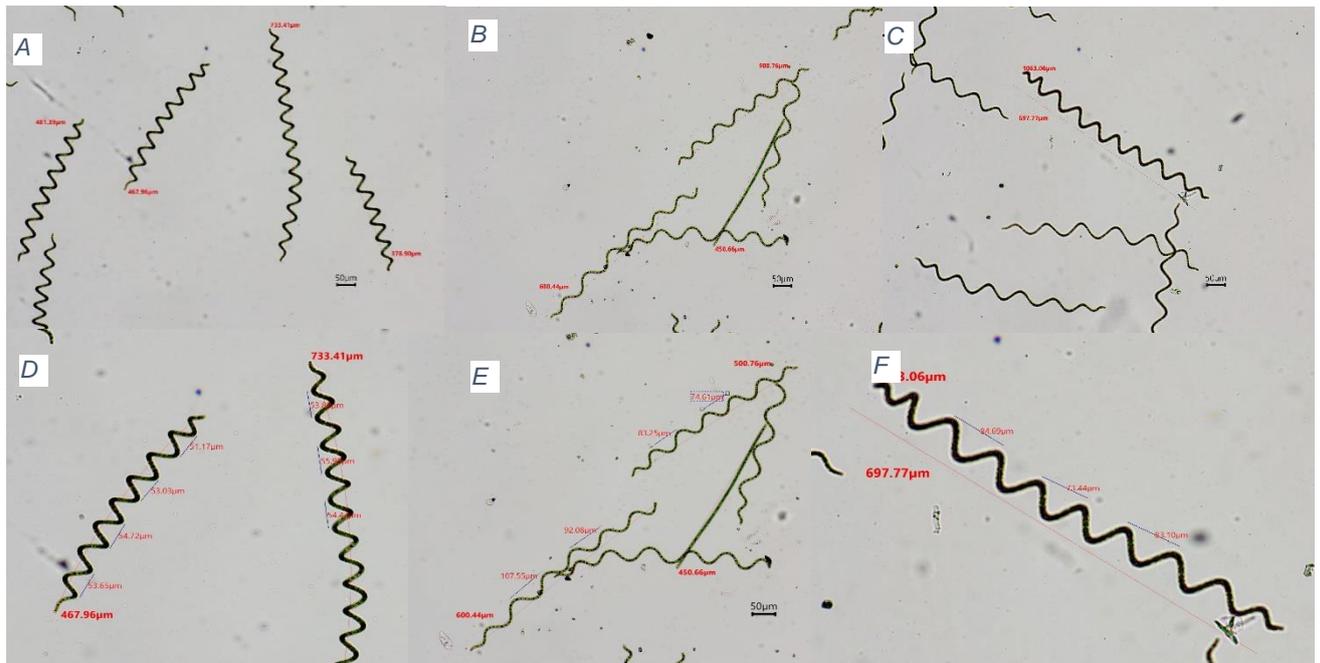


Figura 21

Efecto de la concentración y temperatura (35°C) en la morfología de *A.platensis*



A Y D: Tratamiento con 35°C, 5000 Lux y 2X

B Y E: Tratamiento con 35°C, 5000 Lux y 1X

C Y F: Tratamiento con 35°C, 5000 Lux y 0.5X

4.4. Efecto de la intensidad de luz en la morfología de *A.platensis*

Tabla 9

Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología de espirulina (énfasis en Lux)

Fuente	GL	SC	MC	Valor F	Valor p
		Ajust.	Ajust.		
Modelo	17	3702.76	217.81	7.45	0.000
Lineal	5	3203.13	640.63	21.91	0.000
Lux	1	36.41	36.41	1.25	0.272
Interacciones de 2 términos	8	457.72	57.22	1.96	0.081
Concentración*Lux	2	28.33	14.16	0.48	0.620
Lux*Temperatura	2	30.03	15.01	0.51	0.603
Interacciones de 3 términos	4	41.91	10.48	0.36	0.836
Concentración*Lux*Temperatura	4	41.91	10.48	0.36	0.836

Del análisis estadístico que se muestra en la Tabla 9, se observa que el valor p del Lux es mayor a 0.05; es así que este factor es estadísticamente no significativo con un nivel de confianza del 95%.

De la Figura 22 se puede observar que la intensidad de luz entre los valores 5000 a 10000 Lux no tiene un efecto directo en relación al cambio morfológico de helicoidal a lineal, sin embargo, se pudo observar una coloración amarillenta bajo el tratamiento de 10000 Lux como se observa en la Figura 23 A y Anexo 4, esto se debería a una fotoinhibición debido a la baja concentración de inóculo al inicio del tratamiento, dando lugar al fotoblanqueo de los tricomas, otorgando el color amarillento al medio (Carvalho, Silva, & Baptista, 2011), por el contrario, a mayor concentración celular esta ejerce un efecto de autosombreado (Vonshak, 1997), reduciendo así la intensidad de luz que recibe cada tricoma evitando el fotoblanqueo. Por otra parte, (Wu, 2005 ; Tadesse & Demeke, 2014) reportaron que niveles altos de radiaciones visibles y Lux originan que los tricomas de espirulina tomen una configuración muy espiralada, estos estudios sugieren que dicha configuración es un mecanismo de defensa para evitar la fotoinhibición y fotoblanqueo mediante el auto sombreado, al contrario niveles bajos de intensidad de luz darían lugar a tricomas más sueltos con el objetivo de poder recibir más luz, sin embargo, Sritana (2001) observó que niveles de Lux de 22000 dotaban al tricoma de hélices más sueltos, igualmente Huarachi-Olivera et al (2015) reportaron que valores de 11,700 lux originaron el cambio morfológico de helicoidal a lineal en un lapso de 18 días de cultivo, no obstante, en el presente trabajo no se observó efecto alguno en el distanciamiento de helices con respecto a la intensidad de luz en ambos tratamientos, como se puede observar en las Figuras 23 A y 23 B, pero cabe resaltar que este trabajo de investigación se hizo por lotes y trabajos posteriores en sistemas

semi continuos por largos períodos y rangos más amplios de lux serían necesarios para estudiar dicho factor a fondo.

Los resultados derivados de esta investigación poseen una importancia significativa para los productores de espirulina. Los parámetros identificados en la Figura 19, a saber, una temperatura de 30°C, una intensidad lumínica de 5000 lux y una concentración de nutrientes de 1X, revisten una utilidad considerable y deben ser cuidadosamente considerados para su reproducción en sistemas de estanques raceway. Esto contribuirá a evitar la formación de morfologías lineales, cuyos efectos negativos en la eficiencia del proceso de filtrado y en el contenido de nutrientes se han destacado en investigaciones previas, tal como han señalado Zhu et al. (2020) y Cuellar-Bermudez et al. (2019).

Figura 22

Efecto de la intensidad de luz en la morfología de A. platensis

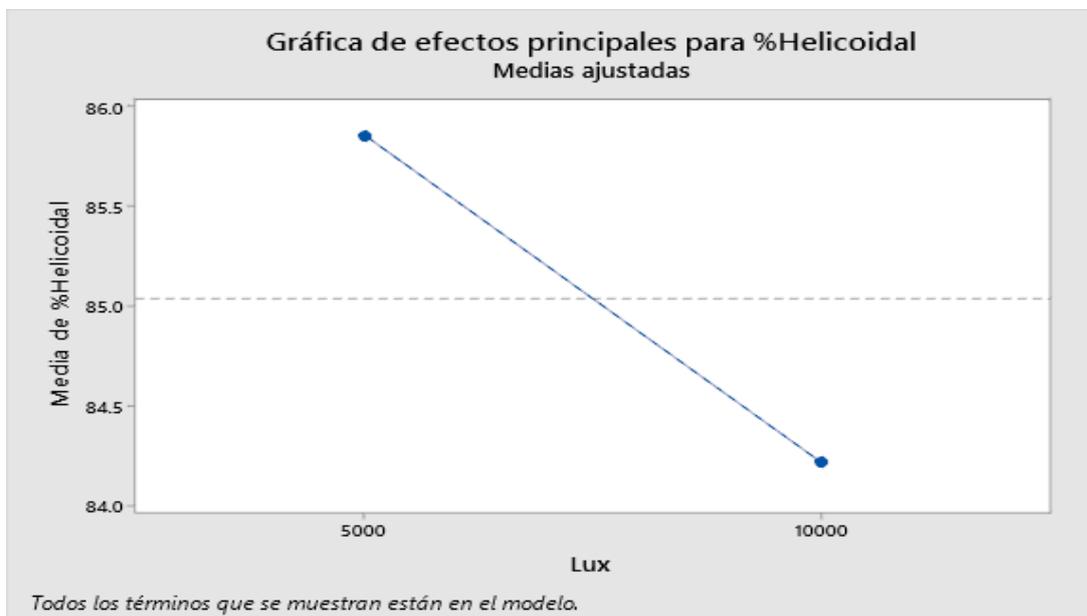
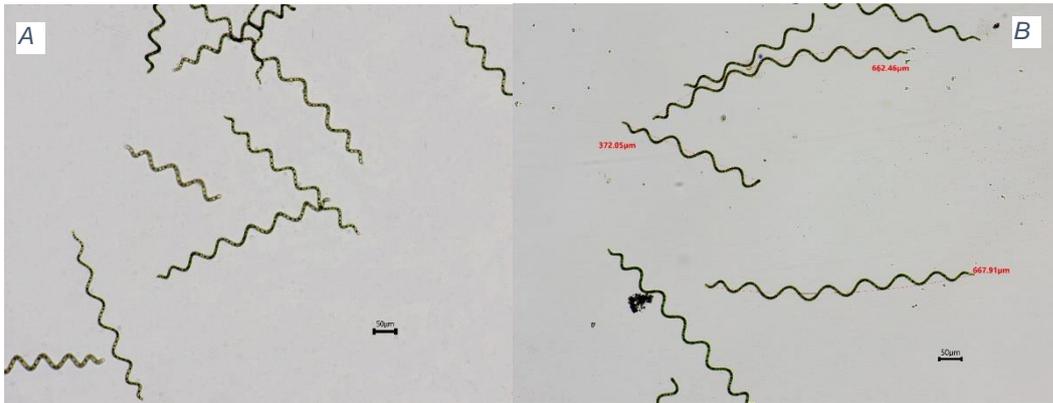


Figura 23

Tricomas de A.platensis bajo los tratamiento 10000 , 5000 Lux y concentracion 1X en 30°C



A: Tratamiento con 30°C, 10000 Lux y 1X

B: Tratamiento con 30°C, 5000 Lux y 1X

V. CONCLUSIONES

- La espirulina (*A.platensis*) no mostró un cambio morfológico significativo de helicoidal a lineal en los tratamientos de 5000 y 10000 Lux, sin embargo este último conllevó a una fotoinhibición en los tricomas.
- Las concentraciones de nutrientes ejercen un efecto significativo en la morfología de espirulina, de las cuales las concentraciones 0.5X y 2X mostraron mejor estabilidad morfológica frente al estrés que produce la temperatura de 35°C, con valores de 74,79% y 80,75% de tricomas helicoidales, así mismo la concentración 2X mostró un menor distanciamiento de hélices en los tricomas, con un valor de 54,7 µm.
- La temperatura ejerce un efecto significativo en la morfología de espirulina, siendo la temperatura de 35°C la que ejerce una influencia más significativa en el cambio morfológico de helicoidal a lineal en la espirulina, con un valor de 74,52% de tricomas helicoidales para este tratamiento.
- Las variables de proceso adecuadas para el mejoramiento morfológico de espirulina (*A.platensis*) son: 30°C, 5000 lux y 1X de concentración dando como resultado 94,20% de tricomas helicoidales .

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos de investigación en sistemas semicontinuos en rangos de Lux mayores a 10000 por periodos de tiempo más largos.
- Realizar trabajos de investigación con diferentes cepas de la especie *A.platensis* para determinar el posible vinculo entre la variedad y el cambio morfológico.
- Realizar trabajos de investigación en la reversibilidad morfológica de lineal a helicoidal en *A.platensis*.
- Realizar trabajos de investigación a nivel molecular para comprender mejor el proceso de cambio morfológico a altas temperaturas.
- Se recomienda cultivar espirulina (*A.platensis*) bajo los siguientes parámetros: 30°C, 5000 lux y 1X de concentración a fin de lograr mantener una morfología helicoidal de 94,20%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acién, F., Molina, E., Reis, A., & Torzillo, G. (2017). Photobioreactors for the production of microalgae. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*, 1-44. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00001-7>
- Arora Soni, R., Sushakar, K., & Rana, R. (2019). Comparative study on the growth performance of *Spirulina platensis* on modifying culture media. *Energy Reports*, 5, 327-336. doi:<https://doi.org/10.1016/j.egy.2019.02.009>
- Banco Mundial. (2020). Obtenido de <https://datos.bancomundial.org/indicador/SN.ITK.DEFC.ZS?locations=PE>
- Barbosa, M. J. (2003). *Microalgal photobioreactors: Scale-up and optimisation*. Wageningen: Wageningen University.
- Becker, E. (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Benemann, J. (2000). Hydrogen production by microalgae. *Journal of applied phycology*, 291-300.
- Bionutrec. (Junio de 2020). *Cultiva tu propia Spirulina*. Obtenido de <https://www.bionutrec.com/wp-content/uploads/2020/07/Manual-Cultivo-Alga-Espirulina.pdf>
- Carvalho, A., Silva, S., & Baptista, J. (2011). Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Microbiol Biotechnol*, 1275-1288.
- Castro, M. (27 de Mayo de 2020). ALGA ESPIRULINA. (C. A. Ica, Entrevistador)
- Chepe Delgado, V., & Barreto Gonzáles, M. (2021). *Cultivo de Spirulina platensis en diferentes niveles de pH y rendimiento de proteínas*. Lambayeque.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25, 294-306. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Chisti, Y. (2013). Raceways-sabed production of algal crude oil. *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*, 113-146.
- Ciferri, O. (1983). *Spirulina, the Edible microorganism*. *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, 551-578.
- Costa, J., & Morais, M. (2014). An open pond system for microalgal cultivation. *Biofuels from algae*, 1-22. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59558-4.00001-2>

- Cuellar-Bermudez, S., Kilimtzdi, E., Devaere, J., Goiris, K., Gonzales-Fernandez, C., & Wattiez, R. (2019). Harvesting of *Arthrospira platensis* with helicoidal and straight trichomes using filtration and centrifugation. *Separation Science and Technology*, 9.
- Diaz, M. T. (2018). *La Espirulina una Oportunidad Como alimento Funcional*. Bogota, Colombia: Universidad de Bogota.
- Escriba, C., & Huamaní, G. (2021). *Productividad de biomasa de Arthrospira platensis "espirulina", de las cepas Orovilca y Paracas en biorreactores tipo raceways*. Ica.
- Gallego, J. (2012). *Cómo cura la espirulina*. Barcelona, España: Integral.
- Gomont, M. (1892). Monographie des oscillariées. *Annales des Sciences Naturelles, Botinaqué*, 7(16).
- Gonçalves, D., Maciel, G., Arruda, I. d., Cristina, A., Vieira, F., Guiherme, I., & Isidoro, C. (30 de Diciembre de 2022). Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 5, 1-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100134>
- Gutierrez Vergaray, K. A., & Tello Echevarría, L. A. (2018). *Evaluación de la incorporación de espirulina sobre las propiedades nutricionales y sensoriales de una galleta a base de harina de trigo y kiwicha*. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Lima. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10757/624916>
- Hu, H. J. (2003). *Spirulina Biology and Biotechnology Principles*. Beijing, China: Science Press.
- Huarachi-Olivera, R., Yapo-Pari, Ú., Dueñas-Gonza, A., Condori-Huamanga, J., Pacheco-Salazar, D., & Soto-Flores, J. (2015). Adaptabilidad de *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyta) en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(1). doi:<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50679>
- Jerez, C., Navarro, I., Malpartida, R., Rico, J., Masojidek, R., Abdala, & Figueroa, F. (2014). Hydrodynamics and photosynthesis performance of *Chlorella fusca* (Chlorophyta) grown in a thin-layer cascade (TLC) system. *Aquatic Biology*, 22, 111-122. doi:10.3354/ab00603
- Jiangyu, Z., & Minato, W. (2020). Harvesting of *Arthrospira platensis* by flocculation with phytic acid from rice bran. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*.
- Jourdan, J.-P. (2006). *Grow your own spirulina*. Ginebra, France: Antenna Technologie.

- Kebede, E. (1997). Response of spirulina platensis (= Arthrospira fusiformis) from Lake Chitu, to salinity stress from sodium salts,". *Journal of Applied Phycology*, 551-558.
- Kropshofer, K. (09 de Abril de 2019). *foodunfolded*. Obtenido de foodunfolded: <https://www.foodunfolded.com/es/articulo/espirlina-como-se-cultiva#:~:text=El%20crecimiento%20depende%20de%20la,sol%20o%20con%20aire%20caliente>.
- Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Pal Singh, G. (2011). GROWTH AND BIOPIGMENT ACCUMULATION OF CYANOBACTERIUM SPIRULINA PLATENSIS AT DIFFERENT LIGHT INTESITIES AND TEMPERATURE. *Brazilian Journal of Microbiology*(42), 1128-1135. doi:10.1590/S1517-838220110003000034
- Mostafa Mahmound, S. I., Yassin Mahmoud, E.-A., & Piercey-Normore, M. (2016). Role of Ph on antioxidants production by Spirulina(Arthrospira) platensis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 298-304.
- Mota, M., Teixeira, J. A., & Yelshin, A. (2001). Influence of cell-shaphe on the cake resistance in dead-end and cross-flow filtrations. *Separation Purification Technology*, 137-144.
- Mühling, M., Harris, N., Belay, A., & Whitton, B. A. (2003). REVERSAL OF HELIX ORIENTATION IN THE CYANOBACTERIUM ARTHROSPIRA. *Journal of phycology*, 360-367.
- Ning, D., Chao, L., Tao, W., Meijin, G., Ali, M., & Siliang, Z. (2021). Evaluation of an enclosed air-lift photobioreactor for biomass and lipid biosynthesis of microalgal cells grown under fluid induced shear stress. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 35(1), 139-149. doi:<https://doi.org/10.1080/13102818.2020.1856717>
- Ñaupas, H., Valvidia, M. R., Palacios, J. J., & Romero, H. E. (2018). *Metodología de la investigación cuantitativa-cualitativa y redacción de la tesis* (Quinta ed.). Bogota, Colombia: Ediciones de la U.
- OLIVEIRA, M. D., ROBBS, P., & LEITE, S. (1999). Growth and chemical composition of Spirulina maxima and Spirulina platensis biomass at different temperatures. *Aquaculture International* 7, 261-275.
- Organización Panamericana de la Salud. (2022). Obtenido de https://www3.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=4111:nutricion&Itemid=1062
- Piccolo, A. (2011). *Spirulina a livelihood and business venture*. European Union, 45.

- Pulz, O. (2001). Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology*, 287-293.
- Quevedo, H., & Perez, B. (2008). *Estadística para Ingeniería y Ciencias*. Mexico,D.F., Mexico: Grupo Editorial Patria.
- Ragusta, I., Nerina Nardone, G., Zanatta, S., Bertin, W., & Amadio, E. (14 de Enero de 2021). Spirulina for Skin Care: A Bright Blue Future. *Cosmetics*, 8(7), 1-20. doi:<https://doi.org/10.3390/cosmetics>
- Rahman, M., Aziz, M., Al-khulaidi, R. A., Sakib, N., & Maidul, I. (2017). Biodiesel production from microalgae *Spirulina maxima* by two step process: Optimization of process variable. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(2), 140-147. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jrras.2017.02.004>
- Razzar, S., Hossain, M., Lucky, R., Bassi, A., & Lasa, H. (2013). Integrated CO2 capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 622-653. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.05.063>
- Richmond, A. (1988). Spirulina . *Micro-algal Biotechnology*, 85-121.
- Sánchez, M., Bernal-Castillo, J., Rozo, C., & Rodríguez, I. (2003). SPIRULINA (ARTHROSPIRA): AN EDIBLE MICROORGANISM: A REVIEW. *UNIVERSITAS SCIENTIARUM*, 8, 7-24.
- Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Mühling, M., Whitton, B., . . . Wilmotte, A. (1999). Arthrospira (Spirulina) strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. *Microbiology Letters*(172), 213-222.
- Schwarz, B. (2007). *Spirulina la microalga milagrosa para su bienestar*. Quito: Cámara Ecuatoriana del Libro - Núcleo de Pichincha.
- Spirulina, J. (2018). *Just spirulina*. Obtenido de Just spirulina: <https://www.justspirulina.org/spirulina-growing-establishing-site#:~:text=Agitation%20%2D%20Spirulina%20is%20a%20photosynthesizing,each%20the%20top%20will%20die>.
- Sritana, T. (2001). *Factors affecting coiling and uncoiling of Spirulina platensis C1*. Thonburi.

- Tadesse, O., & Demeke, K. (2014). Morphological variability of *Arthrospira* (*Spirulina*) *furiformis* (Cyanophyta) in relation to environmental variables in the tropical soda lake Chitu, Ethiopia. *Hydrobiologia*. doi:10.1007/s10750-014-1912-7
- Tamburic, B., Zemichael, F., Crudge, P., Maitland, G. C., & Hellgardt, K. (2011). Design of a novel plat-plate photobioreactor system for green algal hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(11), 6578-6591. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.02.091
- Torzillo, G., Sacchi, A., & Materassi, R. (1991). Temperature as an Important Factor Affecting Productivity and Night Biomass Loss in *Spirulina platensis* Grown outdoors in Tubular Photobioreactors. *Bioresource Technology*, 38, 95-100. doi:https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90137-9
- Tsang, Y. F. (2017). *Photobioreactors: Advancements, Applications and Research*. New York: Nova science publishers.
- Van Eykelenburg, C. (1979). The ultrastructure of *Spirulina platensis* in relation to temperature and light intensity. *Antonie van Leeuwenhoek*, 369-390.
- Van Eykelenburg, C., & Fuchs, A. (1980). Rapid reversible macromorphological changes in *Spirulina platensis*. *Naturwissenschaften*, 200-201.
- Vanegas, J., & Hernández-Benítez, R. E. (2018). *POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE MIROALGAS EN ZONAS ÁRIDAS*. Bogota, Colombia: SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE - SENA Bogotá.
- Vara Horna, A. (2015). *7 pasos para elaborar una tesis*. Lima, Peru: MACRO.
- Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology*. Londres: Taylor & Francis.
- Whitesides, M. D., & Oliver, J. D. (1997). Resuscitation of *Vibrio vulnificus* from the Viable but Nonculturable State. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 5054-5059.
- Wu, H. (2005). Effects of Solar UV Radiation on Morphology and Photosynthesis of Filamentous Cyanobacterium *Arthrospira platensis*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. doi:10.1128/AEM.71.9.5004-5013.2005
- Zhao, Y., Menghui, S., Xu, X., Sun, J., & Zang, X. (05 de Agosto de 2022). Analysis of morphological change mechanism of linear *Arthrospira platensis* based on transcriptome results. *Gene*, 834. doi:https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146573

- Zhi Ping, W., & Ying, Z. (2005). MORPHOLOGICAL REVERSION OF SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS (CYANOPHYTA): FROM LINEAR TO HELICAL. *Phycological Society of America*, 622-628.
- Zhou, X., & Cegelski, L. (2012). Nutrient-dependent Structural Changes in S.aureus Peptidoglycan Revealed by Solid-State NMR Spectroscopy. *Biochemistry*, 51(41), 8143-8153. doi:<https://doi.org/10.1021/bi3012115>
- Zhu, B., Shen, H., Li, Y., Liu, Q., Jin, G., Han, J. Z., & Pan, K. (2020). Large-Scale cultivation of Spirulina for Biological CO₂ Mitigation in Open Raceway Ponds Using purified CO₂ from a Coal Chemical Flue Gas. *frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7(441). doi:<https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00441>

VII. ANEXOS

Anexo 1

Porcentaje de tricomas helicoidales de espirulina

Concentración	LUX					
	5000			10000		
	Temperatura			Temperatura		
	25°C	30°C	35°C	25°C	30°C	35°C
0.5X	87.36 ± 4.6	88 ± 3.7	77.2 ± 3.1	88.9 ± 7.1	91.5 ± 5.8	72.2 ± 9.2
1X	89.5 ± 1.9	94.3 ± 3.2	68.6 ± 8.5	89.1 ± 2.4	91.2 ± 5.2	67.5 ± 9.1
2X	93.8 ± 2.8	90.7 ± 1.3	83.4 ± 6.8	90.6 ± 2.4	88.6 ± 4.6	78 ± 5.0

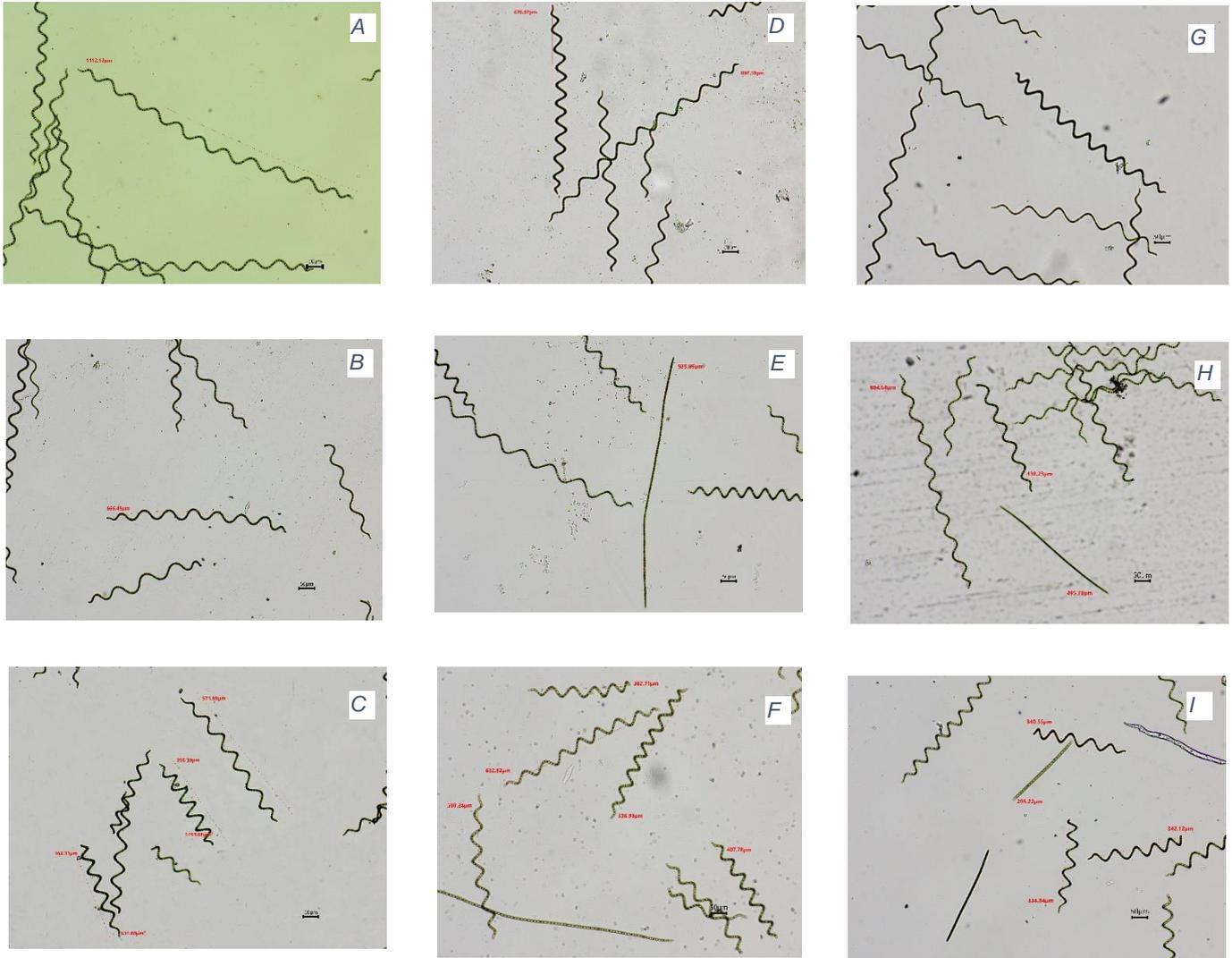
Anexo 2

Análisis de varianza (ANOVA) para la morfología

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	17	3702.76	217.81	7.45	0.000
Lineal	5	3203.13	640.63	21.91	0.000
Concentración	2	175.89	87.94	3.01	0.062
Lux	1	36.41	36.41	1.25	0.272
Temperatura	2	2990.84	1495.42	51.15	0.000
Interacciones de 2 términos	8	457.72	57.22	1.96	0.081
Concentración*Lux	2	28.33	14.16	0.48	0.620
Concentración*Temperatura	4	399.37	99.84	3.42	0.018
Lux*Temperatura	2	30.03	15.01	0.51	0.603
Interacciones de 3 términos	4	41.91	10.48	0.36	0.836
Concentración*Lux*Temperatura	4	41.91	10.48	0.36	0.836
Error	36	1052.43	29.23		
Total	53	4755.20			

Anexo 3

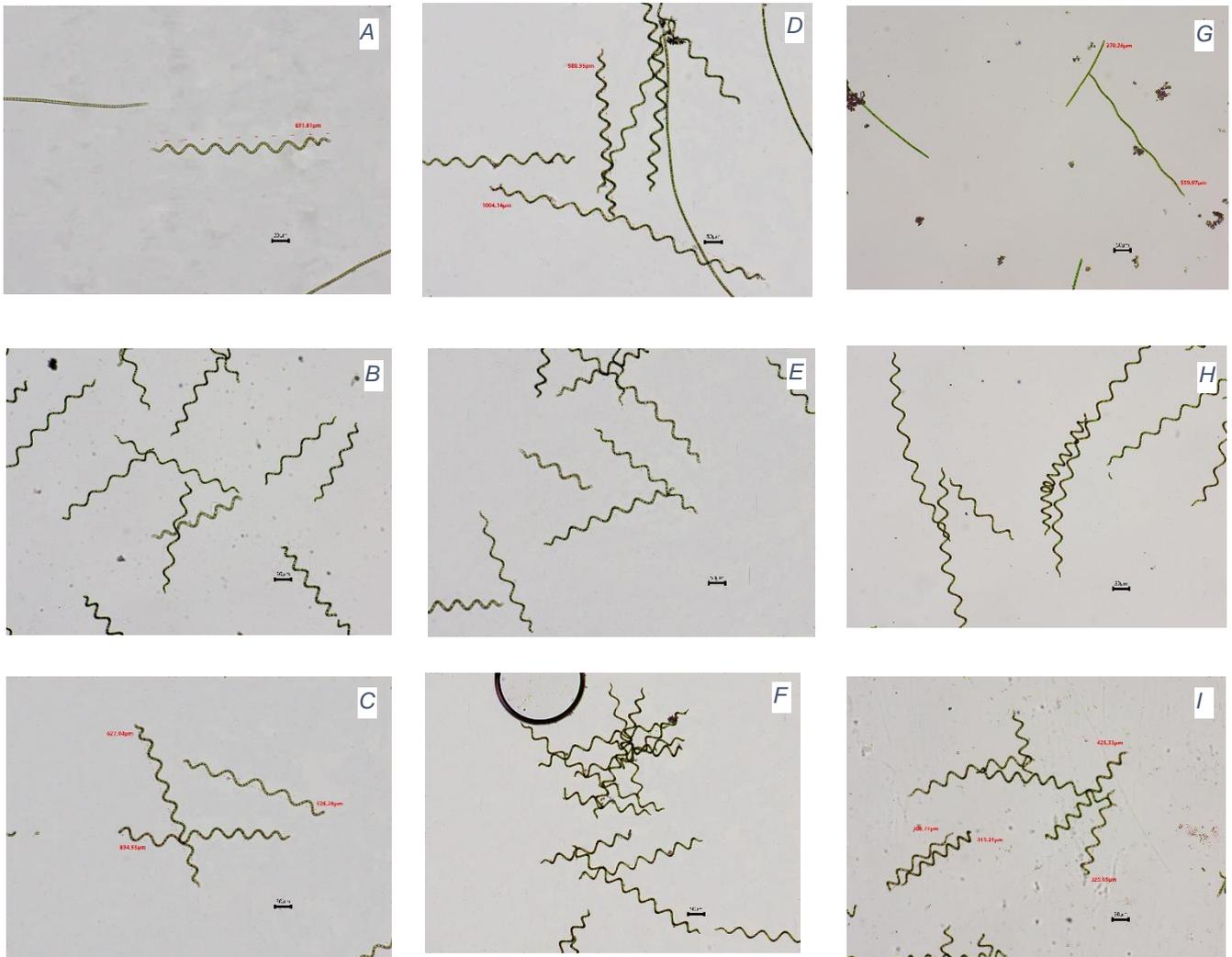
Morfología de la *Arthrospira platensis* a 100X bajo el tratamiento de 5000 LUX



Las 3 columnas representan las temperaturas (25,30 y 35°C) respectivamente, así como las filas las concentraciones (0.5,1.0, 2.0) respectivamente

Anexo 4

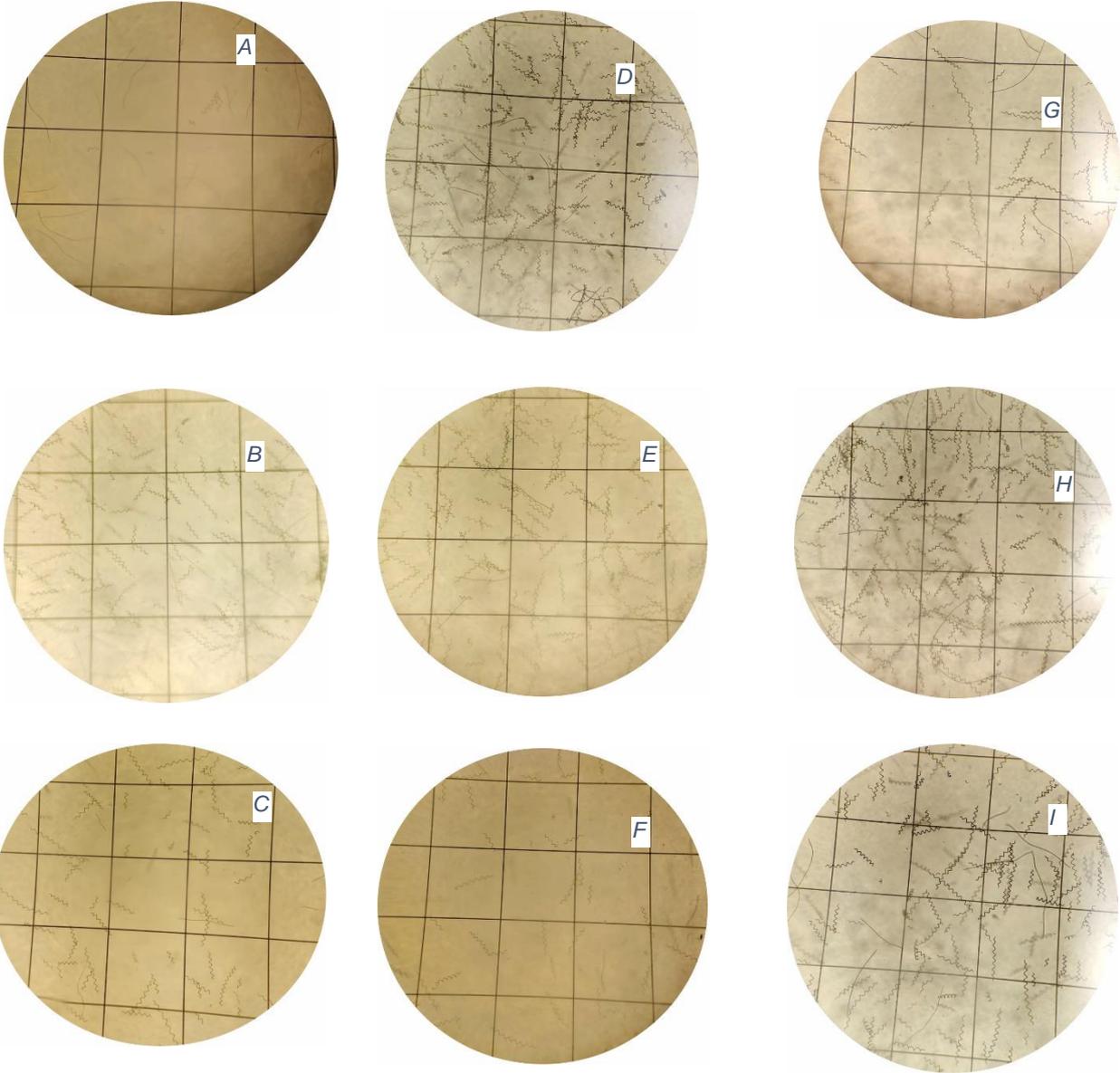
Morfología de la *Arthrospira platensis* a 100X bajo el tratamiento de 10000 LUX



Las 3 columnas representan las temperaturas (25,30 y 35°C) respectivamente, así como las filas las concentraciones (0.5,1.0, 2.0) respectivamente

Anexo 5

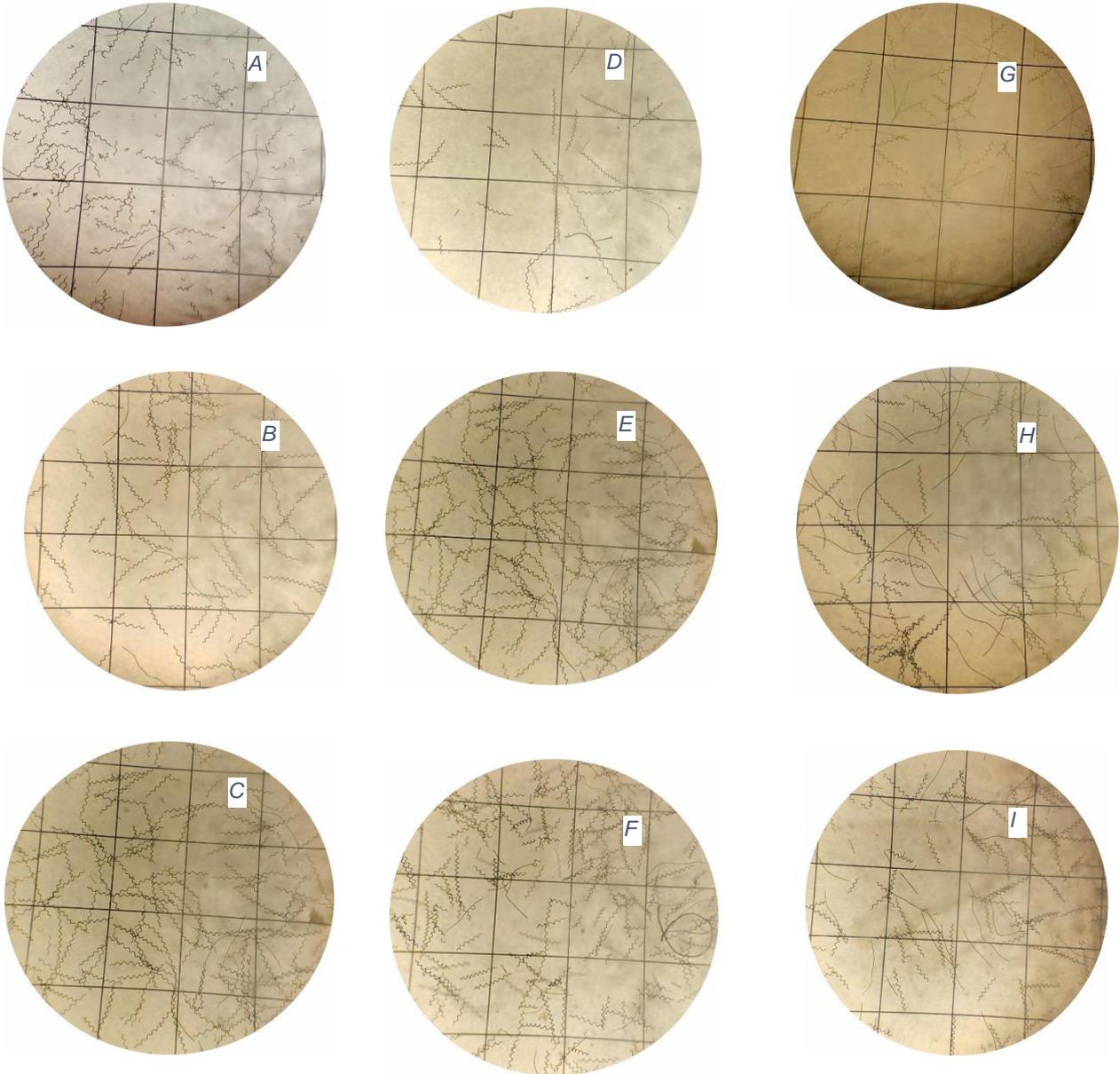
Morfología de Arthrospira platensis a 40X bajo el tratamiento de 5000 LUX



Las 3 columnas representan las temperaturas (25,30 y 35°C) respectivamente, así como las filas las concentraciones (0.5,1.0, 2.0) respectivamente

Anexo 6

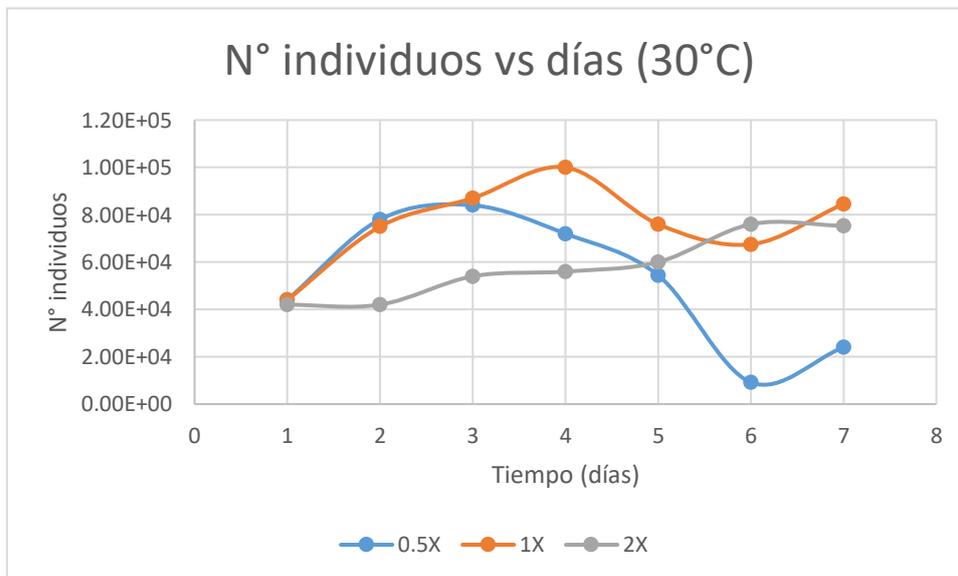
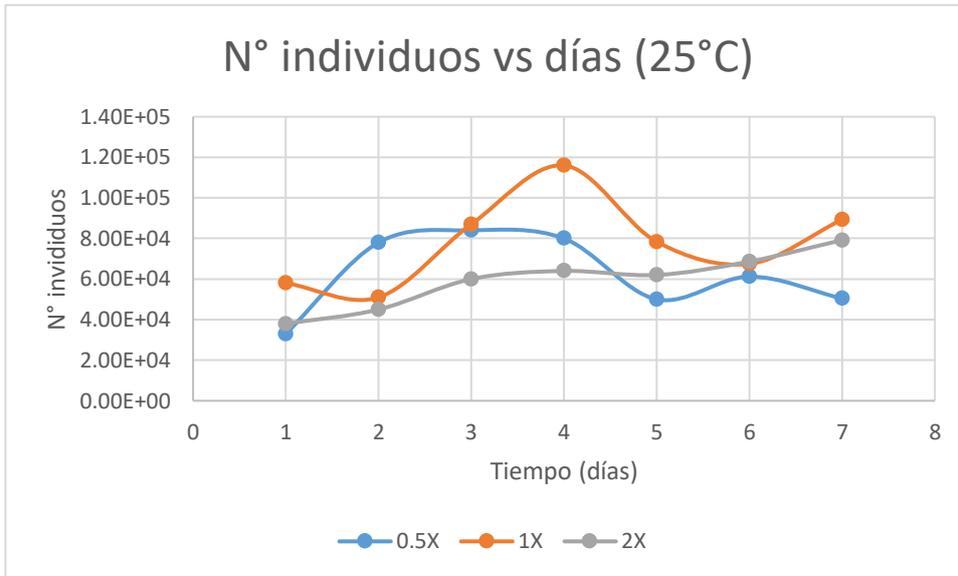
Morfología de Arthrospira platensis a 40X bajo el tratamiento de 10000 LUX

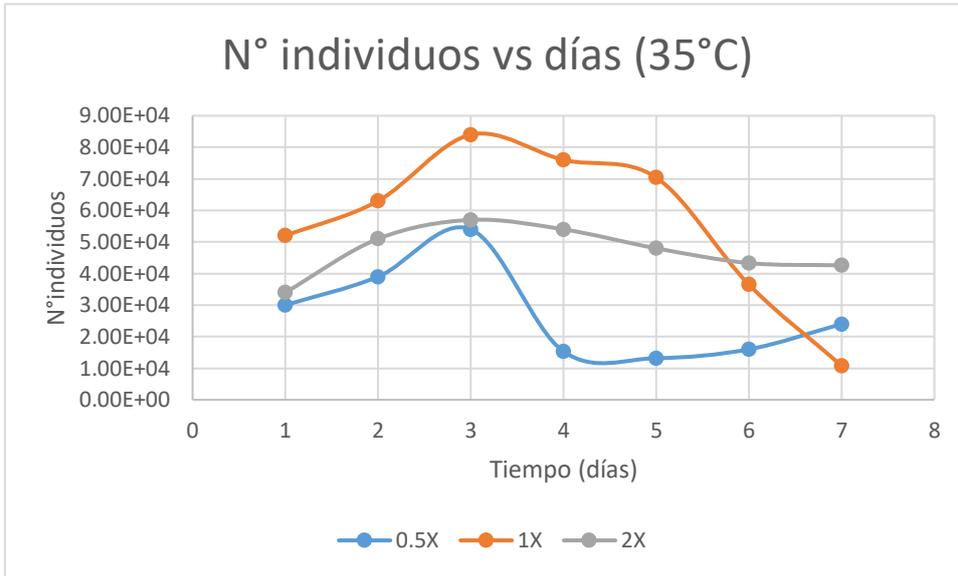


Las 3 columnas representan las temperaturas (25,30 y 35°C) respectivamente, así como las filas las concentraciones (0.5, 1.0, 2.0) respectivamente

Anexo 7

Curva de crecimiento de *Arthrospira platensis* a diferentes temperaturas





Anexo 8

Medio de cultivo Zarrouk modificado

Nutrientes	g-ml/L
NaHCO ₃	8
NaCl	4
KNO ₃	1,5
K ₂ SO ₄	0,8
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,1
MgSO ₄	0,15
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1

Anexo 9

Escalamiento de tricomas aislados de espirulina a 20mL



Anexo 10

Escalamiento de tricomas aislados de espirulina a 500 mL



Anexo 11

Escalamiento de tricomas aislados de espirulina



Anexo 12

Conteo de tricomas helicoidales de la espirulina en el microscopio.



Anexo 13

Diluciones seriales para aislamiento de tricomas



Anexo 14

Tricomas de A.platensis provenientes de la poza para ser aislados



Anexo 15

Agar Zarrouk como medio de crecimiento semisólido



Anexo 16

Cámaras de crecimiento en 5000 lux y 35°C



A: 0 horas

B: 24 horas

C: 48 horas

D: 72 horas

Anexo 17

Cámaras de crecimiento a 5000 Lux, y 30°C



A: 0 horas

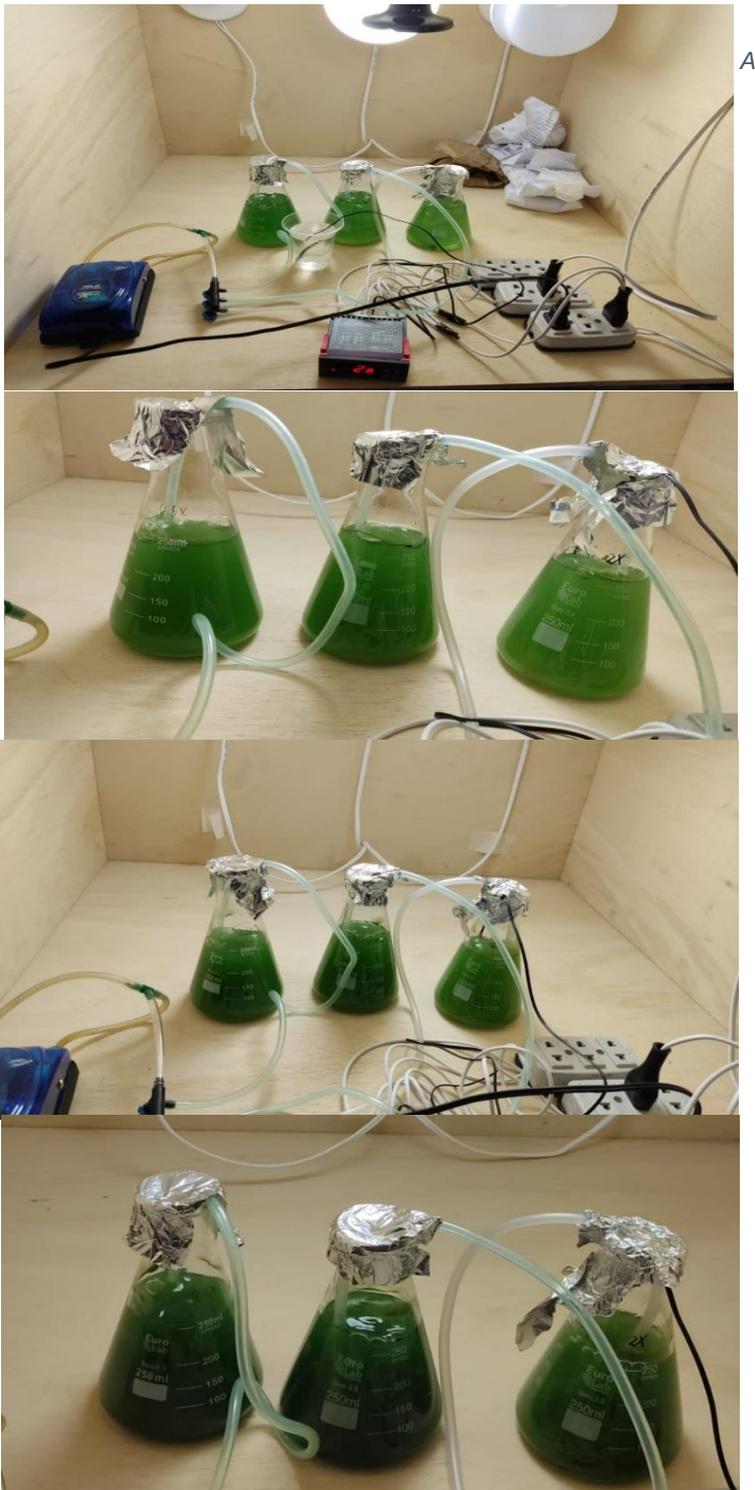
B: 24 horas

C: 48 horas

D: 72 horas

Anexo 18

Cámaras de crecimiento a 5000 Lux y 25 °C



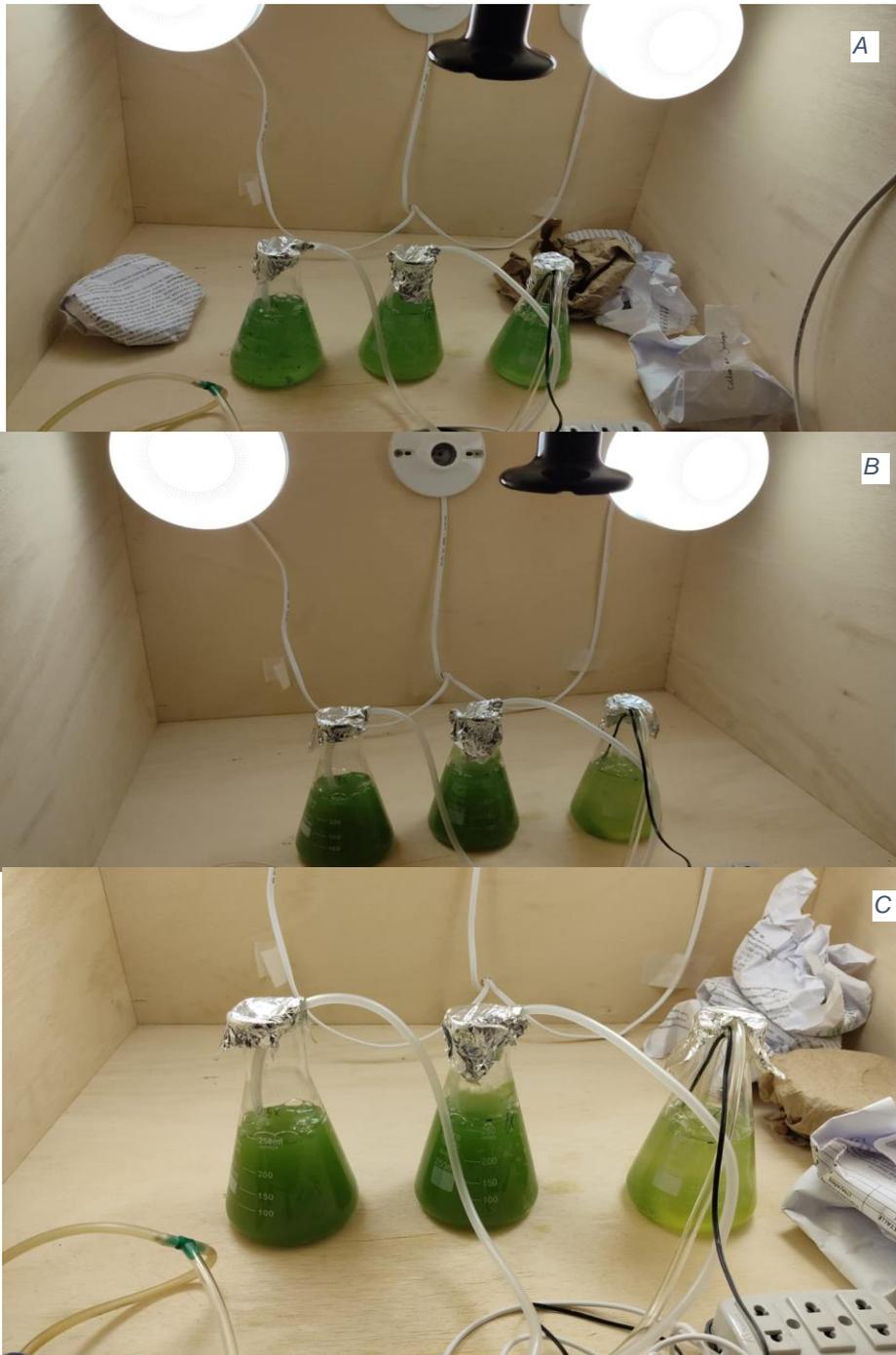
A: 0 horas

B: 24 horas

C: 48 horas D: 72 horas

Anexo 19

Cámaras de crecimiento a 10000 Lux y 25°C



A: 0 horas

B: 48 horas

C: 72 horas

Anexo 20

Cámaras de crecimiento a 10,000 Lux y 30°C



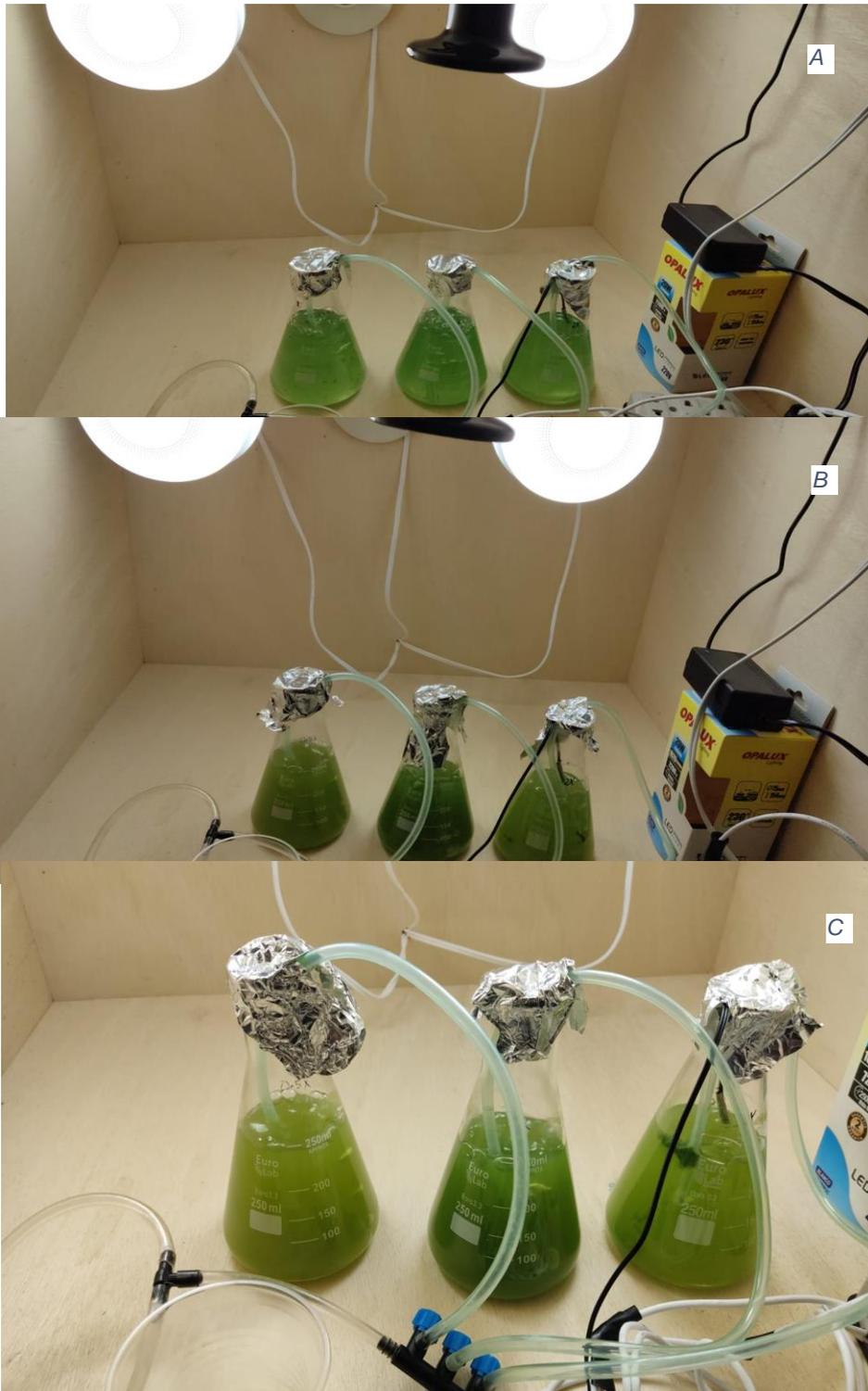
A: 0 horas

B: 48 horas

C: 72 horas

Anexo 21

Cámaras de crecimiento a 10,000 Lux y 35°C



A: 0 horas

B: 48 horas

C: 72 horas

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS:**

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 314-2021-UNSCH-CU)

**“ESTUDIO DE LAS VARIABLES DE PROCESO PARA EL
MEJORAMIENTO MORFOLÓGICO DE ESPIRULINA (*Arthrospira
platensis*) EN LA EMPRESA MUSUQ KAWSAY”**

Expositor: Rafael David BENDEZU NAJARRO
Bachiller en Ingeniería Agroindustrial

Expediente N° 2373482.

Resolución Decanal N° 001-2024-UNSCH-FIQM/D.

Fecha: 02-01-2024.

- 01 -

En la Sala de Conferencias “Pedro VILLENA HIDALGO” de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, ubicada en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (H-121), siendo las ocho de la mañana con cinco minutos del día jueves cuatro de enero del año dos mil veinticuatro, se reunieron el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **Rafael David BENDEZU NAJARRO**, los Docentes Miembros del Jurado de Sustentación Ingenieros: Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA, Mg. Julio Pablo GODENZI VARGAS y Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE, bajo la Presidencia del Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA (Decano de la FIQM), Mg. Jack Edson HERNANDEZ MAVILA (Docente Asesor de la Tesis), el Mg. Wuelde Cesar DIAZ MALDONADO (Secretario-Docente (e) y el público asistente.

Acto seguido, la Presidenta del Jurado de Sustentación dispuso que el Secretario Docente dé lectura a los antecedentes tramitados para el presente Acto Público de Sustentación de la Tesis: **“ESTUDIO DE LAS VARIABLES DE PROCESO PARA EL MEJORAMIENTO MORFOLÓGICO DE ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*) EN LA EMPRESA MUSUQ KAWSAY”**, presentado por el Bachiller **Rafael David BENDEZU NAJARRO**. A continuación, el Secretario-Docente procedió a dar lectura a la Resolución Decanal N° 001-2024-UNSCH-FIQM/D.

Luego, el Presidente del Jurado invitó al Bachiller **Rafael David BENDEZU NAJARRO**, a pasar al estrado y exponer su trabajo de Tesis en un tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos.

Terminada la exposición del Bachiller, el Presidente invitó a los Señores Miembros del Jurado de Sustentación a que formulen sus preguntas y señalen sus observaciones, en el siguiente orden: Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE, Mg. Julio Pablo GODENZI VARGAS y Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA. Luego el Presidente invitó al Mg. Jack Edson HERNANDEZ MAVILA para que, en su condición de Docente Asesor, se sirva levantar las observaciones del Jurado y efectuar las aclaraciones que considere conveniente.

Concluyo con esta etapa el Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA, en su condición de Presidente.

**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERÍA
**QUÍMICA Y
METALURGIA****ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS:**

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 314-2021-UNSCH-CU)

**“ESTUDIO DE LAS VARIABLES DE PROCESO PARA EL
MEJORAMIENTO MORFOLÓGICO DE ESPIRULINA (Arthrospira
platensis) EN LA EMPRESA MUSUQ KAWSAY”****Expositor: Rafael David BENDEZU NAJARRO
Bachiller en Ingeniería Agroindustrial**

Expediente N° 2373482.

Resolución Decanal N° 001-2024-UNSCH-FIQM/D.

Fecha: 02-01-2024.

- 02 -

Culminada la etapa de preguntas, el Presidente del Jurado invitó al Sustentante y al público para que se sirvan abandonar la Sala de Conferencias con la finalidad de permitir al Jurado de Sustentación deliberar sobre la evaluación a otorgar. Se alcanzó el siguiente resultado. **APROBADO POR UNANIMIDAD PROMEDIO QUINCE (15).**

Finalmente el Presidente del Jurado dispuso que se invite al Sustentante y al público asistente a que se sirvan ingresar a la Sala de Conferencias, y anunció que el Bachiller **Rafael David BENDEZU NAJARRO**, ha resultado **APROBADO POR UNANIMIDAD**, y por lo tanto a partir de la fecha la Universidad y la Facultad cuenta con un flamante **INGENIERO AGROINDUSTRIAL** y le augura éxitos en su desempeño profesional.

Siendo las nueve de la mañana con treinta y dos minutos se dio por concluido el acto académico de Sustentación de Tesis. En fe de lo cual firmamos:

Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA
Presidente

Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA
Miembro

Mg. Julio Pablo GODENZI VARGAS
Miembro

Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE
Miembro

Mg. Wuelde Cesar DIAZ MALDONADO
Secretario – Docente (e)



UNSCH

FACULTAD DE
**INGENIERIA QUÍMICA
Y METALURGIA**

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD N°03-2024-UNSCH-FIQM/EPIA

La Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, emite la siguiente:

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

Que, habiendo recibido el requerimiento de **CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD** por parte del Asesor de la Tesis Jack Edson HERNANDEZ MAVILA, se procedió a la evaluación de originalidad del archivo adjunto con el TURNITIN - UNSCH, **de acuerdo a los criterios establecidos en el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU**; cuyos resultados son:

Tesis “Estudio de las variables de proceso para el mejoramiento orfológico de spirulina (*Arthrospira platensis*) en la empresa Musuq Kawsay)”

Nombre y Apellido : Bach. Rafael David Bendezú Najarro
Identificador de entrega : 2308954496
Fecha : 01-mar-2024 11:39a.m. (UTC-0500)
Archivo : Tesis_de_grado_David_Bendezu_EPIA.pdf (3.01M)

Se expide la presente constancia de originalidad, con reporte del 5% de ÍNDICE DE SIMILITUD realizado con Depósito de trabajos estándar, a fin de proseguir con los trámites pertinentes; cabe señalar que los documentos del procedimiento se archivan en el repositorio documental de la Escuela.

Ayacucho, 1 de marzo del 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA
F. P. INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL


.....
Dr. Ing. Saúl R. Chuqui Diestra
DIRECTOR

C.c.
Archivo

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
Av. Independencia S/N - Ayacucho
Telf. 066-303496
Correo: ep.agroindustrial@unsch.edu.pe

Estudio de las variables de proceso para el mejoramiento morfológico de espirulina (*Arthrospira platensis*) en la empresa Musuq Kawsay

por Rafael David Bendezu Najarro

Fecha de entrega: 01-mar-2024 11:39a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2308954496

Nombre del archivo: Tesis_de_grado_David_Bendezu_EPIA.pdf (3.01M)

Total de palabras: 15409

Total de caracteres: 88716

Estudio de las variables de proceso para el mejoramiento morfológico de espirulina (*Arthrospira platensis*) en la empresa Musuq Kawsay

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

6%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.ulp.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Trabajo del estudiante	< 1%
3	repositorio.espe.edu.ec Fuente de Internet	< 1%
4	repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet	< 1%
5	cicese.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	< 1%
6	repositorio.unica.edu.pe Fuente de Internet	< 1%
7	www.ccs.net.mx Fuente de Internet	< 1%
8	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	< 1%

9	ebin.pub Fuente de Internet	< 1 %
10	Submitted to Universidad de Oviedo Trabajo del estudiante	< 1 %
11	Alexandre Viruela Navarro. "Modelación matemática del proceso de crecimiento de microalgas en el tratamiento de aguas residuales Aplicación a un fotobiorreactor de membranas (MPBR).", Universitat Politecnica de Valencia, 2023 Publicación	< 1 %
12	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	< 1 %
13	repositorio.unu.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
14	repositorio.continental.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
15	1 library.co Fuente de Internet	< 1 %
