

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA  
FACULTAD CIENCIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**Efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú) en el crecimiento poblacional y contenido de ficocianina en la microalga *Spirulina platensis***

**AUTORES:**

**Bach. Marlene María Menacho Fajardo**

**Bach. Beatriz Abdelia Vera Pedroza**

**ASESOR:**

**Dr. Juan Fernando Merino Moya**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR**

**Nuevo Chimbote – Perú  
2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**Efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú) en el crecimiento poblacional y contenido de ficocianina en la microalga *Spirulina platensis***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR**

**AUTORES:**

**Bach. Marlene María Menacho Fajardo**

**Bach. Beatriz Abdelia Vera Pedroza**

**REVISADO Y APROBADO POR EL ASESOR DE TESIS:**

  
**Dr. Juan Fernando Merino Moya**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**Efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú) en el crecimiento poblacional y contenido de ficocianina en la microalga *Spirulina platensis***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR**

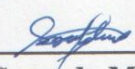
**AUTORES:**

**Bach. Marlene María Menacho Fajardo**

**Bach. Beatriz Abdelia Vera Pedroza**

**APROBADO POR EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO  
POR LOS SEÑORES MIEMBROS**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Walter Reyes Avalos**  
**Presidente**

  
\_\_\_\_\_  
**M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza**  
**Integrante del Jurado**

  
\_\_\_\_\_  
**Mg. Juan Carhuaponma Garay**  
**Integrante del Jurado**

## ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Laboratorio de Biología Acuática, siendo las 10:00 horas del día 21 de Junio del 2019, dando cumplimiento a la Resolución N° 139-2019-UNS-FC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por Walter Reyes Avalos, teniendo como miembros a Juan Carhuapoma Garay (secretario) (a), y Soraya Mendoza Espinoza (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biólogo Acuicultor realizado por el (la) (los) tesista (as) Marlene María Menacho Fajardo Benitez Abelía Vera Pedroza, quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: Efecto del extracto Alveoso de Leño de la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú) en el crecimiento poblacional y contenido de Ficocianina en la microalga *SPIRULINA PLATENSIS*

Terminada la sustentación, el (la), (los) tesista (as)s respondió (ieron) a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como Muy Bueno asignándole un calificativo de (Dieciocho) 18 puntos, según artículo 103° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, vigente (Resolución N° 492-2017-CU -R-UNS)

Siendo las 12:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

Nombre: Walter Reyes Avalos  
Presidente

Nombre: Juan Carhuapoma Garay  
Secretario

Nombre: Soraya Mendoza Espinoza  
Integrante

Distribución: Integrantes J.E ( ), tesistas ( ) y archivo (02).



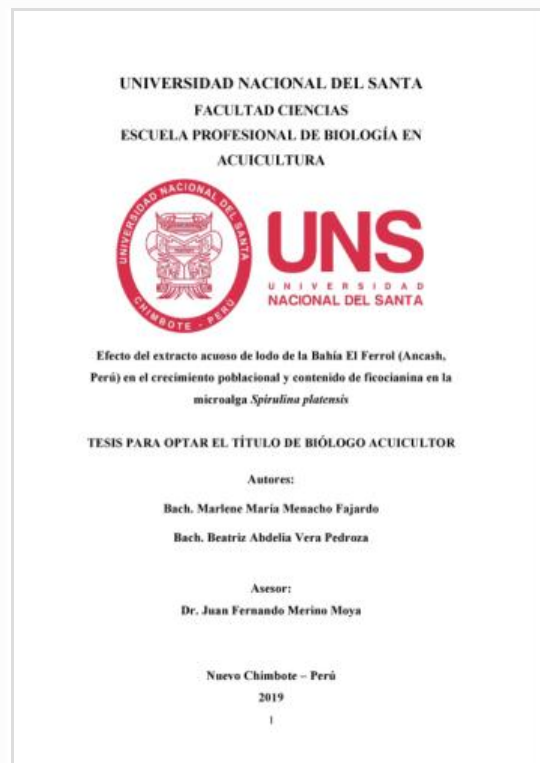


## Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: **Beatriz Abdelia Vera Pedroza**  
Título del ejercicio: **informe de tesis 2019-Vera-Menacho**  
Título de la entrega: **informe de tesis 2019-Vera-Menacho**  
Nombre del archivo: **Informe\_spirulina\_final\_final\_para\_t...**  
Tamaño del archivo: **5.74M**  
Total páginas: **58**  
Total de palabras: **13,075**  
Total de caracteres: **71,779**  
Fecha de entrega: **02-ago-2019 11:27a.m. (UTC-0500)**  
Identificador de la entrega: **1157069779**



## DEDICATORIA

A Dios por la vida que me ha dado y por siempre estar presente en aquellos momentos difíciles que se encuentran en el camino de nuestra vida.

---

A mis padres Ipolito Vera y Reynita Pedroza quienes amo mucho y forman una parte indispensable en mi vida y en mi persona, asimismo por haberme brindado sus consejos y su confianza, su amor y su apoyo incondicional en todo momento.

A toda mi familia, en especial a mis hermanos Roberto, Jimmy y Helaman, por su humilde apoyo, amor y su entera confianza hacia mí.

Al gran amor de mi vida mi pequeño Cristhofer Jesús Bravo Vera, quien se convirtió en mi alegría en cada paso que daba y la fortaleza que necesitaba en desafíos y retos de mi vida.

A cada uno de nuestros maestros quienes nos brindaron sus conocimientos, experiencias y consejos en nuestro camino como futuros profesionales.

**Beatriz A. Vera Pedroza.**

Dedico esta tesis a Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.

A mi Mamita Damiana Vargas, quien a lo largo de mi vida ha velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mí.

A mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

A mi hermana por estar siempre presente, acompañándome y por el apoyo moral, que me brindo a lo largo de esta etapa de mi vida.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

**Marlene M. Menacho Fajardo**

## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer a nuestro profesor Fernando Merino, por su constante apoyo y asesoría en la realización de esta tesis, y a la profesora Sorayda Mendoza por brindarnos las facilidades para trabajar en el laboratorio.

A nuestros profesores de la E. P. de Biología en Acuicultura, por compartir con nosotros sus experiencias, e inculcarnos buenos valores para convertirnos en personas de bien.

Deseamos también agradecer de una manera especial al profesor Luis Campoverde, director de la E. P. de Biología en Acuicultura, por su apoyo durante nuestra etapa de estudiantes.

A nuestra amiga Julissa que estuvo con nosotras apoyándonos y animándonos siempre en la realización de nuestra tesis.

A Gustavo por facilitarnos el acceso a los ambientes del laboratorio.

A todos nuestros compañeros de estudios, por compartir con nosotras buenos momentos y por brindarnos su amistad sincera.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	14
HIPÓTESIS .....	18
OBJETIVOS.....	18
Objetivo General.....	18
Objetivos específicos .....	18
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
2.1. Procedencia del lodo .....	19
2.2. Extracto acuoso de lodo (EAL).....	19
2.3. Procedencia de la cepa.....	21
2.4. Diseño experimental.....	21
2.5. Unidades experimentales .....	22
2.6. Medio Zarrouk .....	22
2.7. Inoculación de los cultivos .....	23
2.8. Salinidad .....	23
2.9. Biomasa algal.....	24
2.10. Ficocianina.....	25
2.11. Temperatura y pH de los cultivos .....	27
2.12. Procesamiento y análisis de datos .....	28
III. RESULTADOS.....	29
IV. DISCUSIÓN.....	35
V. CONCLUSIONES .....	40
VI. RECOMENDACIONES .....	40
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
VII. ANEXOS .....	47



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la toma de muestra del lodo en la Bahía el Ferrol (Ancash, Perú) (imagen tomada de Google Earth 2019). .....	19
Figura 2. Flujograma del proceso de preparación del extracto acuoso de lodo. ....	20
Figura 3. Medio de cultivo experimental: EAL.....	20
Figura 4. Cepa de <i>S. platensis</i> empleada en la investigación. ....	21
Figura 5. Disposición de las unidades de cultivo (fotobiorreactores) y el sistema de aireación e iluminación. ....	22
Figura 6. Inoculación de los cultivos de <i>S. platensis</i> . ....	23
Figura 7. Curva de calibración de biomasa y absorbancia de <i>S. platensis</i> .....	24
Figura 8. Monitoreo de los cultivos de <i>S. platensis</i> . ....	25
Figura 9. Flujograma del proceso de extracción de ficocianina en <i>S. platensis</i> .....	26
Figura 10. Extracción de ficocianina en los cultivos de <i>S. platensis</i> . A: obtención de la pastilla por centrifugación. B: digestión ácida a pH 4. C: refrigeración a -20 °C.....	26
Figura 11. Lecturas espectrofotométricas de los extractos de ficocianina. ....	27
Figura 12. Toma de parámetros físicos y químicos en los cultivos de <i>S. platensis</i> .....	27
Figura 13. Cultivos de <i>S. platensis</i> en fase exponencial (día 8). ....	29
Figura 14. Crecimiento poblacional ( $\text{g L}^{-1}$ ) de <i>S. platensis</i> con EAL.....	30
Figura 15. Variación de la temperatura en los cultivos de <i>S. platensis</i> .....	32
Figura 16. Variación del pH en los cultivos de <i>S. platensis</i> . ....	32
Figura 17. Cultivos de <i>S. platensis</i> (x10). A: Tricomas observados en el tratamiento control. B, C y D: tricomas observados en los tratamientos de 20, 30 y 40 $\text{mL L}^{-1}$ , respectivamente, presentaron mayor tamaño en longitud. ....	34

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental de la investigación. ....	21
Tabla 2. Composición del medio Zarrouk (1966), modificado por Rojas <i>et al.</i> (2012). .....	23
Tabla 3. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> con EAL. .	30
Tabla 4. Tasa de producción de biomasa ( $\mu$ ) de los cultivos de <i>S. platensis</i> . ....	31
Tabla 5. Porcentaje de ficocianina de los cultivos de <i>S. platensis</i> al final del experimento (día 8). ....	33
Tabla 6. Características físico-químicas del extracto acuoso de lodo (EAL). ....	33

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Prueba de normalidad de los datos. ....	47
Anexo 2. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 1. ....	48
Anexo 3. Análisis estadístico la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 2. ...	49
Anexo 4. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 3. ....	50
Anexo 5. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 4. ....	51
Anexo 6. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 5. ....	52
Anexo 7. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 6. ....	53
Anexo 8. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 7. ....	54
Anexo 9. Análisis estadístico de la producción de biomasa de <i>S. platensis</i> en el día 8. ....	55
Anexo 10. Análisis estadístico del contenido de ficocianina en los cultivos de <i>S. platensis</i> en el día 8.....	56
Anexo 11. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento poblacional ( $\mu$ ) de <i>S. platensis</i> .....	57
Anexo 12. Registro de la temperatura en los cultivos de <i>S. platensis</i> . ....	58
Anexo 13. Registro del pH en los cultivos de <i>S. platensis</i> . ....	58
Anexo 14. Valores de absorbancias (540 nm) y pesos (g) utilizados para construir la curva de calibración. ....	59
Anexo 15. Absorbancias registradas (540 nm) durante el cultivo de <i>S. platensis</i> .....	59
Anexo 16. Registro de absorbancias (620 nm) a los extractos para el análisis de ficocianina de <i>S. platensis</i> . ....	59
Anexo 17. Resultados del análisis de nitrógeno y fosforo al extracto acuoso de lodo (EAL). ....	60

## RESUMEN

Los compuestos que sintetizan las microalgas han adquirido gran valor en el mercado, sin embargo, su producción a gran escala presenta limitaciones dado los altos costos que conllevan el uso de medio sintéticos. En esta investigación se evaluó el efecto del extracto acuoso de lodo (EAL) de la bahía El Ferrol en el incremento de biomasa y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis*. El EAL fue preparado diluyendo lodo con agua potable (1:2 v/v) y hervido por 20 min., luego de sedimentar a temperatura ambiente se extrajo el sobrenadante, el cual contuvo  $0.55 \text{ g mL}^{-1}$  de lodo. Los cultivos de *S. platensis* fueron dosificados con 20, 30 y  $40 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL, y el medio Zarrouck se usó como control. El mayor contenido de biomasa ( $0.842 \pm 0.055 \text{ g L}^{-1}$ ) se obtuvo con el tratamiento de  $30 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL y no se observó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos en el último día de cultivo (día 8). Asimismo, la mayor producción de ficocianina fue determinada en  $40 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL ( $0.096 \text{ mg L}^{-1}$ ). Estos resultados sugieren el uso del EAL para la producción masiva de *S. platensis*, ya que este es un medio de fácil elaboración y bajo costo.

**Palabras clave:** microalgas, *Spirulina*, biomasa, medios alternativos.

## ABSTRACT

In recent years, the compounds that synthesize microalgal have acquired great value in the market, however, its large-scale production has limitations given the high costs involved in the use of synthetic media. In this research, we evaluated the effect of aqueous sludge extract (EAL) from Bahia El Ferrol, as a culture medium, in the production of biomass and phycocyanin content of *Spirulina platensis*. To prepare the EAL, a thermal process was applied to the mud with drinking water (1: 2 v / v, respectively), for 20 minutes; subsequently, it was allowed to settle at room temperature and the supernatant was extracted, which contains 0.55 g mL<sup>-1</sup> of mud. The experimental treatments were 20, 30, and 40 mL L<sup>-1</sup> of EAL, and Zarrouck medium was used as control. The highest biomass content (0.842 ± 0.055 g L<sup>-1</sup>) was obtained with the treatment of 30 mL L<sup>-1</sup> of EAL, however, no significant statistical difference was observed ( $p < 0.05$ ) between the treatments on the last day of cultivation (day 8). On the other hand, a higher production of phycocyanin was observed in the cultures dosed with the experimental medium, obtaining a higher concentration (0.096 ± 0.000 mg L<sup>-1</sup>) in the treatment of 40 mL L<sup>-1</sup>. These results suggest the use of EAL for the mass production of *S. platensis*, since this is a means of easy processing and low cost.

**Key words:** microalgae, *Spirulina*, biomass, alternative medium.

## I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son un conjunto de microorganismos fotosintéticos, unicelulares, que forman cadenas, colonias o cenobios (Ulloa, 2011; Marchetti *et al.*, 2012), habitan ambientes acuáticos salinos, dulceacuícolas e inclusive suelos húmedos (Chacon *et al.*, 2006; Licet, 2008; Garibay *et al.*, 2009), se les considera responsables del material orgánico que se encuentra en los ecosistemas acuáticos y del 40% de la fotosíntesis total del planeta (Chapman, 2010).

Estos microorganismos tradicionalmente se han empleado en la alimentación humana y animal, sin embargo, en las recientes décadas se cultivan para la producción de proteínas, vitaminas y otros suplementos nutritivos, así como para el tratamiento de aguas residuales (Venkatamaran, 1986; Ventosa & Nieto, 1995; De Philipis & Vicenzini, 1998; Mora *et al.*, 2004), habiéndose reportado aproximadamente 300 especies de microalgas, entre clorofitas y diatomeas, con alto potencial para ser utilizadas como alternativas de alimentación (Sheehan *et al.*, 1998).

Dentro de la amplia variedad de especies, cuatro géneros, *Dunaliella*, *Anthrospira*., *Haematococcus* y *Chlorella*, representan la mayor producción mundial de biomasa algal, alcanzando una producción de 10 000 T anuales aproximadamente (Cañavate, 2009). Esta creciente demanda por biomasa algal para obtener compuestos de interés ha generado el desarrollo de tecnologías para su cultivo masivo en laboratorio y al aire libre (Gómez, 2007). En Alemania, Perú, India, Japón y México, las microalgas son un excelente complemento alimenticio para el hombre, como las especies del género *Spirulina* y *Scenedesmus* que se caracterizan por su alto valor proteico (Medina *et al.*, 2012).

*Spirulina* es una cianobacteria filamentosa multicelular que coloniza ambientes alcalinos y algunos entornos marinos (Vonshak, 1997) con mayor potencial para el cultivo masivo por ser rica en proteína altamente digestible y poseer compuestos de gran importancia como las ficobiliproteínas (ficocianina y aloficocianina), aminoácidos esenciales, minerales, vitaminas (carotenoides,  $\beta$ -caroteno, provitamina A, B<sub>12</sub> y otras vitaminas del grupo B) y ácidos grasos poliinsaturados (Belay, 2002), que en pequeñas cantidades ayudan al sistema inmune así como a los componentes humorales y celulares (Qureshi & Ali, 1996; Qureshi *et al.*, 1996). Asimismo, por sus

efectos benéficos en el tratamiento de enfermedades como alergias, anemia, cáncer, enfermedades virales y cardiovasculares (Ramírez y Olvera, 2006) es muy estudiada y su producción comercial se enfoca en la alimentación humana, animal y elaboración de productos farmacéuticos.

El cultivo de microalgas, a nivel de laboratorio, requiere un apropiado medio de cultivo elaborado a partir de sales minerales de alto grado de pureza de nitrógeno, fósforo, potasio, fierro, etc. (Paniagua *et al.*, 1986), destacando el medio f/2 de Guillard (1975) muy eficiente para el cultivo de gran número de microalgas (Torrentera & Tacón, 1989) y el medio Zarrouck (1966) para las especies del género *Spirulina*. No obstante, estos medios de cultivo no son económicamente factibles al ser utilizados en la producción de microalgas a gran escala por el alto costo que representa el uso de reactivos químicos de grado analítico de pureza.

La producción de biomasa microalgal, con fines de obtención de biocompuestos para la industria alimentaria e industrial, se ha convertido en una actividad económica de gran interés. *S. platensis* es una de la microalga más cultivada a nivel mundial por sus características nutricionales (FAO, 2008). No obstante, su producción es limitada en algunas regiones dado los altos costos que demanda su producción a gran escala.

Por otro lado, existen medios de cultivo que pueden ser preparados a partir de fertilizantes agrícolas o subproductos como melazas, extractos orgánicos y biodigeridos. Otros medios también pueden elaborarse a partir de los subproductos de las industrias avícolas, pesqueras o acuícolas (Hernández *et al.*, 2003). La utilización de estos medios para el cultivo de microalgas representa una significativa reducción en los costos de producción debido a que son fáciles de conseguir y elaborar.

En consecuencia, es necesario recurrir a la elaboración de medios de cultivo alternativos a partir de desechos pesqueros (Fernández & Paredes, 2007), mariculturales (Merino & Encomendero, 2012) y sedimentos (Thain, 1992) previo tratamiento térmico o químico a fin de evitar la presencia de microorganismos patógenos. El éxito de estos medios de cultivo es posible por la versatilidad de las algas para aprovechar los nutrientes, orgánicos e inorgánicos, presentes en tales residuos, especialmente, *S. platensis* que por sus características procarióticas, es capaz de aprovechar los nutrientes presentes en los desechos agrícolas, aguas residuales, pesqueros o lodos (Fernández & Paredes, 2007).

Es por ello que, la elaboración de un medio de cultivo que contribuya a reducir los costos de producción, y que además sea adecuado para la obtención de biomasa y otros metabolitos, representa un tema de interés tanto científico como económico (Acién *et al.*, 2017). Bajo este enfoque, esta investigación planteó la utilización del lodo como un medio de cultivo alternativo para *S. platensis*.

Los sedimentos, o lodos, acumulados en la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú), durante décadas, provienen, principalmente de una fuente de efluentes, residuales industriales pesqueros, ricos en proteínas y aceites (IMARPE, 2008). Se han realizado estudios orientados a determinar los niveles de contaminación en el fondo de la bahía, evidenciándose condiciones anóxicas (0.20 - 0.18 mg L<sup>-1</sup> OD) (Guillén *et al.*, 1998). Otros estudios indican que la contaminación se incrementa en épocas de producción pesquera, excediendo los valores de ECA (estándares de calidad ambiental), principalmente sobre los parámetros coliformes totales y termotolerantes (Cerna y Bocanegra, 2012).

Los sedimentos en la Bahía El Ferrol, a través del tiempo han sufrido un proceso de descomposición y mineralización como resultado de la natural actividad bacteriana y de otros microorganismos en estos ambientes. Este aspecto es relevante, debido a que la reducción de los componentes orgánicos del lodo facilita la solubilidad de los nutrientes a través del proceso térmico, y, además, su fácil incorporación mediante los mecanismos de transporte a nivel de membrana en las microalgas (García *et al.*, 2015). Además, el tratamiento de este proceso permite eliminar los microorganismos que puedan interferir con el crecimiento algal y obtener un extracto acuoso conteniendo nutrientes orgánicos e inorgánicos (Dávila & Dávila, 2017).

Se reportan algunas investigaciones relacionadas al uso de sedimentos originados por la actividad pesquera o por causas antrópicas para el cultivo de microalgas. Thain (1992) utilizó 200 mL de sedimentos de fondos marinos diluidos en 600 mL de agua y observó una buena adaptabilidad y crecimiento de *T. suecica*, obteniendo densidades de  $45 \times 10^4$  cél mL<sup>-1</sup> en el quinto día de cultivo. López & Pantoja (2016), obtuvieron con 40 mL L<sup>-1</sup> de extracto acuoso de lodo mayor crecimiento y contenido de  $\beta$ -carotenos en *D. salina*.

Los cultivos algales en medios orgánicos, como el lodo de los sedimentos marinos, propicia cambios en el metabolismo de estas células activando los mecanismos para la



síntesis de pigmentos o lípidos, asimismo, las condiciones de cultivo, fase de cultivo, disponibilidad de nutrientes, irradiación y temperatura pueden variar la composición bioquímica de las microalgas (Cañavate, 2011).

Recientemente, el desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del medio ambiente y al tratamiento de los residuos de bajo costo se ha tornado indispensable de tal manera que los cultivos de microalgas son consideradas eco-amigables por su gran capacidad de reciclar contaminantes desde medios líquidos, sólidos y gaseosos (Olguín, 2003, Dominic *et al.*, 2009, Douskova *et al.*, 2010), disminuye los impactos negativos que ocasionan estos residuos orgánicos en el ambiente acuático y terrestre, producido por actividades antropogénicas (Merino & Encomendero, 2012).

Las cianofitas, al igual que muchas especies de microalgas, son alternativas para muchas aplicaciones biotecnológicas por su potencial para transformar la energía luminosa en formas renovables de productos de gran utilidad en las industrias alimentaria y farmacéutica, requiriéndose mejorar la eficiencia de la producción de biomasa y contenido de pigmentos mediante la optimización de sus cultivos en función a la temperatura, irradiación, salinidad, agitación, concentración y naturaleza de nutrientes en condiciones de laboratorio (Hoffmann, 1988).

En laboratorio, se realizó ensayos preliminares con extracto acuoso de lodo (EAL) de la Bahía “El Ferrol” empleando concentraciones de 10, 20 y 30 mL L<sup>-1</sup>. Se observó mejor producción de biomasa con 30 mL L<sup>-1</sup>, por lo cual se utilizó esta concentración como medida central de referencia para el diseño del experimento en esta investigación.

En tal sentido, en el presente trabajo de tesis se planteó el siguiente problema de investigación: ¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía “El Ferrol” (Ancash, Perú), como medio de cultivo, sobre la producción de biomasa y contenido de ficocianina en la cianofita filamentosa *S. platensis*?

## **HIPÓTESIS**

Si empleamos diferentes concentraciones (20, 30 y 40 mL L<sup>-1</sup>) de extracto acuoso de lodo de la Bahía “El Ferrol” (Ancash, Perú) como medio de cultivo de *S. platensis*, se obtendrá mayor producción de biomasa y contenido de ficocianina con la concentración de 30 mL L<sup>-1</sup>.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía el Ferrol en la producción de biomasa y contenido de ficocianina de *S. platensis*.

### **Objetivos específicos**

- Determinar el efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol en la producción de biomasa de *S. platensis*.
- Determinar el efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol en el contenido de ficocianina de *S. platensis*.
- Determinar la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) de *S. platensis* cultivada con extracto acuoso de lodo de la Bahía el Ferrol.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Procedencia del lodo

Empleando debidamente una draga se realizó la extracción del lodo proveniente de la bahía “El Ferrol” en la ciudad de Chimbote (Ancash, Perú), ubicada en las coordenadas  $9^{\circ}06'46''\text{LS}$  y  $78^{\circ}35'23''\text{LW}$  (Fig. 1). Durante la colecta del lodo se registró la profundidad, que fue de 18.5 m. Asimismo, se registró la temperatura y el pH del lodo colectado, que fue de  $21.3^{\circ}\text{C}$  y 7.7, respectivamente. El lodo se trasladó inmediatamente al laboratorio en un balde de plástico con tapa para la debida preparación del EAL.



Figura 1. Ubicación de la toma de muestra del lodo en la Bahía el Ferrol (Ancash, Perú) (imagen tomada de Google Earth 2019).

### 2.2. Extracto acuoso de lodo (EAL)

Para elaborar el EAL, se colectó 4 kg de lodo proveniente de la bahía “El Ferrol”. La preparación del EAL se describe en la Fig. 2.

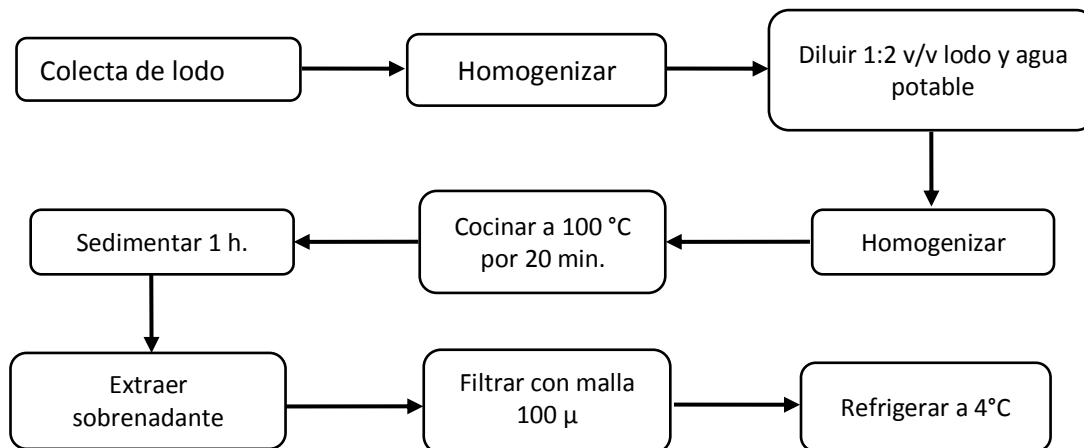


Figura 2. Flujograma del proceso de preparación del extracto acuoso de lodo.

Para la preparación del extracto acuoso de lodo (EAL), se pesó 1663 g (1000 mL) de lodo y se adicionó 2000 mL de agua potable (1:2 v/v). La concentración final del lodo en el medio fue de  $0.55 \text{ g L}^{-1}$ . Finalmente, el sobrenadante obtenido se mantuvo en refrigeración a  $4^\circ\text{C}$  hasta su uso como medio de cultivo para *S. platensis* (Fig. 3).



Figura 3. Medio de cultivo experimental: EAL

Adicionalmente, se tomó una muestra de 100 mL del medio experimental, EAL, para analizarla en un laboratorio certificado y acreditado, COLECBI, y determinar sus características químicas. Los resultados de estos análisis se detallan en el anexo 17. Asimismo, en el laboratorio se determinó los parámetros como pH, salinidad y sólidos disueltos totales del medio EAL. Para determinar los sólidos disueltos totales (SDT) en el EAL, se empleó el método gravimétrico, el cual consiste en pesar un papel filtro de 1 micra de poro, filtrar un volumen conocido de muestra (50 mL), colocar a secar en estufa a  $100^\circ\text{C}$  y el valor es calculado por diferencia de pesos.

### 2.3. Procedencia de la cepa

Se trabajó con una cepa de *S. platensis* (IMP-BG-027) (Fig. 4) procedente del Instituto del Mar Peruano (IMARPE) de Lima, y mantenida en agua destilada fertilizada con medio Zarrouk (1966) en un matraz 500 mL de volumen e iluminados constante en el cepario del Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Escuela Profesional de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa.

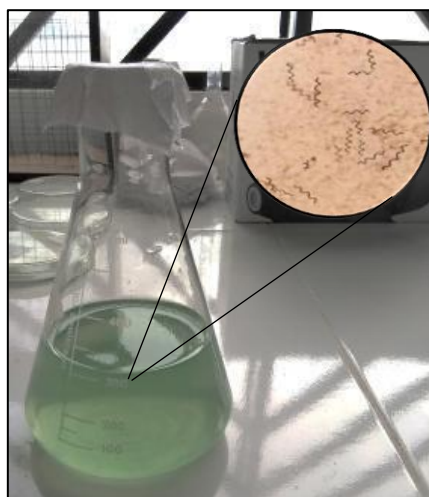


Figura 4. Cepa de *S. platensis* empleada en la investigación.

### 2.4. Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental de estímulo creciente con tres tratamientos experimentales y un tratamiento control (Tabla 1). En ambos tratamientos se trabajó por triplicado.

Tabla 1. Diseño experimental de la investigación.

Tratamientos	Características
Tratamiento control ( $T_c$ )	Cultivo de <i>S. platensis</i> con medio Zarrouk.
Tratamiento uno ( $T_1$ )	Cultivo de <i>S. platensis</i> con 20 mL L <sup>-1</sup> de EAL.
Tratamiento dos ( $T_2$ )	Cultivo de <i>S. platensis</i> con 30 mL L <sup>-1</sup> de EAL.
Tratamiento tres ( $T_3$ )	Cultivo de <i>S. platensis</i> con 40 mL L <sup>-1</sup> de EAL.

## 2.5. Unidades experimentales

Se utilizó 12 botellas plásticas como fotobiorreactores, cada una con 1500 mL de capacidad, previamente esterilizadas con HCl comercial (ácido muriático) y prolijamente enjuagadas con agua potable. Los cultivos de *S. platensis* se mantuvieron con aireación constante provista por un Blower de ¼ de HP, que se conecta al laboratorio mediante un sistema de conexiones con tubos de pvc de 1" y a los fotobiorreactores mediante un sistema de conexiones elaboradas manualmente con mangueras, tubos de plástico y llaves de acuario. De igual manera, los fotobiorreactores se mantuvieron iluminados durante 24 horas con un fluorescente de 40 watts situado en uno de los lados de los fotobiorreactores. Adicionalmente, se tapó cada unidad de cultivo con algodón para evitar la entrada de microorganismos contaminantes (Fig. 5).



Figura 5. Disposición de las unidades de cultivo (fotobiorreactores) y el sistema de aireación e iluminación.

## 2.6. Medio Zarrouk

El medio control o Zarrouk (1966), modificado por Rojas *et al.* (2012), se preparó con reactivos de grado laboratorio de pureza, conforme a las especificaciones de Rojas *et al.* (2015) y utilizando agua destilada (tabla 2).

Tabla 2. Composición del medio Zarrouk (1966), modificado por Rojas *et al.* (2012).

Nutrientes	(g L <sup>-1</sup> )	[N] g.	[P] g.
NaHCO <sub>3</sub>	8.40	---	---
NaCl	5.00	---	---
KNO <sub>3</sub>	0.80	0.11	---
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (mL L <sup>-1</sup> )	0.35	0.074	0.082
EDTA Fe (mL L <sup>-1</sup> )	0.16	---	---
MgSO <sub>4</sub>	0.02	---	---

### 2.7. Inoculación de los cultivos

Los experimentos se iniciaron con 100 mL del inoculo de *S. platensis* y 900 mL de agua fertilizada con el medio Zarrouck y los experimentales con el EAL, los cuales contenían 0.301 g L<sup>-1</sup> de *S. platensis* (Fig. 6).



Figura 6. Inoculación de los cultivos de *S. platensis*.

### 2.8. Salinidad

Con la finalidad de mejorar los rendimientos de pigmentos, ficocianina, en *S. platensis*, se elevó la salinidad hasta 20 ‰. Para ello, se agregó diariamente 5 g de NaCl comercial (sal bruta) a cada uno de los cultivos. La incorporación de NaCl en los cultivos se realizó hasta el día 4. El estándar de 20 ‰ fue determinado mediante ensayos preliminares realizados en el laboratorio, estimándose que esta es la concentración máxima que tolera la especie en estudio. La determinación de la salinidad se realizó utilizando un refractómetro de ±2.0 ‰ de sensibilidad.

## 2.9. Biomasa algal

La determinación de la biomasa algal se realizó por espectrofotometría convencional (uv-vis). Previamente, se elaboró una curva de calibración (Fig. 7) para correlacionar la biomasa obtenida por gravimetría y las lecturas en el espectrofotómetro, mediante un análisis de regresión lineal ejecutado en Excel 2016. La curva de calibración se elaboró con los datos de biomasa (g) y absorbancia (540 nm) de cuatro diluciones de un cultivo de *S. platensis* en fase exponencial. Las lecturas se tomaron a 540 nm, por ser la longitud de onda más adecuada para la lectura de pigmentos en cianofitas (Sivakuma y Rajendran, 2013).

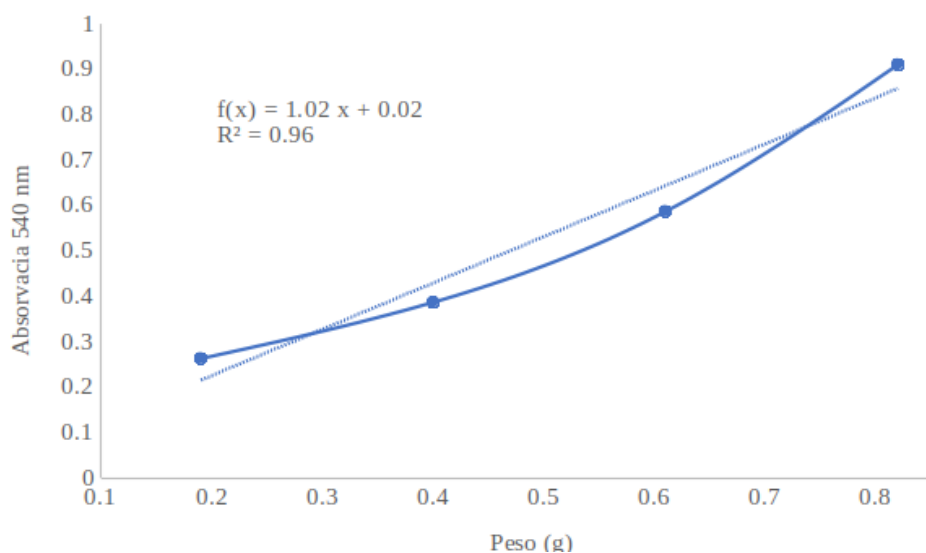


Figura 7. Curva de calibración de biomasa y absorbancia de *S. platensis*.

Posteriormente, se utilizó la fórmula descrita por Bermeo (2011) para estimar la biomasa ( $\text{g L}^{-1}$ ) de los cultivos:

$$\text{Biomasa (g L}^{-1}\text{)} = (\text{Abs}_{.540} - \text{ordenada del origen}) / \text{pendiente}$$

Donde:

Ordenada del origen = ordenada del origen de la ecuación de la gráfica.

Pendiente = pendiente de la ecuación de la gráfica.





Figura 8. Monitoreo de los cultivos de *S. platensis*.

### 2.10. Ficocianina

La determinación del contenido de ficocianina en los cultivos de *S. platensis* se realizó mediante el método de Boussiba y Richmond (1979), que utiliza espectrometría convencional para la cuantificación de estos compuestos. El flujograma del proceso de detalla en la figura 9.

Para el cálculo de la concentración de ficocianina total, se empleó las ecuaciones basadas en los coeficientes de extinción específicos para pigmentos en cianobacterias, propuestas por el mismo autor.

Ecuación para la ficocianina (PC):

$$PC = A_{620} / 3.39$$

Donde  $A_{620}$  representa la absorbancia de los extractos a 620 nm.

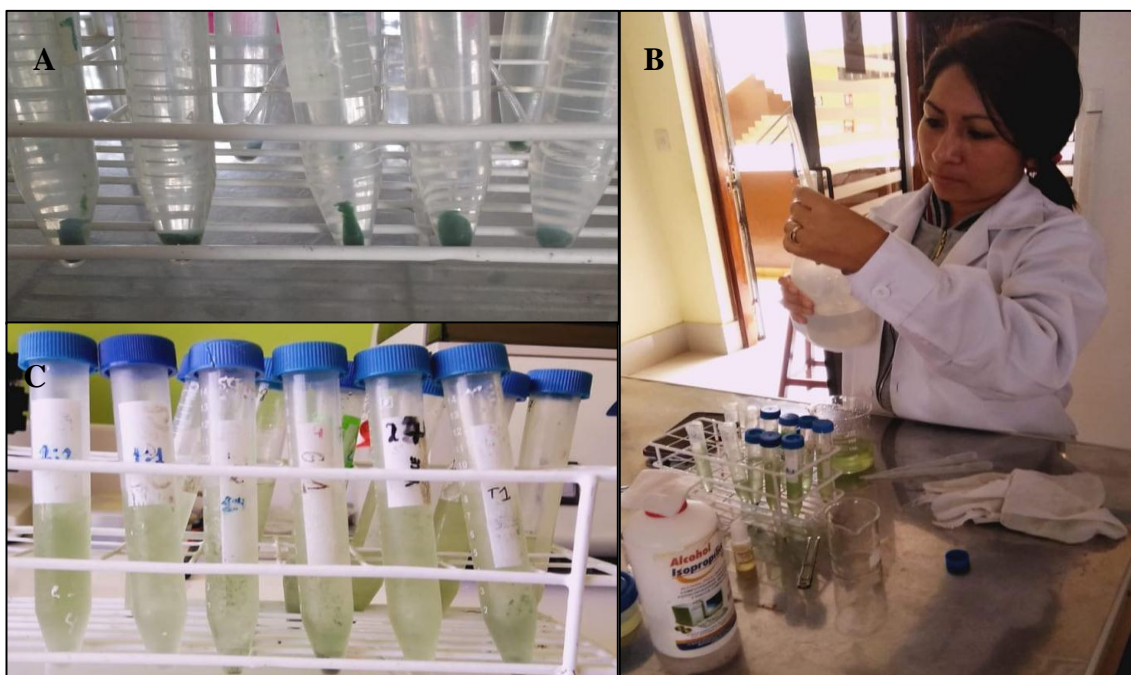
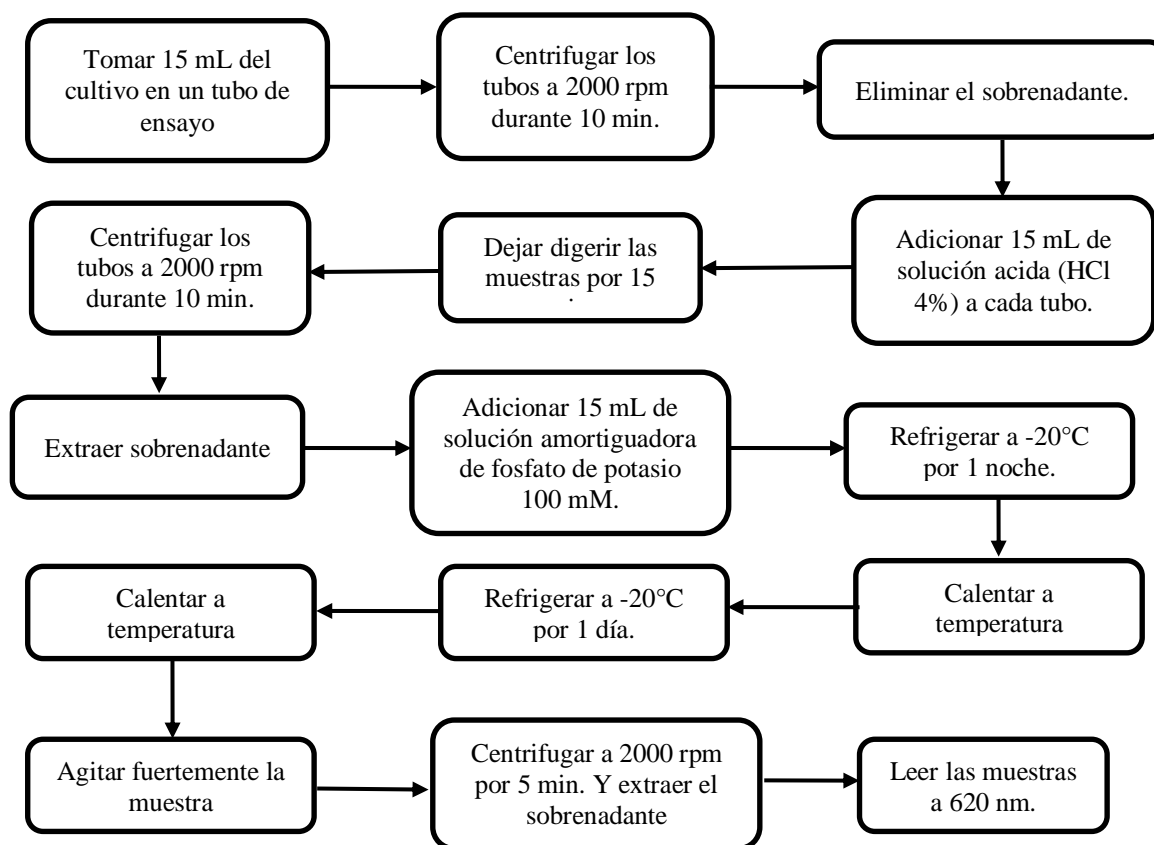


Figura 10. Extracción de ficocianina en los cultivos de *S. platensis*. A: obtención de la pastilla por centrifugación. B: digestión ácida a pH 4. C: refrigeración a  $-20^{\circ}\text{C}$

Figura 9. Flujograma del proceso de extracción de ficocianina en *S. platensis*.



Figura 11. Lecturas espectrofotométricas de los extractos de ficocianina.

### 2.11. Temperatura y pH de los cultivos

Diariamente se registró la temperatura en los cultivos, para ello se utilizó un termómetro digital marca Taylor de  $\pm 0,1$  °C de sensibilidad. De igual manera, el pH de los cultivos se registró diariamente con un pH-metro digital WTW de  $\pm 0,1$  de pH de sensibilidad.



Figura 12. Toma de parámetros físicos y químicos en los cultivos de *S. platensis*.

### **2.12. Procesamiento y análisis de datos**

Las curvas y los gráficos que presentan los datos colectados se elaboraron en Excel 2016. Finalmente, se realizó un análisis estadístico (ANOVA) con los datos de biomasa y contenido de ficocianina, para determinar diferencia estadística significativa entre los tratamientos, empleando la post prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0,05. El software SPSS 20.0v para Window 8 se utilizó en los análisis estadísticos.

### III. RESULTADOS

El incremento de biomasa de la microalga *S. platensis* se mantuvo constante a partir del día 2 en todos los tratamientos, evidenciándose mayor aumento de biomasa en los cultivos dosificados con el EAL, obteniéndose mayor rendimiento de biomasa ( $0.842 \pm 0.055 \text{ g L}^{-1}$ ) con el tratamiento de  $30 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL, seguido del tratamiento de  $20 \text{ mL L}^{-1}$  ( $7.60 \pm 0.093 \text{ g L}^{-1}$ ) (Fig. 13, Tabla 3).

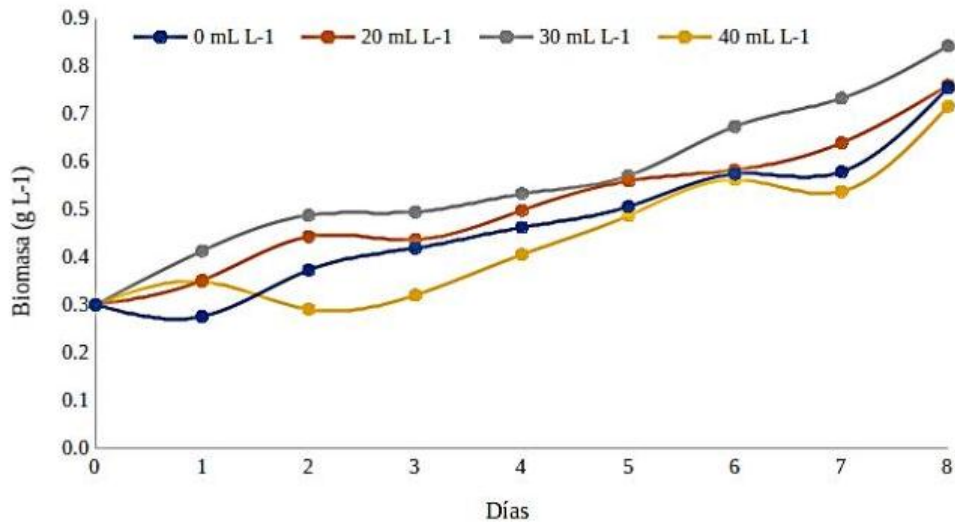


Figura 13. Cultivos de *S. platensis* en fase exponencial (día 8).

Además, se ha observado una prolongada fase de crecimiento lento (fase lag) en la curva (Fig. 13) hasta el día 4 de cultivo, relacionadas a las bajas temperaturas registradas, las que fluctuaron entre  $19.80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $22.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$  en promedio. Asimismo, la fase de crecimiento lag indica una fase de adaptación de la microalga al medio salobre, el cual se incrementó diariamente  $5 \text{ }^{\circ}\text{‰}$  hasta alcanzar una salinidad de  $20 \text{ }^{\circ}\text{‰}$  en el día 4. Es de notar que posterior al día 4 se inicia la fase de crecimiento exponencial, la cual se realaciona con un leve incremento de temperatura en el mismo día (Fig. 15).

Por otro lado, un aspecto fundamental a tomar en cuenta en los cultivos de microalgas es la pigmentación que adquieren en las diferentes fases de crecimiento, con lo cual se infiere de manera indirecta las condiciones y la salubridad de los cultivos. En tal sentido, durante este experimento se ha observado en todos los cultivos el color verde-azulado característico (Fig. 14), denotando el positivo efecto del EAL en el crecimiento y contenido de pigmentos de *S. platensis*.

Durante los días 2, 3 y 4, los tratamientos con 20 y 30 mL L<sup>-1</sup> de EAL son estadísticamente iguales y ligeramente superiores al control y al de 40 mL L<sup>-1</sup>, sin embargo, en el último día de cultivo (día 8) no se evidencia diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, experimentales y control. Ello corrobora la buena capacidad de adaptación de buena *S. platensis* al medio, y la capacidad de aprovechar los nutrientes contenidos en el EAL.



Figura 14. Crecimiento poblacional (g L<sup>-1</sup>) de *S. platensis* con EAL.

Tabla 3. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* con EAL.

Días	Biomasa (g L <sup>-1</sup> )			
	Control	20 mL L <sup>-1</sup>	30 mL L <sup>-1</sup>	40 mL L <sup>-1</sup>
0	0.301 ±0.000 <sup>a</sup>	0.301 ±0.000 <sup>a</sup>	0.301 ±0.000 <sup>a</sup>	0.301 ±0.000 <sup>a</sup>
1	0.277 ±0.073 <sup>a</sup>	0.352 ±0.050 <sup>a</sup>	0.414 ±0.041 <sup>b</sup>	0.349 ±0.015 <sup>a</sup>
2	0.373 ±0.019 <sup>ac</sup>	0.443 ±0.074 <sup>ab</sup>	0.488 ±0.026 <sup>b</sup>	0.292 ±0.018 <sup>c</sup>
3	0.420 ±0.041 <sup>a</sup>	0.437 ±0.053 <sup>a</sup>	0.495 ±0.016 <sup>a</sup>	0.321 ±0.002 <sup>b</sup>
4	0.463 ±0.031 <sup>ab</sup>	0.499 ±0.035 <sup>b</sup>	0.533 ±0.044 <sup>b</sup>	0.406 ±0.007 <sup>a</sup>
5	0.506 ±0.034 <sup>a</sup>	0.560 ±0.036 <sup>a</sup>	0.571 ±0.081 <sup>a</sup>	0.488 ±0.012 <sup>a</sup>
6	0.575 ±0.116 <sup>a</sup>	0.583 ±0.032 <sup>a</sup>	0.674 ±0.085 <sup>a</sup>	0.563 ±0.015 <sup>a</sup>
7	0.579 ±0.076 <sup>ab</sup>	0.640 ±0.085 <sup>ab</sup>	0.733 ±0.043 <sup>b</sup>	0.538 ±0.028 <sup>a</sup>
8	0.755 ±0.110 <sup>a</sup>	0.760 ±0.093 <sup>a</sup>	0.842 ±0.055 <sup>a</sup>	0.716 ±0.013 <sup>a</sup>

Letras diferentes en una misma línea indican diferencia estadística significativa en un intervalo de confianza de 95%.

Es importante resaltar que la máxima biomasa obtenida (0.842 ±0.055 g L<sup>-1</sup>) con el tratamiento de 30 mL L<sup>-1</sup> es superior a la obtenida con el tratamiento control, medio

Zarrouck (1996). Este último es considerado el más adecuado para alcanzar mayores rendimientos de biomasa en *S. platensis*, sin embargo, los resultados demuestran que el medio EAL supera al medio Zarrouck, dado que se logró obtener mayores rendimientos de biomasa en el día 7. El buen crecimiento se relaciona con la composición química del EAL, la cual contiene principalmente nitrógeno (890 mg L<sup>-1</sup>).

Asimismo, las tasas de crecimiento ( $\mu$ ) determinadas en los cultivos no presentaron diferencia estadística significativa (Tabla 4), siendo mayor en los cultivos dosificados con 30 mL L<sup>-1</sup> de EAL (0.068  $\pm$ 0.007) y menor en los tratamientos con 40 mL L<sup>-1</sup> del EAL (0.052  $\pm$ 0.014).

Tabla 4. Tasa de producción de biomasa ( $\mu$ ) de los cultivos de *S. platensis*.

Parámetro	Tratamiento			
	T <sub>c</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
N <sub>0</sub>	0.329 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.329 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.329 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.329 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
N <sub>f</sub>	0.792 $\pm$ 0.112 <sup>a</sup>	0.797 $\pm$ 0.095 <sup>a</sup>	0.881 $\pm$ 0.056 <sup>a</sup>	0.752 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>
Día	8	8	8	8
$\mu$	0.057 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>	0.057 $\pm$ 0.012 <sup>a</sup>	0.068 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup>	0.052 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>

Letras diferentes indican diferencia significativa a un nivel de 0.05.

Respecto a la temperatura de los cultivos, se observó que esta no presentó fluctuaciones significativas durante el experimento, debido a las condiciones de confinamiento en las que se ha trabajado, con rango de 19.80 °C a 22.6 °C. Estos rangos de temperaturas están por debajo de las óptimas para esta especie (Uslu, 2009), no obstante, se observa un ligero aumento de la temperatura en el día 5 que se relaciona con el inicio de la fase de crecimiento exponencial en la curva de crecimiento (Fig. 15). Estas variaciones se deben a las diferencias de temperaturas en el laboratorio durante los días de experimentación.

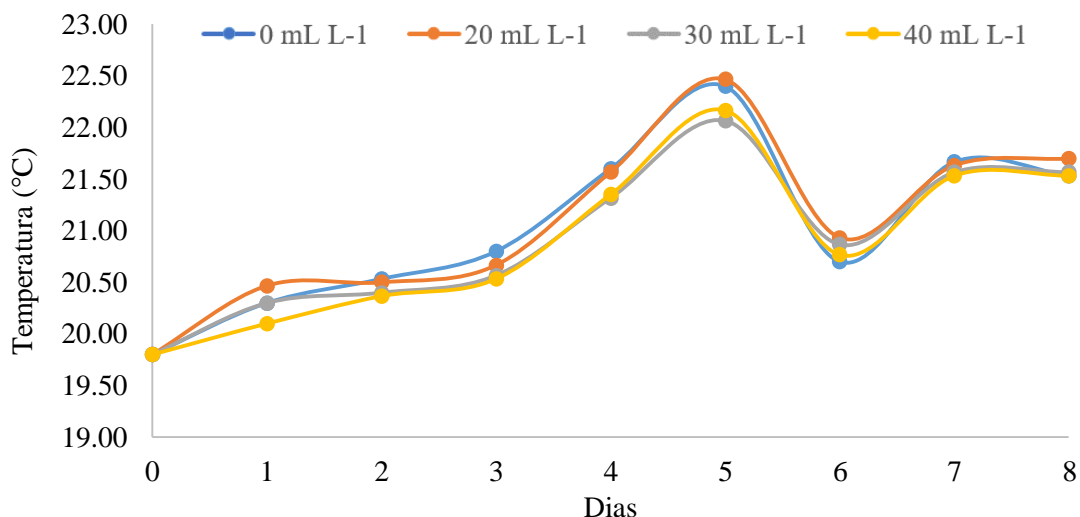


Figura 15. Variación de la temperatura en los cultivos de *S. platensis*.

El pH registrado durante el experimento fluctuó mayormente en los tratamientos experimentales, con valores iniciales  $10.07 \pm 0.06$ ,  $10.13 \pm 0.06$ ,  $10.13 \pm 0.06$  y  $9.37 \pm 0.12$ , en los controles y dosificados con 20, 30 y 40 mL L<sup>-1</sup> de EAL, habiéndose iniciado los cultivos con inoculos a pH de 9.1.

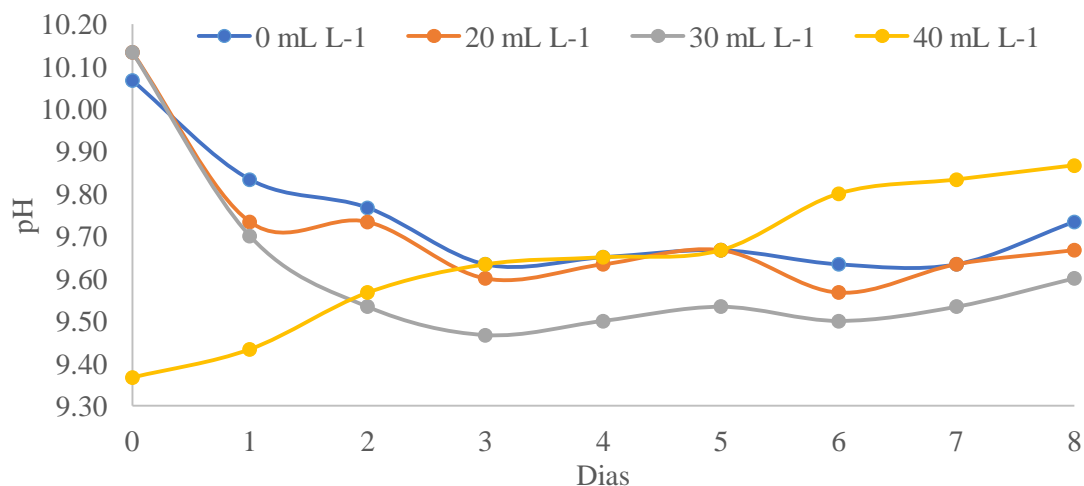


Figura 16. Variación del pH en los cultivos de *S. platensis*.

El inoculo (pH = 11.0) característico de *S. platensis* en fase exponencial, con que se logró los valores iniciales de pH anteriormente mencionados, y la adición del EAL (pH = 8.5) contribuyó al equilibrio del pH final del cultivo (Fig. 16), manteniendo un pH alcalino superior a 9.0 en el cultivo de *S. platensis*.



Las variaciones del pH de los cultivos estuvieron en el rango adecuado ( $\text{pH} > 9.0$ ) (Sami *et al.*, 2016) para asegurar un crecimiento continuo, con tendencia a disminuir, excepto en el tratamiento de  $40 \text{ mL L}^{-1}$ , que incrementa de  $9.40 \pm 0.06$  a  $9.87 \pm 0.06$ . Además, se ha observado que el contenido de ficocianina de los cultivos de *S. platensis* de los cultivos dosificados con el EAL fueron más altos que el control (Tabla 5), es decir, la producción de este pigmento aumenta con las dosis de EAL.

Tabla 5. Porcentaje de ficocianina de los cultivos de *S. platensis* al final del experimento (día 8).

EAL $\text{mL L}^{-1}$	Biomasa ( $\text{g L}^{-1}$ )	Ficocianina ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Ficocianina (%)
0	0.755	$78 \pm 0.4^a$	10.33
20	0.760	$91 \pm 0.2^b$	11.97
30	0.842	$95 \pm 0.1^{bc}$	11.28
40	0.716	$96 \pm 0.0^c$	13.41

Letras diferentes en una misma línea indican diferencia estadística significativa en un intervalo de confianza de 95%.

El análisis químico del EAL reveló alto contenido de nitrógeno amoniacal ( $890 \text{ mg L}^{-1}$ ) y niveles considerables de fósforo ( $3.26 \text{ mg L}^{-1}$ ). Con estos datos se estimó el contenido de nitrógeno y fósforo total de 0.73 y 0.101 g respectivamente; siendo la concentración del nitrógeno del EAL 4 veces más y ligeramente superior al fósforo en comparación al contenido en el medio control (0.184 g de N y 0.082 g de P). En ese sentido, el mayor crecimiento de los cultivos dosificados con el EAL se explica por el superior aporte de nutrientes.

Los parámetros determinados en el laboratorio, como pH, SDT, Salinidad y viscosidad, son adecuados para el crecimiento de *S. platensis*, destacando el pH ligeramente alcalino (Tabla 6).

Tabla 6. Características físico-químicas del extracto acuoso de lodo (EAL).

Parámetro	Medida	[ ] g.
pH	8.5	---
SDT $\text{mg L}^{-1}$	5.8	---
*Nitrógeno $\text{mg L}^{-1}$	890	0.73
*Fósforo $\text{mg L}^{-1}$	3.26	0.101
Salinidad (‰)	0.0	---

\*Valores obtenidos del análisis en COLECBI (Anexo 17).

Finalmente, el tratamiento térmico aplicado al lodo eliminó cualquier agente patógeno o contaminante que perturba el crecimiento de las microalgas y favorece la prevalencia de tricomas de mayor tamaño, lo cual es un indicador de buen crecimiento, como se observó en el tratamiento con 40 mL L<sup>-1</sup> (Fig. 17 D).

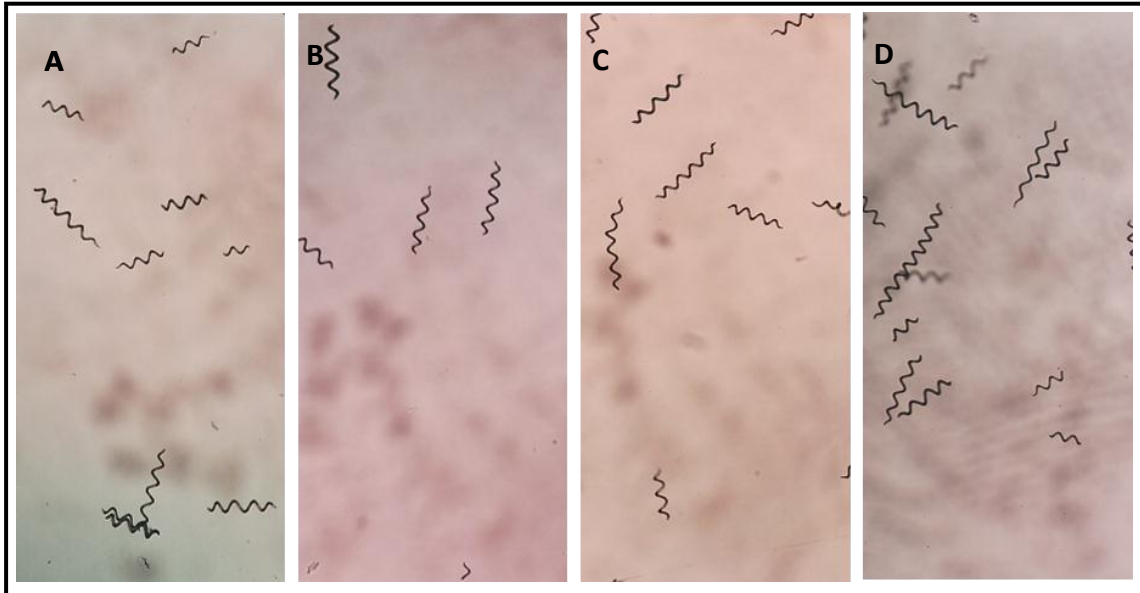


Figura 17. Cultivos de *S. platensis* (x10). A: Tricomas observados en el tratamiento control. B, C y D: tricomas observados en los tratamientos de 20, 30 y 40 mL L<sup>-1</sup>, respectivamente, presentaron mayor tamaño en longitud.

#### IV. DISCUSIÓN

El EAL presenta alto contenido de nitrógeno ( $890 \text{ mg L}^{-1}$ ) y fósforo ( $3.26 \text{ mg L}^{-1}$ ), nutrientes considerados muy importantes en el cultivo de microalgas. El nitrógeno es el principal sustrato para la síntesis de aminoácidos y proteínas que las microalgas requieren para su metabolismo (Bromke, 2013); el fósforo, en cambio, participa en los procesos bioquímicos relacionados al consumo y mantenimiento de la energía (ATP) y en la formación de estructuras moleculares como el ADN (Grobbelaar, 2004). Es por ello que ambos son necesarios para el mantenimiento de los cultivos de microalgas y su ausencia perjudica la dinámica del crecimiento.

Los altos contenidos de nitrógeno y fósforo en el medio de cultivo sugieren que este es altamente nutritivo para la producción de biomasa de *S. platensis*, la cual requiere una concentración de nitrógeno superior a  $625 \text{ mg L}^{-1}$  para su normal crecimiento (Qasim *et al.*, 2012). Estos requerimientos están relacionados al alto contenido proteico característico en esta especie (~70%) (Sharoba, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2015). Algunas investigaciones señalan que concentraciones de nitrógeno debajo de la indicada reducen el crecimiento de *Spirulina* (Van Rijn y Shilo, 1986; Li *et al.*, 2018); asimismo, se ha reportado que cultivos sin nitrógeno reducen el contenido de proteína y direccionan el metabolismo hacia la síntesis de lípidos en *S. platensis* (Uslu *et al.*, 2011), lo cual no es deseado, dado que las especies del género *Spirulina* son valoradas por su alto contenido de proteína.

En cuanto al contenido del fósforo, que fue de  $3.26 \text{ mg L}^{-1}$ , Markou (2012) sostiene que las condiciones limitantes de fósforo reducen la producción de proteínas en *S. platensis*, causado por la degradación de las proteínas para el mantenimiento energético; además, la síntesis de carbohidratos se dispara a concentraciones por debajo de  $0.4 \text{ mg}$  de fósforo por gramo de biomasa. De igual manera, Kalla y Khan (2016) señala que las condiciones limitantes de fosfatos en el medio, ocasionan alteraciones en la síntesis de pigmentos de *S. platensis*. A partir de estos datos y por los resultados obtenidos, podemos inferir que la concentración de fósforo en el EAL ( $3.26 \text{ mg L}^{-1}$ ) es adecuada para el cultivo de *Spirulina*.

En cuanto a la producción de biomasa, el máximo nivel de biomasa alcanzado de  $0.842 \text{ g L}^{-1}$  en los cultivos de *S. platensis*, empleando EAL, es mayor a los obtenidos con otros medios en otras especies de microalgas, por ejemplo, *Scenedesmus acutus*

alcanza valores de  $0.68 \text{ g L}^{-1}$  (Vásquez y Zavaleta, 2017) y *Chlorerlla vulgaris* valores de  $0.4 \text{ g L}^{-1}$  con medio Bold (López *et al.*, 2015). Asimismo, en *S. máxima*, se logran valores de  $0.609 \text{ g L}^{-1}$  y con un medio elaborado con vinasa de caña de azúcar, en un periodo de siete días (Do Santos *et al.*, 2016) y de  $0.73 \text{ g L}^{-1}$  en cultivos de 20 días (Pandey y Tiwari, 2010). Estos datos indican que los cultivos de *S. platensis* pueden ser más rentables utilizando EAL como medio de cultivo. En otras investigaciones se reporta mayor producción de biomasa empleando fuentes adicionales de carbono. Moraes *et al.*, (2018) lograron obtener hasta  $1.6 \text{ g L}^{-1}$  en cultivos de *S. platensis* suplementados con un flujo de  $\text{CO}_2$  del 12%. Dineshkumar *et al.* (2015), ha conseguido mejorar los rendimientos del cultivo de *S. platensis* con un medio enriquecido con melaza como fuente de carbono, en donde se obtuvo una biomasa de  $1.62 \text{ g L}^{-1}$ . Asimismo, Marquez *et al.* (1993), obtuvieron hasta  $2.521 \text{ g L}^{-1}$  en ~12 días, en cultivos heterotróficos con glucosa ( $2 \text{ g L}^{-1}$ ). Estos estudios indican que sería posible lograr alcanzar mayores producciones con el EAL dosificado con una fuente de carbono orgánica adicional.

En relación a los niveles de biomasa, se observó que los tratamientos experimentales presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) durante los días de cultivo, en donde el tratamiento con  $30 \text{ mL L}^{-1}$  supera a los demás a partir del día 2; lo cual indica una rápida adaptación de la microalga al medio. Sin embargo, destaca que durante el periodo comprendido entre el día 2 y 8, los tratamientos con  $20$  y  $30 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL no muestran diferencia significativa; además que, en el último día (día 8), ningún tratamiento mostró diferencia significativa. A partir de estos datos se puede hipotetizar que se podrían lograr mejores resultados a concentraciones superiores de a  $40 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL.

Por otra parte, es importante señalar que *S. platensis* es una microalga que habita en ambientes acuáticos altamente alcalinos (Reboleira *et al.*, 2019). Así pues, resulta imperativo establecer un pH óptimo en el medio, el cual no debe ser menor a 9.0 (Sami *et al.*, 2016). El medio Zarrouck (1996), se considera el más apropiado para lograr un balance adecuado en las cargas iónicas (tendientes a la alcalinidad) con el fin de estabilizar el pH en el cultivo de las especies del género *Spirulina*, en donde este suele mantenerse entre 9.1 y 11.0, debido a los carbonatos que contiene (carbonato de calcio, magnesio y bicarbonato de sodio) (Denishkumar *et al.*, 2016). En el experimento, el medio EAL se caracteriza por presentar un pH de 8.5, ligeramente

alcalino y superior al mínimo requerido para el mantenimiento del cultivo de *S. platensis* (Sami *et al.*, 2016), no obstante, este valor de pH no sería el más adecuado para lograr un crecimiento constante.

Sin embargo, es importante considerar que el pH del inóculo con el que se trabajó presentó un valor altamente alcalino de pH = 11.0 (característico en los cultivos de *Spirulina* en fase exponencial), el cual al ser inoculado junto con el EAL tiende a equilibrar el pH del medio. Bajo este enfoque, en este experimento se ha logrado obtener niveles de pH entre 9.37 a 10.13 utilizando el EAL en los cultivos iniciales, ello a consecuencia de la mezcla del inóculo (pH =11.0) y el medio acuoso que se preparó con el EAL (pH=8.5). El manejo del pH bajo esta metodología no ha sido descrito con anterioridad, por lo que resultaría una estrategia interesante a tomar en consideración en la realización de cultivos de *S. platensis* a mayor escala.

Además, durante el experimento, se ha observado una dinámica particular en las fluctuaciones de pH. En los tratamientos de 20, y 30 mL L<sup>-1</sup> de EAL y control, se observó una leve reducción del pH, que tiende a estabilizarse a partir del día 2. Contrariamente, en los cultivos dosificados con 40 mL L<sup>-1</sup> de EAL el pH tiende a subir, lo cual puede ser atribuido a las mejores condiciones nutricionales del medio (a mayor cantidad de EAL mayor disponibilidad de nutrientes) y el buen metabolismo inherente a este hecho. Sin embargo, para ambos tratamientos, los niveles de pH se han mantenido dentro de los adecuados para la especie (Denishkumar *et al.*, 2016; Sami *et al.*, 2016).

Otro aspecto relacionado al mantenimiento de un pH adecuado para el cultivo de microalgas es que su variación tiene un efecto a nivel de membrana celular (Ritchie, 1991). Las membranas de las células de microalgas se encuentran cargadas negativamente en la parte extracelular, lo cual es importante en el mantenimiento del intercambio iónico, dado que estos procesos son los que rigen el paso de nutrientes del medio extracelular al intracelular, y por tanto están ligados a la adquisición de nutrientes para las células y su metabolismo (Lavoie *et al.*, 2012). Por consiguiente, niveles de pH fuera del rango de tolerancia conducen a desequilibrios en el potencial de membrana, modificando la actividad metabólica de las microalgas. Este efecto no se ha evidenciado durante el experimento ya que el cultivo se mantuvo creciendo constantemente hasta el último día.

Asimismo, se ha descrito que el mantenimiento del potencial de membrana en las microalgas es relevante para evitar la unión o enrollamiento en algunas especies que presentan estructuras morfológicas diversas, ya que ello conduce a que las células agrupadas precipiten por su peso (Wu *et al.*, 2012). La especie estudiada presenta una morfología en forma de espiral, lo cual hace suponer la facilidad con la que estas células pueden ser floculadas; es por ello que el mantenimiento adecuado del pH es fundamental. Aunque, por otra parte, este hecho puede ser ventajoso para la realización de la cosecha de las microalgas (Krishna, 2018).

Otro aspecto característico en la microalga *S. platensis* es la temperatura a la que se ha adaptado. La temperatura ideal para el cultivo de las especies del género *Spirulina* está entre 30 a 35 °C (Torzillo y Vonshak, 1994; Rafiqu islam *et al.*, 2003; Uslu, 2009) y es debido que estas especies son organismos primitivos con características procariotas y eucariotas (Shabana y Arabi, 2012). Durante el experimento, no se ha observado fluctuaciones de temperatura significativas, dada las características de confinamiento en el laboratorio (Fig. 15). Sin embargo, es importante mencionar que las temperaturas registradas (entre 19.8 y 22.6 °C) son relativamente bajas y se encuentran por muy debajo del óptimo para la especie (Rafiqu islam *et al.*, 2003), pues la temperatura se relaciona directamente con la producción de biomasa de microalgas (Singh y Singh, 2015). Colla *et al.* (2007) reportan que temperaturas de 30 °C reducen el contenido de antioxidantes en *Spirulina*. Por otro lado, Torzillo *et al.* (1991) afirma que el crecimiento de *S. platensis* se reduce en un 23% a una temperatura de 25°C.

En la investigación, la temperatura, al estar por debajo del óptimo para esta especie, sugieren que la dinámica del cultivo ha sido afectada, lo cual concuerda con la curva de biomasa (Fig. 13) en la que se observa una fase lag prolongada. No obstante, los niveles de biomasa alcanzados son significativos y mayores a los reportados en otras especies (López *et al.*, 2015; Vásquez y Zavaleta, 2017).

Los resultados de biomasa podrían ser mejorados en condiciones de temperatura óptima en sistemas de invernadero. Aunque, se debe considerar que, en condiciones al aire libre, las temperaturas suelen ser bajas en invierno, en cuyo periodo el cultivo puede verse afectado por la contaminación de otras microalgas como *Chlorella* sp. (Vonshak *et al.*, 1983). En ese sentido, estos datos podrían tomarse como referenciales para la producción de *S. plantensis* durante estas épocas.

Es importante señalar que, en esta investigación se planteó trabajar modificando las condiciones habituales de crecimiento de *S. platensis*, mediante su adecuación a un ambiente salobre, ello con el fin de mejorar los niveles de producción de ficocianina. Sin embargo, no se ha observado que la salinidad tenga una relación directa con la producción de ficocianina de esta especie. Además, las fluctuaciones del pH que se han registrado durante el cultivo, puedan estar relacionadas al incremento de la salinidad (hasta 20 ‰) en el medio. Los niveles de ficocianina (10.33 a 13.41 %) en los cultivos de *S. platensis* se encuentran dentro del promedio reportado por Becker (1994) y Simpure *et al.* (2005), quienes señalan que, en condiciones normales de cultivo, se puede obtener entre 9 y 15% de ficocianina por gramo de biomasa seca.

Sin embargo, se destaca la concentración de 96 mg L<sup>-1</sup> de ficocianina, que representa el 13% de la biomasa seca, obtenida con el tratamiento de 40 mL L<sup>-1</sup> de EAL. Si bien, el nivel de biomasa obtenido con esta concentración no ha sido el más alto a comparación con los demás tratamientos, se infiere que la mayor disponibilidad de nutrientes contenidos en el medio, nitrógeno y fósforo principalmente, ha permitido mayor síntesis de este pigmento. Esto es señalado también por Kalla y Khan (2016), quienes indican que las condiciones limitantes de nutrientes, principalmente fósforo, afectan la síntesis de pigmentos.

Finalmente, la ausencia de organismos contaminantes y competidores, como protozoarios, en los cultivos de *S. platensis* con EAL, demuestra la eficacia del tratamiento térmico aplicado al lodo de la Bahía “El Ferrol” y el óptimo aprovechamiento de los nutrientes.

## V. CONCLUSIONES

- La mayor producción de biomasa y tasa de crecimiento ( $\mu$ ) ( $0.842 \pm 0.055 \text{ g L}^{-1}$  y  $0.068 \pm 0.007$  respectivamente) se obtuvo con el tratamiento de  $30 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL. No se observó diferencia estadística significativa con respecto a los demás tratamientos en el día 8.
- Los niveles de ficocianina obtenidos son inferiores a los reportados en otras investigaciones. Se destaca la mayor producción de este pigmento en el tratamiento con  $40 \text{ mL L}^{-1}$  de EAL.

## VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar el extracto acuoso de lodo en cultivos de *S. platensis* en condiciones al aire libre.
- Evaluar la efectividad del extracto acuoso de lodo en otras especies del género *Spirulina*.
- Evaluar el efecto del extracto acuoso de lodo en cultivos batch, continuos y semicontinuos con la finalidad de establecer una metodología adecuada para la producción masiva de *S. platensis*.
- Determinar la presencia de agentes contaminantes en el extracto acuoso de lodo, como por ejemplo metales pesados.
- Realizar un estudio para determinar la factibilidad comercial y económica del EAL en cultivos masivos.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ación F., E. Molina, J. Fernández, M. Barbosa, L. Gouveia, C. Sepúlveda, J. Bazaes y Z. Arbib. 2017. Microalgae-based biofuels and bioproducts: economics of microalgae production. Woodhead Publishing Series in Energy. University of Antofagasta, Antofagasta, Chile. 485-503 p.
- Becker E. 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology. En J. Baddiley, N. Carey, I. Higgins & W. Potter (Ed.), Studies in biotechnology. London: Cambridge University Press. 111-195 p.
- Belay A. 2002. The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic suplement in health management. The Journal of the American Nutraceutical Association 5(2): 27-47 p.
- Bermeo L. 2011. Estudio del cosechado de cultivo de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado. Universidad Técnica Particular de Loja. Cádiz
- Boussiba S. y A. Richmond. 1979. Isolation and purification of phycocyanins from the blue green algae *Spirulina platensis*. Arch Microbiol 120: 155-159 p.
- Bromke M. 2013. Amino acid biosynthesis pathways in diatoms. Metabolites 3: 294-311 p.
- Cañavate J. 2009. Una visión integrada sobre el cultivo de microalgas para producción de biocombustible. IFAPA Centro el Toruño. Instituto de investigación y Formación Agraria, Pesquera y de la producción Ecológica. Puerto Santa María Cádiz – España. Pág. 4.
- Cañavate J. 2011. Funciones de las microalgas en la acuicultura. IFAPA Centro El Toruno. Puerto de Santa María. Cádiz - España. Pág. 197 p.
- Chacón C., C. Andrade, C. Cárdenas, I. Araujo & E. Morales. 2006. Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remoción de nitrógeno, fosforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias. Univ. Zulia -Maracaibo, Estado Zulia. p. 13.
- Cerna F. y C. Bocanegra. 2012. Contaminación de la Bahía “El Ferrol” con aguas residuales domésticas y Propuesta de Gestión Ambiental. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Trujillo. 114 p.
- Chapman R. 2010. Algae: the world’s most important “plants”—an introduction. Mitigation and adaptation strategies for global change, 18(1), 5–12. doi:10.1007/s11027-010-9255-9
- Dávila E. y R. Dávila. 2016. Efecto de tres concentraciones de 5, 10 y 15 mL L<sup>-1</sup> de extracto acuoso de lodo de la bahía “El Ferrol” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales, de la microalga *Tetraselmis suecica* en condiciones de laboratorio Tesis de Bachiller. Universidad Nacional del Santa. 30 p.

- De Philipis R. y M. Vincenzini. 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *F.E.M.S. Microbiol. Rev.* 22: 151-175 p.
- Demishkumar R., R. Narendran y P. Sampathkumar. 2016. Cultivation of *Spirulina platensis* in different selective media. *Indian Journal of Geo Marine Science* 45(12): 1749-1754 p.
- Devendra K., D. Dolly, P. Sunil, K. Neeraj y W.Suresh. 2014. Extraction and purification of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* (CCC540). *Ind J Plant Physiol.* 19(2): 184–188 p.
- Dineshkumar R., P. Umamageswari, P. Jayasingam y P. Sampathkumar. 2015. Enhance the growth of *Spirulina platensis* using molasses as organic additives. *World Journal of Pharmaceutical Research* 4(6): 1057-1066 p.
- Dominic, V. y M. Nisha. 2009. Eficiencia biorremediación de tres algas. *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis* y *Gloeocapsa*. *Revisión Académica* 16 (1-2): 138-146.
- Dos Santos R., O. Araújo, J. de Medeiros y R. Chaloub. 2016. Cultivation of *Spirulina maxima* in medium supplemented with sugarcane vinasse. *Bioresource Technology* 204: 38–48 p.
- Douskova, I. y V. Zachleder. 2010. La utilización de la vinaza de destilería para la generación de energía y la producción simultanea de valiosa biomasa de microalgas en la secuencia: biogás productos de microalgas de cogeneración. *Conversión de energía y la gestión.* 51: 606-611 p.
- FAO. 2008. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular* No. 1034. 1- 41 p.
- Fernández M. y C. Paredes. 2007. Efecto del extracto de ensilado de pescado y urea en el crecimiento poblacional y contenido de carbohidratos y lípidos de la microalga *Tetraselmis suecica* cultivada en condiciones de laboratorio. Tesis de Bachiller. Universidad Nacional del Santa. Nuevo Chimbote - Perú. 62 p.
- García C., Z. Arbib y J. Perales. 2015. Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con diferentes niveles de tratamiento. *Tecnologías y Ciencias del Agua* 6 (1): 49-68 p.
- Garibay A., R. Vasquez-Duhalt, M. Sánchez, L. Serrano y A. Martínez. 2009. Biodiesel a partir de Microalgas. *Biotechnología.* 13 (3): 38-61.
- Gómez L. 2007. Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. Laboratorio de Ecotoxicología Marina, Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Universidad de Oriente. *Revista Cubana de Química* 19(2): 9 p.
- Gopal M., C. Sayantan, H. Shoab, R. Prashanth, A. Selvam y G. Sibi. 2018. Microalgae harvesting via flocculation: impact of pH, algae species and biomass concentration. *Methods of Microbiology and Molecular Biology* 1(2): 1-5.

- Grobbelaar J. 2004. Algal nutrition: Mineral nutrition. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology; Blackwell Science Ltd.: Oxford, UK. 97-115 p.
- Guillén O., E. Cárcamo, W. Arévalo y S. Iglesias. 1998. Monitoreo e Impacto Ambiental de la Contaminación de la Bahía Ferrol. Rev. del Instituto de Investigación (RIIGEO), FIGMMG-UNMSM 1(2): 13 p.
- Gutiérrez G., L. Fabila y G. Chamorro. 2015. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*). Nutrición Hospitalaria 32(1): 34-40 p.
- Hernández A., I. Alfaro y R. Arrieta. 2003. Microbiología Industrial. Universidad de Costa Rica. Edit. EUNED. San José, Costa Rica. 25 – 26 p.
- Hoffmann L. 1988. Criteria for the classification of blue-green algae at the genus and at the species level. Archives of Hydrobiology / Algological Studies 50: 131-139 p.
- IMARPE. 2008. Evaluación ambiental en zonas marino costeras del Perú. 2002, 2003 y 2004. Informe ISSN 0378-7702, 35(1): 1-78 p.
- Kalla N. y S. Khan. 2016. Effect of variable salinity and phosphorus culture conditions on growth and pigment content of *Chlorella vulgaris*. Indian Journal of Science and Technology 9(28): 1-7 p.
- Li X., W. Li, J. Zhai y H. Wei. 2018. Effect of nitrogen limitation on biochemical composition and photosynthetic performance for fed-batch mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis*. Bioresource Technology 263: 555–561 p.
- Licet, B. 2008. Cultivo de *Arthrospira platensis* (División Cyanophita) a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno como estrategia para modificar su composición bioquímica. Tesis Magister. Universidad de Oriente, Venezuela. 84p.
- Lopez F., L. Moraña y M. Salusso. 2015. Aislamiento, identificación y cultivo de *Chlorella vulgaris* con potencial para suplemento nutricional de peces. X Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA. 819-823 p.
- López J. & E. Pantoja. 2016. Crecimiento poblacional y contenido de  $\beta$ -caroteno de *Dunaliella salina* cultivada en laboratorio a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 mL L<sup>-1</sup>) de extracto de lodo proveniente de un cultivo de *Argopecten purpuratus*. Tesis de Bachiller. Universidad Nacional del Santa. 16 p.
- Madhyastha H. y T. Vatsala. 2007. Pigment production in *Spirulina fusciformis* in different photophysical conditions. Biomolecular Engineering 24: 301–305 p.
- Marchetti J., G. Bougaran, L. Le Dean, C. Mégrier E. Lukomska, R. Kaas, E. Olivo, R. Baron, R. Robert y J. Cadoret. 2012. Optimizing conditions for the continuous culture of *Isochrysis affinis galbana* relevant to commercial hatcheries. Aquaculture 326-329(0):106-115.

- Markou G. 2012. Alteration of the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis* under various amounts of limited phosphorus. *Bioresource Technology*, 116: 533–535 p.
- Medina A., P. Piña, M. Nieves, J. Arzola y M. Guerrero. 2012. La importancia de las microalgas. *Biodiversidad* 103: 1-5 p.
- Merino Moya F., L. Encomendero Yopez. 2012. Producción de microalgas usando subproductos mariculturales. *Pueblo Continente* 23(2): 399 p.
- Mora R., J. Ortega y R. Moronta. 2004. Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella sp.* aislada de la represa de Tulé, Municipio Mara Estado Zulia, Venezuela. *Ciencia*. 12(2): 117-124 p.
- Moraes L., G. Martins, M. da Rosa y J. Vieira. 2018. Carbon dioxide biofixation and production of *Spirulina sp.* LEB 18 biomass with different concentrations of NaNO<sub>3</sub> and NaCl.
- Olguín E., S. Galicia, O. Angulo y E. Hernández. 2003. The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina sp.* (*Arthrospira*) grown on digested pig waste. *Bioresource Technol* 77(1): 19-24 p.
- Pandey J. y A. Tiwari. 2010. Optimization of biomass production of *Spirulina maxima*. *J. Algal Biomass Utln.* 1 (2): 20-32 p.
- Paniagua E., J. Michell., L. Voltolina., D. Bückle y F. Ramírez. 1986. Manual de metodología y alternativas para el cultivo de microalgas. Inst. cienc. del Mar y Limnol. México. 233p.
- Qureshi M. y A. Ali. 1996. *Spirulina platensis* exposure enhances macrophage phagocytic function in cats. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 18: 457-463 p.
- Qureshi M., J. Garlich y M. Kidd. 1996. Dietary *Spirulina platensis* enhances humoral and cell-mediated immune function in chickens. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 18: 465-476 p.
- Rafiq islam M., A. Hassan, G. Sulebele, C. Orosco y P. Roustain. 2003. Influence of temperature on growth and biochemical composition of *Spirulina platensis* and *S. fusiformis*. *Iranian Int. J. Sci.* 4(2): 97-106 p.
- Ramírez L. y R. Olvera. 2006. Uso tradicional y actual de *Spirulina sp.* (*Arthrospira sp.*). *Interciencia* 31(9): 657-663 p.
- Reboleira J., R. Freitas, S. Pinteus, J. Silva, C. Celso, R. Pedrosa y S. Bernardino. 2019. *Spirulina*. Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. 409 -4013 p.
- Ritchie R. 1991. Membrane potential and pH control in the Cyanobacterium *Synechococcus R-2 (Anacystis nidulans)* PCC 7942. *Journal of Plant Physiology* 137(4): 409-418 p.

- Rojas E., M. Ávila y G. Parada. 2012. Aplicación de estrategias nutricionales y su efecto en el crecimiento en el cultivo continuo de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). Lat. Am. J. Aquat. Res. 40(3): 763-771 p.
- Autónoma de Baja California Sur, México. 65p.
- Sami M., Y. El-Ayouty y M. Piercey. 2016. Role of pH on antioxidants production by *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. Brazilian journal of microbiology 47: 298–304 p.
- Shabana A. y S. Arabi, 2012. *Spirulina* - An overview. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 4(3): 9-15 p.
- Simpore J., F. Zongo, F. Kabore, D. Dansou, A. Bere, J. Nikiema, S. Pignatelli, D. Biondi, G. Ruberto y S. Musumeci. 2005. Nutrition rehabilitation of HIV-Infected and HIV-Negative undernourished children utilizing *Spirulina*. Annals of Nutrition and Metabolism 49: 373-380 p.
- Sharoba A. 2014. Nutritional value of spirulina and its use in the preparation of some complementary baby food formulas. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 20(4): 330-350 p.
- Sheehan J., T. Dunahay, J. Benemann y P. Roessler. 1998. A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program — biodiesel from algae. National Renewable Energy Laboratory. Report NREL/TP-580–24190.
- Singh S. y P. Singh. 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews (50): 431-444 p.
- Sivakuma R. y S. Rajendran. 2013. Growth measurement technique of microalgae. INT. J. CURR. SCI. 7: E 52-54.
- Thain, J. 1992. Growth of the algae *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica* in water and sediment elutriate samples from the German Bight. Mar. Ecol. Prog. Ser. 91:229-231.
- Torrentera L. y A. Tacón. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Documento FAO – Brasil, Brasilia. 7 – 40 p.
- Torzillo G. y A. Vonshak. 1994. Effect of light and temperature on the photosynthetic activity of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. Biomass and Bioenergy 6(5): 399-403 p.
- Torzillo G., A. Sacchi, R. Materassi y A. Richmond. 1991. Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. Journal of Applied Phycology 3: 103-109 p.
- Ulloa R. 2011. Inducción de productos bioactivos de la microalga marina *Tetraselmis suecica*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España. 220 p.

- Uslu L., O. Işık, S. Sayın, Y. Durmaz, T. Göksan y S. Gökpinar. The effect of temperature on protein and amino acid composition of *Spirulina platensis*. Su Ürünleri Dergisi 26 (2): 139-142 p.
- Uslu Z., O. Işık, K. Koç y T. Göksan. 2011. The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. African Journal of Biotechnology 10(3): 386-389 p.
- Van Rijn J. y M. Shilo. 1986. Nitrogen limitation in natural populations of cyanobacteria (*spirulina* and *oscillatoria spp.*) and its effect on macromolecular synthesis. Applied and Environmental Microbiology 52(2): 340-344 p.
- Vasquez E. y T. Zalaveta. 2017. Crecimiento poblacional y contenido de lípidos de la microalga *Scenedesmus acutus* cultivada con diferentes concentraciones de aguas residuales municipales en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. 1-58 p.
- Venkatamaran L. 1986. Blue-Green algae as biofertilizer. In: Handbook of Microalgal Mass Culture. ed. A. Richmond. C.R.C. Press Inc. Boca Raton, Florida. U.S.A. 455-472p.
- Ventosa A. & J. Nieto. 1995. Biotechnological aplicaciones and potentialities of halophilic microorganism. World J. Microbiol. Biotechnol. 11: 85-94 p.
- Vonshak A. 1997. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, cell-biology and biotechnology. UK Taylor & Francis Ltd, 1 Gunpowder Square, London. 8 p.
- Vonshak A., S. Boussiba, A. Abeliovich y A. Richmond. 1983. Production of *Spirulina* biomass: Maintenance of monoalgal culture outdoors. Biotechnology and Bioengineering, 25(2): 341–349 p.
- Zarrouk C. 1966, Contribution a l'étude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler. PhD thesis. University of Paris, France.

## VII. ANEXOS

Anexo 1. Prueba de normalidad de los datos.

Prueba Kolmogorov\_Smirnov para una muestra

		VAR001
<i>N</i>		108
<i>Parámetros Normal</i>	<i>Media</i>	527,34
	<i>Desviación Estándar</i>	159,52
<i>Diferencias Más Extremas</i>	<i>Absoluto</i>	,07
	<i>Positivo</i>	,07
	<i>Negativo</i>	-,07
<i>Z de Kolmogorov-Smirnov</i>		,73
<i>Sig. Asint. (2-colas)</i>		,661

Anexo 2. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 1.

**Descriptivos**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,276704	,0726972	,0419717	,096114	,457294	,2100	,3542
tratamiento 1	3	,351905	,0498640	,0287890	,228036	,475774	,2953	,3895
tratamiento 2	3	,413700	,0414450	,0239283	,310744	,516655	,3660	,4405
tratamiento 3	3	,349289	,0146476	,0084568	,312902	,385675	,3326	,3601
Total	12	,347899	,0658208	,0190008	,306079	,389720	,2100	,4405

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

crecimiento			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,826	3	8	,220

**ANOVA de un factor**

crecimiento					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,028	3	,009	3,882	,056
Intra-grupos	,019	8	,002		
Total	,048	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0752003	,0402151	,312	-,203983	,053583
	tratamiento 2	-,1369953*	,0402151	,038	-,265778	-,008212
	tratamiento 3	-,0725846	,0402151	,338	-,201368	,056198
tratamiento 1	tratamiento control	,0752003	,0402151	,312	-,053583	,203983
	tratamiento 2	-,0617950	,0402151	,461	-,190578	,066988
	tratamiento 3	,0026157	,0402151	1,000	-,126167	,131399
tratamiento 2	tratamiento control	,1369953*	,0402151	,038	,008212	,265778
	tratamiento 1	,0617950	,0402151	,461	-,066988	,190578
	tratamiento 3	,0644107	,0402151	,429	-,064372	,193194
tratamiento 3	tratamiento control	,0725846	,0402151	,338	-,056198	,201368
	tratamiento 1	-,0026157	,0402151	1,000	-,131399	,126167
	tratamiento 2	-,0644107	,0402151	,429	-,193194	,064372



### Anexo 3. Análisis estadístico la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 2.

#### Descriptivos

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,373484	,0185157	,0106901	,327488	,419479	,3532	,3895
tratamiento 1	3	,443453	,0740023	,0427252	,259621	,627285	,3826	,5258
tratamiento 2	3	,488246	,0264896	,0152938	,422442	,554050	,4621	,5151
tratamiento 3	3	,291744	,0176648	,0101988	,247863	,335626	,2796	,3120
Total	12	,399232	,0852549	,0246110	,345063	,453400	,2796	,5258

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,782	3	8	,059

#### ANOVA de un factor

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,066	3	,022	12,935	,002
Intra-grupos	,014	8	,002		
Total	,080	11			

### Pruebas post hoc

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0699689	,0337464	,240	-,178037	,038099
	tratamiento 2	-,1147621*	,0337464	,038	-,222830	-,006694
	tratamiento 3	,0817394	,0337464	,150	-,026328	,189807
tratamiento 1	tratamiento control	,0699689	,0337464	,240	-,038099	,178037
	tratamiento 2	-,0447932	,0337464	,573	-,152861	,063275
	tratamiento 3	,1517084*	,0337464	,009	,043640	,259776
tratamiento 2	tratamiento control	,1147621*	,0337464	,038	,006694	,222830
	tratamiento 1	,0447932	,0337464	,573	-,063275	,152861
	tratamiento 3	,1965016*	,0337464	,002	,088434	,304569
tratamiento 3	tratamiento control	-,0817394	,0337464	,150	-,189807	,026328
	tratamiento 1	-,1517084*	,0337464	,009	-,259776	-,043640
	tratamiento 2	-,1965016*	,0337464	,002	-,304569	-,088434

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 4. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 3.

**Descriptivos**

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,419585	,0407308	,0235160	,318404	,520766	,3728	,4474
tratamiento 1	3	,437240	,0527700	,0304668	,306153	,568328	,3905	,4945
tratamiento 2	3	,495112	,0156428	,0090314	,456253	,533971	,4846	,5131
tratamiento 3	3	,321171	,0020418	,0011789	,316098	,326243	,3189	,3228
Total	12	,418277	,0716487	,0206832	,372754	,463800	,3189	,5131

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,115	3	8	,049

**ANOVA de un factor**

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,047	3	,016	13,378	,002
Intra-grupos	,009	8	,001		
Total	,056	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0176557	,0279659	,919	-,107212	,071901
	tratamiento 2	-,0755272	,0279659	,101	-,165084	,014029
	tratamiento 3	,0984143*	,0279659	,032	,008858	,187971
tratamiento 1	tratamiento control	,0176557	,0279659	,919	-,071901	,107212
	tratamiento 2	-,0578715	,0279659	,241	-,147428	,031685
	tratamiento 3	,1160700*	,0279659	,014	,026513	,205627
tratamiento 2	tratamiento control	,0755272	,0279659	,101	-,014029	,165084
	tratamiento 1	,0578715	,0279659	,241	-,031685	,147428
	tratamiento 3	,1739415*	,0279659	,001	,084385	,263498
tratamiento 3	tratamiento control	-,0984143*	,0279659	,032	-,187971	-,008858
	tratamiento 1	-,1160700*	,0279659	,014	-,205627	-,026513
	tratamiento 2	-,1739415*	,0279659	,001	-,263498	-,084385

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 5. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 4.

**Descriptivos**

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,462907	,0310541	,0179291	,385764	,540049	,4302	,4920
tratamiento 1	3	,498545	,0351282	,0202813	,411282	,585808	,4587	,5249
tratamiento 2	3	,533039	,0441456	,0254875	,423375	,642703	,4822	,5616
tratamiento 3	3	,406016	,0066947	,0038652	,389386	,422646	,3983	,4106
Total	12	,475127	,0563008	,0162527	,439355	,510899	,3983	,5616

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,728	3	8	,114

**ANOVA de un factor**

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,026	3	,009	8,424	,007
Intra-grupos	,008	8	,001		
Total	,035	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0356384	,0264323	,561	-,120284	,049007
	tratamiento 2	-,0701324	,0264323	,108	-,154778	,014513
	tratamiento 3	,0568906	,0264323	,216	-,027755	,141536
tratamiento 1	tratamiento control	,0356384	,0264323	,561	-,049007	,120284
	tratamiento 2	-,0344940	,0264323	,585	-,119140	,050152
	tratamiento 3	,0925290*	,0264323	,033	,007883	,177175
tratamiento 2	tratamiento control	,0701324	,0264323	,108	-,014513	,154778
	tratamiento 1	,0344940	,0264323	,585	-,050152	,119140
	tratamiento 3	,1270231*	,0264323	,006	,042377	,211669
tratamiento 3	tratamiento control	-,0568906	,0264323	,216	-,141536	,027755
	tratamiento 1	-,0925290*	,0264323	,033	-,177175	-,007883
	tratamiento 2	-,1270231*	,0264323	,006	-,211669	-,042377

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 6. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 5.

**Descriptivos**

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,506229	,0339926	,0196256	,421786	,590671	,4856	,5455
tratamiento 1	3	,559850	,0355332	,0205151	,471580	,648119	,5268	,5974
tratamiento 2	3	,570966	,0812824	,0469284	,369050	,772883	,4797	,6357
tratamiento 3	3	,487592	,0118925	,0068661	,458049	,517134	,4748	,4984
Total	12	,531159	,0548675	,0158389	,496298	,566020	,4748	,6357

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,764	3	8	,059

**ANOVA de un factor**

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,015	3	,005	2,150	,172
Intra-grupos	,018	8	,002		
Total	,033	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0536211	,0390861	,548	-,178789	,071547
	tratamiento 2	-,0647376	,0390861	,403	-,189905	,060430
	tratamiento 3	,0186366	,0390861	,962	-,106531	,143804
tratamiento 1	tratamiento control	,0536211	,0390861	,548	-,071547	,178789
	tratamiento 2	-,0111166	,0390861	,991	-,136284	,114051
	tratamiento 3	,0722576	,0390861	,320	-,052910	,197425
tratamiento 2	tratamiento control	,0647376	,0390861	,403	-,060430	,189905
	tratamiento 1	,0111166	,0390861	,991	-,114051	,136284
	tratamiento 3	,0833742	,0390861	,222	-,041793	,208542
tratamiento 3	tratamiento control	-,0186366	,0390861	,962	-,143804	,106531
	tratamiento 1	-,0722576	,0390861	,320	-,197425	,052910
	tratamiento 2	-,0833742	,0390861	,222	-,208542	,041793

Anexo 7. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 6.

**Descriptivos**

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,574563	,1163248	,0671602	,285596	,863530	,4797	,7044
tratamiento 1	3	,582737	,0315713	,0182277	,504309	,661164	,5572	,6180
tratamiento 2	3	,673958	,0847817	,0489487	,463348	,884567	,5847	,7534
tratamiento 3	3	,563119	,0153217	,0088460	,525058	,601180	,5455	,5729
Total	12	,598594	,0781625	,0225636	,548932	,648256	,4797	,7534

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,205	3	8	,083

**ANOVA de un factor**

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,023	3	,008	1,415	,308
Intra-grupos	,044	8	,005		
Total	,067	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0081739	,0604854	,999	-,201869	,185522
	tratamiento 2	-,0993951	,0604854	,409	-,293091	,094300
	tratamiento 3	,0114435	,0604854	,997	-,182252	,205139
tratamiento 1	tratamiento control	,0081739	,0604854	,999	-,185522	,201869
	tratamiento 2	-,0912212	,0604854	,476	-,284917	,102474
	tratamiento 3	,0196175	,0604854	,987	-,174078	,213313
tratamiento 2	tratamiento control	,0993951	,0604854	,409	-,094300	,293091
	tratamiento 1	,0912212	,0604854	,476	-,102474	,284917
	tratamiento 3	,1108386	,0604854	,326	-,082857	,304534
tratamiento 3	tratamiento control	-,0114435	,0604854	,997	-,205139	,182252
	tratamiento 1	-,0196175	,0604854	,987	-,213313	,174078
	tratamiento 2	-,1108386	,0604854	,326	-,304534	,082857

## Anexo 8. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 7.

### Descriptivos

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,579140	,0764473	,0441369	,389235	,769046	,5160	,6641
tratamiento 1	3	,639627	,0845089	,0487912	,429695	,849559	,5523	,7210
tratamiento 2	3	,732810	,0426539	,0246262	,626852	,838768	,6995	,7809
tratamiento 3	3	,537943	,0280422	,0161902	,468283	,607604	,5072	,5621
Total	12	,622380	,0932533	,0269199	,563130	,681631	,5072	,7809

### Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,180	3	8	,377

### ANOVA de un factor

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,064	3	,021	5,514	,024
Intra-grupos	,031	8	,004		
Total	,096	11			

## Pruebas post hoc

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0604872	,0509766	,651	-,223732	,102758
	tratamiento 2	-,1536701	,0509766	,065	-,316915	,009575
	tratamiento 3	,0411967	,0509766	,849	-,122048	,204442
tratamiento 1	tratamiento control	,0604872	,0509766	,651	-,102758	,223732
	tratamiento 2	-,0931829	,0509766	,328	-,256428	,070062
	tratamiento 3	,1016838	,0509766	,266	-,061561	,264929
tratamiento 2	tratamiento control	,1536701	,0509766	,065	-,009575	,316915
	tratamiento 1	,0931829	,0509766	,328	-,070062	,256428
	tratamiento 3	,1948668*	,0509766	,021	,031622	,358112
tratamiento 3	tratamiento control	-,0411967	,0509766	,849	-,204442	,122048
	tratamiento 1	-,1016838	,0509766	,266	-,264929	,061561
	tratamiento 2	-,1948668*	,0509766	,021	-,358112	-,031622

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 9. Análisis estadístico de la producción de biomasa de *S. platensis* en el día 8.

**Descriptivos**

crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,755043	,1098680	,0634323	,482116	1,027971	,6906	,8819
tratamiento 1	3	,759948	,0927293	,0535373	,529595	,990300	,6534	,8221
tratamiento 2	3	,842341	,0545187	,0314764	,706909	,977773	,7809	,8848
tratamiento 3	3	,716135	,0128640	,0074271	,684179	,748091	,7024	,7279
Total	12	,768367	,0814421	,0235103	,716621	,820113	,6534	,8848

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,728	3	8	,035

**ANOVA de un factor**

crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,025	3	,008	1,420	,307
Intra-grupos	,048	8	,006		
Total	,073	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,0049044	,0629913	1,000	-,206625	,196816
	tratamiento 2	-,0872977	,0629913	,541	-,289018	,114423
	tratamiento 3	,0389080	,0629913	,924	-,162812	,240628
tratamiento 1	tratamiento control	,0049044	,0629913	1,000	-,196816	,206625
	tratamiento 2	-,0823933	,0629913	,583	-,284114	,119327
	tratamiento 3	,0438123	,0629913	,896	-,157908	,245533
tratamiento 2	tratamiento control	,0872977	,0629913	,541	-,114423	,289018
	tratamiento 1	,0823933	,0629913	,583	-,119327	,284114
	tratamiento 3	,1262057	,0629913	,263	-,075515	,327926
tratamiento 3	tratamiento control	-,0389080	,0629913	,924	-,240628	,162812
	tratamiento 1	-,0438123	,0629913	,896	-,245533	,157908
	tratamiento 2	-,1262057	,0629913	,263	-,327926	,075515

Anexo 10. Análisis estadístico del contenido de ficocianina en los cultivos de *S. platensis* en el día 8.

**Descriptivos**

ficocianina

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
tratamiento control	3	,07797	,003850	,002223	,06841	,08754	,075	,082
tratamiento 1	3	,09056	,001561	,000901	,08668	,09444	,089	,092
tratamiento 2	3	,09538	,001117	,000645	,09260	,09815	,094	,096
tratamiento 3	3	,09636	,000170	,000098	,09594	,09678	,096	,096
Total	12	,09007	,007862	,002270	,08507	,09506	,075	,096

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

ficocianina

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
5,730	3	8	,022

**ANOVA de un factor**

ficocianina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,001	3	,000	46,251	,000
Intra-grupos	,000	8	,000		
Total	,001	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: ficocianina

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
tratamiento control	tratamiento 1	-,012586*	,001758	,000	-,01821	-,00696
	tratamiento 2	-,017404*	,001758	,000	-,02303	-,01178
	tratamiento 3	-,018387*	,001758	,000	-,02402	-,01276
tratamiento 1	tratamiento control	,012586*	,001758	,000	,00696	,01821
	tratamiento 2	-,004818	,001758	,096	-,01045	,00081
	tratamiento 3	-,005801*	,001758	,044	-,01143	-,00017
tratamiento 2	tratamiento control	,017404*	,001758	,000	,01178	,02303
	tratamiento 1	,004818	,001758	,096	-,00081	,01045
	tratamiento 3	-,000983	,001758	,941	-,00661	,00465
tratamiento 3	tratamiento control	,018387*	,001758	,000	,01276	,02402
	tratamiento 1	,005801*	,001758	,044	,00017	,01143
	tratamiento 2	,000983	,001758	,941	-,00465	,00661

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.



Anexo 11. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento poblacional ( $\mu$ ) de *S. platensis*.

**Descriptivos**

tasa\_de\_crecimiento

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	,0567272	,01373350	,00792904	,0226113	,0908431	,04868	,07258
Tratamiento 1	3	,0573402	,01159116	,00669216	,0285462	,0861342	,04402	,06511
Tratamiento 2	3	,0676394	,00681483	,00393455	,0507104	,0845683	,05996	,07295
Tratamiento 3	3	,0518637	,00160800	,00092838	,0478692	,0558582	,05015	,05333
Total	12	,0583926	,01018027	,00293879	,0519244	,0648608	,04402	,07295

**Prueba de homogeneidad de varianzas**

tasa\_de\_crecimiento

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,728	3	8	,035

**ANOVA de un factor**

tasa\_de\_crecimiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,000	3	,000	1,420	,307
Intra-grupos	,001	8	,000		
Total	,001	11			

**Pruebas post hoc**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: tasa\_de\_crecimiento

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	-,00061305	,00787392	1,000	-,0258281	,0246020
	Tratamiento 2	-,01091221	,00787392	,541	-,0361273	,0143028
	Tratamiento 3	,00486350	,00787392	,924	-,0203516	,0300786
Tratamiento 1	Tratamiento control	,00061305	,00787392	1,000	-,0246020	,0258281
	Tratamiento 2	-,01029917	,00787392	,583	-,0355142	,0149159
	Tratamiento 3	,00547654	,00787392	,896	-,0197385	,0306916
Tratamiento 2	Tratamiento control	,01091221	,00787392	,541	-,0143028	,0361273
	Tratamiento 1	,01029917	,00787392	,583	-,0149159	,0355142
	Tratamiento 3	,01577571	,00787392	,263	-,0094393	,0409908
Tratamiento 3	Tratamiento control	-,00486350	,00787392	,924	-,0300786	,0203516
	Tratamiento 1	-,00547654	,00787392	,896	-,0306916	,0197385
	Tratamiento 2	-,01577571	,00787392	,263	-,0409908	,0094393

Anexo 12. Registro de la temperatura en los cultivos de *S. platensis*.

<b>Día</b>	<b>T<sub>C</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>C</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>C</sub>R<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>R<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>2</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>2</sub>R<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>R<sub>3</sub></b>
0	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8
1	20.1	20.4	20.4	20.6	20.4	20.4	20.4	20.4	20.1	20.1	20	20.2
2	20.6	20.5	20.5	20.4	20.6	20.5	20.5	20.6	20.3	20.2	20.4	20.5
3	20.9	20.7	20.8	20.7	20.8	20.5	20.7	20.4	20.6	20.5	20.5	20.6
4	21.6	21.6	21.6	21.55	21.7	21.45	21.35	21.3	21.3	21.45	21.2	21.4
5	22.3	22.5	22.4	22.4	22.6	22.4	22	22.2	22	22.4	21.9	22.2
6	20.8	20.6	20.8	20.9	21	20.9	20.8	20.8	21	20.8	20.7	20.8
7	21.7	21.8	21.5	21.7	21.7	21.5	21.7	21.3	21.7	21.9	21.2	21.5
8	21.3	21.5	21.8	21.7	21.8	21.6	21.7	21.5	21.5	21.8	21.4	21.4

Anexo 13. Registro del pH en los cultivos de *S. platensis*.

<b>Día</b>	<b>T<sub>C</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>C</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>C</sub>R<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>1</sub>R<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>2</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>2</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>2</sub>R<sub>3</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>R<sub>1</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>R<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>3</sub>R<sub>3</sub></b>
0	10.1	10.0	10.1	10.1	10.1	10.2	10.2	10.1	10.1	9.3	9.3	9.5
1	9.7	9.9	9.9	9.7	9.8	9.7	9.8	9.7	9.6	9.4	9.5	9.4
2	9.7	9.8	9.8	9.6	9.9	9.7	9.6	9.5	9.5	9.6	9.6	9.5
3	9.6	9.7	9.6	9.5	9.8	9.5	9.5	9.4	9.5	9.6	9.7	9.6
4	9.6	9.7	9.6	9.5	9.8	9.5	9.5	9.4	9.5	9.6	9.7	9.6
5	9.6	9.8	9.6	9.6	9.9	9.5	9.5	9.5	9.6	9.7	9.7	9.6
6	9.6	9.7	9.6	9.5	9.7	9.5	9.5	9.5	9.5	9.8	9.8	9.8
7	9.6	9.7	9.6	9.6	9.7	9.6	9.5	9.5	9.6	9.8	9.9	9.8
8	9.7	9.8	9.7	9.6	9.7	9.7	9.6	9.6	9.6	9.9	9.9	9.8

Anexo 14. Valores de absorbancias (540 nm) y pesos (g) utilizados para construir la curva de calibración.

Dato	Abs <sub>540</sub>	Peso (g)
1	0.263	0.19
2	0.387	0.40
3	0.587	0.61
4	0.91	0.82

Anexo 15. Absorbancias registradas (540 nm) durante el cultivo de *S. platensis*.

Día	T <sub>C</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>C</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>C</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>3</sub>
0	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329	0.329
1	0.383	0.293	0.236	0.419	0.323	0.400	0.471	0.395	0.465	0.389	0.384	0.361
2	0.407	0.419	0.382	0.558	0.412	0.452	0.547	0.519	0.493	0.34	0.307	0.311
3	0.402	0.469	0.478	0.526	0.42	0.457	0.516	0.519	0.545	0.35	0.351	0.347
4	0.460	0.523	0.497	0.557	0.489	0.544	0.513	0.594	0.588	0.428	0.440	0.439
5	0.519	0.578	0.517	0.588	0.559	0.631	0.511	0.67	0.631	0.506	0.53	0.521
6	0.511	0.74	0.572	0.606	0.59	0.652	0.618	0.79	0.719	0.604	0.606	0.578
7	0.59	0.699	0.548	0.68	0.585	0.757	0.735	0.818	0.754	0.577	0.595	0.539
8	0.726	0.921	0.728	0.842	0.688	0.86	0.900	0.924	0.818	0.754	0.738	0.764

Anexo 16. Registro de absorbancias (620 nm) a los extractos para el análisis de ficocianina de *S. platensis*.

T <sub>C</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>C</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>C</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>3</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>3</sub>
76.89	80.10	78.04	81.52	81.93	82.50	82.48	81.60	83.32	82.67	82.95	82.58

Anexo 17. Resultados del análisis de nitrógeno y fosforo al extracto acuoso de lodo (EAL).



**CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES**

**“COLECBI” S.A.C.**

REGISTRADO EN LA DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICAS Y DESARROLLO PESQUERO - PRODUCE

---

**CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES S.A.C.**

**INFORME DE ENSAYO N° 20190103-002**

Pág. 1 de 1

SOLICITADO POR	: BEATRIZ VERA PEDROZA
DIRECCIÓN	: MARLENE MENACHO FAJARDO
PRODUCTO DECLARADO	: Calle Independencia Mz. B <sup>2</sup> Lote 1 Villa Maria Nuevo Chimbote.
CANTIDAD DE MUESTRA, TIPO DE ENVASES	: AGUA DE LODO.
FECHA DE RECEPCIÓN	: 02 muestras; en bolsa de polietileno transparente cerrada.
FECHA DE INICIO DEL ENSAYO	: 2019-01-03
FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO	: 2019-01-03
CONDICIÓN DE LA MUESTRA	: 2019-01-14
ENSAYOS REALIZADOS EN	: En buen estado. Preservadas.
CÓDIGO COLECBI	: Laboratorio Físico Químico.
	: SS 190103-2

**RESULTADOS**

**ENSAYOS FÍSICO QUÍMICOS**

ENSAYOS	MUESTRA
	MEDIO DE CULTIVO DE LODO
(*) Nitrógeno Amoniacal (mg/L)	890
(*) Fósforo (P) (mg/L)	3,26

**METODOLOGÍA EMPLEADA**

Nitrógeno Amoniacal: APHA, AWWA and WEF/SM 22th Edition 2012 4500 NH<sub>3</sub> F

Fósforo : EPA 200.8

**NOTA:**

- Informe de ensayo emitido en base a resultados y toma de muestra realizados por COLECBI S.A.C.
- Muestreo realizado por el Área de Muestreo de COLECBI S.A.C.
- Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra ensayada.
- Estos resultados de ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Fecha de Emisión: Nuevo Chimbote, Enero 15 del 2019.

GVR/jms



A. Gustavo Vargas Ramos  
Gerente de Laboratorios  
C.B.P. 326  
COLECBI S.A.C.

LC-MP-HRIE  
Rev. 04  
Fecha 2015-11-30

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME SIN LA AUTORIZACIÓN ESCRITA DE COLECBI S.A.C.

**COLECBI S.A.C.**

Urb. Buenos Aires Mz. A - Lt. 7 | Etapa - Nuevo Chimbote - Teléfono: 043 310752  
 Celular: 998392893 - 998393974 - Apartado 127  
 e-mail: colecbi@speedy.com.pe / medioambiente\_colecbi@speedy.com.pe  
 Web: www.colecbi.com

# Informe de tesis 2019-Vera-Menacho

## INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE  
INTERNET

4%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

1

[repositorio.uns.edu.pe](http://repositorio.uns.edu.pe)

Fuente de Internet

7%

2

Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León

Trabajo del estudiante

2%

3

[hera.ugr.es](http://hera.ugr.es)

Fuente de Internet

1%

4

Submitted to Patricia Test Account

Trabajo del estudiante

1%

5

[riunet.upv.es](http://riunet.upv.es)

Fuente de Internet

1%

6

[cibnor.repositorioinstitucional.mx](http://cibnor.repositorioinstitucional.mx)

Fuente de Internet

1%

7

[revistas.utadeo.edu.co](http://revistas.utadeo.edu.co)

Fuente de Internet

1%