

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

**Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el
crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis*
(*Arthrospira platensis*) en cultivo batch**

Tesis para obtener el Título Profesional de Licenciado en Biotecnología

AUTORES:

Bach. Estrada Salvador, Luis Enrique

Bach. Lopez Farro, Henry Daniel

ASESOR:

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel

Nuevo Chimbote - Perú

2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

“Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) en cultivo batch”

Tesis para obtener el Título Profesional de Licenciado en Biotecnología

AUTORES:

Bach. Estrada Salvador, Luis Enrique

Bach. López Farro, Henry Daniel

Revisado y aprobado por el Asesor:

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel

DNI: 32733772

ID ORCID: 0000-0002-5056-0001

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOTECNOLOGÍA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

“Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) en cultivo batch”

Tesis para obtener el Título Profesional de Licenciado en Biotecnología

Revisado y aprobado por el Jurado Evaluador:

Dr. Capa Robles, William Robert
DNI: 32969285
ID ORCID: 0000-0003-3402-613X

Ms. Villanueva Carlos, José Manuel
DNI: 32733772
ID ORCID: 0000-0002-5056-0001

Dr. Lecca Zavaleta, Victor Eduardo
DNI: 42636735
ID ORCID: 0000-0002-3759-8128

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias, siendo las 12:00 horas del día 27 de diciembre de 2024, dando cumplimiento a la Resolución N° 421-2024-UNS-CFC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Willian Robert Capa Robles, teniendo como miembros al Dr. Víctor Eduardo Lecca Zavaleta (secretario) y al Ms. José Manuel Villanueva Carlos (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de **Licenciado en Biotecnología**, realizado por los tesisistas **Br. Luis Enrique Estrada Salvador** y **Br. Henry Daniel Lopez Farro**.

Los tesisistas sustentaron la tesis intitulada: "Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) en cultivo batch mediante el método de ruptura celular". Sin embargo, a sugerencia del jurado, el título de la tesis fue modificado, quedando como: "**Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) en cultivo batch**".

Terminada la sustentación, la tesisista respondió 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 **APROBADA**, asignándole un calificativo de **16 puntos**, según artículo 62° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 337-2024-CU-R-UNS).

Siendo las 13:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad.



.....
Dr. Willian Robert Capa Robles
Presidente



.....
Dr. Víctor Eduardo Lecca Zavaleta
Secretario



.....
Ms. José Manuel Villanueva Carlos
Integrante

Distribución: Integrantes JE (03), tesisistas (02) y archivo FC (02).

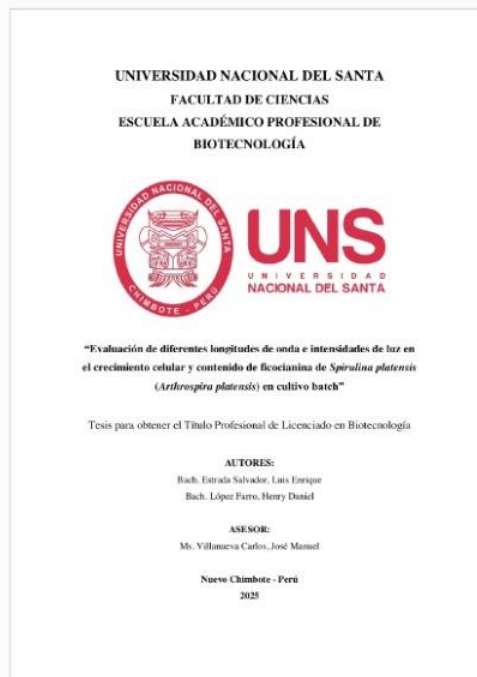


Recibo digital

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: Luis Enrique Estrada Salvador
Título del ejercicio: Quick Submit
Título de la entrega: Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades...
Nombre del archivo: Informe_de_titulaci_n_-_Estrada_Luis_y_Farro_Henry.docx
Tamaño del archivo: 5.06M
Total páginas: 90
Total de palabras: 21,438
Total de caracteres: 120,648
Fecha de entrega: 11-ene.-2025 09:41a. m. (UTC-0500)
Identificador de la entre... 2562506848



Evaluación de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) en cultivo batch

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%	9%	2%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	revistas.itm.edu.co Fuente de Internet	1%
3	ruc.udc.es Fuente de Internet	1%
4	ria.utn.edu.ar Fuente de Internet	1%
5	smbb.mx Fuente de Internet	<1%
6	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	docplayer.es Fuente de Internet	<1%
8	cdn.shopify.com Fuente de Internet	<1%

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a nuestros padres, por su amor y sacrificio en todos estos años para convertirnos en lo que somos ahora; a nuestro asesor, el Ms. Villanueva Carlos, José, que nos ha compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación, de nuestra profesión y ser nuestro guía durante el transcurso de este trabajo de investigación.

También dedicamos este trabajo de investigación a todos los que nos prestaron su ayuda, dándonos los mejores consejos, guiándonos y haciéndonos personas de bien, con todo nuestro afecto y amor se lo dedicamos.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Asimismo, agradecemos a nuestro asesor Ms. Villanueva Carlos, José y a nuestro profesor Dr. William Capa Robles por su gran ayuda colaboración en cada momento de consulta y soporte en este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	1
1.2. Objetivos.....	3
1.2.1. Objetivo general.....	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
1.3. Formulación de la hipótesis.....	3
1.4. Justificación e importancia.....	3
II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2. Marco conceptual.....	10
2.2.1. Mercado de Colorantes en la Industria Alimentaria del Perú.....	10
2.2.2. Pigmentos Cianobacteriales y Microalgales en la Industria de Alimentos.....	11
2.2.3. Fotobiorreactor Batch.....	12
2.2.4. Longitud de Onda de Luz orientado al cultivo cianobacterial.....	13
2.2.5. Intensidad de Luz orientado al cultivo cianobacterial.....	14
2.2.6. Género <i>Spirulina sp.</i> (<i>Athrospira sp.</i>).....	15
2.2.7. <i>S. platensis</i> (<i>A. platensis</i>).....	17
2.2.8. Ficobiliproteínas de <i>S. platensis</i> (<i>A. platensis</i>).....	18
2.2.9. Ficocianina de <i>S. platensis</i> (<i>A. platensis</i>).....	20
2.2.10. Impacto de la Ficocianina de <i>S. platensis</i> en la Salud Humana.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Sistema biológico.....	23
3.1.1. Factores ambientales.....	23
3.1.2. Inóculo.....	24
3.1.3. Preparación del medio Zarrouk.....	25
3.1.4. Evaluación de la cinética microbiana.....	25
3.1.5. Estructura del fotobiorreactor y control de parámetros de cultivo.....	26
3.1.6. Diseño experimental.....	27
3.1.7. Diagrama de flujo.....	29
3.2. Análisis estadístico.....	30
3.2.1. Análisis estadístico inductivo.....	30
3.2.2. Análisis estadístico descriptivo.....	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31

3.1.	Cinética microbiana.....	31
4.1.1.	Crecimiento celular.....	31
4.1.2.	Contenido de ficocianina	32
3.2.	Resumen del análisis de los resultados experimentales	34
3.3.	Comparación de modelos matemáticos	36
3.4.	Análisis estadístico	38
3.4.1.	Análisis inductivo o referencial.....	38
3.4.2.	Estadística descriptiva	46
3.5.	Mejor modelo matemático de ajuste	49
3.5.1	Logístico & Luedeking-Piret.....	49
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	51
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
VII.	ANEXOS.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organización estructural de las ficobilisomas.....	9
Figura 2. Estructura celular de la <i>Spirulina sp.</i>	17
Figura 3. Ubicación geográfica de la laguna Orovilca, en el desierto de Ica.	23
Figura 4. Flujograma metodológico del proceso de obtención de ficocianina de <i>S. platensis</i> (<i>A. platensis</i>)..	29
Figura 5. Crecimiento celular de <i>S. platensis</i> (<i>A. platensis</i> ; g/L y UFC X 10 ⁹ /L), a través del tiempo (6 días).....	31
Figura 6. Contenido de ficocianina (mg/l) a través del tiempo (6 días).	322
Figura 7. Carta de Pareto con término de error del ANOVA de SS residual, de la generación de biomasa (g/L)	38
Figura 8. Carta de Pareto con término de error del ANOVA de SS residual, del contenido de ficocianina (mg/L)	39
Figura 9. Probabilidad normal de la biomasa (g/L).....	41
Figura 10. Probabilidad normal del contenido de ficocianina (mg/L)	42
Figura 11. Valores observables vs valores predichos de la generación de biomasa (g/L)	42
Figura 12. Valores observables vs valores predichos de la ficocianina	43
Figura 13. Valores residuales vs valores predichos de la biomasa.....	43
Figura 14. Valores residuales vs valores predichos de la ficocianina	44
Figura 15. Superficie de respuestas de la generación de biomasa (g/L).....	44
Figura 16. Superficie de respuestas del contenido de ficocianina (mg/L).....	45
Figura 17. Caja y bigotes del rendimiento de producto sobre biomasa (Yp/X)	46
Figura 18. Caja y bigotes del rendimiento de generación de biomasa	47
Figura 19. Caja y bigotes del rendimiento del contenido de ficocianina	48
Figura 20. Ajuste del promedio de los datos del diseño experimental con el modelo matemático Logístico & Luedeking-Piret	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición bioquímica de <i>Spirulina sp.</i> -pigmentos	8
Tabla 2. Variables utilizadas en el modelo experimental: longitud de onda de luz (X1) e intensidad de luz (X2).	27
Tabla 3. Diseño factorial 3^3 , utilizando como factores: longitud de onda de luz (X1) e intensidad de luz (X2).	28
Tabla 4. Parámetros cinéticos estimados (u_{max} , $Y_{p/x}$, Q_x , Q_p) a partir de las variables independientes (longitud de onda e intensidad de luz) sobre el crecimiento celular (g/L) y contenido de ficocianina (mg/L)	34
Tabla 5. Capacidad de ajuste de los modelos matemáticos respecto a los datos experimentales.....	36
Tabla 6. ANOVA de la generación de biomasa (g/L).	39
Tabla 7. ANOVA del contenido de ficocianina (mg/L).	40
Tabla 8. Coeficiente de regresión de la biomasa (g/L).....	40
Tabla 9. Coeficiente de regresión de la ficocianina (mg/L).	41

RESUMEN

Evaluamos la influencia de diferentes longitudes de onda (560-590, 590-620 y 620-700 nm) e intensidades de luz (1, 5 y 8 Kilolux) en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). Utilizamos un diseño experimental 3^2 con dos repeticiones, realizando un total de 36 experimentos que incluyeron 9 experimentos con 3 controles comparados con luz blanca (400-700 nm) en cada nivel de intensidad de luz. Cada cultivo se realizó en medio Zarrouk (810 ml) inoculado con *S. platensis* al 10% (90 ml) del volumen total (900 ml), con una concentración promedio de 0.16 g/L o 3.42×10^9 UFC/L. Los parámetros de control fueron tiempo (9 días), fotoperiodo (18/6) y agitación por burbujeo (24 h a un caudal de 1.9 l/min). El análisis estadístico descriptivo, realizado en Python a través del diagrama de cajas y bigotes, mostró una baja variabilidad con distribución asimétrica negativa. El análisis inductivo, efectuado en STATISTICA, reveló un efecto significativo de la intensidad de luz de bajo nivel (-1), con una estimación ajustable ($R^2=0.96$ y R^2 ajustado=0.89, promedio). Se recomienda validar estos resultados con un diseño factorial con puntos centrales y un diseño Box-Behnken para optimizar las variables de respuesta. Los experimentos N° 5 y 3 mostraron los mejores resultados en los parámetros cinéticos relacionados con los rendimientos (μ_{\max} , $Y_{p/x}$) y productividades (Q_p y Q_x), mientras que los experimentos N° 2, 3 y 4 destacaron respecto a su control. El mejor resultado de generación de biomasa se obtuvo en el experimento N° 7 (1.36 g/L) y en el N° 4 (1.26 g/L) respecto al control. El contenido de ficocianina más alto se observó en el experimento N° 4 (48.6 mg/L). Finalmente, el modelo con mejor ajuste para los datos experimentales, determinado por Python, fue el Logístico & Ludeking-Piret, con un RMSE de 0.1157 y R^2 de 0.9931.

Palabras claves: *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*), ficocianina, longitud de onda de luz, intensidad de luz y fotobiorreactor.

ABSTRACT

We evaluated the influence of different wavelengths (560-590, 590-620, and 620-700 nm) and light intensities (1, 5, and 8 Kilolux) on cell growth and phycocyanin content of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). We used a 3^2 experimental design with two replications, conducting a total of 36 experiments that included 9 experiments with 3 controls compared to white light (400-700 nm) at each light intensity level. Each culture was performed in Zarrouk medium (810 ml) inoculated with *S. platensis* at 10% (90 ml) of the total volume (900 ml), with an average concentration of 0.16 g/L or 3.42×10^9 CFU/L. The control parameters were time (9 days), photoperiod (18/6), and bubbling agitation (24 h at a flow rate of 1.9 l/min). The descriptive statistical analysis, performed in Python using box-and-whisker plots, showed low variability with a negatively skewed distribution. The inductive analysis, conducted in STATISTICA, revealed a significant effect of low-level light intensity (-1), with an adjustable estimate ($R^2 = 0.96$ and adjusted $R^2 = 0.89$, on average). It is recommended to validate these results with a factorial design with central points and a Box-Behnken design to optimize the response variables. Experiments N° 5 and 3 showed the best results in kinetic parameters related to yields (μ_{\max} , $Y_{x/s}$, $Y_{p/x}$, $Y_{p/s}$) and productivities (Q_p y Q_x), while experiments N° 2 and 4 stood out compared to their control. The best biomass generation result was obtained in experiment N° 7 (1.36 g/L) and in N° 4 (1.26 g/L) compared to the control. The highest phycocyanin content was observed in experiment N° 4 (48.6 mg/L). Finally, the model with the best fit for the experimental data, determined by Python, was the Logistic & Ludeking-Piret, with an RMSE of 0.1157 and R^2 of 0.9931.

Keywords: *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*), phycocyanin, light wavelength, light intensity and photobioreactor.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción y formulación del problema

La *Spirulina platensis* también denominada *Arthrospira platensis*, es una cianobacteria relevante en la industria alimentaria y farmacéutica, sin embargo, aún no se ha investigado profundamente la influencia de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en sus procesos biológicos para mejorar la eficiencia de la generación de biomasa y metabolitos secundarios. Por ejemplo, aunque Fekrat (Fekrat, F. et al., 2022) busca optimizar las condiciones de luz, basándose en el hecho de que la *S. platensis* pertenece al grupo de cultivo fototrópico, y busca la dirección de la luz mediante sus vesículas de gas, solo se centra en la longitud de onda de luz, omitiendo otras variables como el fotoperiodo e intensidad de luz.

La luz influye directamente en la producción de energía de las cianobacterias, siendo transferida al centro de reacción para su conversión en energía química. En consecuencia, puede afectar la eficacia del proceso fotosintético y la formación de metabolitos secundarios (Jian-Fei, S. et al., 2023). Varios estudios sobre la influencia de la longitud de onda de luz, han encontrado que entre la luz amarilla (560-590 nm), anaranjada (590-620 nm) y roja (620-700 nm), la luz roja sobresalía por su transferencia a los centros de clorofila para una fotosíntesis en *S. platensis*.

Las longitudes de onda de la luz varían en función de la energía que transportan, lo que puede afectar la eficiencia del proceso fotosintético y la producción de compuestos como la ficocianina (Jian-Fei, S. et al., 2023). Estudios previos han demostrado que las longitudes de onda de luz amarilla (560-590 nm), anaranjada (590-620 nm) y roja (620-700 nm) tienen efectos diferentes sobre la actividad fotosintética y la acumulación de pigmentos. La luz roja, por ejemplo, se asocia generalmente con una mayor fotosíntesis en *S. platensis* debido a su absorción por los centros de clorofila, mientras que las luces amarilla y anaranjada tienen un efecto variable dependiendo de la intensidad de luz aplicada.

La intensidad de luz también es importante en la generación celular y la formación de ficocianina por *S. platensis*. Diversos estudios han encontrado que intensidades bajas o moderadas (1-5 kilolux) favorecen una mayor producción de pigmentos, como la ficocianina, mientras que intensidades muy altas (más de 8 kilolux) pueden generar un estrés fotoinhibitorio, reduciendo tanto el crecimiento celular como la

producción de metabolitos (Niangoran, N. U. F. et al., 2021). Este análisis explica como la saturación de luz, que ocurre cuando los centros de reacción no pueden procesar más fotones al estar todos ocupados, durante tiempos prolongados ocasiona daños en el fotosistema II (Anderson y Styring, 1991; Andersson, 1992, citado en Abalde et al., 1995, p. 24).

La aplicación del cultivo batch, como método para su posterior escalamiento, permite el control total de las fases de cultivo (latencia, exponencial, estacionario y muerte), siendo el más simple y de bajo costo para analizar nuestras variables de estudio, permitiendo controlar eficientemente los factores ambientales. De esta forma, se logra una mayor comprensión de los procesos biológicos, como lo realizó Herazo (Herazo, D. et al., 2023), al comprobar como la interacción correcta de longitud de onda e intensidad de luz, promueve una eficiente generación de biomasa y formación de producto. A este proceso, es importante añadir el tipo de ruptura celular (ultrasonido, molienda o shock térmico) durante la extracción de las ficobiliproteínas, para lograr una producción más eficaz

Para lograr un cultivo más eficiente, se plantea correlacionar la generación de biomasa con la formación de ficobiliproteínas, variando las longitudes de onda e intensidades de luz, de esta forma, obtendremos un panorama amplio de sus posibles influencias. En ese sentido Vega (Vega, N. A. & Rivera, C., 2022) encontró que una interacción adecuada entre estas variables mejoró la calidad y cantidad de ficociana.

En síntesis, estos estudios resaltan la importancia de profundizar en el estudio del efecto de la luz en la generación de biomasa y formación de ficocianina a partir cianobacterias, como *S. platensis*.

Por lo tanto, planteamos la siguiente pregunta: ¿Cuál será el efecto de diferentes longitudes de onda e intensidades de luz en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira plantesis*) en cultivo batch?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Analizar diferentes longitudes de onda (560-590, 590-620 y 620-700 nm) e intensidades de luz (1, 5 y 8 Kilolux) en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) en cultivo batch.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la longitud de onda (560-590, 590-620 y 620-700 nm) e intensidad de luz (1, 5 y 8 Kilolux), en el crecimiento celular y contenido de ficocianina de *S. platensis* en cultivo batch.
- Evaluar la generación de biomasa de *S. platensis* (X) y contenido de ficocianina (P).
- Corroborar el modelo matemático que mejor ajuste nuestros resultados.

1.3. Formulación de la hipótesis

Al evaluar diferentes cultivos batch, se obtuvo el mayor crecimiento celular y contenido de ficocianina de *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) empleando luz naranja (590-620 nm) y 1 Kilolux de intensidad de luz.

1.4. Justificación e importancia

El mercado de colorantes alimentarios sintéticos se proyecta para crecer a una tasa compuesta anual del 6% entre 2022 y 2032 (CISION, 2022). Este crecimiento conlleva un aumento en los problemas de salud asociados al consumo excesivo de estos colorantes, tales como alergias, neurotoxicidad y toxicidad, especialmente en niños (Laura Sepúlveda, 2023). Ante estos problemas, surge la necesidad de sustituir los colorantes sintéticos por alternativas más seguras, como los colorantes naturales en los alimentos.

Entre los colorantes naturales disponibles, el colorante azul de origen natural presenta desafíos significativos en su obtención. Este colorante se encuentra principalmente en antocianinas y en fuentes vegetales como plantas y cianobacterias, destacando especialmente la ficocianina (Denish et al., 2021). La *S. platensis* es una cianobacteria que resalta por su alto contenido de ficocianina, que representa aproximadamente el 20% de su materia seca. Además, se ha demostrado que esta cianobacteria puede ser cultivada eficientemente utilizando el espectro de luz roja, lo

que incrementa su biomasa (Vega-Contreras & Rivera-Caicedo, 2022) (Pérez-Rico et al., 2020).

Uno de los factores para maximizar la producción de metabolitos secundarios y generación de biomasa, es variar la longitud de onda de luz. Por ejemplo, Kusumaningtyas (Kusumaningtyas, P. et al., 2023) demostró que las longitudes de onda de luz amarilla (560-590 nm), anaranjada (590-620 nm) y roja (620-700 nm) tienen diferentes efectos en estos factores. La luz amarilla y anaranjada, es absorbida por los carotenoides, que protegen a la *S. platensis* del estrés oxidativo, mientras que otra parte de la energía química va a la generación de biomasa y formación de metabolitos secundarios (Herazo, D. et al., 2023). Mientras la luz roja, es absorbida más eficientemente por la fotosíntesis, siendo entre todos los espectros de luz analizados, el más eficaz. Es importante comprobar estos resultados para tener un conocimiento conciso del funcionamiento de los procesos biológicos de esta cianobacteria.

La influencia de la intensidad de luz es también importante en el cultivo, ya que su exceso resultaría en la saturación de luz por parte de los centros de reacción al llenarse de fotones. Y su prolongación induciría a la fotoinhibición, dañando proteínas esenciales como el D1 del PSII (Anderson y Styring, 1991; Andersson, 1992, citado en Abalde et al., 1995, p. 24). Al respecto, cultivos a bajas intensidades (1 kilolux), mantiene un crecimiento deficiente. Mientras a intensidades de 5 y 8 kilolux maximizan su producción de la tasa fotosintética al estar cerca del punto de saturación, aumentando la acumulación de biomasa y ficocianina (Vásquez, V. et al., 2017). Por ello es imperativo encontrar un equilibrio entre intensidad y fotoperiodo para evitar el estrés foto-oxidativo que reduzca la eficiencia de su producción (Maali, A. et al., 2024).

El estudio de la ficocianina es especialmente relevante, ya que los ficobilisomas de las cianobacterias tienen una capacidad superior para captar luz solar en comparación con las clorofilas y carotenoides. Esta característica podría permitir una producción más eficiente de ficocianina a longitudes de onda específicas, como 620 nm (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007).

Comprender mejor el impacto de la luz en la producción de ficocianina no solo enriquecerá el conocimiento científico en este campo, sino que también promoverá el desarrollo de líneas de colorantes naturales en Perú. Este avance tiene el potencial de ofrecer beneficios económicos y sociales significativos, especialmente para los consumidores locales. La optimización de la producción de ficocianina podría abrir oportunidades para su utilización como un agente farmacéutico, dado que presenta propiedades antioxidantes y antiproliferativas (Namasivayam et al., 2019).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Se han realizado estudios significativos en la Universidad Nacional del Santa sobre la cepa de *Spirulina sp.* en Perú que destacan su procedencia y características. Crisanto y Yataco (Crisanto-Madrid, G. B. & Yataco-Guevara, K. J., 2018) identifican que la cepa de *S. maxima* proviene del Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la E.A.P. Biología en Acuicultura de la Facultad de Ciencias de dicha universidad. Por otro lado, Menacho y Vera (Menacho-Fajardo, M. M., & Vera-Pedroza, B. A., 2019) reportan que la cepa *S. platensis* (IMP-BG-027) se obtiene del Instituto del Mar Peruano (IMARPE) en Lima. Estos estudios muestran una similitud con la presente investigación en cuanto a la institución que proporcionará la cepa. Sin embargo, se diferencia en la omisión del lugar geográfico de procedencia, siendo un aspecto relevante en la evaluación potencial de la zona en cuanto a recursos disponibles para la producción de ficocianina.

Respecto al efecto del espectro de luz en cianobacteras para la producción de ficocianina, estudios recientes han evaluado el impacto de diferentes longitudes de onda. Un artículo de la revista *TecnoLógicas* del Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM) de Medellín reporta que la cepa mutante salvaje *thalli* “tenían niveles más altos de ficocianina” (Kim, J. K. et al., 2015, como se citó en Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C., 2022, p. 8). Encontrando (Kim, J. K. et al., 2015) que esta cepa del mismo género y especie de *Gracilaria tikvahiae*, tuvo el mayor contenido de ficocianina cuando se cultivó bajo luz monocromática roja, alcanzando un contenido de ficocianina de ± 0.2 mg/G y un crecimiento celular del ± 12 % por día bajo condiciones de luz roja (Kim et al., 2015, como se cita en Vega-Contreras y Rivera-Caicedo, 2022, p. 8). Adicionalmente, Yu menciona que “la ficocianina aumentó para luz roja y violeta ya que *Nostoc flageliforme* tiende a absorber esta longitud de onda para la fotosíntesis” (Yu-Jie, D. et al., 2013, cómo se citó en Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C., 2022, p. 8). Hallando (Yu-Jie et al., 2013) que *N. flageliforme* incrementa la producción de ficocianina bajo luz roja y violeta, alcanzando un contenido de 6.95 mg/L.

Khan menciona que “*Pseudanabaena sp.* presentó afinidad con la luz roja para la producción de ficocianina” (Khan, Z. et al., 2019, como se citó en Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C. 2022, p. 10), mientras que Mishra reporta que *Pseudanabaena sp.*

“muestra al igual que otras investigaciones un alto rendimiento de producción de C-ficocianina con luz roja (14.9 mg/l) y menor en otras condiciones de luz” (Mishra, S. K. et al., 2012, como se citó en Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C., 2022, p. 10). Ambos estudios resaltan que *Pseudanabaena sp.* presenta una alta afinidad por la luz roja, generando el mayor contenido de ficocianina, aproximadamente 0.13 mg/G y 14.9 mg/L respectivamente, en cultivos bajo estas condiciones.

Asimismo, Wicaksono indica que “para *S. platensis* el contenido mínimo de ficocianina se presentó en el rosa (8.2 ± 1.2 %) y el máximo en la luz azul (17.6 ± 2.4 %)” (Wicaksono, H. A. et al., 2019, como se citó en Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C., 2022, p. 10). Este estudio también encontró (Wicaksono, H. A. et al., 2019) que *S. platensis* cultivada en luz roja incrementa tanto el crecimiento celular (0.5 g/L) como el contenido de ficocianina (5.1 mg/L). Por otro lado, Hua señala que “en las algas rojas, a menudo se encuentra que la luz azul estimula la síntesis de ficobiliproteínas más que la luz roja” (Hua-Bing, C. et al., 2010, como se citó en Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C., 2022, p. 10). En ese sentido, se observó que la cepa *S. platensis* (ATCC 29408) cultivado en luz roja aumenta el crecimiento celular (0.36 g/l) y el contenido de ficocianina (± 0.07 g/l) (Hua-Bing, C. et al., 2010).

Esta serie de estudios concluye que *S. platensis* es la cianobacteria de mayor relevancia comercial y de investigación por su alto rendimiento en la producción de ficocianina, especialmente bajo luz roja, asociada con un incremento en la biomasa (Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C., 2022). La presente investigación se alinea con estos hallazgos al sistematizar parámetros de cultivo para microalgas y cianobacterias con potencial biotecnológico, enfocándose en la ficocianina como aditivo natural en la industria alimenticia, aunque se diferenciará al no evaluar el efecto del espectro de luz anaranjado sobre el crecimiento celular y contenido de ficocianina en *S. platensis*.

La *S. platensis* ha demostrado un notable potencial biotecnológico desde su aislamiento por Turpin en 1827. Por ejemplo, Gómez (Gómez-Hermoso, F., 2015) documentó como su capacidad adaptativa a ambientes hostiles y de formación de metabolitos secundarios va en aumento. Redactado en un artículo de la Fundación para el Conocimiento Madri+d, su importancia en proyectos de investigación y desarrollo, mientras que la revista *INTERCIENCIA*, publicado por el Instituto Politécnico Nacional de México, investigó su

uso tradicional y actual, resaltando la ficocianina como producto farmacológico y como aditivo alimentario, explicando algunas funciones de sus componentes celulares como vesículas de gas, gránulos de glucógeno y lípidos, y cuerpos de polifosfato (Ramírez-Moreno y Olvera-Ramírez, 2006).

Tabla 1

Composición bioquímica de Spirulina sp.-pigmentos

Compuesto		Contenido (%)	
Pigmentos	Clorofila a	0,8 – 1,5	
	Carotenoides	β -caroteno	15
		Equinenona	11 – 13
		b-criptoxantina	6 – 8
		3'-hidroxiequinenona	7 – 11
		Zeaxantina	25
		Diatoxantina	5
		Cantaxantina	5
		Mixoxantofila	13 – 17
		Oscillaxantina	3 – 5
		Total	0,648
	No identificados	3 – 4	
	Ficocianina	16 – 20	
	Total	6 *	

Nota. * % en base al peso seco de la biomasa. FUENTE: (Ramírez-Moreno, L. & Olvera-Ramírez, R., 2006).

Esta investigación resalta el impacto de la *S. platensis* en las industria farmacológica y alimentaria, orientándose en la ficocianina, como principal metabolito secundario. Además, se analizan otros metabolitos como los carotenoides y los lípidos. Sin embargo, no se aborda completamente el mercado actual de los fotopigmento como aditivos alimentarios en la industria alimentaria.

La evaluación del proceso de producción de ficocianina revela que variaciones en la exposición a la luz, incluyendo el fotoperiodo y la longitud de onda, pueden incrementar la producción de pigmentos en microalgas y cianobacterias. En este sentido, Raeisossadati et al. (2019), como se cita en Portillo y Jiménez (2021), destacan “que para la cianobacteria *S. platensis* se observó que la producción de biomasa y ficocianina aumentaron en un 26 y 44 % respectivamente, utilizando concentradores solares luminiscentes bajo la longitud de onda correspondiente a la luz roja” (Raeisossadati et al., 2019, como se citó en Portillo, F. V. & Jiménez, A. M., 2021, p.45).

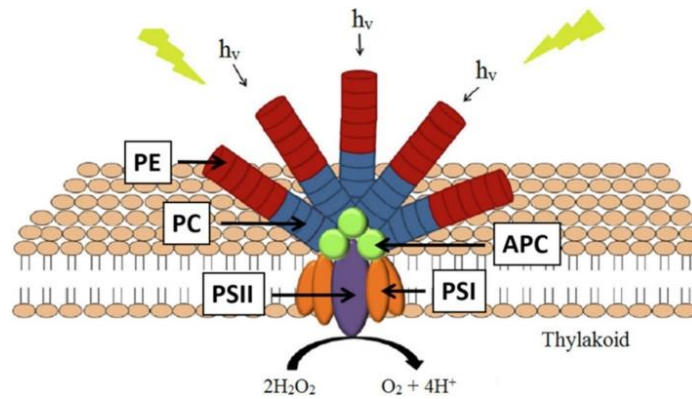


Figura 1. Organización estructural de las ficobilisomas. PE: ficoeritrina, PC: ficocianina, APC: aloficocianina, PSII: fotosíntesis II, PSI: fotosíntesis I. FUENTE: (Jaeschke, D. P., et al., 2021).

Además, el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste describe cómo los ficobilisomas organizan sus pigmentos para facilitar la transferencia de energía durante la fotosíntesis (Lobina et al., 2017) (Jaeschke et al., 2021).

Ficoeritrina (PE) → Ficocianina (PC) → Aloficocianina (APC) → Clorofila (chl)

La presente investigación muestra similitudes al destacar el proceso mediante el cual las ficobiliproteínas transforman la energía solar en energía química, con un enfoque particular en la ficocianina como un pigmento natural azul poco explorado por la industria alimentaria, como se discute en el estudio de Jaeschke. También se alinea con el artículo de Florent (Florent-Niangoran N. U. et al., 2021) en cuanto al uso de diferentes intensidades de luz para aumentar el crecimiento celular y el contenido de ficocianina en *Spirulina sp.* Sin embargo, los primeros tres artículos no detallan los parámetros específicos de cultivo, como la intensidad y longitud de onda de luz, que podrían optimizar el crecimiento celular y la producción de ficocianina. Además, el artículo de Jaeschke (Jaeschke et al., 2021) menciona el valor comercial de la ficocianina según su pureza, mientras que el artículo de Florent no analiza la interacción entre diferentes longitudes de onda e intensidades de luz como parámetros para la optimización del cultivo.

En cuanto a la eficiencia en la extracción de ficocianina, un artículo de la revista *Ciencia y Tecnología de Alimentos* evaluó dos métodos de extracción de *Spirulina sp.* en polvo. El segundo método, que consistía en dejar la suspensión reposar en oscuridad a 4 °C,

alcanzó un mayor grado de pureza (2.79), recomendándose para su uso alimentario (Forbes et al., 2017). Nuestra investigación se centra en comparar los procesos de extracción de ficocianina, buscando el método más eficiente y eficaz, teniendo como diferencia nuestra inclusión de la sonización como método de extracción.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Mercado de Colorantes en la Industria Alimentaria del Perú

El mercado de colorantes en la industria alimentaria del Perú ha mostrado un notable crecimiento en los últimos años, impulsado por la creciente demanda de productos más naturales y saludables. Ese cambio se debe a los beneficios que ofrece al área farmacéutica y alimentaria. Estos colorantes (carotenoides, antocianinas y clorofilas, etc.) cumplen su función como aditivo alimentario, además de ofrecer beneficios antioxidantes entre otras (Junqueira-Goncalves et al., 2023). Pero, su estabilidad puede verse comprometida, por factores como la temperatura y el pH, planteando futuros desafíos en la industria.

A pesar de que los colorantes sintéticos son más duraderos y rentables, siguen siendo objeto de debate debido a los posibles efectos perjudiciales que pueden tener en la salud humana. El colorante conocido como tartrazina, que se utiliza comúnmente en Perú, ha sido objeto de debate debido a que se ha relacionado con problemas de hiperactividad en los niños (Salud con Lupa, 2023). Se han planteado preocupaciones sobre el uso de esta sustancia y el etiquetado de los productos alimenticios como resultado de la ausencia de regulación en el país. Basado en los hallazgos del estudio de Rodríguez (Rodríguez Espinoza et al., 2021), se descubrió que un número significativo de productos alimenticios en Perú no cumple con los criterios de seguridad establecidos por organizaciones internacionales. Este hallazgo enfatiza la necesidad de una supervisión más rigurosa.

El uso de colorantes naturales está en línea con la tendencia global en evolución hacia una alimentación más responsable con el medio ambiente. Se reduce el peligro ambiental asociado con la fabricación de colorantes naturales, y fomenta el crecimiento de una economía circular. Por otro lado, la obtención de estos componentes está plagada de dificultades éticas y financieras, como la explotación

excesiva de recursos y la variación en la calidad de los pigmentos (Junqueira-Goncalves et al., 2023).

En conclusión, el mercado de colorantes en el sector alimentario peruano se encuentra en las primeras fases de desarrollo, con el enfoque principal en la investigación y el desarrollo de alternativas sostenibles que promuevan productos más naturales y saludables. Un futuro positivo para los colorantes naturales parece estar en el horizonte, a pesar de que actualmente están sujetos a regulación.

2.2.2. Pigmentos Cianobacteriales y Microalgales en la Industria de Alimentos

Los pigmentos que provienen de cianobacterias y microalgas son una alternativa innovadora y respetuosa con el medio ambiente en el sector alimentario. Se destacan por su capacidad para crear colores naturales y los beneficios nutricionales que ofrecen. Hay una variedad de pigmentos que son producidos por organismos unicelulares, incluyendo *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, y *Haematococcus sp.* Estos pigmentos incluyen carotenoides, clorofilas y ficobiliproteínas. Estos pigmentos tienen colores brillantes y cualidades bioactivas que son beneficiosas para la salud de las personas que los consumen (Silva, S. C. et al., 2020). No solo la ficocianina, un pigmento azul que se genera a partir de especies de *Spirulina sp.*, proporciona a los platos un color atractivo, sino que también se ha vinculado con beneficios antioxidantes y antiinflamatorios.

Las cianobacterias ofrecen beneficios significativos al ecosistema, además de tener características nutricionales y de coloración alimentaria. Como resultado de su capacidad para desarrollarse en condiciones desfavorables y del hecho de que no requiere suelo fértil, su cultivo muestra una alta eficiencia en el uso de recursos, lo que lo posiciona como una alternativa sostenible a los productos agrícolas convencionales (The Food Tech, 2023). Por otro lado, a pesar de que tiene mucho potencial, la producción de pigmentos cianobacterianos está llena de dificultades. Estas dificultades incluyen los altos costos de cultivo y la falta de nuevas tecnologías que son necesarias para maximizar su producción (Cohen et al., 2021).

Los pigmentos derivados de cianobacterias y microalgas se están utilizando actualmente en una amplia gama de productos dentro del sector de distribución de alimentos. Por ejemplo, *Chlorella sp.* y *Haematococcus sp.* se utilizan

generalmente en la producción de productos lácteos y productos de panadería, mientras que la *Spirulina sp.*, se utiliza regularmente en la producción de suplementos dietéticos y batidos. La percepción que tienen los consumidores sobre el sabor y la apariencia de los productos mejorados con cianobacterias es un factor significativo en la determinación del éxito comercial de estos productos, a pesar de que su aceptación está en expansión (Eufic, 2023).

En resumen, los pigmentos cianobacterianos deben considerarse una opción viable para la industria alimentaria porque ofrecen alternativas naturales que mejoran la calidad del producto y proporcionan beneficios para la salud. Es muy probable que aumente el número de aplicaciones de estas tecnologías en el mercado a medida que la investigación continúe avanzando y se superen los límites económicos y tecnológicos.

2.2.3. Fotobiorreactor Batch

Los fotobiorreactores batch son sistemas biotecnológicos diseñados para el desarrollo de microorganismos fotosintéticos, como microalgas y cianobacterias, bajo condiciones controladas que están bajo el control del investigador. El modo de operación batch, implica la introducción de un medio de cultivo, que luego se inocula con microorganismos (biomasa inicial), resultando en la generación de muchas fases: latencia, exponencial, estacionaria y muerte. La optimización del proceso permite alcanzar niveles más altos de productividad y eficiencia en términos de rendimientos (Kumar, M. et al., 2011). Estos beneficios permiten aumentar la producción a niveles industriales mediante el uso de un sistema continuo, que optimiza los parámetros ambientales.

La eficiencia del fotobiorreactor batch se ve sustancialmente afectada por una serie de parámetros operativos, como la cantidad de luz, la temperatura y la concentración de nutrientes. Estos factores son esenciales para maximizar la generación de células y la productividad del organismo. Se ha demostrado que el proceso fotosintético requiere luz solar adecuada para tener éxito. La radiación ideal para muchas cianobacterias está entre 400 y 700 nm (Carvalho et al., 2006). En ese sentido, el control del pH y la aireación del cultivo son variables importantes sobre el rendimiento y productividad general del cultivo. (Arribas Jimeno, 2021).

A pesar de las ventajas que ofrecen, los fotobiorreactores batch presentan una serie de dificultades. Entre los problemas más prevalentes, la estratificación de la temperatura y la acumulación de oxígeno generan una mayor inhibición celular. Para superar estos desafíos, es vital construir sistemas de mezclado que garantice la homogenización de nutrientes y luz en todo el fotobiorreactor. (Jacob-Lopes and others, 2008). Por tal razón, para aumentar su rendimiento y facilitar su implementación en entornos industriales, se debe optimizar su diseño.

En conclusión, los fotobiorreactores batch son una alternativa que permite estudiar la generación de biomasa y formación de productos de cianobacterias de manera sostenible. Como resultado de su alto nivel de simplicidad operativa y su capacidad para optimizar los factores ambientales, se consideran componentes clave en el desarrollo de la biotecnología.

2.2.4. Longitud de Onda de Luz orientado al cultivo cianobacterial

La longitud de onda de la luz es un factor determinante en el cultivo de cianobacterias porque tiene un impacto directo en el crecimiento de los organismos y la cantidad de biomasa que producen. Investigaciones, han demostrado que diferentes longitudes de onda de luz tienen un impacto sustancial en el proceso fotosintético de las cianobacterias. Cuando se trata de aumentar la actividad fotosintética, las longitudes de onda azules (430-480 nm) y las longitudes de onda rojas (660-700 nm) son efectivas. Esto conduce a un aumento en la densidad celular, así como a la creación de sustancias bioactivas (Caiza-Lincango et al., 2023). Un experimento que se realizó no hace mucho tiempo indicó que las cianobacterias expuestas a la luz azul tuvieron un mayor crecimiento celular en comparación con aquellas cultivadas bajo luz blanca o amarilla. Este hallazgo destaca la importancia de seleccionar adecuadamente la longitud de onda para mejorar la productividad (Zhong and colleagues, 2022).

El proceso de cultivo puede optimizarse mediante la utilización de tecnología como los diodos emisores de luz (LED), que permiten aplicar longitudes de onda específicas con precisión. El uso de diodos emisores de luz (LED) es requerido debido a su eficiencia energética y su capacidad para emitir luz dentro de bandas espectrales particulares. Esto se hace con el fin de minimizar el desperdicio de energía y maximizar la absorción fotosintética (Hakamada et al., 2020).

Comparados con los cultivos producidos bajo iluminación fluorescente tradicional, aquellos cultivados con LEDs rojos y azules han demostrado exhibir un aumento considerable en la biomasa y una mejora en la composición bioquímica (Jung, C. H. G. et al., 2022).

El fotoperíodo es esencial para el crecimiento de las cianobacterias. Optimizar la producción requiere una combinación adecuada de longitud de onda y duración de la exposición a la luz. Se ha demostrado que un fotoperíodo de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad optimiza la producción de biomasa en cepas específicas (Arribas Jimeno, 2021). Equilibrar la intensidad y la duración de la luz es crucial para prevenir la fotoinhibición, que puede ocurrir si las cianobacterias se someten a intensidades de luz excesivas durante períodos prolongados.

Cuando se trata del cultivo de cianobacterias, la longitud de onda de la luz es un componente esencial que desempeña un papel significativo en el crecimiento de microorganismos, así como la formación de metabolitos. Por ello, una estrategia clave para optimizar los cultivos de cianobacterias, es la implementación de tecnologías LEDs y la regulación del fotoperíodo.

2.2.5. Intensidad de Luz orientado al cultivo cianobacterial

En cultivo de cianobacterias, la intensidad de la luz juega un papel esencial en el crecimiento celular y formación de productos. La relación entre la intensidad de la luz y la tasa de fotosíntesis es extremadamente importante, porque un aumento en la intensidad de la luz puede, hasta cierto punto, impulsar la tasa de fotosíntesis y, como resultado, la generación de biomasa. Por otro lado, existe un límite conocido como el punto de saturación, que es el punto en el que la tasa de fotosíntesis se estabiliza y puede disminuir si la intensidad se incrementa más allá de ese punto (Zavrel, T. et al., 2019). Según los hallazgos de un estudio reciente realizado sobre *S. platensis*, se encontró que las intensidades de luz cercanas a 2000 lux mejoraban el crecimiento y la formación de pigmentos, mientras que las intensidades muy bajas obstaculizaban el desarrollo celular (Kumar, M. et al., 2011).

Para cultivar cianobacterias con éxito, es esencial tener en cuenta la interacción entre la intensidad de la luz y otros parámetros ambientales, como el fotoperíodo y la temperatura. Se ha demostrado que la producción óptima de biomasa en cepas

específicas se logra mediante la utilización de un fotoperiodo que consiste en 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad (Sánchez, A. et al., 2020). Cuando estos parámetros se combinan de la manera más efectiva, es posible maximizar no solo el desarrollo de las células, sino también la producción de metabolitos útiles como pigmentos y lípidos (Niangoran, N. U. F. et al., 2021).

También se le da mucha importancia a la elección de la iluminación. Los LEDs, que son diodos emisores de luz, han demostrado ser más efectivos que las fuentes fluorescentes convencionales en el cultivo de cianobacterias. Los LEDs permiten un control preciso de la intensidad y el espectro de la luz, lo que puede resultar en una mayor eficiencia fotosintética y una mayor producción de biomasa (Vásquez, V. et al., 2017). Los LED son capaces de producir más biomasa que los sistemas tradicionales. En comparación con los cultivos cultivados bajo luz fluorescente, aquellos cultivados con LEDs han demostrado alcanzar mejores densidades celulares, según una investigación que examinó las dos fuentes de iluminación (Mahari, W.A. et al., 2024).

Cuando se trata del cultivo de cianobacterias, la intensidad de la luz es un componente crucial que influye tanto en el crecimiento de los organismos como en la generación de sustancias bioactivas. Es vital optimizar este parámetro, además de otros aspectos como el fotoperiodo y el tipo de iluminación que se utilice, para mejorar la productividad del cultivo de cianobacterias y asegurar su viabilidad continua.

2.2.6. Género *Spirulina sp.* (*Arthrospira sp.*)

Hay una cianobacteria filamentosa que pertenece al género *Arthrospira sp.*, que se conoce más comúnmente como *Spirulina sp.* Este cianobacterio ha alcanzado prominencia debido a su alto valor nutricional y diversas aplicaciones en las industrias alimentaria y de la salud. A pesar de que el término "*Spirulina sp.*" se ha utilizado históricamente para describir estas cianobacterias, varias investigaciones recientes han dejado claro que las especies más significativas, como *S. platensis* y *S. maxima*, pertenecen al género *Arthrospira sp.* (AlFadhly et al., 2022). La *Arthrospira sp.*, se cultiva principalmente en ambientes alcalinos. Es muy valorado por su alta concentración de proteínas, vitaminas y minerales, lo

que lo convierte en un excelente superalimento para una variedad de dietas (Hernández Rodríguez, 2021).

Esta especie particular de *Spirulina sp.*, es notable no solo por la composición nutricional que posee, sino también por las capacidades funcionales que tiene. Se ha demostrado que en esta sustancia están presentes antioxidantes, como la ficocianina, que proporcionan protección contra el estrés oxidativo y pueden ser beneficiosos en el tratamiento de una variedad de trastornos de salud, incluyendo la diabetes y las enfermedades cardiovasculares (Ochoa Galarza & Moyano Calero, 2022). Por la misma razón, la investigación ha demostrado que tiene la capacidad de aumentar la absorción de oxígeno durante el ejercicio físico, lo que sugiere que podría ser un suplemento útil para los atletas (Gurney & Spendiff, 2021).

En lo que respecta a la sostenibilidad, la producción de especies de *Spirulina sp.*, ofrece una serie de ventajas significativas (Ponce López, 2013). La síntesis de esta proteína en comparación con otras fuentes de proteínas animales y vegetales requiere una menor cantidad de recursos, lo que la convierte en una solución viable para abordar el problema de la inseguridad alimentaria global. En la misma línea, el hecho de que pueda prosperar en condiciones difíciles y que tenga una alta tasa de reproducción lo convierte en un cultivo que puede cultivarse con éxito en diversas ubicaciones del mundo.

En las especies de *Spirulina sp.*, las vesículas de gas se encuentran en las regiones intertilacoides, lo cual es una característica que destaca como particularmente notable. La flotación de las cianobacterias es facilitada por estas vesículas, lo que a su vez regula las posiciones cambiantes de las cianobacterias en la columna de agua a lo largo del día (Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006). El papel de este mecanismo de flotación es crucial porque permite el acceso a regiones donde la fotosíntesis está en su punto máximo y donde hay suficiente disponibilidad de nutrientes.

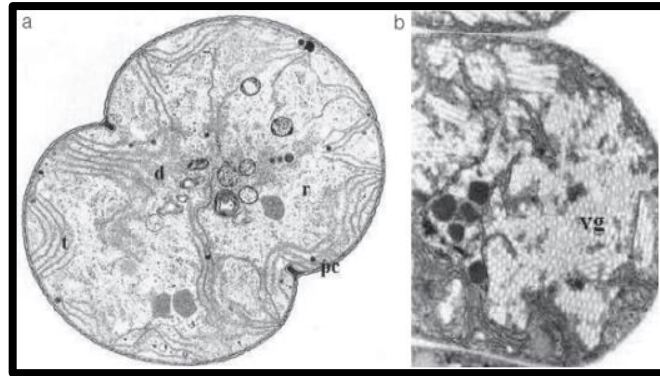


Figura 2. Estructura celular de la *Spirulina sp.* (A) fibrillas de ADN, donde se diferencia [pc]: pared celular, [t]: sistema de membranas tilacoidales, y [r]: ribosomas. (B) vesículas de gas [vg]. FUENTE: (Ramírez-Moreno, L., & Olvera-Ramírez, R., 2006).

En conclusión, el género *Spirulina sp.*, es un recurso significativo tanto desde el punto de vista del medio ambiente como de las necesidades nutricionales del cuerpo humano. A medida que la investigación continúa avanzando y se desarrollan nuevos métodos de cultivo y procesamiento, es bastante probable que *Spirulina sp.*, siga ganando atractivo como un componente esencial de dietas que son tanto nutritivas como sostenibles.

2.2.7. *S. platensis* (*A. platensis*)

Debido al alto valor nutricional y a las diversas aplicaciones para la salud que posee, esta cianobacteria perteneciente al género *Spirulina sp.*, ha atraído la atención tanto de la comunidad científica como del mundo empresarial (Ramírez-Moreno, L., & Olvera-Ramírez, R., 2006). En particular es especialmente prevalente en aguas alcalinas y cálidas, como los lagos salinos en regiones tropicales y subtropicales. Su extraordinaria capacidad para florecer en temperaturas extremas es un testimonio de su notable habilidad para prosperar en tales entornos. *S. platensis* se distingue por su alta concentración de proteínas, vitaminas, minerales y sustancias bioactivas, lo que lo convierte en un suplemento dietético ventajoso para una amplia gama de personas (Hernández Rodríguez, 2021).

Además de contribuir a su tono verdoso-azulado, la composición química de *S. platensis* contiene pigmentos sustanciales como la ficocianina y otros carotenoides. Estos pigmentos no solo demuestran cualidades antioxidantes y antiinflamatorias, sino que también contribuyen al color del pez (Ochoa Galarza

& Moyano Calero, 2022). Se ha llevado a cabo una investigación para determinar si estas sustancias podrían ser útiles en el tratamiento de una variedad de trastornos, incluidos aquellos que afectan el sistema cardiovascular y el sistema metabólico. De manera similar, se ha demostrado que las especies de *Spirulina* sp., pueden fortalecer el sistema inmunológico y facilitar la regulación de los niveles de colesterol. (Gurney & Spendiff, 2021; Rahnama, I. et al., 2023).

El cultivo de ciertas especies de *Spirulina* sp., ofrece beneficios significativos, no solo para el medio ambiente sino también para la economía. La producción de esta proteína requiere una menor cantidad de recursos hídricos y tierras fértiles en comparación con otras formas de proteína (Ponce López, 2013). Esto demuestra que es una alternativa viable que puede utilizarse para contrarrestar los desafíos de garantizar la seguridad alimentaria global. Varios factores, incluyendo la intensidad de la luz, el pH y la temperatura, han demostrado desempeñar un papel significativo en la determinación de la cantidad y calidad de la biomasa producida, según la investigación realizada sobre técnicas de cultivo. (Caiza-Lincango et al., 2023).

En conclusión, debido a las características nutricionales y funcionales que posee, *S. platensis* es un recurso prospectivo para el campo de la biotecnología. Es probable que su uso aumente en las industrias alimentaria y farmacéutica a medida que la investigación sobre sus aplicaciones potenciales continúe avanzando y las técnicas de cultivo sigan mejorando.

2.2.8. Ficobiliproteínas de *S. platensis* (*A. platensis*)

Hay un grupo de pigmento-proteínas conocidas como ficobiliproteínas que se encuentran en la cianobacteria *S. platensis*. Estas proteínas son indispensables para el proceso de fotosíntesis porque funcionan como antenas para la captación de luz. Hay tres principales ficobiliproteínas: ficocianina, aloficocianina y ficoeritrina. La ficocianina es la más prominente de las tres debido a su alta concentración y su brillante tono azul (Ferreira, R., 2015). Estas proteínas no solo son responsables de la coloración de las cianobacterias, sino que también poseen características antioxidantes y antiinflamatorias, así como el potencial para proporcionar beneficios para la salud. Como resultado, son un componente importante en las industrias alimentaria y farmacéutica (Romay, Ch, et al., 2003).

Hay varios parámetros ambientales que tienen el potencial de influir en la formación de ficobiliproteínas en *S. platensis*. Estos factores incluyen la intensidad y el espectro de la luz, el pH del medio de cultivo y la disponibilidad de nutrientes. Investigaciones recientes han demostrado que la producción de estas proteínas puede mejorarse con la presencia de condiciones de luz particulares. En un estudio realizado por García et al. en 2021, se demostró que un fotoperiodo de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad es el método más efectivo para maximizar la proliferación celular y la acumulación de ficocianina. De manera similar, se ha demostrado que la utilización de luces LED que emiten longitudes de onda particulares es efectiva para aumentar la producción de estas proteínas en comparación con la utilización de fuentes de luz tradicionales (Vásquez, V. s.f. et al., 2017).

En el ámbito de la investigación, la extracción y purificación de ficobiliproteínas se consideran temas clave de estudio. La extracción de extractos que son abundantes en estas proteínas se ha logrado mediante el uso de técnicas como la centrifugación, los ciclos de congelación-descongelación y la sonicación. Para generar soluciones concentradas que puedan ser analizadas utilizando métodos como la espectrofotometría y la cromatografía en capa fina, estos procesos facilitan la obtención de soluciones concentradas (Silva, S. P. M. et al., 2022). Las ficobiliproteínas que han sido aisladas han sido objeto de varias investigaciones, las cuales han demostrado su potencial como adiciones naturales en alimentos y suplementos nutricionales. Estos estudios se han centrado en la capacidad antioxidante de las ficobiliproteínas.

En conclusión, las ficobiliproteínas producidas por *S. platensis* constituyen un recurso biotecnológico valioso debido a que poseen cualidades funcionales y ofrecen beneficios para la salud. Para aprovechar al máximo la explotación de estas proteínas en aplicaciones industriales, es esencial optimizar los procedimientos de cultivo y extracción.

2.2.9. Ficocianina de *S. platensis* (*A. platensis*)

Uno de los pigmentos proteicos que se puede encontrar en la cianobacteria *S. platensis* se llama ficocianina. Las ficobiliproteínas son un grupo de cromoproteínas que desempeñan un papel importante en el proceso de fotosíntesis. Funcionan como antenas que capturan la luz y la transfieren a los centros de reacción. Este pigmento, que es responsable de darle su distintivo tono azul, es un miembro de la serie de ficobiliproteínas (Ochoa Galarza & Moyano Calero, 2022). Se han realizado numerosas investigaciones sobre la ficocianina debido a sus cualidades antioxidantes y antiinflamatorias, así como los posibles beneficios para la salud que puede tener para las personas. La ficocianina representa hasta el 20 % de las proteínas totales encontradas en *S. platensis* (Grover, P. et al., 2021).

Hay varios parámetros ambientales que tienen el potencial de afectar la formación de ficocianina en *S. platensis*. Estos factores incluyen la intensidad y el espectro de la luz recibida, así como las condiciones del medio de cultivo. Un estudio reciente ha demostrado que el fotoperiodo ideal, que consiste en 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, es la manera más efectiva de promover tanto la proliferación de células como la acumulación de ficocianina (Freire, D. A. et al., 2024). En una medida similar, la utilización de tecnologías modernas como los diodos emisores de luz (LEDs) permite ejercer un mayor control sobre las circunstancias de cultivo, lo que a su vez podría resultar en un aumento en la producción de este pigmento (Jung, C. H. G. et al., 2022).

Los procedimientos de extracción y purificación de ficocianina están entre los procesos más fundamentales para su aplicación en una variedad de industrias. La extracción de estos pigmentos en su forma más pura se logra típicamente mediante el uso de técnicas como la congelación-descongelación y la cromatografía. Un estudio realizado no hace mucho tiempo indicó que la extracción mediante congelación y sonicación resulta en la producción de una suspensión enriquecida en ficocianina. Esta suspensión puede ser analizada mediante espectrofotometría para determinar su concentración y pureza (Silva, S. P. M. et al., 2022). Como resultado de estas propiedades, la ficocianina es de gran utilidad no solo en la industria alimentaria como colorante natural, sino también en las industrias farmacéutica y cosmética.

En conclusión, la ficocianina, que se genera a partir de *S. platensis*, es una molécula biotecnológica prometedora debido a los numerosos beneficios para la salud que ofrece, así como a las oportunidades potenciales que presenta para usos industriales. Para tener el mayor impacto posible tanto en la producción como en la aplicación, es necesario optimizar las condiciones de cultivo y los procesos de extracción.

2.2.10. Impacto de la Ficocianina de *S. platensis* en la Salud Humana

Se han realizado múltiples estudios para investigar los posibles beneficios para la salud de la ficocianina, que es una proteína-pigmento que se encuentra en la cianobacteria *S. platensis*. La especie de *Spirulina sp.*, se distingue por su inusual tono azul, que se atribuye a esta molécula. Además, se cree que este compuesto posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y hepatoprotectoras (Ochoa Galarza & Moyano Calero, 2022). A través de su capacidad para neutralizar los radicales libres, se ha demostrado que la ficocianina es beneficiosa para aliviar el estrés oxidativo. Esto, a su vez, puede ayudar en la prevención de enfermedades crónicas como los trastornos cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Zhang, Y. et al., 2022).

Estudios recientes han demostrado que el consumo de ficocianina puede mejorar la función inmunológica al elevar la actividad de los linfocitos. Este hallazgo sugiere que el consumo de ficocianina tiene un impacto positivo en la respuesta inmunológica y la reacción del cuerpo. (Abdali, N. et al., 2021). Se ha descubierto que este pigmento tiene la capacidad de contribuir a la reducción del colesterol LDL, también conocido como el colesterol "malo", así como de los niveles de triglicéridos. Además, se ha encontrado que promueve un aumento en el colesterol HDL, también conocido como el "buen" colesterol, lo cual es beneficioso para la salud cardiovascular (Gurney & Spendiff, 2021) (Rahnama, I. et al., 2023). Cuando se trata de grupos que tienen dislipidemias e hipertensión, estos efectos hipolipemiantes son más notables.

En este contexto, la capacidad hepatoprotectora de la ficocianina es una consideración importante. Los estudios en animales han demostrado que este pigmento tiene el potencial de proteger el hígado del daño producido por toxinas como el tetracloruro de carbono y los metales pesados. Este pigmento también

tiene el poder de reducir la cantidad de daño celular que ocurre y de hacer que el hígado sea más eficiente en su desintoxicación (Silva, S. P. M. et al., 2022). La capacidad de la ficocianina para prevenir reacciones anafilácticas ha sido demostrada a través de investigaciones experimentales, lo que ha llevado a la proposición de que la ficocianina podría tener beneficios en el tratamiento de trastornos alérgicos (Salud with Lupa, 2023).

En conclusión, la ficocianina derivada de *Arthrospira platensis* es un recurso importante que ofrece una variedad de ventajas para la salud humana. Este pigmento es un componente prometedor para la producción de suplementos nutricionales y comidas funcionales debido a sus capacidades como antioxidante, así como los efectos favorables que tiene en el sistema cardiovascular y el sistema inmunológico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Sistema biológico

Para el experimento, se empleó la cianobacteria *S. platensis*, adquirida mediante la organización Inti Pacha Microalgas. La cepa cianobacterial fue aislada de la laguna de Orovilca, Ica. El costo fue de S/ 400 por 200 ml, lo que equivale a S/. 2 por ml.

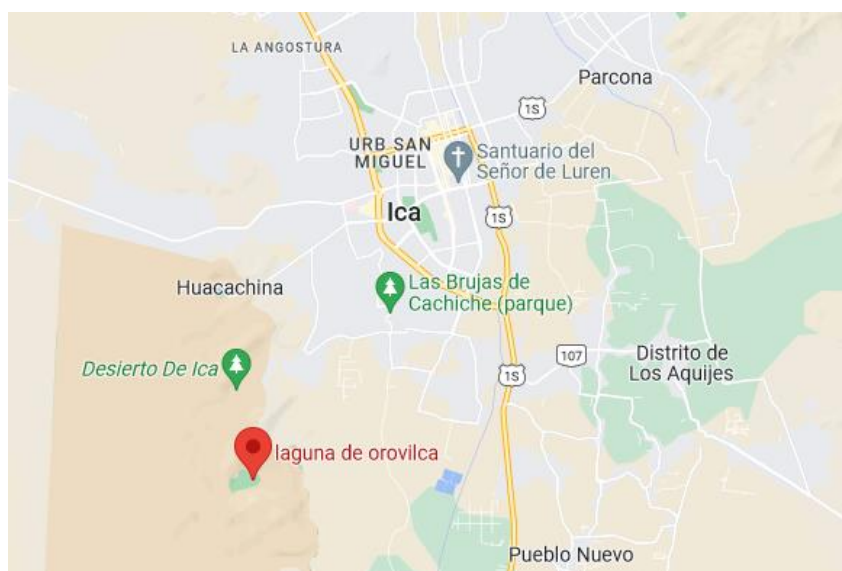


Figura 3. Ubicación geográfica de la laguna Orovilca, en el desierto de Ica. FUENTE: Google Maps.

3.1.1. Factores ambientales

- **Intensidad de luz:** Se determinó la intensidad de luz conforme al diseño experimental (1, 5 y 8 Kilolux), empleando el luxómetro LX030.
- **Longitud de onda:** El rango de longitud de onda del foco de luz fue determinado conforme al diseño experimental (560-590, 590-620 y 620-700 nm), utilizando focos led.
- **Fotoperiodo:** Se utilizó un timer para regular los periodos de luz y oscuridad, estableciendo 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad.
- **pH y temperatura:** El pH y la temperatura del medio de cultivo se midieron diariamente utilizando un medidor multiparámetro portátil HI 98129.
- **Agitación por burbujeo:** El medio de cultivo se homogeneizó utilizando un aireador con un caudal de 1,9 l/min.

3.1.2. Inóculo

La concentración del inóculo se estableció mediante el método de densidad óptica (OD) por espectrofotometría, elaborando una curva de calibración para correlacionar la densidad óptica de la suspensión de *S. platensis* con su peso seco (g/L) y UFC/L. De acuerdo con Mateucci (Mateucci, R., 2018), la longitud de onda para medir la densidad óptica es de 560 nm; para ello se llevaron a cabo los siguientes pasos: **1. Preparación de muestras:** se realizaron diversas diluciones (500 ml) de la cepa utilizando solución fisiológica en las concentraciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . **2. Conteo celular:** el conteo celular (UFC/L) del cultivo y las diluciones se llevó a cabo en la cámara de Sedgwick-Rafter. **3. Medición de absorbancia:** se registró la absorbancia de cada muestra en el espectrofotómetro a 560 nm. **4. Filtrado y secado:** 100 ml de cada muestra se filtraron al vacío por triplicado. Posteriormente, los filtros se deshidrataron a 70 °C durante 12 horas. **5. Pesado de filtros:** se colocaron los filtros prequemados en un desecador durante 1.5 horas y se pesaron hasta alcanzar un peso constante. **6. Repetición y verificación:** los filtros se devolvieron a la estufa, y repetimos la operación durante los dos días siguientes o hasta que alcance un peso constante. Finalmente, se determinó el peso seco (g/L) y el conteo celular total (UFC/ L) utilizando la ecuación presentada por Lobina et al. (2017).

$$PST_{(ug/ml)} = (PSFM - PSF)/VF \dots (\text{Ec. N}^\circ 1).$$

Donde:

- PST: peso seco total; g/L
- PSFM: peso del filtro lavado con agua destilada; g/L
- PSF: peso del filtro con la muestra seca; g/L
- VF: volumen del cultivo filtrado; g/L

$$\text{Biomasa (UFC/L)} = \frac{C \times 1000 \text{ mm}^3}{A \times D \times F} \dots (\text{Ec. N}^\circ 2).$$

Donde:

- C: número de organismos contados; UFC/L.
- A: Área (cubre objeto); mm^2 .
- D: profundidad de la cámara; mm.
- VF: número de campos contados.

La conversión de absorbancia a la unidad de g/L y UFC/L se realizó mediante la ecuación N° 2 y 3 respectivamente:

Biomasa (g/L) = (*pendiente* × Abs_{560}) + ordenada al origen... (Ec. N° 3).

Biomasa (UFC/L) = (Abs_{560} – ordenada al origen) ÷ *pendiente*... (Ec. N° 4).

3.1.3. Preparación del medio Zarrouk

El medio Zarrouk se preparó conforme a los siguientes procedimientos: 1. **Cálculo de reactivos:** determinamos la cantidad requerida de reactivos para elaborar 900 ml de medio de cultivo. 2. **Disolución de reactivos:** disolvemos los reactivos en agua destilada. 3. **Esterilización:** esterilizamos el medio en autoclave a 120°C durante 20 minutos (Pérez-Uz, B. et al., 2011).

3.1.4. Evaluación de la cinética microbiana

- **Determinar la cinética de crecimiento:** La concentración de la generación de biomasa se estableció mediante el método de densidad óptica (OD) utilizando espectrofotometría (Mateucci, R., 2018; Lobina, D. V., et al., 2017).
- **Determinar del contenido de ficocianina:** La concentración de ficocianina se determinó mediante el método de densidad óptica (OD) utilizando espectrofotometría (Lobina, D. V., et al., 2017) de la siguiente manera: **1. Centrifugación inicial:** Centrifugamos 10 ml del cultivo de *S. platensis* a 3000 rpm a 10 °C durante 15 minutos. Debido a que las células de *S. platensis* tienden a flotar y no constituyen una masa celular completamente compacta, se sugiere filtrar el cultivo. **2. Lavado de células:** Lavamos las células con 10 ml de agua acidulada (pH 4) para eliminar impurezas y residuos. **3. Lavado adicional:** Lavamos la pastilla celular con 5 ml de solución amortiguadora de fosfato de potasio (K₂HPO₄:KH₂PO₄) 100 mM a pH 7.0 (ver Anexo 1). **4. Sonicación:** Sonicamos las células durante 45 a 60 segundos en un baño de hielo para lisis celular y liberación de pigmentos. A continuación, congelamos la suspensión a -20 °C durante 12 horas. **5. Shock térmico:** Se llevó a cabo un shock térmico al descongelar la suspensión a temperatura ambiente. **6. Centrifugación final:** Centrifugamos nuevamente a 3000 rpm a 10 °C durante 15 minutos. **7. Separación del extracto:** Utilizamos una pipeta

Pasteur limpia para aislar el extracto que contiene el complejo de ficobiliproteínas (ficoeritrina, ficocianina, aloficocianina) y lo depositamos en tubos limpios. **8. Cuantificación:** Se cuantificaron las ficobiliproteínas (ficoeritrina, ficocianina y aloficocianina) en el espectrofotómetro a 565, 620 y 650 nm, respectivamente (Lobina, D. V., et al., 2017). Y reemplazamos los datos obtenidos en las siguientes ecuaciones:

Ecuación para la ficocianina (PC):

$$PC = [(A_{620} - 0.72 * A_{650}) / 7.38] \dots (\text{Ec. N}^\circ 6).$$

Ecuación para la aloficocianina (APC):

$$APC = [(A_{650} - (0.19 * A_{620})) / 5.65] \dots (\text{Ec. N}^\circ 7).$$

Ecuación para la ficoeritrina (PE):

$$PE = [(A_{565} - 2.8 PC - 1.34 * APC) / 12.70] \dots (\text{Ec. N}^\circ 8).$$

3.1.5. Estructura del fotobiorreactor y control de parámetros de cultivo

El cultivo de *S. platensis* (*Arthrospira platensis*) se realizó en un fotobiorreactor cerrado, empleando frascos de vidrio esféricos de 1250 ml (ver Anexo 5) (González, C. A., 2017). La estructura del fotobiorreactor fue fabricada con cajas de cartón revestidas internamente con cinta aislante. En estas cajas, se incorporaron dos extensiones de luz para conectar el aireador y el foco de luz, que estaba enroscado a un socate con enchufe. Asimismo, se utilizó un timer conectado al cable de extensión del foco para controlar un fotoperiodo de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad.

Se evaluaron diferentes niveles de intensidad y longitudes de onda de luz, conforme al diseño experimental. Los niveles de intensidad de luz se establecieron en 1, 5 y 8 Kilolux. Esto se logró estableciendo la distancia y el ángulo entre el luxómetro LX033 y el foco de luz, de acuerdo con su manual de instrucciones (G.I.S. IBERICA, s.f.).

Las longitudes de onda de luz utilizadas fueron: luz amarilla (560-590 nm), naranja (590-620 nm) y roja (620-700 nm). Se utilizó luz blanca (400-700 nm) como control, a diferentes de intensidad de luz (Zwinkels, J., 2015).

Todos los experimentos se mantuvieron bajo condiciones constantes de fotoperiodo (18/6), agitación por burbujeo (con un caudal de 1,9 l/min por 24 horas) y duración del experimento (9 días).

3.1.6. Diseño experimental

Tras la obtención de *S. platensis* (*Arthrospira platensis*), se implementó un diseño factorial 3^2 para analizar el efecto de diferentes factores sobre la generación de biomasa y el contenido de ficocianina. Los factores a modelar fueron las longitudes de onda de luz (560-590 nm, 590-620 nm, y 620-700 nm) e intensidades de luz (1, 5 y 8 Kilolux), analizando tres niveles (bajo, medio y alto) para cada uno de ellos. Esto resultó en un total de 9 combinaciones experimentales. Asimismo, se incorporó un experimento control para cada nivel de intensidad de luz (bajo, medio y alto) utilizando luz blanca (400-700 nm). Esto culminó en un total de 12 experimentos, cada uno con 2 repeticiones, resultando en un total de 36 experimentos. Los datos recopilados fueron analizados y modelados utilizando los softwares STATISTICA y Python.

Tabla 2

Variables utilizadas en el modelo experimental: longitud de onda de luz (X_1) e intensidad de luz (X_2).

Variables		Rango		
		Nivel bajo (-1)	Nivel medio (0)	Nivel alto (+1)
Longitud de onda de luz (nm)	X_1	560-590	590-620	620-700
Intensidad de luz (Kilolux)	X_2	1	5	8

Nota. Muestra el valor de los puntos factoriales planteados. FUENTE: Elaboración propia.

Tabla 3

Diseño factorial 3², utilizando como factores: longitud de onda de luz (X₁) e intensidad de luz (X₂).

N° experimento	Variable natural		Variable codificada		Variable respuesta		
	Longitud de onda de luz (nm)	Intensidad de luz (Kilolux)	X ₁	X ₂	Promedio de la generación de biomasa		Promedio de la producción de ficocianina (mg/L)
					g/L	UFC × 10 ⁸ /L	
B*-1	400-700	1	-	-	0,830	220,04	38,142
1°	560-590	1	-1	-1	1,012	270,68	47,151
2°	590-620	1	0	-1	1,044	279,38	48,382
3°	620-700	1	+1	-1	1,266	341,04	48,561
B*-2	400-700	5	-	-	1,359	366,80	34,561
4°	560-590	5	-1	0	1,298	349,72	36,216
5°	590-620	5	0	0	1,360	366,96	25,751
6°	620-700	5	+1	0	0,963	256,92	14,233
B*-3	400-700	8	-	-	1,110	297,67	19,047
7°	560-590	8	-1	+1	1,249	336,12	25,355
8°	590-620	8	0	+1	0,973	259,69	25,382
9°	620-700	8	+1	+1	1,004	268,46	10,612

Nota. Presenta la relación de las variables codificadas y naturales de los puntos factoriales propuestos. Asimismo, al promedio de las corridas de las dos variables de respuesta. B*: blanco.

FUENTE: Elaboración propia.

3.1.7. Diagrama de flujo

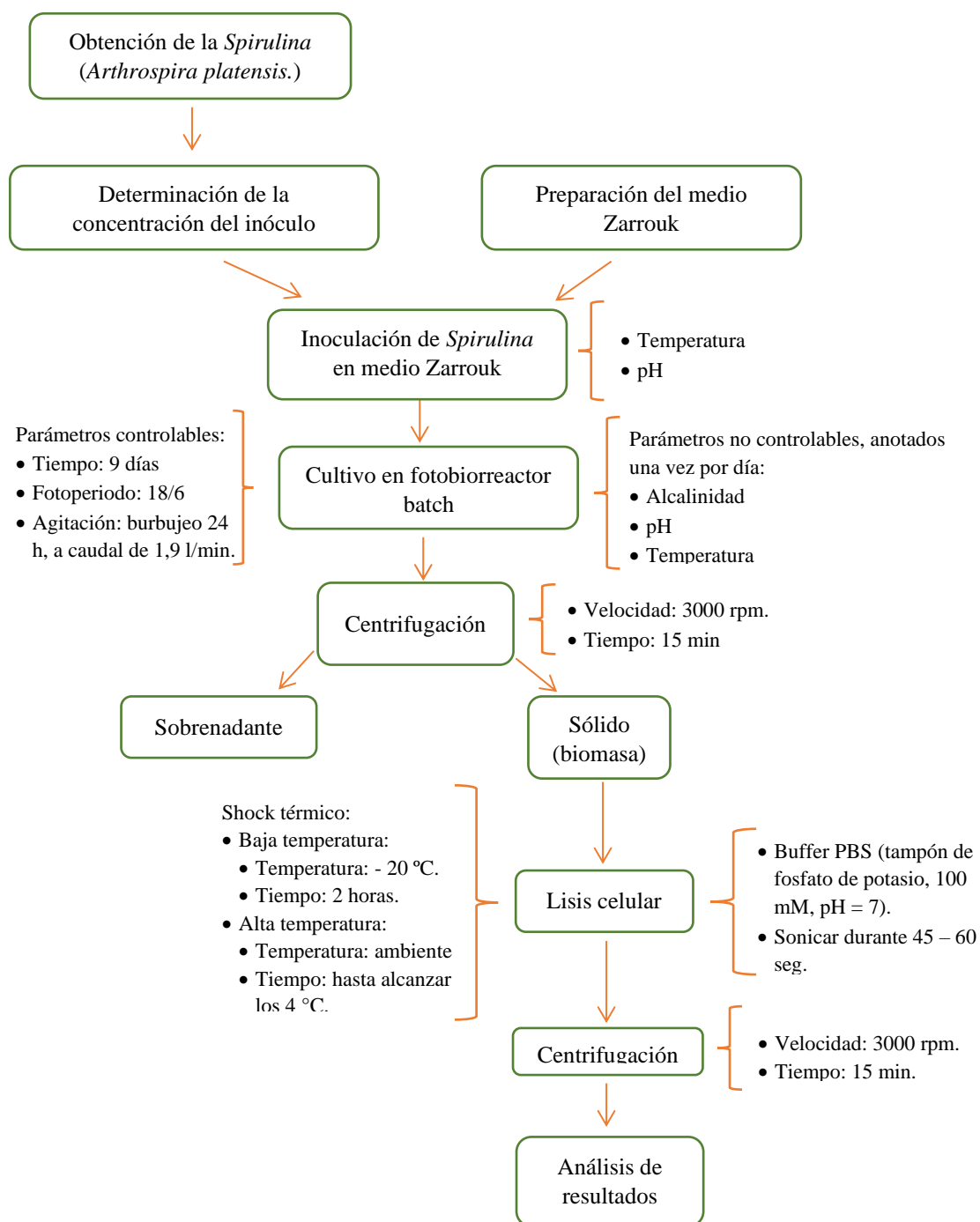


Figura 4. Metodología del proceso de obtención de ficocianina de *S. platensis* (*A. platensis*). FUENTE: Elaboración propia.

3.2. Análisis estadístico

3.2.1. Análisis estadístico inductivo

Los datos recopilados se analizaron mediante una prueba de análisis de varianza multifactorial (ANOVA) empleando el software STATISTICA. El propósito de este análisis fue determinar los efectos significativos de las dos variables independientes (longitud de onda de luz e intensidad de luz) sobre las variables respuesta (generación celular y contenido de ficocianina). Se llevó a cabo un ANOVA multifactorial sin interacción entre sus factores, para determinar si las variaciones en las variables independientes afectan el producto final.

3.2.2. Análisis estadístico descriptivo

Los resultados del diseño experimental se representaron a través de un diagrama de cajas y bigotes en el programa Python. Este análisis permitió la visualización de la simetría de los datos, la identificación de los valores atípicos (outliers), y la comparación simultánea de diferentes distribuciones.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares del diseño experimental indicaron que los niveles de intensidad de luz evaluados (ensayo I: 2, 5 y 8 kilolux; ensayo II: 1, 2.5 y 5 kilolux) no alcanzaron un ajuste estadístico satisfactorio (R^2 : 0.84 y R^2 ajustado: 0.68 en el anexo 14; R^2 : 0.73 y R^2 ajustado: 0.4 en el anexo 15). Para abordar este problema, ajustamos los niveles de intensidad de luz a 1, 5 y 8 kilolux. Esto nos permitió integrar tanto niveles extremos como intermedios, que finalmente resultó en la mejora de los resultados (Anexo 17 al 20). A continuación, se presenta la cinética microbiana de *S. platensis* (*Arthrospira platensis*) durante un período de seis días, midiendo la generación de biomasa (g/L) y el contenido de ficocianina (mg/L). Esto proporcionó una visión integral del crecimiento y la productividad del cultivo a lo largo del tiempo.

3.1. Cinética microbiana

4.1.1. Crecimiento celular

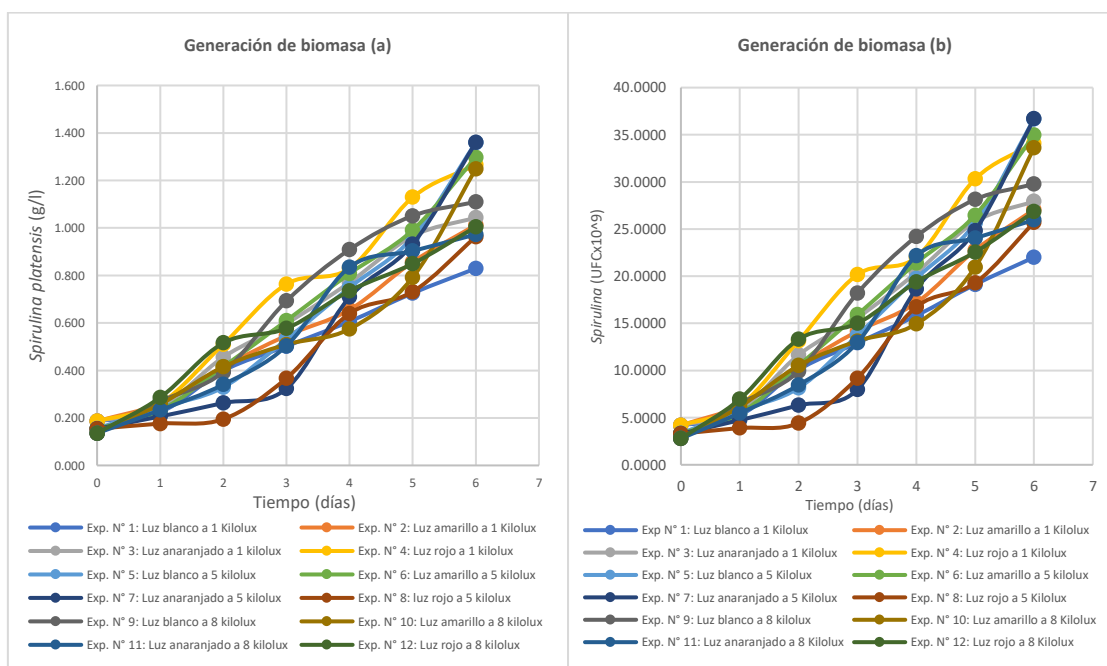


Figura 5. Crecimiento celular de *S. platensis* (*A. platensis*; g/L [a] y $UFC \times 10^9/L$ [b]) a través del tiempo (6 días). FUENTE: Elaboración propia.

En la figura 5, al finalizar el sexto día de cultivo, los experimentos N° 5 y 7 presentaron valores superiores a 1.35 g/L, lo que sugiere que el tratamiento con luz blanca y anaranjada a 5 kilolux de intensidad respectivamente pueden ofrecer resultados favorables en la generación de biomasa de *S. platensis*.

Los experimentos N° 2, 3, 4, 6, 9 y 10 mostraron valores que oscilan entre 1.01 y 1.3 g/l. Esto significa que, a pesar de que los tratamientos exhibieron diferentes longitudes de onda, fue la intensidad de luz al llegar a 8 kilolux, lo que inhibió su crecimiento en general.

Finalmente, los demás experimentos indican que los tratamientos no mostraron una correlación adecuada entre la longitud de onda e intensidad de luz como factores ambientales para aumentar la generación de biomasa cianobacterial.

En síntesis, la mayor concentración de biomasa final (g/L) se registró en los cultivos sometidos a intensidades de luz media (5 Kilolux) y baja (1 Kilolux), como se demostró en los experimentos N° 5 (1,3593 g/L) y 7 (1,3599 g/L).

4.1.2. Contenido de ficocianina

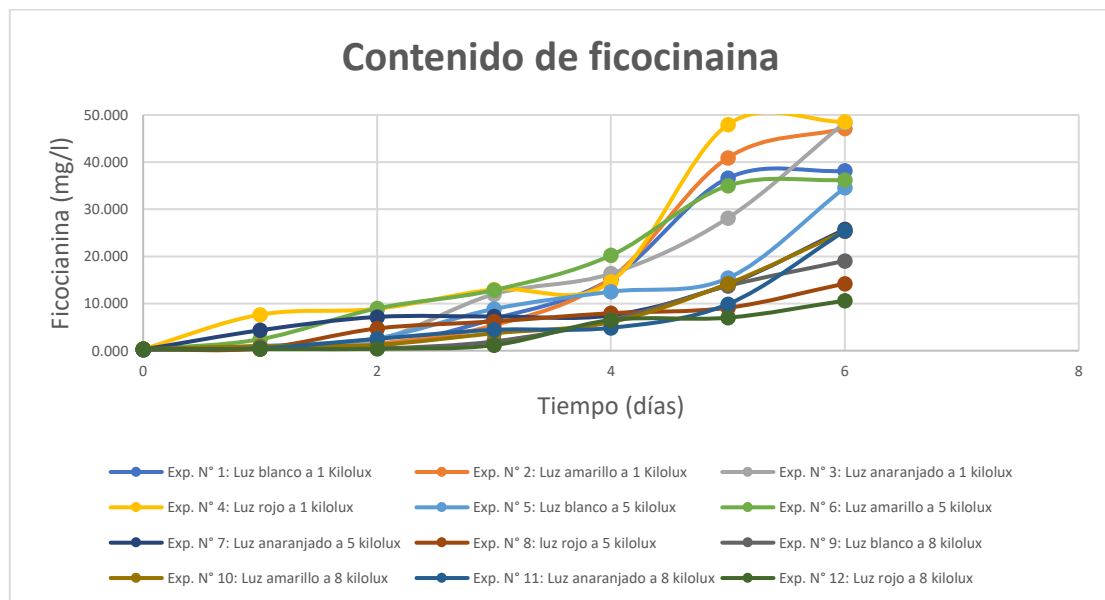


Figura 6. Contenido de ficocianina (mg/l) a través del tiempo (6 días). FUENTE: Elaboración propia.

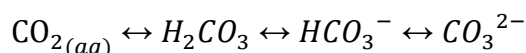
En la figura 7, al concluir el sexto día de cultivo, los experimentos N° 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 presentaron valores superiores a 25.7 mg/l, evidenciando que los tratamientos con diferentes longitudes de onda a bajas intensidades de luz favorecen una mayor formación del contenido de ficocianina. Por esta razón, en los demás experimentos se evidencia su disminución, incluso cuando se expone a luz roja.

En síntesis, se constató que la mayor concentración de ficocianina (mg/L) se registró en cultivos sometidos a baja intensidad de luz, como se demostró en los experimentos N° 3 (48,38 mg/L) y 4 (48,56 mg/L).

Nuestros hallazgos sobre fenómenos asociados a altas intensidades de luz (5 y 8 kilolux; Anexo 32 y 33) y la pérdida de clorofila se relacionan tanto con el blanqueamiento como con la acumulación de betacarotenos, evidenciando que estas intensidades de luz son suficientemente altas para provocar saturación en el centro de reacción; prolongar su exposición resulta en fotooxidación o fotoinhibición, tal como lo describe Abalde en relación con la sensibilidad del PSII. Este proceso resulta de la degradación de la proteína D1, lo que impide la unión del transportador Q_b , dado que su degradación ocurre a un ritmo superior al de su resíntesis, lo que finalmente conduce a la muerte del organismo (Mattoo et al., 1989; Anderson and Styring, 1991, como se citó en Abalde, J. et al., 1995, p. 24). Se postulan dos mecanismos para esta degradación: 1) la acumulación de radicales oxidantes endógenos de larga vida en el lado del donador del PSII, y 2) la generación de especies reactivas de oxígeno (como el oxígeno en estado de singlete y otros radicales reactivos) debido a una fotoquímica anormal en el PSII, que se produce cuando el lado del aceptor está sobre-reducido (Nedbal et al., 1990; Vass et al., 1992; Jegerschiild y Styring, 1992, como se citó en Abalde, J. et al., 1995, p. 24). Asimismo, esta fotoinactivación está vinculada a la susceptibilidad de la Rubisco (ribulosa bifosfato carboxilasa; enzima clave de la fotoautotrofia) a la inactivación inducida por luz azul (Ruyters, 1984, como se citó en Abalde, J. et al., 1995, p. 24). No obstante, esta observación contradice nuestra investigación, en la cual se detectó la inactivación por luz amarilla, anaranjada y roja a una intensidad de luz de 8 kilolux.

De acuerdo con Andrade (2008), el incremento de la masa celular es directamente proporcional al aumento del pH del medio. Esto se debe a que el flujo másico es proporcional al gradiente de concentración de CO_2 del medio y de la atmósfera. Esta teoría explica la variación del nivel de pH en los tratamientos del diseño experimental. En este contexto, el medio de Zarrouk presenta una concentración de CO_2 libre superior (0,05 g/L) en comparación con la atmósfera (0,0004 g/L de CO_2 a 30 °C), lo que genera un flujo de CO_2 . Este proceso se lleva a cabo mediante el transporte activo a través de la membrana plasmática de la *S. platensis* mediante su conversión a CO_2 por la enzima anhidrasa carbónica. En conjunto, el consumo de H^+

provoca un aumento del pH en el medio hasta que ambas concentraciones alcancen el equilibrio (Andrade, M. D. R., et al., 2008).



Dióxido de carbono (aq) ↔ ácido carbónico ↔ bicarbonato ↔ ion carbonato

3.2. Resumen del análisis de los resultados experimentales

Tabla 4

Parámetros cinéticos estimados (μ_{max} , $Y_{p/x}$, Q_x y Q_p) a partir de las variables independientes (longitud de onda e intensidad de luz) sobre el crecimiento celular (g/L) y contenido de ficocianina (mg/L).

N° Experimentos	N° Tratamientos	Longitud de onda (nm)	Intensidad de luz (Kilolux)	μ_{max} (d^{-1})	$Y_{p/x}$ (mg/G)	Q_x (g/L*d)	Q_p (mg/L*d)
1	0-1	400-700	1	0,249	58,756	0,107	6,300
2	1	560-590	1	0,282	56,661	0,138	7,802
3	2	590-620	1	0,282	56,023	0,143	8,007
4	3	620-700	1	0,319	44,646	0,180	8,037
5	0-2	400-700	5	0,361	28,509	0,201	5,720
6	4	560-590	5	0,355	31,497	0,190	5,996
7	5	590-620	5	0,362	21,181	0,201	4,252
8	6	620-700	5	0,305	17,334	0,135	2,332
9	0-3	400-700	8	0,350	19,209	0,162	3,118
10	7	560-590	8	0,370	22,482	0,185	4,170
11	8	590-620	8	0,328	30,004	0,139	4,185
12	9	620-700	8	0,334	11,830	0,145	1,713

Nota. (μ_{max} ; d^{-1}) = velocidad máxima específica de crecimiento, ($Y_{p/x}$; mg/G) = rendimiento producto/biomasa, (Q_x ; g/L*d) = productividad volumétrica de generación de biomasa, (Q_p ; mg/L*d) = productividad volumétrica del contenido de producto. FUENTE: Elaboración propia.

Al analizar la Tabla 4 referente a los parámetros cinéticos, los resultados fueron los siguientes: para μ_{max} , el mejor resultado se obtuvo en el experimento N° 10 con 0,37 d^{-1} en el cultivo con luz amarilla a 8 kilolux; para $Y_{x/s}$, el mejor resultado fue el del experimento N° 7 con 0,63 g/G en el cultivo con luz anaranjado a 5 kilolux; para $Y_{p/x}$, los mejores resultados fueron los del experimento N° 1 con 58,76 mg/G y del experimento N° 2 con 56,67 mg/G, correspondientes a cultivos con luz blanca y amarilla respectivamente a 1 kilolux; para $Y_{p/s}$, los mejores resultados fueron los del

experimento N° 2 con 20,3 mg/G y del experimento N° 4 con 14,7 mg/G, correspondientes a cultivos con luz amarilla y roja respectivamente a 1 kilolux; para Q_x , los mejores resultados se obtuvieron en los experimentos N° 5 y 7, con 0,2 mg/G en cultivos con luz amarilla y roja a 5 y 8 kilolux respectivamente.

Al comparamos los resultados del diseño experimental con sus respectivos controles, los hallazgos más significativos fueron los siguientes: para μ_{max} , el cultivo a 1 Kilolux de luz blanca y amarilla en el experimento N° 3 alcanzó $0,28 d^{-1}$, con un aumento del 13,3 % respecto al control ($0,25 d^{-1}$), y el experimento N° 4 alcanzó $0,32 d^{-1}$, con un aumento del 28,31 % respecto al control; para $Y_{x/s}$, el cultivo a 1 Kilolux con luz amarilla en el experimento N° 2 mostró 0,36 g/G, con un aumento del 90,5 % respecto al control (0,19 g/G), y el experimento N° 4 con luz roja alcanzó 0,5 g/G, con un aumento del 161,94 % respecto al control; para $Y_{p/x}$, el cultivo a 8 Kilolux con luz amarilla en el experimento N° 10 alcanzó 22,5 mg/G, con un aumento del 17 % respecto al control (19,2 mg/G), y el experimento N° 11 con luz anaranjada mostró 30 mg/G, con un aumento del 56,2 % respecto al control; para $Y_{p/s}$, el cultivo a 1 Kilolux con luz amarilla en el experimento N° 2 alcanzó 20,3 mg/G, con un aumento del 83,7 % respecto al control (11,07 mg/G), y el experimento N° 4 con luz roja alcanzó 22 mg/G, con un aumento del 99 % respecto al control, para Q_x , el cultivo a 1 Kilolux con luz anaranjada en el experimento N° 3 mostró 0,14 g/L·d, con un aumento del 33,3 % respecto al control (0,11 g/L·d), y el experimento N° 4 con luz roja mostró 0,18 g/L·d, con un aumento del 67,9 % respecto al control; finalmente, para Q_p , el cultivo a 8 Kilolux con luz amarilla en el experimento N° 10 mostró 4,17 mg/L·d, con un aumento del 33,7 % respecto al control (3,12 mg/L·d), y el experimento N° 11 con luz anaranjada mostró 4,18 mg/L·d, con un aumento del 34,2 % respecto al control.

En resumen, los mejores resultados de rendimiento y productividad se obtuvieron en cultivos con intensidades de luz de 1 Kilolux, como evidencian los experimentos N° 3 y el N° 4, al contrastar este último con su respectivo control.

3.3. Comparación de modelos matemáticos

Tabla 5

Capacidad de ajuste de los modelos matemáticos respecto a los datos experimentales.

Modelo matemático	Error cuadrático medio (RMSE)	Coefficiente de ajuste (R^2)	Análisis gráfico
Modelo Logístico & Luedeking-Piret	El modelo tiene un promedio de 1,1078, siendo el segundo con la mayor capacidad de ajuste (mayor valor) en comparación con aquellos factores que no se toman en cuenta.	El modelo tiene un promedio de 0.9327, siendo el modelo con la mayor capacidad de ajuste (cercano a 1) entre los valores predichos y los valores reales.	En promedio presenta una distribución normal de los residuos y un diagrama de dispersión al azar sin sesgo y homocedástica.
Modelo Gompertz modificado	Es el mejor ajuste de modelo con un promedio de 0,8971, siendo el primer modelo con la mayor capacidad de ajuste (es decir, el menor valor) en comparación con aquellos factores que no se toman en cuenta.	El modelo tiene un promedio de 0.8795, siendo el segundo con la mayor capacidad de ajuste (cercano a 1) entre los valores predichos y los valores reales.	En promedio presenta una distribución normal con ligero sesgo de los residuos y un diagrama de dispersión al azar con sesgo y homocedástica.
Modelo Monod & Luedeking-Piret	El modelo tiene un promedio de 1.877, siendo el tercero con mayor capacidad de ajuste (menor valor) en comparación con aquellos factores que no se toman en cuenta.	El modelo tiene un promedio de 0.8525, siendo el tercero con la mayor capacidad de ajuste (cercano a 1) entre los valores predichos y los valores reales.	En promedio presenta una distribución anormal con sesgo de los residuos arriba y abajo, y un diagrama de dispersión al azar con sesgo y homocedástica.
Modelo Moser & Luedeking-Piret	El modelo tiene un promedio de 2.0411 y presenta poca capacidad de ajuste (mayor valor) en comparación con aquellos factores que no se toman en cuenta.	El modelo tiene un promedio de 0.842 y presenta una capacidad de ajuste relativamente baja, aunque cercano a 1, en comparación con los valores predichos y los valores reales.	En promedio presenta una distribución anormal con sesgo de los residuos arriba y abajo, y un diagrama de dispersión al azar con sesgo y homocedástica.

Nota. El ajuste de los modelos matemáticos fue realizado en el programa Phytton, versión 3.0.
FUENTE: Elaboración propia.

Al comparar la capacidad de ajuste de los diferentes modelos analizados, se observó que el modelo Monod & Luedeking-Piret y el modelo Moser & Luedeking-Piret presentaron los valores más altos de RMSE (1,877 y 2,0411 respectivamente), lo que sugiere una menor capacidad de ajuste para los factores no considerados. En contraste, el modelo Logístico & Luedeking-Piret y el modelo Gompertz modificado presentan los valores más bajos de RMSE (1,1078 y 0,8971 respectivamente), lo que sugiere una superior capacidad de ajuste para los factores no contemplados en la investigación.

Al analizar el coeficiente de ajuste (R^2) de todos los modelos matemáticos, el modelo Logístico & Luedeking-Piret presenta el valor más alto ($R^2 = 0.93$), lo que indica la mayor capacidad de ajuste para las variables analizadas durante la investigación. En contraste, el modelo Monod & Luedeking-Piret presenta el valor más bajo ($R^2 = 0.84$), indicando una capacidad de ajuste inferior respecto a los demás modelos.

El modelo matemático con la mayor capacidad de ajuste es el Logístico & Luedeking-Piret, según Rajasekar et al. (2015). Este modelo es indispensable para determinar la cinética de generación de biomasa de *Bacillus subtilis* 1A752, aunque la simulación se ve comprometida por la falta de determinación de la constante. Nuestro análisis concuerda con estos resultados, añadiendo diferentes observaciones. Una ventaja del modelo es su capacidad para simular con precisión el contenido del producto al incluir $p \geq 0$ (producción inicial), $\alpha \geq 0$ (parámetro de producción asociado al crecimiento o metabolito primario; g/L), y $\beta \geq 0$ (parámetro de producción no asociado al crecimiento o metabolito secundario; g/L). No obstante, una desventaja es que el modelo solo simula correctamente el crecimiento cuando X_m (asintótica superior del $\ln[X_t/X_0]$) tiene un tiempo que aumenta indefinidamente (donde X_t y X_0 son la concentración máxima e inicial de células, respectivamente; g/L). De esta forma, el modelo puede estimar la mayor parte de la cinética del microorganismo (fase de latencia, logarítmica y estacionaria), excluyendo la fase de muerte celular.

El modelo matemático Gompertz modificado, según Shen y Zhu (2017), es eficaz para describir el crecimiento microbiano y el consumo de sustrato, pero inadecuado para simular la cinética del contenido del producto. Su investigación coincide con nuestras observaciones respecto a las ventajas y desventajas del modelo. Entre las ventajas, se resalta que el modelo describe adecuadamente la cinética de generación de biomasa y al utilizar la constante lambda (λ) como la duración de la fase de latencia (lag) cuando existe inhibición por un factor (pH, temperatura, etc.), y la constante b como el parámetro de desplazamiento en el eje X. Sin embargo, la principal desventaja del modelo radica en su incapacidad para describir adecuadamente la cinética del contenido del producto, dado que no satisface la condición de $P_0 = 0$ (donde $P_0 = 0$ representa la producción inicial del producto).

Según Chen et al. (2016), los modelos matemáticos Moser y Monod presentaron un coeficiente de ajuste (R^2) cercano a 0.5, lo que sugiere que son inapropiados para

describir la cinética de generación de biomasa de *Alcaligenes faecalis* cepa NR. Este resultado concuerda con nuestras observaciones de ambos modelos. El modelo Moser & Luedeking-Piret presenta la ventaja de incorporar un parámetro ($n > 1$) para describir la fase estacionaria de la cinética microbiana, adaptándose adecuadamente tanto al inicio como a la fase de latencia y la fase estacionaria. Ambos modelos, no obstante, exhiben desventajas en nuestra investigación. En los modelos Moser & Luedeking-Piret y Monod & Luedeking-Piret, se evidencia inhibición al considerar que $\beta = 0$ (parámetro de producción no asociado al crecimiento o metabolito secundario; g/L), siendo ambos modelos de base empírica.

3.4. Análisis estadístico

3.4.1. Análisis inductivo o referencial

Para corroborar las conclusiones, se determinó el nivel de significancia del efecto de las variables independientes (intensidad de luz; Kilolux y longitud de onda; nm), sobre las dependientes (crecimiento celular y contenido de ficocianina), empleando el programa STATISTICA.

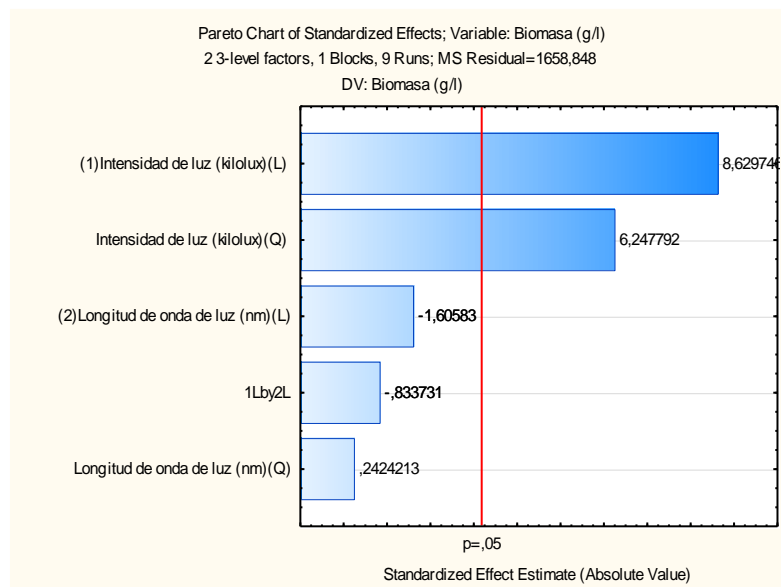


Figura 7. Carta de Pareto con término de error del ANOVA de SS residual, de la generación de biomasa (g/L). FUENTE: Elaboración propia.

Se constató que el efecto de la intensidad de luz (Kilolux) y su interacción exceden el nivel de significancia de 0.05, lo que sugiere que son significativos para la generación de biomasa (g/L).

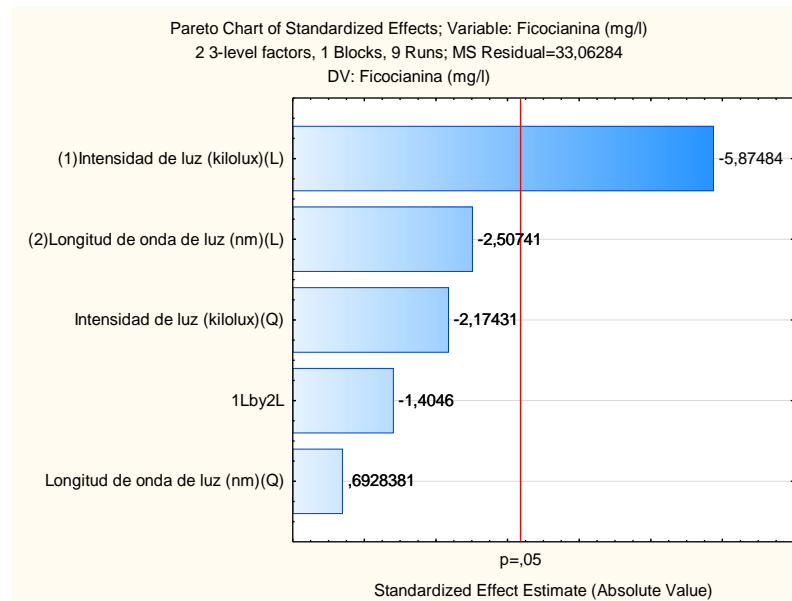


Figura 8. Carta de Pareto con término de error del ANOVA de SS residual, del contenido de ficocianina (mg/L). FUENTE: Elaboración propia.

Observamos que ningún efecto de la intensidad de luz (Kilolux) supera el nivel de significancia de 0.05, lo que indica que son significativos para el contenido del producto (mg/L).

Al llevar a cabo el ANOVA de la suma de cuadrados (SS) residual de los datos experimentales sobre la generación de biomasa, se obtuvo un ajuste cercano a 1 (R^2 : 0.97, R^2 ajustado: 93); por lo consiguiente, se concluyó que el modelo lineal es adecuado.

Tabla 6

ANOVA de la generación de biomasa (g/L).

Factor	SS	df	MS	F	Valor-p
(1) Intensidad de luz (Kilolux)(L)	123538,6	1	123538,6	74,4725	0,0033
Intensidad de luz (Kilolux)(Q)	64753	1	64753	39,0349	0,0083
(2) Longitud de onda de luz (nm)(L)	4277,7	1	4277,7	2,5787	0,2067
Longitud de onda de luz (nm)(Q)	97,5	1	97,5	0,0588	0,8241
1L por 2L	1153,1	1	1153,1	0,6951	0,4656
Error	4976,5	3	1658,8		
SS Total	198796,3	8			

Nota. SS: suma de cuadrados, df: grado de libertad, MS: ANOVA, F: cociente del ANOVA del factor respecto al ANOVA del error, p: intervalo de confiabilidad. FUENTE: Elaboración propia.

Al realizar el ANOVA de la suma de cuadrados (SS) residual de los datos experimentales sobre el contenido de ficocianina, se obtuvo un ajuste cercano a 1 (R^2 : 0.94, R^2 ajustado: 84); por ende, se concluyó que el modelo lineal es adecuado.

Tabla 7

ANOVA del contenido de ficocianina (mg/L).

Factor	SS	df	MS	F	Valor-p
(1) Intensidad de luz (Kilolux)(L)	1141,123	1	1141,123	34,5137	0,0098
Intensidad de luz (Kilolux)(Q)	156,309	1	156,309	4,7276	0,1180
(2) Longitud de onda de luz (nm)(L)	207,87	1	207,87	6,2871	0,0871
Longitud de onda de luz (nm)(Q)	15,871	1	15,871	0,4800	0,5382
1L por 2L	65,23	1	65,23	1,9729	0,2548
Error	99,189	3	33,063		
SS Total	1685,591	8			

Nota. SS: suma de cuadrados, df: grado de libertad, MS: ANOVA, F: cociente del ANOVA del factor respecto al ANOVA del error, p: intervalo de confiabilidad. FUENTE: Elaboración propia.

En el ANOVA, se concluyó que la intensidad de luz (Kilolux) es significativa para la generación de biomasa y contenido de ficocianina, dado que no excede el intervalo de confianza ($p > 0.05$); además, el ajuste del modelo es confiable, con un R^2 promedio de 0,96 y R^2 ajustado promedio de 0,89; ambos cercanos a 1.

Tabla 8

Coefficiente de regresión de la biomasa (g/L).

Factor	Coefficientes de regresión	Error estándar	T (3)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Intercepción media	329,1878	30,3576	10,8437	0,0017	232,5764	425,7991
(1) Intensidad de luz (Kilolux)(L)	143,4913	16,6275	8,6297	0,0033	90,5751	196,4075
Intensidad de luz (Kilolux)(Q)	-179,9347	28,7997	-6,2478	0,0083	-271,5882	-88,2811
(2) Longitud de onda de luz (nm)(L)	-26,7010	16,6275	-1,6058	0,2067	-79,6172	26,2152
Longitud de onda de luz (nm)(Q)	-6,9817	28,7997	-0,2424	0,8241	-98,6352	84,6719
1L por 2L	-16,9785	20,3645	-0,8337	0,4656	-81,7874	47,8304

Nota. T: grado de libertad del error, p: intervalo de confianza. FUENTE: Elaboración propia.

Tabla 9*Coefficiente de regresión de la ficocianina (mg/L).*

Factor	Coefficientes de regresión	Error estándar	T (3)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Intercepción media	27,2780	4,2858	6,3647	0,0078	13,6386	40,9174
(1) Intensidad de luz (Kilolux)(L)	-13,7908	2,3474	-5,8748	0,0098	-21,2614	-6,3202
Intensidad de luz (Kilolux)(Q)	8,8405	4,0659	2,1743	0,1180	-4,0990	21,7800
(2) Longitud de onda de luz (nm)(L)	-5,8860	2,3474	-2,5074	0,0871	-13,3566	1,5846
Longitud de onda de luz (nm)(Q)	-2,8170	4,0659	-0,6928	0,5382	-15,7565	10,1225
1L por 2L	-4,0382	2,8750	-1,4046	0,2548	-13,1878	5,1113

Nota. T: grado de libertad del error, p: intervalo de confianza. FUENTE: Elaboración propia.

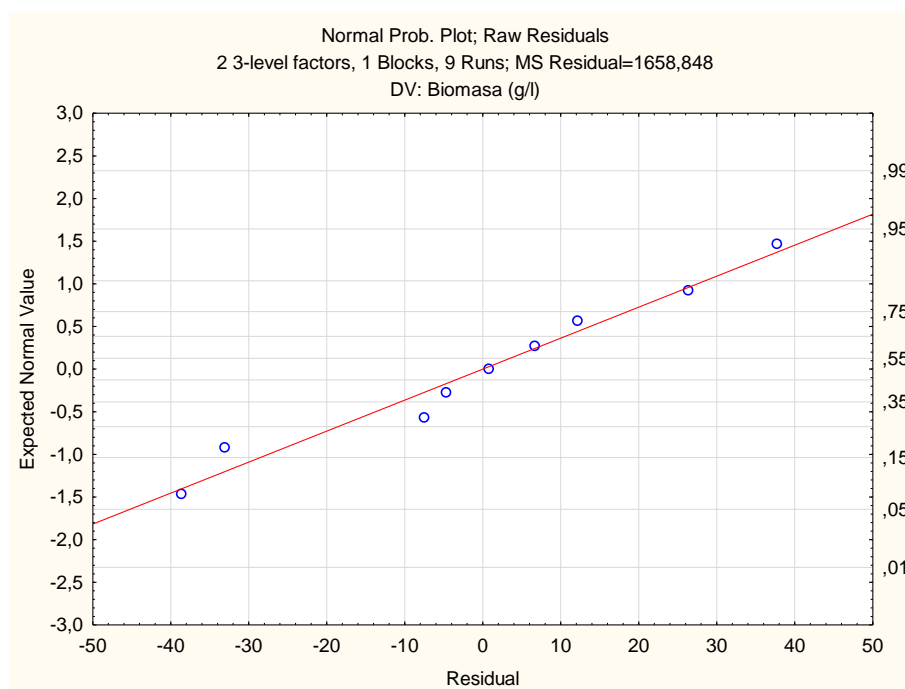


Figura 9. Probabilidad normal de la biomasa (g/L). FUENTE: Elaboración propia.

Se observó que los residuales de los datos experimentales de generación de biomasa (g/L) presentan una distribución normal, por consiguiente, concluimos que se ajustan adecuadamente al modelo.

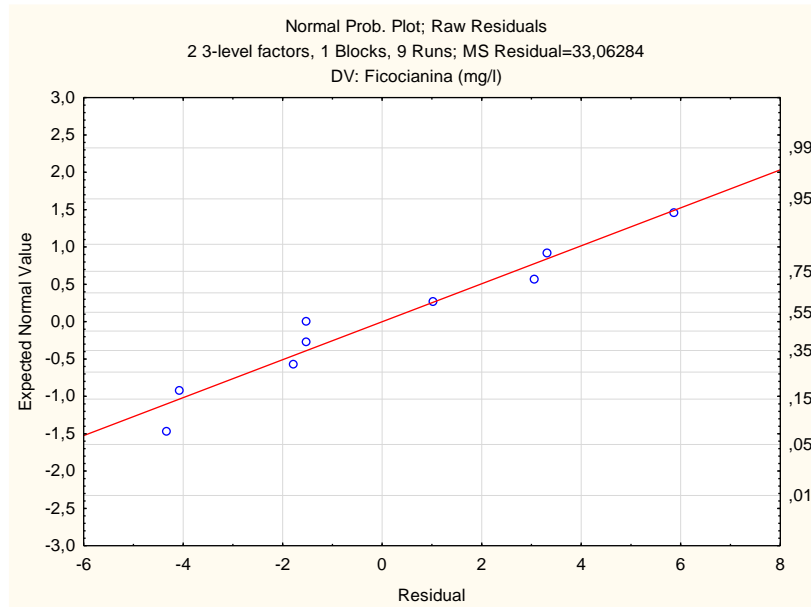


Figura 10. Probabilidad normal del contenido de ficocianina (mg/L). FUENTE: Elaboración propia.

Se observó que los residuales de los datos experimentales de contenido de ficocianina (mg/L) presentan una distribución normal, por ende, concluimos que se ajustan adecuadamente al modelo.

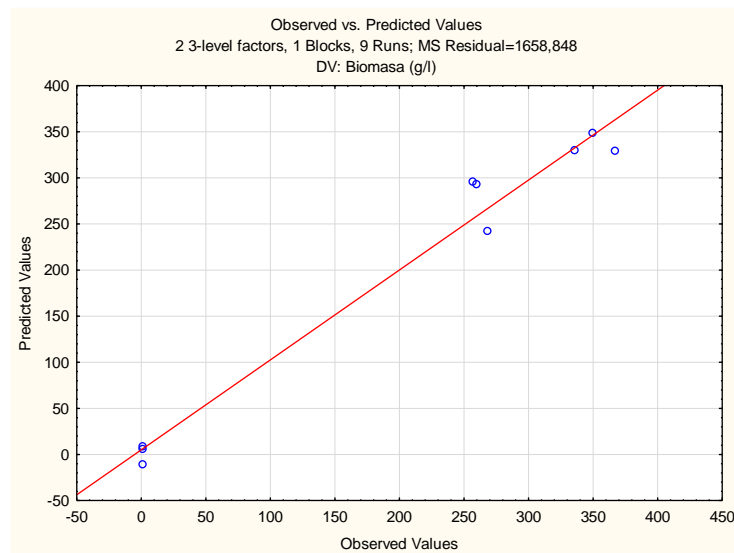


Figura 11. Valores observables vs valores predichos de la generación de biomasa (g/L). FUENTE: Elaboración propia.

Se constata que los valores se hallan contenidos dentro de la línea roja, presentando una ligeramenta desviados del modelo a causa del error experimental.

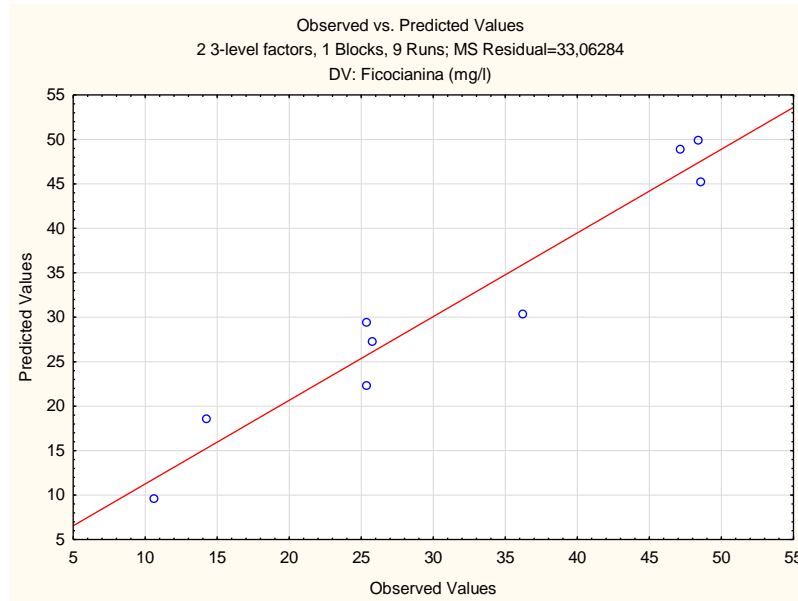


Figura 12. Valores observables vs valores predichos de la ficocianina. FUENTE: Elaboración propia.

Se constató que los valores se encuentran contenidos dentro de la línea roja, presentando una ligera desviados del modelo a causa del error experimental.

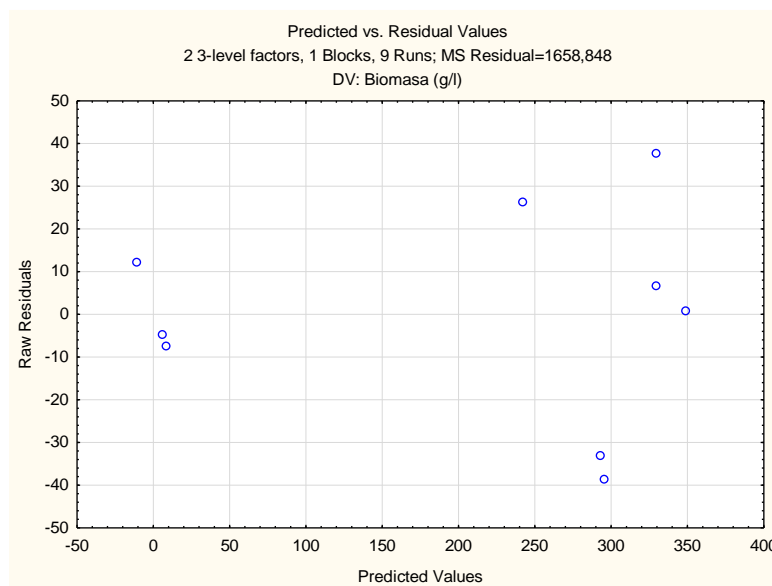


Figura 13. Valores residuales vs valores predichos de la biomasa. FUENTE: Elaboración propia.

Se observa que los valores están distribuidos aleatoriamente en el plano, sin ninguna tendencia.

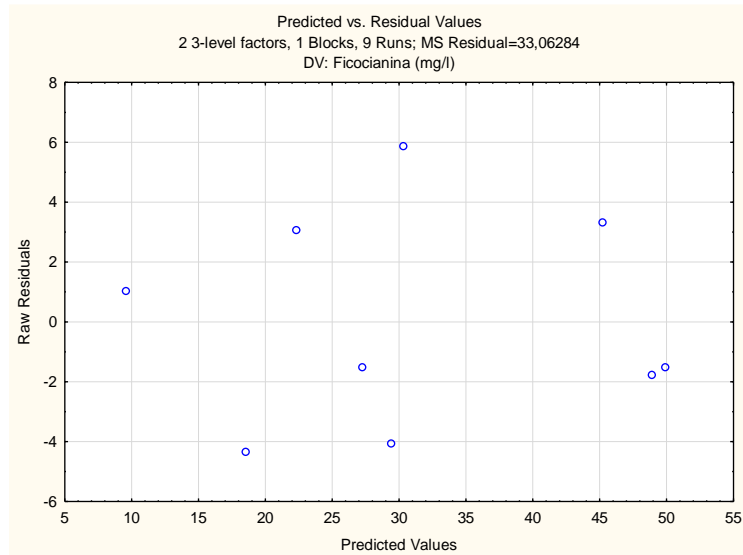


Figura 14. Valores residuales vs valores predichos de la ficocianina. FUENTE: Elaboración propia.

Se observó, que los valores se distribuyen en el plano de forma aleatoria, sin ninguna tendencia.

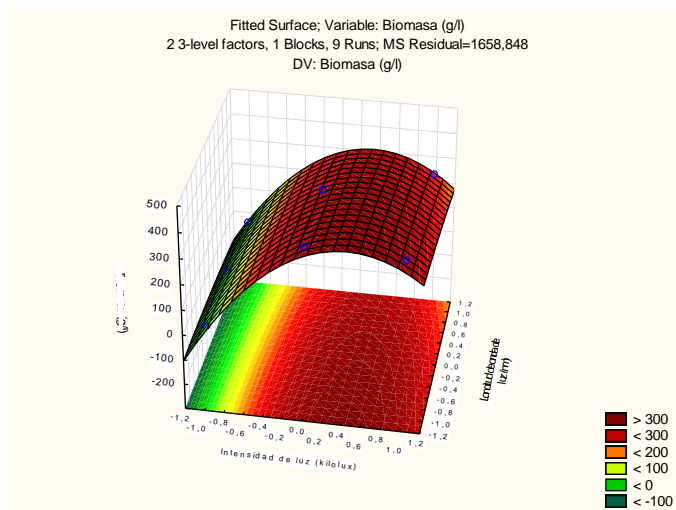


Figura 15. Superficie de respuestas de la generación de biomasa (g/L). FUENTE: Elaboración propia.

En la figura 17 se evidenció que la interacción entre la intensidad de luz (kilolux) en los niveles del punto central (0) y positivo (+1), y la longitud de onda de luz (nm) en los niveles del punto negativo (-1) son más significativos en la generación de biomasa (g/L).

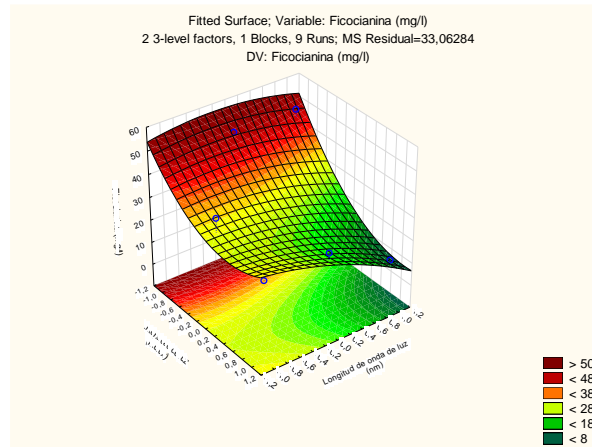


Figura 16. Superficie de respuestas del contenido de ficocianina (mg/L). FUENTE: Elaboración propia.

En la figura 18 observamos que los puntos negativos (-1) de la intensidad de luz (kilolux) y los puntos centrales (0) de la longitud de onda de luz (nm) son más significativos para el contenido de ficocianina (en mg/L).

Al comparar los resultados del análisis estadístico inductivo para la generación de biomasa y el contenido de ficocianina, se observó que la intensidad de luz (kilolux) ejerce un efecto significativo (nivel de significancia = 0.05) sobre ambas variables dependientes (Figura 9 y Figura 10). Asimismo, la estimación derivada de los diferentes niveles de longitud de onda e intensidad de luz respecto a los valores reales es ajustable, con un R^2 promedio de 0.96 y un R^2 ajustado promedio de 0.89, ambos cercanos a 1 (Tabla 6 y Tabla 7).

3.4.2. Estadística descriptiva

Se empleó un diagrama de Cajas y Vigotes en el programa Python para visualizar los valores atípicos y comparar simultáneamente las distribuciones de los datos.

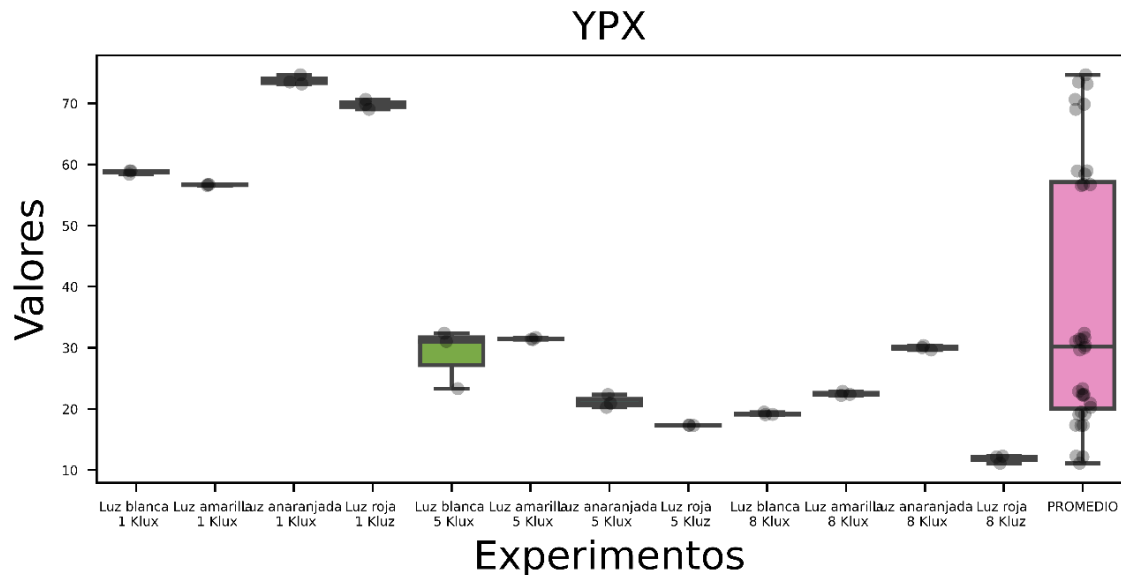


Figura 17. Caja y bigotes del rendimiento de producto sobre biomasa ($Y_{p/x}$). FUENTE: Elaboración propia.

En la Figura 19 se observa que casi todas las gráficas, a excepción del Experimento N° 5, presentan poca variabilidad. El Experimento N° 5 muestra una distribución asimétrica negativa, con una mediana más cercana al tercer cuartil, una media menor que la mediana y una moda menor que la mediana; en contraste, la gráfica promedio exhibe una distribución asimétrica positiva, con una mediana más cercana al primer cuartil, una media superior a la mediana, y una moda inferior a la mediana; además, se identificaron valores atípicos (outliers).

3.4.2.1. Generación de biomasa

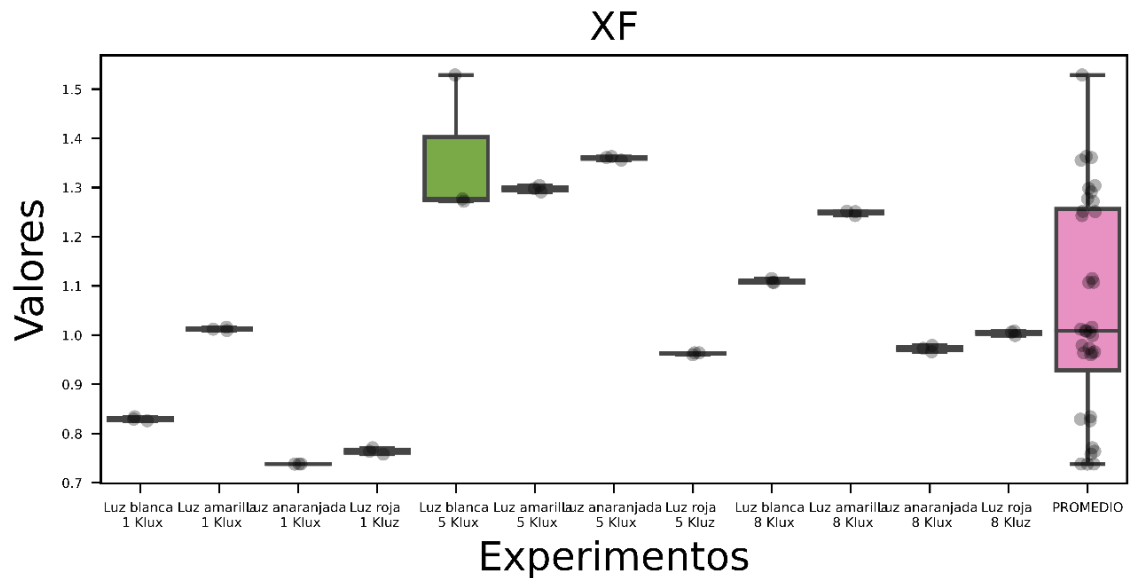


Figura 18. Caja y bigotes del rendimiento de generación de biomasa. FUENTE: Elaboración propia.

En la Figura 22 se observa que más de la mitad de las gráficas, a excepción de los Experimentos N° 8, 9, 10, 11 y 12, tienen poca variabilidad. Entre estas excepciones, solo el Experimento N° 11 presenta una distribución asimétrica positiva, con una media más cercana al primer cuartil, una media superior a la mediana, y una mediana superior a la moda; en contraste, las gráficas de los demás experimentos y la gráfica promedio muestran una distribución asimétrica negativa, con una media más cercana al tercer cuartil, una media superior a la mediana, y una mediana superior a la moda. Cabe destacar que no se encontraron valores atípicos (outliers).

3.4.2.2. Contenido de ficocianina

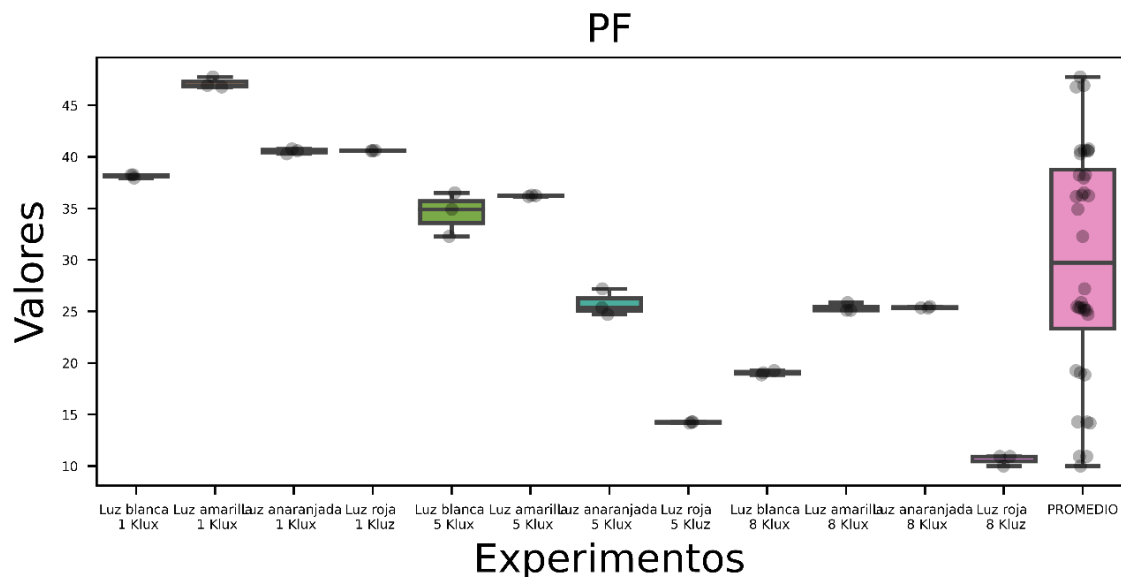


Figura 19. Caja y bigotes del rendimiento del contenido de ficocianina. FUENTE: Elaboración propia.

En la Figura 24 se observa que la mitad de las gráficas (Experimentos N° 7, 8, 9, 10, 11 y 12) tienen poca variabilidad. Los Experimentos N° 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 11 presentan una distribución asimétrica positiva, con una media más cercana al primer cuartil, una media superior a la mediana, y una mediana superior a la moda; en contraste, los demás experimentos y la gráfica promedio muestran una distribución asimétrica negativa, con una media más cercana al tercer cuartil, una media superior a la mediana, y una mediana superior a la moda. Cabe destacar que el gráfico del Experimento N° 5 y la gráfica promedio presentaron valores atípicos (outliers).

3.5. Mejor modelo matemático de ajuste

3.5.1 Logístico & Luedeking-Piret

El modelo matemático de Logístico y Luedeking-Piret presentó un error cuadrado medio (RMSE) de 0.1157 y un coeficiente de ajuste (R^2) de 0.9931, lo que indica que el modelo es eficaz para describir los procesos biológicos y fisicoquímicos, permitiendo, en conjunto, predecir con precisión el comportamiento del sistema biológico de *S. platensis*.

3.5.1.1. Experimentos del diseño experimental

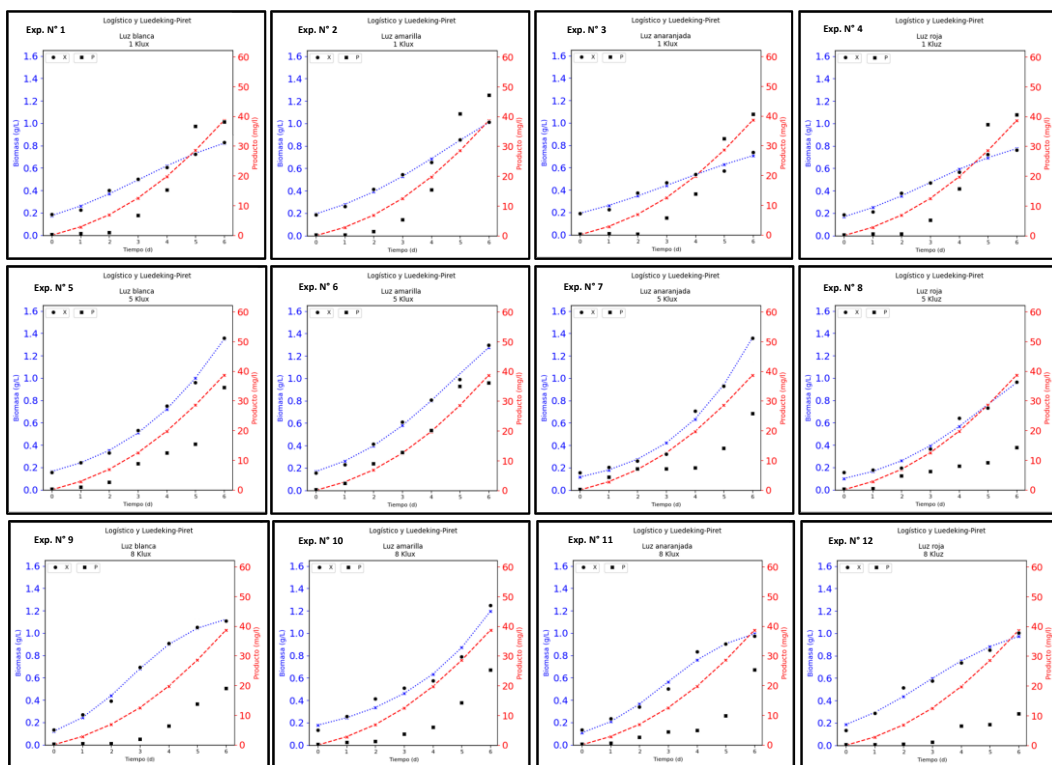


Figura 20. Ajuste del promedio de los datos del diseño experimental con el modelo matemático Logístico & Luedeking-Piret. FUENTE: Elaboración propia.

En la Figura 25, los experimentos N° 9, N° 10 y N° 11 presentaron valores de R^2 superiores a 0.95, lo que indica que el modelo es altamente preciso en estos casos, explicando más del 95% de la variabilidad de los datos. Este buen ajuste sugiere que las condiciones experimentales de estos ensayos favorecen un comportamiento más predecible y controlable.

En contraste, los experimentos N° 2, N° 3, N° 4, N° 9, N° 10 y N° 11; salvo el N° 8 (que presentó un ajuste extremadamente preciso con un RMSE de 0.137) mostraron valores de RMSE que oscilaron entre 0.2022 y 0.2677. Esto

indica que, aunque el modelo mantiene un ajuste considerablemente alto, las predicciones pueden presentar ligeras desviaciones respecto a los datos experimentales. No obstante, los valores siguen siendo bajos y sugieren una alta precisión en los experimentos.

En contraste, los demás experimentos, tanto en el ajuste del Error Cuadrado Medio (RMSE) como del Coeficiente de Ajuste (R^2), sugieren que las condiciones experimentales no fueron tan ideales, o que el modelo podría no estar capturando completamente la dinámica de los procesos biológicos y fisicoquímicos, generando una baja predicción de los resultados.

En los experimentos con R^2 más alto, como los experimentos 9, 10 y 11, el RMSE es relativamente bajo, esto sugiere que el modelo no solo ajusta bien los datos, sino que también presenta un bajo error de predicción. En contraste, los experimentos con R^2 más bajo (como los experimentos 1 y 7) tienden a mostrar un RMSE más alto, lo que refleja una mayor discrepancia entre los valores predichos por el modelo y los datos reales.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La luz amarilla demostró ser efectiva para el crecimiento celular. En experimentos realizados a 1 kilolux, se obtuvo una μ_{\max} de 0.282 d^{-1} y un $Y_{x/s}$ de 0.389 g/G . El $Y_{p/s}$ alcanzó 20.343 mg/G , con una Q_x de $0.138 \text{ g/L}\cdot\text{d}$ y una Q_p de $7.802 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$ (Tabla 3). Estos resultados sugieren que esta longitud de onda favorece tanto el crecimiento celular como la producción de ficocianina, aunque en la misma medida que la luz roja (Hernández Uribe, 2022).

La luz naranja a 1 kilolux mostró resultados similares, con un μ_{\max} también de 0.282 d^{-1} y un $Y_{x/s}$ de 0.262 g/G . El $Y_{p/s}$ fue menor, alcanzando solo 14.673 mg/G . La Q_x fue de $0.143 \text{ g/L}\cdot\text{d}$, mientras que la Q_p fue de $8.007 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$. Estos resultados indican que, aunque la luz naranja puede estimular el crecimiento celular, su efectividad para maximizar la producción de ficocianina es inferior a la de la luz amarilla y roja (Caiza-Lincango et al., 2024).

Por otro lado, la luz roja se destacó como la más efectiva para maximizar tanto el crecimiento celular como la producción de ficocianina. A un kilolux, se registró un μ_{\max} de 0.319 d^{-1} y un $Y_{x/s}$ de 0.494 g/G , con un $Y_{p/s}$ que alcanzó los 22.039 mg/G . La Q_x fue de $0.180 \text{ g/L}\cdot\text{d}$ y la Q_p fue de $8.037 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$. Estos resultados sugieren que la luz roja no solo promueve el crecimiento celular, sino que también maximiza la producción de pigmentos, probablemente debido a su capacidad para estimular la síntesis de ficobiliproteínas, como la ficocianina (Hernández Uribe, 2022) (Medina-Jaritz et al., 2022).

En resumen, los datos sugieren que la luz roja es la más efectiva para maximizar tanto el crecimiento celular como la producción de ficocianina en *S. platensis*. En términos de intensidad lumínica, las condiciones a 5 kilolux parecen ser óptimas para el crecimiento y producción en comparación con las intensidades más bajas (1 kilolux) y más altas (8 kilolux), donde se observan disminuciones en varios parámetros como el rendimiento y la productividad. La luz amarilla también muestra beneficios significativos, mientras que la luz naranja parece ser menos efectiva en comparación con las otras longitudes de onda.

Los experimentos N° 2 y N° 8 presentaron los menores rendimientos y productividades en comparación con su tratamiento control y, por ende, no son tratamientos idóneos para mejorar el crecimiento celular y el contenido de ficocianina de *S. platensis*. En el experimento N° 2, se observó una disminución del μ_{\max} del 40.6% (0.18 d^{-1}), del $Y_{x/s}$ del 75% (0.087 g/G), del $Y_{p/s}$ del 24.36% (6.96 mg/G) y del Q_x del 56.2% ($0.06 \text{ g/L}\cdot\text{d}$) respecto del control (0.3 d^{-1} , 0.3 g/G , 9.2 mg/G y $0.15 \text{ g/L}\cdot\text{d}$, respectivamente). En el experimento N° 8, se observó una disminución del μ_{\max} del 15.6% (0.3 d^{-1}), del $Y_{x/s}$ del 49.9% (0.3 g/G), del $Y_{p/x}$ del 39.1% (17.5 mg/G), del $Y_{p/s}$ del 69.5% (5.1 mg/G), del Q_x del 33.3% ($0.13 \text{ g/L}\cdot\text{d}$) y del Q_p del 59.4% ($2.3 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$) respecto del control (0.3 d^{-1} , 0.3 g/G , 28.8 mg/G , 16.6 mg/g , $0.2 \text{ g/L}\cdot\text{d}$ y $5.7 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$, respectivamente).

Los experimentos N° 7 y N° 4 presentaron los mayores rendimientos y productividades en comparación con su tratamiento control, por lo que se consideran tratamientos idóneos para mejorar el crecimiento celular y el contenido de ficocianina de *S. platensis*. En el experimento N° 7, se observó un aumento del μ_{\max} del 0.31% (0.3625 d^{-1}), del $Y_{x/s}$ del 7.69% (0.62 g/G) y del Q_x del 0.05% ($0.1984 \text{ g/L}\cdot\text{d}$) respecto del control (0.3613 d^{-1} , 0.58 g/G y $0.1983 \text{ g/L}\cdot\text{d}$, respectivamente). En el experimento N° 4, se observó un aumento del $Y_{p/x}$ del 127.8% (67.6 mg/G), del $Y_{p/s}$ del 105% (18.9 mg/G) y del Q_p del 53.3% ($6.7 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$) respecto del control (29.7 mg/G , 9.2 mg/G y $4.4 \text{ mg/L}\cdot\text{d}$, respectivamente).

Por tal razón, concluimos que el experimento con luz roja a una intensidad de 1 kilolux resultó ser el más efectivo para maximizar tanto el crecimiento celular como la producción total de ficocianina. La luz amarilla también mostró un rendimiento significativo y puede considerarse una alternativa viable bajo condiciones controladas. Sin embargo, a intensidades más altas (5 kilolux), el rendimiento total se vio afectado negativamente en algunos casos, lo que sugiere la existencia de un punto óptimo para la intensidad lumínica.

El modelo matemático que mejor ajustó los datos experimentales fue el modelo Logístico y Ludeking-Piret, ya que presentó el menor valor de RMSE (0.1157) y el mayor valor de R^2 (0.9931) en comparación con los demás modelos. Sin embargo, se considera que la variación en los valores de RMSE y R^2 dentro de este modelo puede haberse debido a varios factores, como las condiciones ambientales no controladas: el pH y la temperatura; los factores biológicos no modelados: la fotosíntesis; y el ruido experimental, relacionado

con los errores de medición. Para mejorar el ajuste, sería útil experimentar con más variables o ajustar el modelo para incorporar factores adicionales, como los antes mencionados. Por lo tanto, concluimos que el modelo Logístico y Ludeking-Piret es el más adecuado para describir la cinética microbiana de *S. platensis*.

De acuerdo con los resultados estadísticos obtenidos mediante el programa STATISTICA, se concluyó que el mejor efecto en la generación de biomasa y el contenido de ficocianina se alcanza al operar con intensidades de luz (kilolux) de bajo nivel (-1). Este factor (variable) es significativo, con un nivel de significancia de 0.05, en comparación con la longitud de onda (nm), cuyo efecto no supera el nivel de significancia. Asimismo, la estimación obtenida se correlaciona adecuadamente con los valores reales, exhibiendo un coeficiente de determinación promedio (R^2) de 0.96 y un R^2 ajustado de 0.89, ambos valores cercanos a 1, lo que sugiere un buen ajuste del modelo a los datos experimentales (ver Tablas 6 y 7).

Con el propósito de optimizar la estimación derivada del análisis estadístico, se recomienda implementar un diseño factorial 3^2 con la inclusión de puntos centrales antes de aplicar el diseño de Box-Behnken. Esto facilitará la investigación de los efectos principales y las interacciones entre factores, permitiendo así la identificación de posibles relaciones lineales y no lineales dentro de los datos, además de efectos cuadráticos, la optimización de los ajustes experimentales y la facilitación de la construcción de un modelo más exacto en el diseño de Box-Behnken. De manera análoga, mejorará la efectividad y precisión del análisis al ofrecer información relevante antes de realizar un diseño más complejo y costoso, optimizando así la utilización de los recursos.

Se sugiere que la técnica de electroforesis en gel de agarosa para proteínas se aplique en la etapa final con el objetivo de cuantificar el contenido de ficocianina. Mediante la aplicación de este método, se facilitaría la separación de las ficobiliproteínas (ficeirina, ficocianina y aloficocianina) aisladas de la célula tras la lisis celular, considerando el peso molecular de cada una de estas proteínas. El contenido de ficocianina debe ser liofilizado posteriormente para su evaluación como posible aditivo alimentario.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdali, N., Tabaripour, R., Javadi, S., Nasirikenari, M., Birjandi, M., et al. (2024). C-Phycocyanin and Phycocyanobilin as a Novel Adjuvant in Hepatitis B Vaccine. *Iran J Pharm Res.* 2024;23(1): e147060. Recuperado de [[https://doi.org/10.5812/ijpr-147060.](https://doi.org/10.5812/ijpr-147060)]
- AlFadhly, N. K. Z., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., & Cacciola, F. (2022). Tendencies Affecting the Growth and Cultivation of Genus Spirulina: An Investigative Review on Current Trends. *Plants*, 11(22), 3063. Recuperado de [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9693216/>]
- Arredondo-Vega, B. O. & Voltolina, D. (2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste*, SC, La Paz, BCS, México. 97p. Recuperado de [<https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/539>]
- Arribas Jimeno, A. (2021). Fotobiorreactores: técnicas y parámetros implicados en la producción de biocombustibles de origen microalgal. *Revista Internacional de Biotecnología*, 12(2), 45-58. Recuperado de [<https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/44886/TFG-I-1688.pdf>]
- Andrade, M. D. R., Camerini, F. V., & Costa, J. A. V. (2008). Perda química de carbono e cinética do crescimento celular em cultivos de Spirulina. *Química Nova*, 31, 2031-2034. Recuperado de [<https://www.scielo.br/j/qn/a/JpB5nwJN58rcRmM3MZShhk/?lang=pt>]
- Caiza-Lincango, K., Soto, G., & Coello, M. (2023). Influencia de las longitudes de onda en el crecimiento celular de Chlorella sp. *Tesla Revista Científica*, 3(2), e316. Recuperado de [<https://www.doi.org/10.55204/trc.v3i2.e316>]
- Carvalho, A. P., Meireles, L. A., & Malcata, F. X. (2006). Microalgal reactors: A review of the state of the art and future prospects. *Biotechnology Advances*, 24(3), 263-290. Recuperado de [<https://www.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.02.002>]
- Chen, J., Zhao, B., An, Q., Wang, X., & Zhang, Y. X. (2016). Kinetic characteristics and modelling of growth and substrate removal by *Alcaligenes faecalis* strain

- NR. Bioprocess and biosystems engineering, 39(4), 593-601. Recuperado de [\[https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-016-1541-9\]](https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-016-1541-9)
- Chico-Ruiz, J., Rodríguez-Espejo M., Veneros-Terrones R. (2019). Fisiología Vegetal. Manual de Prácticas.
- CISION (02 August 2022). Synthetic Food Colors Market to Top US\$ 1,066 Mn by 2032 as Demand for Processed Foods Surge - Future Market Insights, Inc. Recuperado de [\[https://www.prnewswire.com/news-releases/synthetic-food-colors-market-to-top-us-1-066-mn-by-2032-as-demand-for-processed-foods-surge---future-market-insights-inc-301597882.html\]](https://www.prnewswire.com/news-releases/synthetic-food-colors-market-to-top-us-1-066-mn-by-2032-as-demand-for-processed-foods-surge---future-market-insights-inc-301597882.html)
- Cohen, M. G., Rodríguez, H., Vargas, M. A., García-González, M., del Campo, J. A., Moreno, J., & Rivas, J. (2021). Las microalgas como productoras de pigmentos con interés comercial. Biotecnología y Aplicaciones de Microorganismos Pigmentados. Recuperado de [\[https://www.core.ac.uk/download/pdf/61907495.pdf\]](https://www.core.ac.uk/download/pdf/61907495.pdf)
- Crisanto-Madrid, G. B. & Yataco-Guevara, K. J. (2018). Efecto de diferentes concentraciones de aguas residuales del procesamiento primario de *Engraulis ringens* “anchoveta” en el crecimiento y contenidos de proteínas de *Spirulina maxima*”.
- Denish, P. R., Fenger, J. A., Powers, R., Sigurdson, G. T., Grisanti, L., Guggenheim, K. G., Laporte, S., Li, J., Kondo, T., Magistrato, A., Moloney, M. P., Riley, M., Rusishvili, M., Ahmadiani, N., Baroni, S., Dangles, O., Giusti, M., Collins, T. M., Didzbalis, J., Yoshida, K., Siegel, J. B. & Robbins, R. J. (2021). Discovery of a natural cyan blue: A unique food-sourced anthocyanin could replace synthetic brilliant blue. *Science advances*, 7(15), eabe7871. Recuperado de [\[https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abe7871\]](https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abe7871)
- Silva, S. P. M., Garcete, R. M. D. P., & Trinidad, S. Álvarez. (2022). Extracción de biopigmentos derivados de un cultivo en fotobiorreactor tipo batch de *Arthrospira platensis*, Gomont 1892 del Paraguay. *South Florida Journal of Development*, 3(2), 2117–2129. Recuperado de [\[https://doi.org/10.46932/sfjdv3n2-040\]](https://doi.org/10.46932/sfjdv3n2-040).

- Eufic. (2023). Microalgas: la producción de nuevos alimentos que tengan aceptación entre los consumidores. Recuperado de [<https://www.eufic.org/es/produccion-de-alimentos/articulo/microalgas-la-produccion-de-nuevos-alimentos-que-tengan-aceptacion-entre-los-consumidores/>]
- Fekrat, F., Shahbazi, M., Hejazi, M. A., Nami, B. (2022). Optimization of light conditions by affecting the growth and production of C-Phycocyanin in *Spirulina platensis* microalgae. *Plant Process and Function*; 11 (48): 6. Recuperado de [<http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1598-en.html>]
- Ferreira, R., Do Nascimento, B., Fernandes, G., Souza, T., De Abreu, M., Dantas, H., Guidone, C., Da Silva, D., Domingues, J. R., Gomes, K. (2015). Production of phycobiliproteins by *Arthrospira platensis* under different light conditions for application in food products. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 35(2), 247-252. Recuperado de [<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395941535003>]
- Fernández-Honores, A. M., Alvítez-Izquierdo, E., & Rodríguez-Rodríguez, E. F. (2019). Taxonomía e importancia de " *Spirulina*" *Arthrospira jenneri* (*Cyanophyceae: Oscillatoriaceae*). *Arnaldoa*, 26(3), 1091-1104. Recuperado de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992019000300016&script=sci_arttext]
- Florent-Niangoran N. U., Buso, D., Zisis G. & Prudhomme, T. (2021). Influence of light intensity and photoperiod on energy efficiency of biomass and pigment production of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). *OCL-Oilseeds and fats crops and lipids*, 2021, 28, pp.37, 28, 37. Recuperado de [https://www.ocl-journal.org/articles/ocl/full_html/2021/01/ocl210023/ocl210023.html]
- Freire, D. A., Castro, K. S., Maldonado, M. E. (2024). Optimization of an Alternative Culture Medium for Phycocyanin Production from *Arthrospira platensis* under Laboratory Conditions. *Microorganisms*, 12(2), 363. Recuperado de [<https://doi.org/10.3390/microorganisms12020363>].
- Forbes, T., García, M. A., Alarcón, J. I. & Armas, E. (2017). Empleo de ficocianina como colorante natural en la Industria Alimentaria. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 23(1). Recuperado de

[\[https://www.researchgate.net/publication/275973226_EMPLEO_DE_FICOCIA_NINA_COMO_COLORANTE_NATURAL_EN_LA_INDUSTRIA_ALIMENTARIA\]](https://www.researchgate.net/publication/275973226_EMPLEO_DE_FICOCIA_NINA_COMO_COLORANTE_NATURAL_EN_LA_INDUSTRIA_ALIMENTARIA)

García, A., & otros autores. (2021). Efecto del tipo de iluminación sobre el crecimiento y la biomasa en cultivos microalgales. *Revista Internacional de Biotecnología*, 12(1), 22-34

G.I.S. IBERICA (sf). Equipos de precisión. Instrucciones de uso del laboratorio LX033. Equipos de precisión. Recuperado de [\[http://www.gisiberica.com/MANUAL%20LX033.pdf\]](http://www.gisiberica.com/MANUAL%20LX033.pdf)

Gómez-Hermoso, F. (2015). Introducción a la espirulina: Historia, aplicaciones y sistemas de cultivo. Blog Fundación para el Conocimiento Madrid. Recuperado de [\[https://www.madrimasd.org/blogs/espirulina/2015/11/17/40/\]](https://www.madrimasd.org/blogs/espirulina/2015/11/17/40/)

González, C. A. (2017). Cultivos de microalgas a gran escala: sistemas de producción. *Revista ADN Agro*, 18, 1-14. Recuperado de [\[https://www.cajamar.es/es/agroalimentario/innovacion/formacion/actividades-de-transferencia/ano-2016/cultivos-de-microalgas-a-gran-escala-sistemas-de-produccion/\]](https://www.cajamar.es/es/agroalimentario/innovacion/formacion/actividades-de-transferencia/ano-2016/cultivos-de-microalgas-a-gran-escala-sistemas-de-produccion/)

Grover, P., Bhatnagar, A., Kumari, N., Narayan Bhatt, A., Kumar Nishad, D., & Purkayastha, J. (2021). C-Phycocyanin-a novel protein from *Spirulina platensis*- In vivo toxicity, antioxidant and immunomodulatory studies. *Saudi journal of biological sciences*, 28(3), 1853–1859. Recuperado de [\[https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.037\]](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.037).

Gurney, T., & Spendiff, O. (2021). Spirulina supplementation improves oxygen uptake in arm cycling exercise. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 45-50. Recuperado de [\[https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32892320/\]](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32892320/)

Hakamada, R., & otros autores. (2020). Efecto del tipo de iluminación sobre el crecimiento y biomasa en cultivos microalgales. *Revista Internacional de Biotecnología*, 11(1), 33-47.

- Herazo, D., Vallejo, A., Vegliante, D., Pineda, Y., Jarma, A., Jaraba, J., Ariza, A., González, A. (2023). Cultivo de cianobacterias: aspectos prácticos. Fondo Editorial - Universidad de Córdoba. Recuperado de [\[https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/7865\]](https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/7865)
- Hernández Rodríguez, J. (2021). Espirulina como producto natural con potencialidades para su empleo en pacientes con diabetes mellitus. *Revista Cubana de Endocrinología*, 32(1). Recuperado de [\[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1561-29532021000100009&script=sci_abstract&tlng=es\]](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1561-29532021000100009&script=sci_abstract&tlng=es)
- Hua-Bing, C. et al. (2010); Wicaksono, H. A. et al. (2019); Mishra, S. K. et al. (2012); Ojit, S. K. et al. (2015); Khan, Z. et al. (2019); Yu-Jie, D. et al. (2013); Kim, J. K. et al. (2015). *Citas de cita*. Vega-Contreras, N. A. & Rivera-Caicedo, C. (2022). Análisis bibliométrico del efecto de la luz en la producción de ficobiliproteínas. *TecnoLógicas*, 25(54). Recuperado de [\[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-77992022000200303&script=sci_arttext\]](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-77992022000200303&script=sci_arttext)
- Hua-Bing, C., Jiun-Yan, W., Chin-Feng, W., Chun-Chong, F., Chwen-Jen, S., Chih-I, C., Chih-Yu, W., Yung-Chuan, L. (2010). Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. *Biochemical Engineering Journal*, 53(1), 52-56. Recuperado de [\[https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X10002500\]](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X10002500)
- Jacob-Lopes, E., Pavan, M. A., & Ghirardi, M. L. (2008). The role of light in the growth of microalgae: Implications for photobioreactor design and operation. *Journal of Applied Phycology*, 20(5), 731-740. Recuperado de [\[https://www.doi.org/10.1007/s10811-008-9284-4\]](https://www.doi.org/10.1007/s10811-008-9284-4)
- Jaeschke, D. P., Teixeira, I. R., Marczak, L. D. F., & Mercali, G. D. (2021). Phycocyanin from *Spirulina*: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, 143, 110314. Recuperado de [\[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996921002131\]](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996921002131)

- Jian-Fei, S., Meng-hui, S., Xiao-nan, Zang. (2023). Response surface optimization of light conditions for organic matter accumulation in two different shapes of *Arthrospira platensis*. *Front. Nutr.* 9:1047685. Recuperado de [<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1047685>]
- Jung, C. H. G., Waldeck, P., Sykora, S., Braune, S., Petrick, I., Küpper, J. H., & Jung, F. (2022). Influence of Different Light-Emitting Diode Colors on Growth and Phycobiliprotein Generation of *Arthrospira platensis*. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(6), 895. Recuperado de [<https://doi.org/10.3390/life12060895>]
- Junqueira-Goncalves, M. P., Pérez Flores, J. G., Contreras López, E., Soto Vega, K., García Curiel, L., Pérez Escalante, E., & Jijón, C. A. (2023). Exploración integral de los colorantes naturales en la industria alimentaria: Desafíos y oportunidades. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(3), 4586-4614. Recuperado de [https://www.doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i3.11668]
- Khan, Z., Wan-Maznah, W. O., Faradina-Merican, M. S., Convey, P., Najimudin, N., & Aisyah-Alias, S. (2019). A comparative study of phycobilliprotein production in two strains of *Pseudanabaena isolated* from Arctic and tropical regions in relation to different light wavelengths and photoperiods. *Polar Science*, 20, 3-8. Recuperado de [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1873965218300938>]
- Kim, J. K., Mao, Y., Kraemer, G. & Yarish, C. (2015). Growth and pigment content of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan under fluorescent and LED lighting. *Aquaculture*, 436, 52-57. Recuperado de [<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848614005456>]
- Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Singh, G. P. (2011). Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. *Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 42(3), 1128–1135. Recuperado de [<https://www.scielo.br/j/bjm/a/sPmghdYLcYrcB9ZjXhMmB6y/?lang=en>]

- Kusumaningtyas, P., Gultom, S. D., & Usman, U. (2023). Production of Photosynthetic Pigments from *Spirulina platensis* Under Different Light Intensities. *BERKALA SAINSTEK*, 11(3), 161-165. Recuperado de [<https://acortar.link/ubiHqH>]
- Lobina, D. V., Zenteno, S. T., Arce, M. M., & Gómez, A. G. A. (2017). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. B. O. A. Vega (Ed.). *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste*. Recuperado de [<http://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/539>]
- Maali, A., Gheshlaghi, R., Mahdavi, M. A. (2024). Maximizing key biochemical products of *Spirulina platensis*: optimal light quantities and best harvesting time. *OCL* 31: 21. Recuperado de [<https://doi.org/10.1051/ocl/2024019>].
- Mahari, W.A., Razali, W.A., Waiho, K., Wong, K.Y., Foo, S.S., Kamaruzzan, A.S., Derek, C.J., Ma, N.L., Chang, J., Dong, C., Chisti, Y., & Lam, S.S. (2024). Light-emitting diodes (LEDs) for culturing microalgae and cyanobacteria. *Chemical Engineering Journal*. Recuperado de [<https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.149619>]
- Mateucci, R. (2018). Efecto de diferentes fuentes de nitrógeno y de fósforo sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Arthrospira* (*Spirulina*) plantesis LMPA55. Recuperado de [<https://ria.utn.edu.ar/handle/20.500.12272/3902>]
- Mattoo et al. (1989); Anderson and Styring (1991); Nedbal et al. (1990); Vass et al. (1992), Jegerschield y Styring (1992), Ruyters (1984), Andersson (1992), Powles, 1984. *Citas de cita*. Abalde, J., Cid, A., Fidalgo Paredes, P., Torres, E., Herrero, C. (1995). *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. A Coruña: *Universidade, Servizo de Publicacións*. ISBN: 978-84-97497-69-5. Recuperado de [<https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/25013>]
- Medina Jaritz M., et al. (2022). Extracción y cuantificación de biopigmentos derivados de un cultivo en fotobiorreactor tipo cerrado: Un enfoque práctico para la industria alimentaria y farmacéutica. *South Florida Journal of Development*, 3(2), pp2117-2129.

- Menacho Fajardo, M. M. & Vera-Pedroza, B. A. (2019). 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*. Recuperado de [<https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3402>]
- Mishra, S. K., Shrivastav, A., Maurya, R. R., Patidar, S. K., Haldar, S., & Mishra, S. (2012). Effect of light quality on the C-phycoerythrin production in marine cyanobacteria *Pseudanabaena* sp. isolated from Gujarat coast, India. *Protein Expression and Purification*, 81(1), 5-10. Recuperado de [<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1046592811002099>]
- Namasivayam, S., Shivaramakrishnan, K., & Bharani, R. S. (2019). Potential antioxidative protein-pigment complex *Spirulina platensis* mediated food grade phycocyanin C-Extraction, purification, antioxidative activity and biocompatibility. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 56(3), 230-239. Recuperado de [<http://op.niscpr.res.in/index.php/IJBB/article/view/27647>]
- Niangoran, N. U. F., Buso, D., Zisis, G., Prudhomme, T. (2021). Influence of light intensity and photoperiod on energy efficiency of biomass and pigment production of *Spirulina (Arthrospira platensis)*. OCL 28: 37. Recuperado de [<https://doi.org/10.1051/ocl/2021025>]
- Ochoa Galarza, K., & Moyano Calero, W. (2022). Aplicaciones de la espirulina - planta marina: revisión panorámica. *Salud Ciencia y Tecnología*, 2(1), 174. Recuperado de [<https://www.medigraphic.com/pdfs/salcietec/sct-2022/sct221bx.pdf>]
- Ojit, S. K., Indrama, T., Gunapati, O., Avijeet, S. O., Subhalaxmi, S. A., Silvia, C., Indira, D. W., Romi, K., Minerva, S., Thadoi, D. A., Tiwari, O. N. & Sharma, G. D. (2015). The response of phycobiliproteins to light qualities in *Anabaena circinalis*. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 3(3), 001-006. Recuperado de [https://jabonline.in/abstract.php?article_id=68]
- Pérez-Rico, D. A., Alarcón-Jiménez, J. L., González-Morales, E., Guerra-Álvarez, L. F., Ramírez-Vázquez, J. C., Gutiérrez-Pulido, H., & Escalante, F. M. (2020). Phycocyanin thermo-photostability: An accelerated life-test analysis. *Journal of*

the Mexican Chemical Society, 64(3), 218-229. Recuperado de

[https://scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-249X2020000300218&script=sci_abstract]

Pérez-Uz, B., de Silóniz, M. I., Torralba, B., & Vázquez, C. (2011). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (Biología)*, 3(5).

Recuperado de [<https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-autonoma-del-estado-de-hidalgo/microbiologia-y-parasitologia/resumen-metodologia-de-esterilizacion-en-el-laboratorio-microbiologico/24471548>]

Ponce López, E. (2013). Superalimento para un mundo en crisis: Spirulina a bajo costo.

IDESIA, 31(1), 1-6. [https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-34292013000100016&script=sci_arttext]

Raeisossadati et al. (2019). *Cita de cita*. Portillo, F. V. & Jiménez, A. M. (2021).

Pigmentos en microalgas: funciones, aplicaciones y técnicas de sobreproducción. Recuperado de [<https://smbb.mx/wp-content/uploads/2021/12/Vera-Lopez-Portillo-y-Martinez-Jimenez-2021.pdf>]

Rahnama, I., Arabi, S. M., Chambari, M., Bahrami, L. S., Hadi, V., Mirghazanfari, S. M., Rizzo, M., Hadi, S., & Sahebkar, A. (2023). The effect of Spirulina supplementation on lipid profile: GRADE-assessed systematic review and dose-response meta-analysis of data from randomized controlled trials. *Pharmacological research*, 193, 106802. Recuperado de [<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106802>]

Rajasekar, V., Murty, R. V., & Muthukumar, C. (2015). Development of a simple kinetic model and parameter estimation for biomass and nattokinase production by *Bacillus subtilis* 1A752. *Austin Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 2(1). Recuperado de

[https://www.researchgate.net/publication/273085725_Development_of_a_Simple_Kinetic_Model_and_Parameter_Estimation_for_Biomass_and_Nattokinase_Production_by_Bacillus_Subtilis_1A752]

- Ramírez-Moreno, L., & Olvera-Ramírez, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Spirulina sp.* (*Arthrospira sp.*). *Interciencia*, 31(9), 657-663. Recuperado de [<https://www.redalyc.org/pdf/339/33912009.pdf>]
- Rodríguez Espinoza, R., Rivero Méndez, J. F., & Mendoza Bobadilla, J. L. (2021). Evaluación de colorantes sintéticos en bebidas comercializadas en la ciudad de Trujillo. *Revista de Investigación Científica y Tecnológica Alpha Centauri*. Recuperado de [<https://www.journalalphacentauri.com/index.php/revista/article/view/46>]
- Romay, Ch, González, R., Ledón, N., Ramirez, D., & Rimbau, V. (2003). C-phycoyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current protein & peptide science*, 4(3), 207–216. Recuperado de [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12769719/>]
- Salud con Lupa. (2023). Lista roja de la FDA revela que colorantes en alimentos no están regulados en Perú. Recuperado de [<https://www.saludconlupa.com/noticias/lista-roja-de-la-fda-revela-que-colorantes-en-alimentos-no-estan-regulados-en-peru/>]
- Sánchez, A., Morales, V., Rodríguez, R., Vicente, G., & Bautista, L. F. (2020). Cultivation of Microalgae and Cyanobacteria: Effect of Operating Conditions on Growth and Biomass Composition. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(12), 2834. Recuperado de [<https://doi.org/10.3390/molecules25122834>]
- Shen, J., & Zhu, J. (2017). Development of general Gompertz models and their simplified two-parameter forms based on specific microbial growth rate for microbial growth, bio-products and substrate consumption. *Adv. Biotechnol. Microbiol*, 4, 64-74. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/322271896_Development_of_General_Gompertz_Models_and_Their_Simplified_Two-Parameter_Forms_Based_on_Specific_Microbial_Growth_Rate_for_Microbial_Growth_Bio-Products_and_Substrate_Consumption]
- Silva, S. C., Ferreira, I. C. F. R., Dias, M. M., & Barreiro, M. F. (2020). Microalgae-Derived Pigments: A 10-Year Bibliometric Review and Industry and Market

Trend Analysis. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(15), 3406. Recuperado de [<https://doi.org/10.3390/molecules25153406>].

The Food Tech (2023). Microalgas: una alternativa sostenible para obtener pigmentos naturales. Recuperado de [<https://www.thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/microalgas-una-alternativa-sostenible-para-obtener-pigmentos-naturales/>]

Vásquez, V., Vergaray, D., Méndez, J., Barrios, I., Baquedano, R., Caldas, C., Cruz, J., Gamboa, J., & Rivera, I. (2017). Efecto de la intensidad de diodos electroluminosos y fotoperiodo en la optimización de la producción de biomasa de *Spirulina* (*Arthrospira*). *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 43-55. Recuperado de [<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5909298>]

Vega, N. A., Rivera, C. (2022). Análisis bibliométrico del efecto de la luz en la producción de ficobiliproteínas, *Tecnológicas*, vol. 25, nro. 54, e2386, 2022. Recuperado de [<https://doi.org/10.22430/22565337.2386>]

Wicaksono, H. A., Satyantini, W. H. & Masithah, E. D. (2019). The spectrum of light and nutrients required to increase the production of phycocyanin *Spirulina platensis*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 236, No. 1, p. 012008). IOP Publishing. Recuperado de [<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/236/1/012008/meta>]

Yu-Jie, D., Jing, L., Shu-Mei, W., Nan, C., Yu-Peng, X., Zhi-Lei, T., Shi-Ru, J., Nan-Nan, Y., Ning, T. & Yi-Jie, S. (2013). Effect of light with different wavelengths on *Nostoc flagelliforme* cells in liquid culture. *Journal of microbiology and biotechnology*, 23(4), 534-538. Recuperado de [<https://kiss.kstudy.com/Detail/Ar?key=3168487>]

Zavrel, T., Faizi, M., Loureiro, C., Poschmann, G., Stühler, K., Sinetova, M., Zorina, A., Steuer, R., & Cervený, J. (2019). Quantitative insights into the cyanobacterial cell economy. *eLife*, 8, e42508. Recuperado de [<https://doi.org/10.7554/eLife.42508>].

Zhang, Y., Li, L., Qin, S., Yuan, J., Xie, X., Wang, F., Hu, S., Yi, Y., & Chen, M. (2022). C phycocyanin alleviated cisplatin-induced oxidative stress and inflammation via gut microbiota metabolites axis in mice. *Frontiers in nutrition*, 9, 996614. Recuperado de [<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.996614>]

Zwinkels, J. (2015). Light, electromagnetic spectrum. *Encyclopedia of Color Science and Technology*, 8071, 1-8. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/304195368_Light_Electromagnetic_Spectrum]

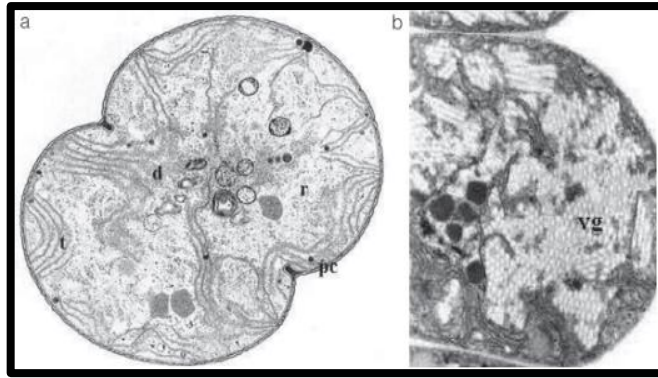
VII. ANEXOS

Volumen de solución 0,1 molar de fosfato dipotásico (K_2HPO_4)	Volumen de solución 0,1 molar de fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	pH de la mezcla
ml	ml	
10,00	0,00	8,302
9,90	0,10	8,171
9,75	0,25	8,038
9,50	0,50	7,863
9,00	1,00	7,648
8,00	2,00	7,347
7,00	3,00	7,146
*6,00	*4,00	*6,976
5,00	5,00	6,813
4,00	6,00	6,643
3,00	7,00	6,468
2,00	8,00	6,239
1,00	9,00	5,91
0,50	9,50	5,6
0,25	9,75	5,303
0,10	9,90	4,976
0,00	10,00	4,529

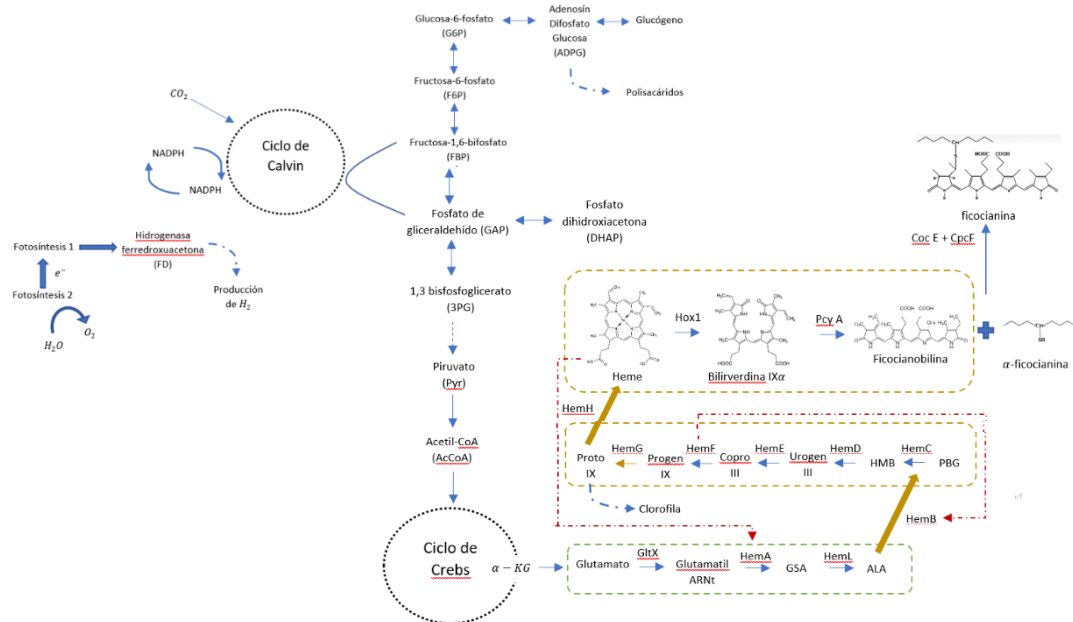
*M \rightarrow K_2HPO_4 = 17.4 g disueltos en agua y diluidos con agua a 1 litro.

*M \rightarrow KH_2PO_4 = 13.6 g disueltos en agua y diluidos con agua a 1 litro.

Anexo I. Mezclas de fosfato monohidrógeno de potasio y fosfato dihidrógeno de potasio que se requieren para dar varios valores de pH, para la preparación del buffer fosfato (K_2HPO_4 : KH_2PO_4) 100 mM pH 7.0 (Chico-Ruiz, J. et al., 2019).

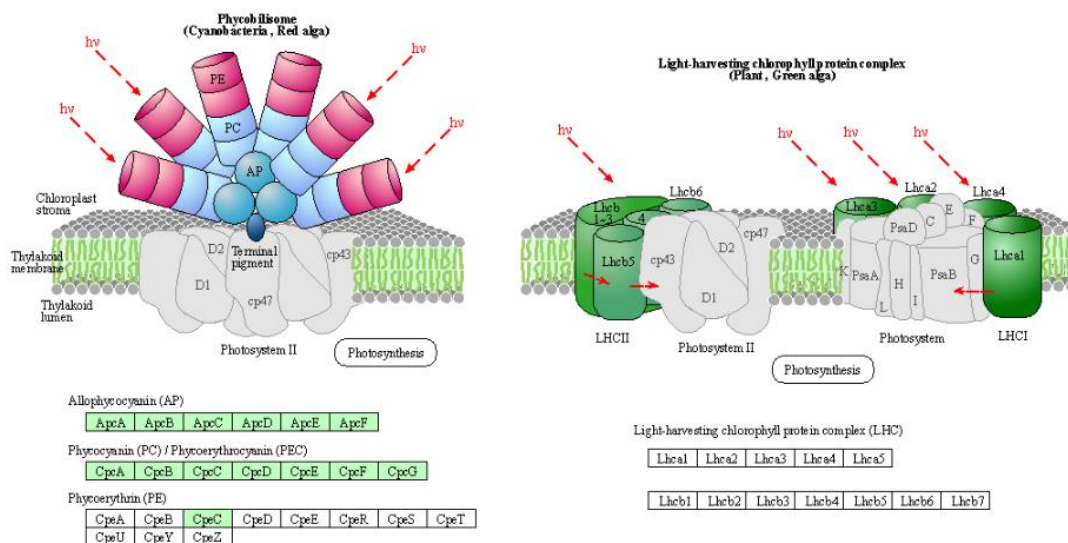


Anexo 2. Estructura celular de la *Arthrospira sp.* (A) fibrillas de ADN, donde se diferencia [pc]: pared celular, [t]: sistema de membranas tilacoidales, y [r]: ribosomas. (B) vesículas de gas [vg] (Ramírez-Moreno, L. & Olvera-Ramírez, R., 2006).

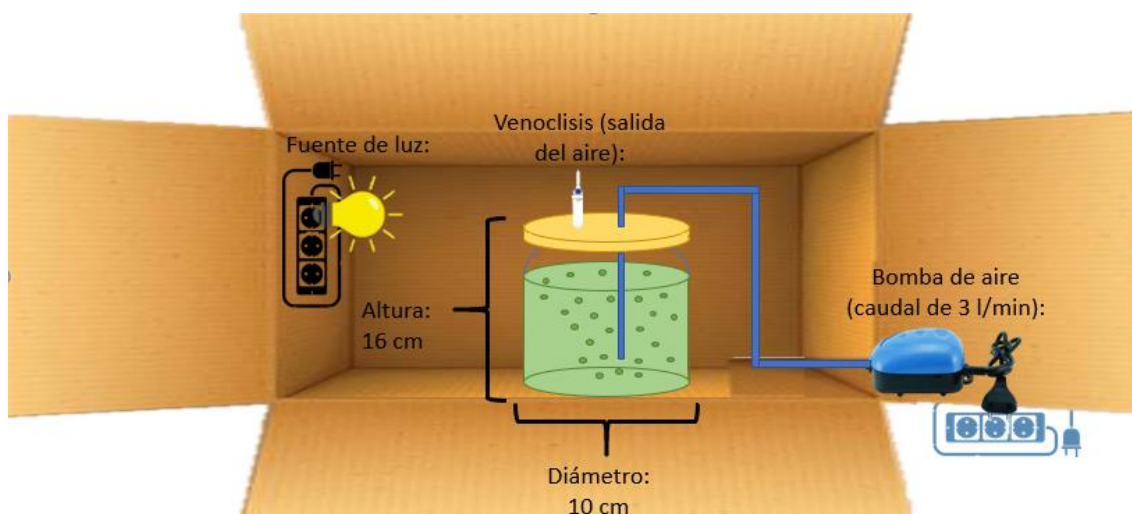


Anexo 3. Ruta metabólica de la biosíntesis de ficocianina (Klanchui, A., et al., 2012) (Ge, B., et al., 2018) (ECUST CHINA, s.f.).

PHOTOSYNTHESIS - ANTENNA PROTEINS



Anexo 4. Estos datos son obtenidos de (KEGG, s.f.).



Anexo 5. Diseño del fotobiorreactor batch (elaboración propia).

Dimensión del cilindro:

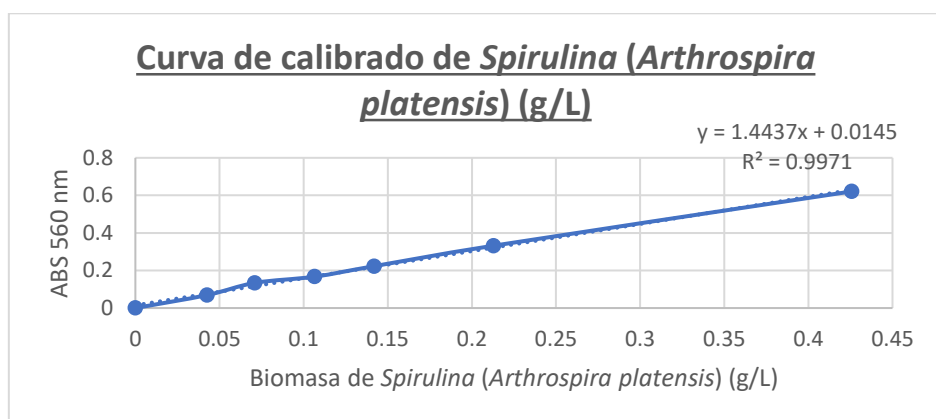
- Volumen de un cilindro = $\pi * r^2 * h$
- Volumen de un cilindro = $3.14 * (5 \text{ cm})^2 * 16 \text{ cm}$
- Volumen de un cilindro = $1'256 \text{ cm}^3$ o ml .

Medio Zarrouk			
N°	Elementos	Fórmula química	Cantidad (g/L)
1	Bicarbonato de sodio	$NaHCO_3$	16.8
2	Fosfato dipotásico	K_2HPO_4	0.5
3	Nitrato de sodio	$NaNO_3$	2.5
4	Sulfato de potasio	K_2HPO_4	1
5	Cloruro de sodio	$NaCl$	1
6	Sulfato de magnesio heptahidratado	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2
7	Cloruro de calcio	$CaCl_2$	0.04
8	Sulfato ferroso heptahidratado	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01
9	Ácido tetracético diamino etileno	$EDTA$	0.08

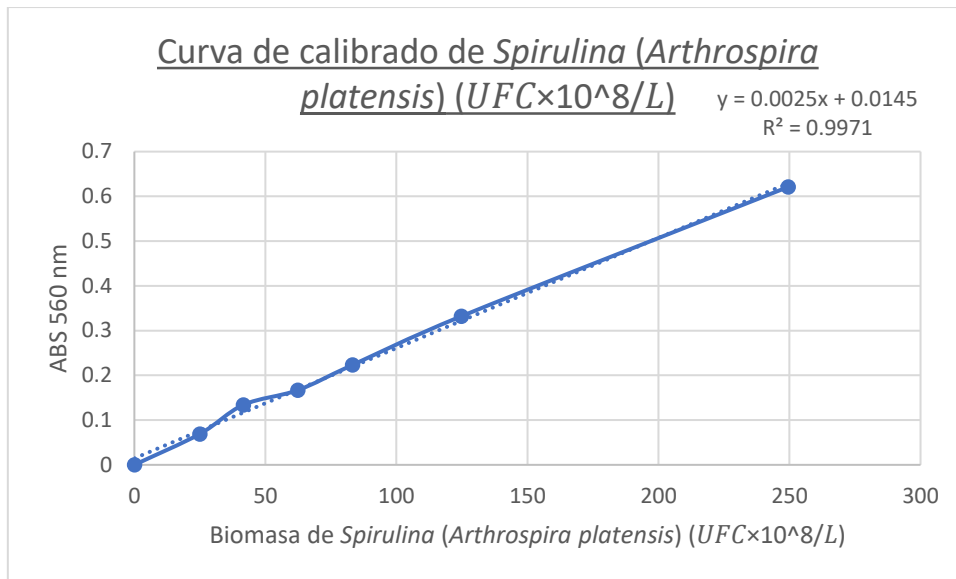
Anexo 6. Composición del medio Zarrouk (Fernández-Honores, A. M. et al., 2019).

Absorbancia (560 nm)	Concentración (g/ml)	Biomasa ($UFC \times 10^8/L$)
0,069	0,043	24,95
0,134	0,071	41,58
0,167	0,106	62,37
0,223	0,142	83,17
0,332	0,213	124,75
0,621	0,426	249,50

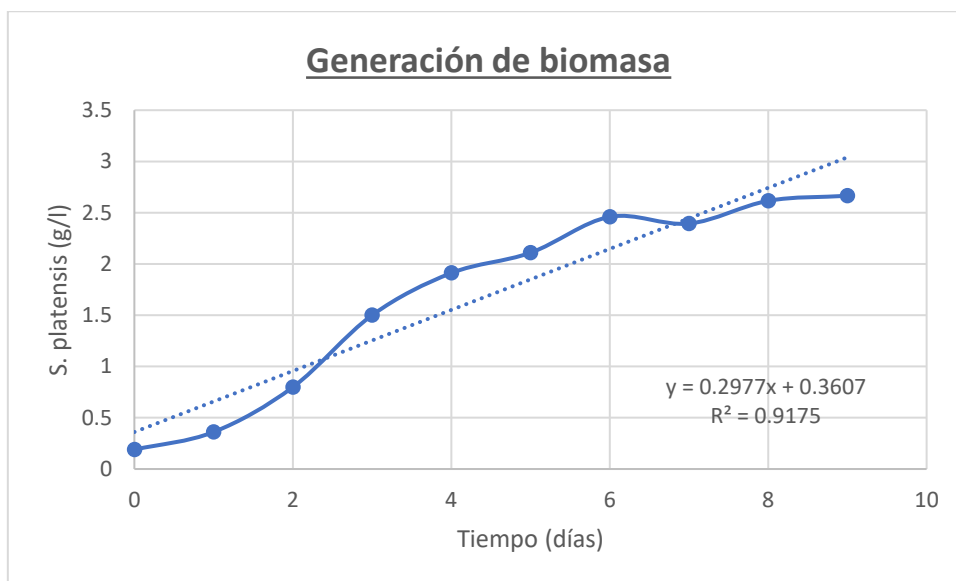
Anexo 7. Valores de concentración y absorbancias de la curva de calibración de *S. platensis* (elaboración propia).



Anexo 8. Curva de calibrado de *Spirulina (Arthrospira platensis)* (g/L). Pendiente (m): 1,4437. Ordenada al origen (g): 0,0145.



Anexo 9. Curva de calibrado de *Spirulina (Arthrospira platensis)* ($UFC \times 10^8/L$).
Pendiente (m): 0,0025. Ordenada al origen (g): 0,0145



Anexo 10. Promedio de la cinética de generación de biomasa de *Spirulina (Arthrospira platensis)* en medio Zarrouk, cultivado en luz blanca a 2 kilolux, hasta el 9° día.

N° Experimentos	N° Tratamientos	Longitud de onda (nm)	Intensidad de luz (Kilolux)	μ_{\max} (d^{-1})	$Y_{x/s}$ (g/G)	$Y_{p/x}$ (mg/G)	$Y_{p/s}$ (mg/G)	Q_x (g/L*d)	Q_p (mg/L*d)
1	0-1	400-700	2	0,3042	0,3097	29,7233	9,2053	0,1472	4,3761
2	1	560-590	2	0,1808	0,0867	80,2917	6,9631	0,0646	5,1841
3	2	590-620	2	0,2236	0,2425	70,7593	17,1561	0,0947	6,7011
4	3	620-700	2	0,2340	0,2787	67,7112	18,8685	0,0991	6,7096
5	0-2	400-700	5	0,3613	0,5759	28,7692	16,5677	0,1983	5,7040
6	4	560-590	5	0,3546	0,3360	31,8089	10,6890	0,1880	5,9797
7	5	590-620	5	0,3625	0,6202	21,3529	13,2424	0,1984	4,2357
8	6	620-700	5	0,3049	0,2887	17,5235	5,0588	0,1322	2,3160
9	0-3	400-700	8	0,3502	0,5711	19,9020	11,3664	0,1567	3,1183
10	7	560-590	8	0,3698	0,3597	23,1889	8,3416	0,1798	4,1696
11	8	590-620	8	0,3282	0,3549	31,1888	11,0700	0,1338	4,1741
12	9	620-700	8	0,3335	0,4682	12,3105	5,7634	0,1391	1,7125

Anexo 11. Datos de los parámetros cinéticos del ensayo I, en el que se evaluó la intensidad de luz a 2, 5 y 8 kilolux. Los parámetros incluyen: μ_{\max} (d^{-1}) = velocidad específica de crecimiento máximo, $Y_{p/x}$ (mg/G) = rendimiento de biomasa sobre sustrato, $Y_{p/s}$ (mg/G) = rendimiento de producto sobre sustrato, $Y_{x/s}$ (g/G) = rendimiento de biomasa sobre sustrato, Q_x (g/L*d) = productividad volumétrica de generación de biomasa, y Q_p (mg/L*d) = productividad volumétrica del contenido de producto.

N° Experimentos	N° Tratamientos	Longitud de onda (nm)	Intensidad de luz (Kilolux)	μ_{\max} (d^{-1})	$Y_{x/s}$ (g/G)	$Y_{p/x}$ (mg/G)	$Y_{p/s}$ (mg/G)	Q_x (g/L*d)	Q_p (mg/L*d)
1	0-1	400-700	2	0,249	0,188	58,756	11,073	0,107	6,300
2	1	560-590	2	0,282	0,359	56,661	20,343	0,138	7,802
3	2	590-620	2	0,287	0,262	56,023	14,673	0,143	8,007
4	3	620-700	2	0,319	0,494	44,646	22,039	0,180	8,037
5	0-2	400-700	5	0,351	0,498	13,119	6,531	0,187	2,451
6	4	560-590	5	0,415	0,565	15,149	8,560	0,287	4,345
7	5	590-620	5	0,462	1,551	15,201	23,571	0,388	5,901
8	6	620-700	5	0,251	0,375	15,214	5,703	0,090	1,375
9	0-3	400-700	8	0,407	0,695	8,064	5,605	0,235	1,891
10	7	560-590	8	0,379	0,523	9,006	4,711	0,195	1,756
11	8	590-620	8	0,391	0,536	13,855	7,421	0,210	2,916
12	9	620-700	8	0,347	0,441	7,203	3,174	0,157	1,132

Anexo 12. Datos de los parámetros cinéticos del ensayo II, con intensidades de luz a 1, 2.5 y 5 kilolux. Los parámetros son: μ_{\max} (d^{-1}) = velocidad específica de crecimiento

máximo, $Y_{p/x}$ (mg/G) = rendimiento de biomasa sobre sustrato, $Y_{p/s}$ (mg/G) = rendimiento de producto sobre sustrato, $Y_{x/s}$ (g/G) = rendimiento de biomasa sobre sustrato, Q_x (g/L·d) = productividad volumétrica de generación de biomasa, y Q_p (mg/L·d) = productividad volumétrica del contenido de producto.

Factor	Generación de biomasa (g/L)					Contenido de ficocianina (mg/L)				
	SS	df	MS	F	Valor-p	SS	df	MS	F	Valor-p
(1) Intensidad de luz (Kilolux)(L)	0,227	1	0,227	10,304	0,033	437,453	1	437,453	10,646	0,031
Intensidad de luz (Kilolux)(Q)	0,213	1	0,213	9,659	0,036	126,712	1	126,712	3,084	0,154
(2) Longitud de onda de luz (nm)(L)	0,023	1	0,023	1,053	0,363	34,448	1	34,448	0,838	0,412
1L por 2L	0,051	1	0,051	2,319	0,203	142,755	1	142,755	3,474	0,136
Error	0,088	4	0,022			164,361	4	41,090		
SS Total	0,602	8				905,728	8			

Anexo 13. Datos obtenidos del ANOVA de las variables respuesta, que incluyen la generación de biomasa (g/L) y el contenido de ficocianina (mg/L), correspondientes al ensayo I con intensidades de luz de 2, 5 y 8 kilolux. Los datos fueron analizados en el programa STATISTICA, con un promedio de R^2 de 0.85 y un R^2 ajustado de 0.71. Los parámetros del ANOVA presentados son: SS (suma de cuadrados), df (grado de libertad), MS (media de cuadrados), F (cociente del ANOVA del factor respecto al ANOVA del error) y p (intervalo de confiabilidad).

Factor	Generación de biomasa (g/L)					Contenido de ficocianina (mg/L)				
	SS	df	MS	F	Valor-p	SS	df	MS	F	Valor-p
(1) Intensidad de luz (Kilolux)(L)	0,035	1	0,035	0,096	0,777	1953,05	1	1953,05	29,714	0,012
Intensidad de luz (Kilolux)(Q)	0,506	1	0,506	1,401	0,322	82,10	1	82,10	1,249	0,345
(2) Longitud de onda de luz (nm)(L)	0,221	1	0,221	0,611	0,491	67,70	1	67,70	1,030	0,385
1L por 2L	0,381	1	0,381	1,055	0,380	169,26	1	169,26	2,575	0,207
Error	0,058	1	0,058	0,160	0,716	6,65	1	6,65	0,101	0,771
SS Total	1,083	3	0,361			197,19	3	65,73		

Anexo 14. Datos obtenidos del ANOVA de las variables respuesta, que incluyen la generación de biomasa (g/L) y el contenido de ficocianina (mg/L), correspondientes al ensayo II con intensidades de luz de 1, 2.5 y 5 kilolux. Los datos fueron analizados en el

programa STATISTICA, con un promedio de R^2 de 0.72 y un R^2 ajustado de 0.4. Los parámetros del ANOVA presentados son: SS (suma de cuadrados), df (grado de libertad), MS (media de cuadrados), F (cociente del ANOVA del factor respecto al ANOVA del error) y p (intervalo de confiabilidad).

Promedio de los datos experimentales											
Experimento N° 1				Experimento N° 2				Experimento N° 3			
Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto
0	0,186	17,083	0,340	0	0,186	17,083	0,340	0	0,193	17,071	0,337
1	0,224	17,048	0,616	1	0,262	16,949	0,357	1	0,228	17,057	0,366
2	0,399	16,806	0,924	2	0,416	16,853	1,494	2	0,374	16,868	0,362
3	0,502	16,749	6,728	3	0,546	16,771	5,393	3	0,468	16,660	5,718
4	0,606	16,684	15,192	4	0,656	16,202	15,397	4	0,539	16,314	13,860
5	0,726	14,226	36,607	5	0,857	15,402	40,911	5	0,573	15,003	32,325
6	0,830	13,669	38,142	6	1,012	14,781	47,151	6	0,738	14,733	40,544

Anexo 15. Promedio de los datos experimentales (X, S y P) obtenidos de las 3 corridas, del experimento N° 1, 2 y 3 (luz blanca, amarilla y anaranjada a 2 Klux respectivamente).

Promedio de los datos experimentales											
Experimento N° 4				Experimento N° 5				Experimento N° 6			
Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto
0	0,188	17,077	0,337	0	0,156	17,077	0,242	0	0,155	17,077	0,242
1	0,214	17,067	0,645	1	0,243	16,375	0,996	1	0,232	16,699	2,430
2	0,380	16,837	0,676	2	0,329	16,137	2,623	2	0,415	16,426	8,962
3	0,472	16,816	5,244	3	0,531	16,105	8,851	3	0,610	16,206	12,854
4	0,568	16,414	15,682	4	0,749	16,031	12,514	4	0,808	14,598	20,212
5	0,724	15,425	37,389	5	0,961	15,978	15,393	5	0,991	14,306	34,987
6	0,764	14,943	40,595	6	1,359	15,011	34,561	6	1,298	13,720	36,216

Anexo 16. Promedio de los datos experimentales (X, S y P) obtenidos de las 3 corridas, del experimento N° 4, 5 y 6 (luz roja a 2 Klux, luz blanca y amarilla a 5 Klux respectivamente).

Promedio de los datos experimentales											
Experimento N° 7				Experimento N° 8				Experimento N° 9			
Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto
0	0,155	17,077	0,242	0	0,155	17,077	0,242	0	0,136	17,077	0,337
1	0,206	16,479	4,327	1	0,176	16,344	0,479	1	0,270	16,760	0,418
2	0,263	16,182	7,158	2	0,195	16,015	4,707	2	0,393	16,555	0,466
3	0,324	15,819	7,262	3	0,367	15,585	6,208	3	0,693	16,268	1,968
4	0,709	15,625	7,498	4	0,640	15,087	7,954	4	0,909	15,763	6,437
5	0,932	15,480	14,055	5	0,731	14,718	9,105	5	1,051	15,481	13,744
6	1,360	15,158	25,751	6	0,963	14,330	14,233	6	1,110	15,431	19,047

Anexo 17. Promedio de los datos experimentales (X, S y P) obtenidos de las 3 corridas, del experimento N° 7, 8 y 9 (luz anaranjada y roja a 5 Klux, y luz blanca a 8 Klux respectivamente).

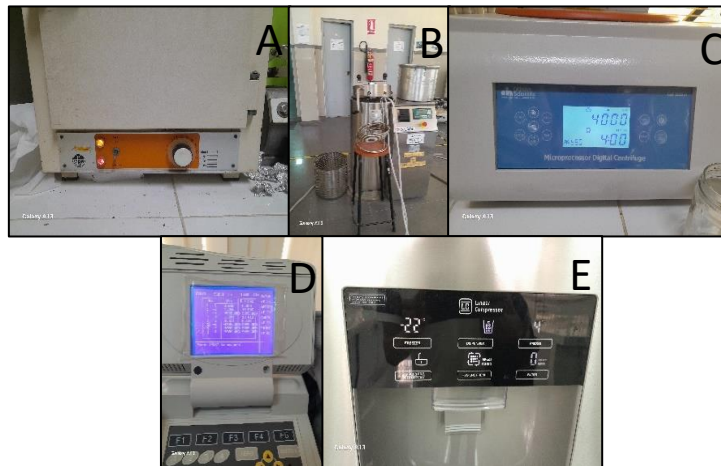
Promedio de los datos experimentales											
Experimento N° 10				Experimento N° 11				Experimento N° 12			
Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto	Tiempo	Biomasa	Sustrato	Producto
0	0,136	17,077	0,337	0	0,136	17,077	0,270	0	0,136	17,077	0,337
1	0,258	16,658	0,967	1	0,233	16,819	0,532	1	0,286	16,984	0,348
2	0,415	16,488	1,244	2	0,341	16,533	2,508	2	0,516	16,847	0,415
3	0,509	16,005	3,696	3	0,503	16,250	4,425	3	0,577	16,740	1,177
4	0,575	15,503	6,061	4	0,835	15,657	4,849	4	0,735	15,912	6,491
5	0,792	15,079	14,203	5	0,903	15,358	9,879	5	0,850	15,423	7,005
6	1,249	14,078	25,355	6	0,973	14,814	25,382	6	1,004	15,294	10,612

Anexo 18. Promedio de los datos experimentales (X, S y P) obtenidos de las 3 corridas, del experimento N° 10, 11 y 12 (luz amarilla, anaranjada y roja a 8 Klux respectivamente).

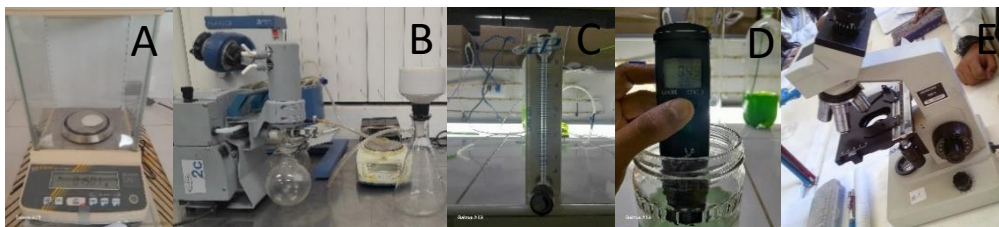
Experimentos	Modelo	Biomasa (X)		Sustrato (S)		Producto (P)		Promedio	
		R ²	RMSE	R ²	RMSE	R ²	RMSE	R ²	RMSE
1	Logístico y Luedeking-Piret	0.9794	0.0407	0.9110	0.2373	0.9078	3.0453	0.9327	1.1078
	Gompertz modificado	0.9730	0.1256	0.7121	0.4105	0.9534	2.1553	0.8795	0.8971
	Moser y Luedeking-Piret	0.9847	0.0790	0.8795	0.3062	0.6932	5.7381	0.8525	2.0411
	Monod y Luedeking-Piret	0.9116	0.1362	0.8724	0.3086	0.7430	5.1867	0.8420	1.8770
2	Logístico y Luedeking-Piret	0.9986	0.0095	0.9985	0.2276	0.9893	0.0026	0.9955	0.0799
	Gompertz modificado	0.994	0.0095	0.9036	0.2276	0.9868	0.0022	0.9615	0.0798
	Moser y Luedeking-Piret	0.9975	0.0128	0.9036	0.2276	0.9922	0.0022	0.9644	0.0809
	Monod y Luedeking-Piret	0	0.0128	0	0.3357	0	0.0026	0.0000	0.1170
3	Logístico y Luedeking-Piret	0.9972	0.0085	0.998	0.2574	0.9912	0.0019	0.9955	0.0893
	Gompertz modificado	0.999	0.0051	0.7481	0.5873	0.9912	0.0015	0.9128	0.1980
	Moser y Luedeking-Piret	0.988	0.0051	0.9896	0.5873	0.9942	0.0015	0.9906	0.1980
	Monod y Luedeking-Piret	0.9758	0.0085	0.9792	0.2574	0.9843	0.0019	0.9798	0.0893
4	Logístico y Luedeking-Piret	0.9978	0.0043	0.9976	0.2853	0.9656	0.0016	0.9870	0.0971
	Gompertz modificado	0.9943	0.0043	0.7067	0.433	0.9539	0.0016	0.8850	0.1463
	Moser y Luedeking-Piret	0.9945	0.0067	0.9944	0.433	0.963	0.0016	0.9840	0.1471
	Monod y Luedeking-Piret	0.9791	0.0067	0.9798	0.2853	0.9137	0.0016	0.9575	0.0979
5	Logístico y Luedeking-Piret	0.9983	0.0109	0.9859	0.6668	0.9926	0.0022	0.9923	0.2266
	Gompertz modificado	0.9978	0.0125	0.8082	0.991	0.9889	0.0027	0.9316	0.3354
	Moser y Luedeking-Piret	0.9853	0.0109	0.9688	0.991	0.9852	0.0022	0.9798	0.3347
	Monod y Luedeking-Piret	0.976	0.0125	0.9467	0.6668	0.9762	0.0027	0.9663	0.2273
6	Logístico y Luedeking-Piret	0.9988	0.0103	0.9987	0.2004	0.9952	0.0026	0.9976	0.0711
	Gompertz modificado	0.998	0.0135	0.9115	0.3843	0.9939	0.0029	0.9678	0.1336
	Moser y Luedeking-Piret	0.9953	0.0103	0.9953	0.3843	0.9936	0.0026	0.9947	0.1324
	Monod y Luedeking-Piret	0.9892	0.0135	0.9898	0.2004	0.9872	0.0029	0.9887	0.0723
7	Logístico y Luedeking-Piret	0.9885	0.0168	0.9912	0.571	0.9624	0.0028	0.9807	0.1969
	Gompertz modificado	0.9805	0.022	0.5552	0.571	0.9602	0.0029	0.8320	0.1986
	Moser y Luedeking-Piret	0.9736	0.0168	0.9745	0.9714	0.9503	0.0028	0.9661	0.3303
	Monod y Luedeking-Piret	0	0.022	0	0.9714	0	0.0029	0.0000	0.3321
8	Logístico y Luedeking-Piret	0.9988	0.0117	0.9989	0.1974	0.9932	0.0028	0.9970	0.0706
	Gompertz modificado	0.9968	0.0195	0.8713	0.1974	0.9925	0.0029	0.9535	0.0733
	Moser y Luedeking-Piret	0.9933	0.0117	0.994	0.4588	0.9894	0.0028	0.9922	0.1578
	Monod y Luedeking-Piret	0	0.0195	0	0.4588	0	0.0029	0.0000	0.1604
9	Logístico y Luedeking-Piret	0.9969	0.0224	0.9969	0.3143	0.9975	0.0025	0.9971	0.1131
	Gompertz modificado	0.9988	0.0138	0.85	0.6765	0.9965	0.003	0.9484	0.2311
	Moser y Luedeking-Piret	0.9838	0.0138	0.9856	0.6765	0.9857	0.0025	0.9850	0.2309
	Monod y Luedeking-Piret	0.9768	0.0224	0.9796	0.3143	0.9792	0.003	0.9785	0.1132
Promedio	Logístico y Luedeking-Piret	0.9794	0.0407	0.9110	0.2373	0.9078	3.0453	0.9327	1.1078
	Gompertz modificado	0.9730	0.1256	0.7121	0.4105	0.9534	2.1553	0.8795	0.8971
	Moser y Luedeking-Piret	0.9847	0.0790	0.8795	0.3062	0.6932	5.7381	0.8525	2.0411
	Monod y Luedeking-Piret	0.9116	0.1362	0.8724	0.3086	0.7430	5.1867	0.8420	1.8770

Anexo 19. Capacidad de ajuste de los modelos matemáticos, evaluada mediante el RMSE (error cuadrático medio) y el R^2 (coeficiente de ajuste), respecto al promedio de los datos

experimentales (X, S y P) obtenidos de las 3 corridas de todos los diseños experimentales durante la fase de crecimiento (fase de latencia y exponencial) de la *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) hasta el 6° día.



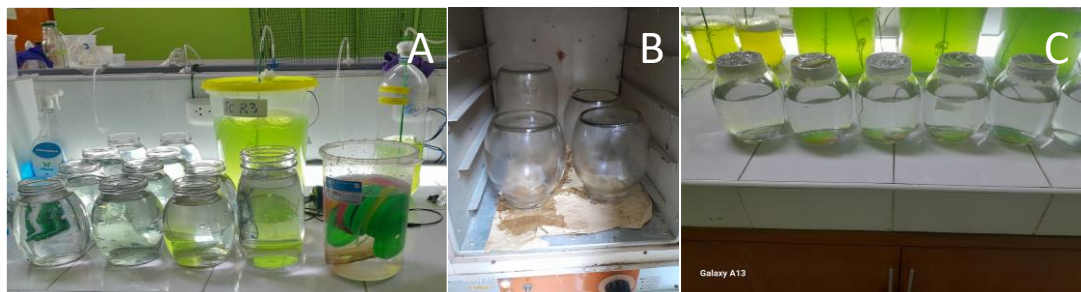
Anexo 20. Imágenes de los equipos utilizados en la elaboración de la tesis. (A) Estufa. (B) Autoclave. (C) Centrífuga. (D) Espectrofotómetro. (E) Refrigeradora.



Anexo 21. Imágenes los equipos e instrumentos utilizados en la elaboración de esta tesis. (A) Balanza analítica, (B) Filtrado al vacío (kitazato, embudo buchner, bomba al vacío o compresor). (C) Anemómetro. (D) Multiparámetro. (E) Microscopio binocular.



Anexo 22. Imágenes de los equipos e instrumentos utilizados en la instalación de los fotobiorreactores en un estante dentro del laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares (UNS) y su uso durante el proceso de incubación de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). (A, B y C) Instalación de conexiones eléctricas y equipos del fotobiorreactor, incluyendo focos, socket con enchufe, aireador, cajas, extensiones y temporizador. (D, E, F y G) Marcado de la zona idónea con una X en la cámara microalgal de acuerdo con el nivel de intensidad de luz (kilolux) establecido por el diseño experimental, utilizando el luxómetro.



Anexo 23. Proceso de esterilización de las cámaras microalgales. (A) Lavado de los recipientes de vidrio y tapas con una solución detergente al 15 %, lejía al 5 % y agua. (B) Secado de los frascos en una estufa a 180 °C durante 2 horas. (C) Llenado de las cámaras con medio Zarrouk.



Anexo 24. Proceso de preparación del medio Zarrouk. (A) Pesado de reactivos y su posterior mezcla en las cámaras microalgales. (B) Listado de los reactivos: bicarbonato de sodio, fosfato dipotásico, nitrato de sodio, sulfato de potasio, cloruro de sodio, sulfato de magnesio heptahidratado, cloruro de calcio, sulfato ferroso heptahidratado y EDTA. (C y D) Esterilizado del medio en autoclave a 220 °C por 20 minutos.



Anexo 25. Proceso de inoculación. (A) Cámaras microalgales con medio Zarrouk distribuidas respecto al diseño experimental. (B) Adicionar el inóculo (10 %) por tratamiento. (C) Etapa final de la inoculación de la *Spirulina* en las cámaras.



Anexo 26. Proceso de muestreo. (A) Tubos falcon de 15 ml enumerados según el diseño experimental divididos en grupos de tres, para evaluar la cinética microbiana (X, S y P). (B) Almacenamiento del cultivo de *Spirulina* en los tubos falcon. (C) Toma de muestra directo de la cámara microalgal.



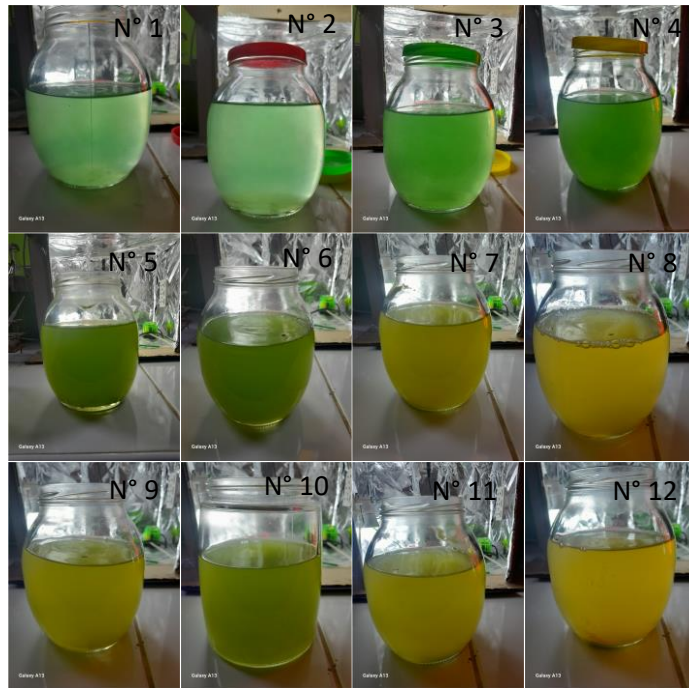
Anexo 27. Proceso de determinación de pigmentos (ficoeritrina, ficocianina y aloficocianina). (A) Espectrofotómetro. (B) Centrifugar los tubos con suspensión de *Spirulina*. (C) Adicionar agua acidulada a pH 4. (D) Eliminar el sobrenadante después de centrifugar los tubos. (E) Añadir solución amortiguadora de fosfato de potasio a los tubos.



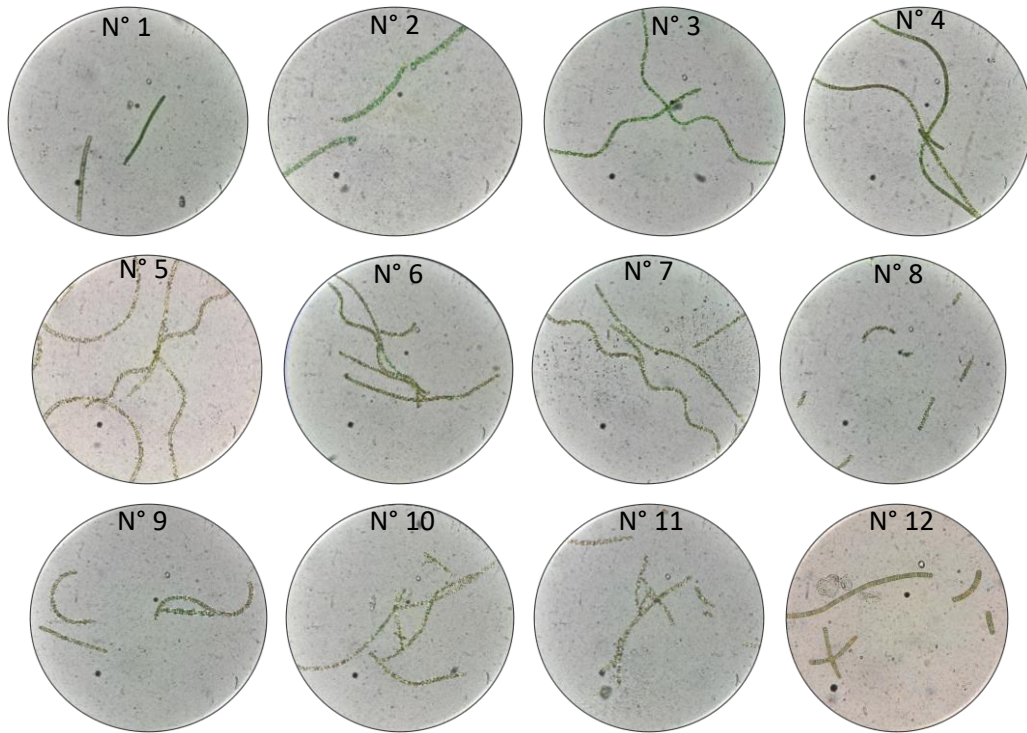
Anexo 28. Proceso de shock térmico (congelamiento y descongelamiento repetitivos). (A) Congelar la *Spirulina* en solución amortiguadora de fosfato a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. (B) Descongelar a temperatura ambiente. (C) Centrifugar y separar la biomasa de las ficobiliproteínas. (D) Imagen de la solución de ficobiliproteína. (E) Determinar la formación de producto (mg/L) mediante densidad óptica (OD) por espectrofotometría



Anexo 29. Proceso de determinación de alcalinidad por potenciometría, para determinar el consumo de NaHCO_3 . (A) Tomamos una muestra de cultivo de 25 ml y centrifugamos para separar la biomasa del medio de cultivo. (B) Depositamos el medio en un vaso de precipitado (100 ml), para poder sumergir el sensor del electrodo del pHmetro. (C) Titulamos hasta alcanzar un pH 4.5 con ácido sulfúrico.



Anexo 30. Imágenes de los 12 experimentos (enumerados de forma creciente de izquierda a derecha) del diseño experimental después de los 6 días de cultivo en el fotobiorreactor, colocados de número de orden creciente de izquierda a derecha desde la parte superior al inferior.



Anexo 31. Imágenes al microscopio de la morfología celular de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) de los 12 experimentos del diseño experimental después de los 6 días de cultivo en fotobiorreactor, colocados de forma creciente de izquierda a derecha desde la parte superior al inferior.