



UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADOS

INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Optimización multivariante mediante diseño box-behnken de la extracción de ficocianina obtenida del cultivo de *Arthrospira Platensis* y caracterización por FTIR

AUTOR:

Josue Manuel Duarte Cuesta

TUTOR:

Barzallo Granizo Diego Geovanny, PhD.

MILAGRO, 2026

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Josue Manuel Duarte Cuesta**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **GESTIÓN DE LA PRODUCCIÓN, DE LA CALIDAD Y DE LOS PROCESOS** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, **11 de enero del 2026**

Josue Manuel Duarte Cuesta

C.I.: 1207968254

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Diego Geovanny Barzallo Granizo**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Josue Manuel Duarte Cuesta**, cuyo tema es **OPTIMIZACIÓN MULTIVARIANTE MEDIANTE DISEÑO BOX-BEHNKEN DE LA EXTRACCIÓN DE FICOCIANINA OBTENIDA DEL CULTIVO DE ARTHROSPIRA PLATENSIS Y CARACTERIZACIÓN POR FTIR**, que aporta a la Línea de Investigación **GESTIÓN DE LA PRODUCCIÓN, DE LA CALIDAD Y DE LOS PROCESOS**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 11 de enero del 2026

Barzallo Granizo Diego Geovanny, PhD.

C.I.: 0603923095

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO
ACTA DE SUSTENTACIÓN
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

En la Facultad de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los veintisiete días del mes de febrero del dos mil veintiseis, siendo las 11:00 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, ING. DUARTE CUESTA JOSUE MANUEL, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **OPTIMIZACIÓN MULTIVARIANTE MEDIANTE DISEÑO BOX-BEHNKEN DE LA EXTRACCIÓN DE FICOCIANINA OBTENIDA DEL CULTIVO DE ARTHROSPIRA PLATENSIS Y CARACTERIZACIÓN POR FTIR**", ante el Tribunal de Calificación integrado por: SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID, Presidente(a), Msc GARCES MONCAYO MARÍA FERNANDA en calidad de Vocal; y, CHENCHE LOPEZ OSCAR MAURICIO que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	59.33
DEFENSA ORAL	39.63
PROMEDIO	98.97
EQUIVALENTE	EXCELENTE

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 12:00 horas.



SEVILLA CARRASCO JAIME DAVID
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Msc GARCES MONCAYO MARÍA FERNANDA
VOCAL



CHENCHE LOPEZ OSCAR MAURICIO
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



ING. DUARTE CUESTA JOSUE MANUEL
MAGISTER

Dedicatoria

Este trabajo de investigación lo dedico a mi madre por todo el apoyo brindado para mi formación profesional, a mi pareja por acompañarme con paciencia y ser fuente de motivación en todo este proceso. A mis amigos y compañeros por la ayuda y sugerencias durante esta etapa.

Josue Manuel Duarte Cuesta

Agradecimientos

Agradezco a Dios por la fuerza, ánimo y voluntad para lograr cumplir un objetivo más en mi desarrollo profesional. Agradezco a mi madre Elvira Cuesta, por su apoyo incondicional para que su hijo sea un profesional, por infundirme paciencia y enseñarme que las grandes cosas se construyen de poco a poco.

A mi pareja Milagro Vera, agradezco por ser refugio en los momentos difíciles, por su apoyo firme, por su visión perspicaz y por sus críticas constructivas que enriquecieron este proceso. Su amor, comprensión y compañía fueron esenciales para mantener mi motivación y la vista puesta para cumplir mis objetivos.

A mis amigos de trabajo: Jaime, Kevin, Samanta, Ronny, Valentina, María y Caroline, por haber sido un apoyo fundamental durante este camino. Gracias por sus consejos oportunos, por los buenos momentos compartidos. A mis compañeros docentes, les agradezco profundamente por las valiosas enseñanzas que contribuyeron a mi formación y fortalecieron mi aprendizaje profesional. Además, expreso mi sincero agradecimiento a mi colega y mentor durante todo este proceso, Diego Barzallo, por su dedicación, claridad para enseñar.

Atentamente

Josue Manuel Duarte Cuesta

Resumen

*La microalga *Arthrospira platensis* se considera un microorganismo de interés biotecnológico debido a su elevada productividad y a su capacidad para sintetizar compuestos bioactivos, entre ellos la ficocianina, un pigmento proteico con propiedades antioxidantes. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo optimizar el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* mediante un diseño experimental Box-Behnken, evaluando la influencia de tres factores operativos intensidad lumínica, disponibilidad de carbono y dosificación de macronutrientes sobre la producción de biomasa, la tasa específica de crecimiento y el rendimiento de ficocianina. Además, se realizó la caracterización de grupos funcionales mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). El estudio se desarrolló en un fotobiorreactor semicontinuo a escala de laboratorio, bajo condiciones controladas de pH, temperatura, aireación y fotoperiodo. Los resultados demostraron que la combinación adecuada de nivel de iluminación y concentración de carbono incrementó significativamente la productividad del cultivo, obteniéndose mayores valores de biomasa fresca y seca en los tratamientos correspondientes al nivel medio de iluminación. Por otra parte, el análisis estadístico y aplicación del modelo Box-Behnken permitió identificar interacciones significativas entre los factores, determinando las condiciones óptimas para maximizar el rendimiento de ficocianina. La caracterización FTIR confirmó la presencia de bandas características de proteínas, como Amida I y Amida II, grupos hidroxilo y señales asociadas al cromóforo ficocianobilina. Por lo tanto, este estudio abre la posibilidad para futuras investigaciones orientadas al escalamiento y optimización de fotobiorreactores, la mejora de la pureza de la proteína y la diversificación de aplicaciones en los sectores alimentario, farmacéutico y ambiental.*

Palabras claves: *Arthrospira platensis*, ficocianina, fotobiorreactor, Box-Behnken, microalgas

Abstract

The microalga *Arthrospira platensis* is considered a microorganism of biotechnological interest due to its high productivity and its ability to synthesize bioactive compounds, including phycocyanin, a protein pigment with antioxidant properties. In this context, the present research aimed to optimize the semicontinuous cultivation of *Arthrospira platensis* through a Box–Behnken experimental design, evaluating the influence of three operational factors—light intensity, carbon availability, and macronutrient dosage—on biomass production, specific growth rate, and phycocyanin yield. In addition, the characterization of functional groups was performed using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). The study was conducted in a semicontinuous laboratory-scale photobioreactor under controlled pH, temperature, aeration, and photoperiod conditions. The results showed that the appropriate combination of illumination level and carbon concentration significantly increased culture productivity, yielding higher fresh and dry biomass values in the treatments corresponding to medium illumination levels. Furthermore, statistical analysis and the application of the Box–Behnken model made it possible to identify significant interactions among the factors, determining the optimal conditions to maximize phycocyanin yield. FTIR characterization confirmed the presence of characteristic protein bands, such as Amide I and Amide II, hydroxyl groups, and signals associated with the phycocyanobilin chromophore. Therefore, this study opens the possibility for future research focused on the scaling and optimization of photobioreactors, improving protein purity, and diversifying applications in the food, pharmaceutical, and environmental sectors.

Keywords: *Arthrospira platensis*, phycocyanin, photobioreactor, Box–Behnken, microalgae

Lista de Figuras

Figura 1. Morfología de cianobacterias.....	10
Figura 2. Diferencia morfológica de <i>Arthrospira platensis</i> , A) Variadas paracas, B) Variedad lonar.....	12
Figura 3. Sistema de cultivo con diferentes tipos de luz, A) Luz blanca y roja, B) Luz blanca y verde.....	15
Figura 4. Cultivo de microalgas en sistema abierto	23
Figura 5. Esquema y diseño de un fotobiorreactor de sistema cerrado	24
Figura 6. Curva de calibración Absorbancia vs Concentración.....	30
Figura 7. Fotobiorreactor de sistema semicontinuo	31
Figura 8. Comparación de Biomasa Fresca y Seca por Tratamiento.....	35
Figura 9. Cinética de crecimiento de <i>Arthrospira platensis</i> en función del tiempo de cultivo	36
Figura 10. Concentración de Ficocianina por Tratamiento	38
Figura 11. Efectos de los factores experimentales	40
Figura 12. Superficies de respuesta tridimensionales para la optimización de la producción de ficocianina.....	42
Figura 13. Espectros FTIR de la muestra de ficocianina	45

Lista de Tablas

Tabla 1. Establecimiento de variables	5
Tabla 2. Taxonomía de la microalga <i>Arthrospira platensis</i>	9
Tabla 3. Medios de cultivo para <i>Arthrospira platensis</i>	16
Tabla 4. Composición química de medios de cultivos para <i>Arthrospira platensis</i>	17
Tabla 5. Variables y niveles del diseño experimental Box-Behnken.....	28
Tabla 6. Matriz experimental del diseño Box–Behnken.....	29
Tabla 7. Condiciones de cultivo empleados en el fotobiorreactor	31
Tabla 8. Medio de cultivo Zarrouk modificado.....	32
Tabla 9. Producción de biomasa y productividad de cultivos de <i>Arthrospira platensis</i>	36
Tabla 10. Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación de <i>Arthrospira platensis</i>	37
Tabla 11. Análisis de varianza del modelo de regresión de superficie de respuesta.....	39
Tabla 12. Pruebas de supuestos del modelo de superficie de respuesta.....	41
Tabla 13. Parámetros de predicción múltiple	42
Tabla 14. Resultados experimentales para la maximizar la producción de ficocianina.....	43
Tabla 15. Grupos funcionales identificados de ficocianina mediante FTIR.....	44

Índice / Sumario

Derechos de Autor	i
Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación	ii
Certificación de Defensa	¡Error! Marcador no definido.
Dedicatoria	iv
Agradecimientos.....	v
Resumen.....	vi
Lista de Figuras	viii
Lista de Tablas	ix
Índice / Sumario	x
Introducción	1
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación	3
1.1. Planteamiento del problema	3
1.2. Delimitación del problema.....	3
1.3. Formulación del problema.....	3
1.4. Preguntas de investigación	4
1.5. Objetivos.....	4
1.5.1 Objetivo general.....	4
1.5.2 Objetivos específicos	4
1.6. Hipótesis.....	4
1.7. Justificación	4
1.8. Declaración de las variables (Operacionalización)	5
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial	6
2.1. Antecedentes Referenciales	6
2.2. Marco Conceptual.....	7
2.2.1. Biotecnología de microalgas	7
2.2.2 Taxonomía	9
2.2.3 Cianobacterias	9

2.2.4 Morfología de <i>Arthrospira platensis</i>	11
2.2.5 Factores que influyen en el crecimiento de <i>Arthrospira platensis</i>	12
2.2.5.1 pH.....	12
2.2.5.2 Temperatura.....	13
2.2.5.3 Intensidad lumínica y tipo de luz	14
2.2.5.4 Fotoperiodo	15
2.2.6 Medio de cultivo para <i>Arthrospira platensis</i>	16
2.2.7 Producción de biomasa de microalgas	17
2.2.8 Tasa específica de crecimiento	18
2.2.9 Tiempo de duplicación	19
2.2.10 Proceso de obtención de biomasa de <i>Arthrospira platensis</i>	19
2.2.11 Producción y función de la ficocianina.....	20
2.2.12 Efecto de la luz en la producción de ficocianina	21
2.2.13 Métodos de extracción y purificación de ficocianina	21
2.2.14 Biorreactores.....	22
2.2.14.1 Sistemas abiertos	22
2.2.14.2 Sistemas cerrados	23
2.2.15 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	24
2.3. Marco Teórico.....	24
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico.....	28
3.1. Tipo y diseño de investigación	28
3.2. La población y la muestra	28
3.3. Los métodos y las técnicas	29
3.3.1 Preparación del inoculo.....	29
3.3.2 Montaje del fotobiorreactor y condiciones de cultivo	30
3.3.3 Preparación del medio de cultivo	32
3.3.4 Extracción de biomásas y productividad de cultivos.....	32
3.3.5 Determinación de tasa de crecimiento específica y tiempo de duplicación.....	33
3.3.6 Extracción y cuantificación de ficocianina	33

3.4. Procesamiento estadístico de la información	34
CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados	35
4.1. Análisis e Interpretación de Resultados	35
4.2. Evaluación de tasa de crecimiento y tiempo de duplicación.....	36
4.3. Análisis de producción de ficocianina.....	38
4.3.1. Determinación de la cantidad de ficocianina y aplicación de modelo de superficie.	38
4.3.2. Evaluación de los factores experimentales.....	39
4.4. Optimización de la producción de ficocianina.....	41
4.5. Caracterización funcional mediante espectroscopia FTIR.....	43
CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones	46
5.1. Discusión	46
5.2. Conclusiones	48
5.3. Recomendaciones	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS.....	59

Introducción

En la actualidad, se reconoce la necesidad de identificar fuentes sostenibles para la obtención de compuestos bioactivos y energéticos que contribuyan al bienestar humano. En este contexto, las microalgas han surgido como una alternativa prometedora, al ofrecer una materia prima versátil para diversas aplicaciones en los campos de la biotecnología, la energía y la farmacología (Markou et al., 2023). Por lo tanto, la microalga *Arthrospira platensis* presenta un papel relevante debido a su elevada productividad bajo condiciones óptimas de cultivo, sin embargo, cuando se intenta escalar su producción surgen ciertas limitaciones relacionadas con el control de parámetros críticos como el pH, la temperatura, la agitación y la intensidad luminosa (Chrismadha et al., 2022).

En la actualidad, el cultivo de microalgas ha generado un impacto significativo a nivel global en diversos sectores. En el ámbito agrícola, su integración en sistemas de producción más sostenibles ha permitido el desarrollo de bioestimulantes, suplementos alimenticios para ganado y biofertilizantes, contribuyendo así a mejorar el rendimiento de los cultivos, fortalecer la seguridad alimentaria y fomentar la diversificación agrícola. Además, el uso de microalgas abre la posibilidad de aprovechar zonas no aptas para la agricultura convencional, lo que representa una estrategia eficaz para optimizar el uso del suelo y de los recursos (Bautista & Laroche, 2021).

Por otra parte, en el ámbito agroindustrial, los compuestos obtenidos a partir de microalgas como *Arthrospira platensis* han demostrado un alto potencial para la producción de biodiésel mediante procesos físicos como el pirólisis de biomasa en combinación con residuos agrícolas (Chiong et al., 2018). Esta capacidad de transformación energética favorece la diversificación del uso de las microalgas en múltiples sectores, promoviendo modelos productivos basados en los principios de la economía circular, donde se busca aprovechar al máximo los recursos sin generar residuos significativos en procesos a gran escala.

Así mismo, esta microalga presenta un gran interés en la industria farmacéutica y alimentaria debido a su alto contenido proteico y a la presencia de compuestos bioactivos como la ficocianina que pueden emplearse como antioxidantes naturales y actualmente se analiza su importancia como un compuesto antimicrobiano. Por lo tanto, los compuestos producidos por las microalgas evidencian su gran versatilidad y valor biotecnológico, posicionándolas como un microorganismo de alto valor agregado alineado con los principios de sostenibilidad y desarrollo innovador en múltiples sectores productivos (Delrue et al., 2017a).

Además, en el contexto ambiental el cultivo de cianobacterias como *Arthrospira platensis* contribuyen a la captura de CO₂ gracias a su capacidad fotosintética en la captura de este

contaminante ambiental que son metabolizado para producción de oxígeno. Por otro lado, su cultivo puede llevarse a cabo en aguas residuales, donde estas microalgas asimilan compuestos como nitratos, fosfatos y sulfatos, permitiendo su eliminación y reduciendo el impacto ambiental de fuentes contaminantes tanto domésticas y al nivel industrial, convirtiéndola como un sistema de tratamiento biológico sustentable para la generación de biomasa útil (Dębowski et al., 2024).

De esta forma, es importante resaltar cómo el uso de microalgas se ha diversificado a nivel global. Un ejemplo destacado es el caso de Brasil donde se ha implementado su uso como bioestimulante en cultivos agrícolas especialmente en caña de azúcar y maíz. En sus centros de investigación, se promueve el uso de cepas como *Chlorella vulgaris* y *Spirulina* para mejorar la absorción de nutrientes, estimular el crecimiento vegetal, aumentar la tolerancia al estrés hídrico y regenerar suelos poco fértiles. Esta práctica fortalece el enfoque de agricultura regenerativa y ayuda a reducir la dependencia de fertilizantes sintéticos (Abreu et al., 2023).

Otro ejemplo claro del uso de microalgas se observa en México y Japón, donde diversas investigaciones han demostrado su potencial como estrategia para la transición energética y la reducción de emisiones de carbono. En ambos países se han desarrollado sistemas de cultivo de microalgas a mediana y gran escala orientados a la producción de biodiésel y a la implementación de celdas biofotovoltaicas, como parte de iniciativas que buscan alternativas de energía limpia y sostenible (Podgórska, 2024). Estas tecnologías emergentes aprovechan la capacidad fotosintética de las microalgas para generar energía de manera eficiente posicionándolas como una solución viable frente a los combustibles fósiles.

De esta forma, la caracterización funcional de los productos obtenidos es esencial para validar su composición y calidad. En este sentido, la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) representa una técnica eficiente y no destructiva para identificar los grupos funcionales presentes en los extractos pigmentarios (Spennati et al., 2020). Sin embargo, su uso aún no está estandarizado en muchos laboratorios del Ecuador, limitando la comprensión de las propiedades fisicoquímicas de los bioproductos generados. Por lo tanto, el desarrollo de este tema tiene relevancia científica y tecnológica ya que contribuye al desarrollo de estrategias sostenibles para la obtención de productos de alto valor agregado en biotecnología. Además, el presente trabajo busca aportar conocimiento práctico y científico sobre el cultivo optimizado de *Arthrospira platensis* en fotobiorreactores semicontinuos y la caracterización de enlaces funcionales de la ficocianina mediante FTIR.

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1. Planteamiento del problema

La búsqueda de alternativas sostenibles para la obtención de compuestos bioactivos constituye una prioridad ante los desafíos ambientales y la creciente demanda de productos naturales con aplicaciones industriales. En este contexto, las microalgas como *Arthrospira platensis* destacan por su capacidad de producir ficocianina, un pigmento con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y alto valor biotecnológico en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética.

No obstante, la producción eficiente de ficocianina a gran escala presenta limitaciones asociadas al control de parámetros críticos de cultivo como disponibilidad de carbono, temperatura, intensidad lumínica y nutrientes que inciden directamente en la productividad y calidad del pigmento. Además, aunque existen diversos métodos para la identificación de compuestos obtenidos de microalgas, la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) representa una técnica no destructiva para la identificación de grupos funcionales en compuestos bioactivos. Por lo tanto, la presente investigación busca optimizar el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* en fotobiorreactores para la obtención de ficocianina y aplicar FTIR como herramienta de caracterización funcional, aportando conocimiento científico y práctico que fortalezca el desarrollo de bioprocesos sostenibles en el país.

1.2. Delimitación del problema

El trabajo investigación se enmarca en el ámbito de la biotecnología aplicada, específicamente en la producción de compuestos bioactivos a partir de microalgas. El estudio se desarrollará bajo un enfoque experimental y cuantitativo, mediante el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* en fotobiorreactor de laboratorio, con el propósito de optimizar la producción de biomasa y extracción de ficocianina. El trabajo se llevará a cabo en un entorno controlado de laboratorio, donde se manipularán variables como intensidad lumínica, concentración de macronutrientes y disponibilidad de carbono manteniendo condiciones de cultivo reproducibles. La extracción del pigmento se realizará por métodos acuosos y su pureza será evaluada mediante análisis espectrofotométrico previo a la caracterización funcional.

1.3. Formulación del problema

¿Cómo optimizar la producción y caracterización funcional de la ficocianina obtenida del cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis*?

1.4. Preguntas de investigación

- ¿De qué manera el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* en fotobiorreactor influye en la producción y caracterización de ficocianina?
- ¿Qué condiciones de cultivo (intensidad luminosa, concentración de nutrientes y disponibilidad de carbono) favorecen la mayor productividad de biomasa obtenida de microalgas?
- ¿Qué relación existe entre la intensidad lumínica y la tasa específica de crecimiento de *Spirulina*, durante el cultivo en fotobiorreactor para la obtención de biomasa?
- ¿Qué grupos funcionales característicos se identifican en la ficocianina extraída, según los espectros obtenidos por FTIR?

1.5. Objetivos

1.5.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de variables operativas en el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* para la producción de ficocianina y su caracterización funcional mediante FTIR

1.5.2 Objetivos específicos

- Cuantificar la biomasa fresca y seca obtenida en cada tratamiento y su variación según los factores de estudio.
- Determinar la tasa de crecimiento, tiempo de duplicación y rendimiento en respuesta a los diferentes niveles de carbono, luz y nutrientes.
- Maximizar la producción de ficocianina mediante la variación de parámetros de cultivo
- Caracterizar los grupos funcionales de la ficocianina mediante espectroscopía FTIR para validar su composición química

1.6. Hipótesis

El establecimiento de un sistema de cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis*, bajo condiciones controladas de parámetros de cultivo, permitirá optimizar la producción de biomasa y mejorar la obtención de ficocianina con alta pureza. Esto se reflejará en un incremento significativo de la biomasa fresca y seca, en la eficiencia de la tasa de crecimiento y en la concentración de la ficocianina.

1.7. Justificación

La presente investigación aborda la producción y caracterización de compuestos bioactivos mediante el aprovechamiento de un sistema sostenible de microalgas. Por lo tanto, *Arthrospira platensis* representa una fuente de ficocianina, pigmento proteico

con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, ampliamente utilizado en las industrias alimentaria, farmacéutica, y biotecnológica (Costa et al., 2024).

Desde el enfoque tecnológico, la implementación de cultivos semicontinuos en fotobiorreactores constituye una estrategia que permite mantener un suministro constante de biomasa y controlar de manera precisa variables críticas como la intensidad luminosa, el pH, los nutrientes y la disponibilidad de carbono. Estas condiciones controladas posibilitan optimizar el rendimiento en la producción de ficocianina y superar limitaciones comunes en sistemas abiertos, como la contaminación o la variabilidad de parámetros ambientales.

Desde el enfoque tecnológico, la implementación de cultivos semicontinuos en fotobiorreactores constituye una estrategia que permite mantener un suministro constante de biomasa y controlar de manera precisa variables críticas como la intensidad luminosa, el pH, los nutrientes y la disponibilidad de carbono. Estas condiciones controladas posibilitan optimizar el rendimiento en la producción de ficocianina y superar limitaciones comunes en sistemas abiertos, como la contaminación o la variabilidad de parámetros ambientales. De esta forma, el objetivo de esta investigación es optimizar las condiciones de cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* para obtener ficocianina y caracterizar sus grupos funcionales mediante espectroscopía FTIR.

1.8. Declaración de las variables (Operacionalización)

Se detallan las variables de estudio en la tabla 1 de establecimiento de variables

Tabla 1. Establecimiento de variables

Variable dependiente	• Tasa de crecimiento específica
	• Tiempo de duplicación
	• Biomasa fresca y seca
	• Productividad de biomasa
	• Rendimiento de ficocianina
Variable independiente	• Concentración de Carbono / Disponibilidad de carbono
	• Intensidad lumínica
	• Dosificación de nutrientes

Fuente: Autor

CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

2.1. Antecedentes Referenciales

La microalga *Arthrospira platensis* ha sido ampliamente estudiada en las últimas décadas por su alta productividad y su capacidad de sintetizar compuestos bioactivos de interés biotecnológico. Entre ellos, la ficocianina es reconocida por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y como colorante natural en la industria alimentaria y farmacéutica (Citi et al., 2024). Sin embargo, el rendimiento en la producción de biomasa y la concentración del pigmento dependen directamente de parámetros de cultivo como la intensidad lumínica, la disponibilidad de nutrientes y la fuente de carbono, variables determinantes para optimizar los procesos productivos (Wang et al., 2025)

Por otra parte, la tasa de crecimiento de las microalgas se ve influenciada por el control simultáneo de la temperatura y la disponibilidad de carbono, lo que genera un incremento notable en la productividad celular. Al optimizar las condiciones de cultivo a 30 °C y mantener una aireación constante con aporte de bicarbonato, lograron tasas de crecimiento superiores a las obtenidas en sistemas discontinuos. Del mismo modo, investigaciones de (Freire Balseca et al., 2024) mostraron que sistemas semicontinuos presentan ventajas frente a los cultivos por lotes, ya que mantienen un equilibrio constante de nutrientes y una mayor estabilidad fisiológica, lo que se traduce en una mayor tasa de duplicación celular y en una productividad sostenida de biomasa.

De esta forma, la producción sostenible de ficocianina se ha enfocado en el diseño y optimización de sistemas de cultivo semicontinuos y fotobiorreactores, debido a que permiten mantener una productividad estable en el tiempo, controlar las condiciones de cultivo y maximizar la eficiencia en la conversión de energía lumínica. Factores como la intensidad lumínica, la disponibilidad de carbono, la temperatura, el pH y la concentración de nutrientes influyen directamente en la tasa de crecimiento y en el contenido de ficocianina en la biomasa (AlFadhly et al., 2022)

Diversos estudios han abordado la influencia de los factores ambientales y nutricionales sobre la producción de ficocianina. (Jung et al., 2022a) demostró que el tipo de luz influye de manera significativa en la biosíntesis del pigmento, encontrando que los espectros luminosos azul y rojo favorecen la acumulación de ficocianina en *Arthrospira platensis*. De forma similar, (Prates et al., 2018) comprobaron que la exposición a luz combinada azul-roja incrementó la producción de ficocianina en un

14,38 % con respecto a la luz blanca, lo que resalta la importancia de la regulación lumínica en la eficiencia fotosintética de la microalga.

Por otro lado, se han desarrollado investigaciones centradas en la optimización de los nutrientes del medio de cultivo. (Pereira et al., 2024) emplearon el diseño de superficie de respuesta (RSM) para determinar la influencia de diferentes fuentes de nitrógeno, demostrando que la urea, en concentraciones adecuadas, incrementa significativamente tanto la biomasa como el contenido de ficocianina. Estos resultados coinciden con los hallazgos de (Zeitler et al., 2024) quienes destacaron la importancia de la disponibilidad de carbono y nitrógeno como factores determinantes en la productividad de los cultivos de microalgas.

En cuanto a las técnicas de extracción y purificación, los métodos tradicionales como la congelación-descongelación o la ruptura mecánica han sido reemplazados progresivamente por técnicas más eficientes y ecológicas. La extracción por ultrasonido a 40°C durante una hora permite obtener rendimientos de hasta 14,88 mg/g con un índice de pureza. De igual forma, (Pez Jaeschke et al., 2021) revisaron los principales métodos emergentes, destacando que las técnicas basadas en campo eléctrico pulsado (PEF) y disrupción celular asistida por ultrasonido presentan ventajas significativas al reducir el uso de solventes tóxicos y preservar la integridad de las proteínas.

A pesar de los avances descritos, persisten vacíos en la investigación sobre la producción y caracterización funcional de ficocianina. La mayoría de los estudios se enfocan en el rendimiento y la pureza del pigmento, pero pocos abordan la caracterización estructural mediante técnicas espectroscópicas. La aplicación de FTIR permite identificar los grupos funcionales responsables de la estructura proteica del pigmento, como los grupos amida, carbonilo e hidroxilo, que determinan sus propiedades bioquímicas y estabilidad (Michalak et al., 2020). Por ello, la integración de esta técnica en el proceso analítico representa una oportunidad para estandarizar la calidad del bioproducto y facilitar su aplicación en sectores industriales.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Biotecnología de microalgas

La biotecnología de microalgas constituye una de las áreas más prometedoras dentro de las ciencias biológicas aplicadas, debido a la gran versatilidad metabólica y fisiológica que presentan estos microorganismos fotosintéticos. Las microalgas son

organismos unicelulares capaces de realizar fotosíntesis oxigénica, transformando dióxido de carbono, agua y luz solar en biomasa rica en compuestos de alto valor agregado, como proteínas, lípidos, carbohidratos y pigmentos naturales. Su alta eficiencia fotosintética, su rápido crecimiento y su capacidad de cultivarse en medios no competentes con la agricultura tradicional las convierten en una alternativa sostenible para la obtención de productos bioactivos con aplicaciones en la alimentación, la farmacología, la energía y el cuidado ambiental (Barbosa et al., 2023).

En la biotecnología moderna, el aprovechamiento de microalgas se articula en torno al concepto de biorrefinería de microalgas, el cual busca maximizar el uso integral de la biomasa mediante la obtención simultánea de múltiples productos. En este contexto, la ficocianina, los lípidos, los polisacáridos y las proteínas representan compuestos clave de alto valor comercial. La integración de procesos en cascada, donde los subproductos de una etapa sirven como materia prima para otra, reduce los costos operativos y mejora la sostenibilidad ambiental del proceso. Por otra parte, la aplicación de técnicas de ingeniería genética y la optimización de parámetros de cultivo mediante inteligencia artificial están permitiendo aumentar significativamente el rendimiento productivo y la eficiencia energética en los sistemas fotobiorreactores (Wang et al., 2024).

Además, las microalgas desempeñan un papel relevante en la remediación ambiental, ya que son capaces de asimilar nutrientes y eliminar contaminantes presentes en aguas residuales, contribuyendo así a la reducción del impacto ambiental. No obstante, el aprovechamiento biotecnológico de las microalgas enfrenta desafíos significativos, los rendimientos de biomasa y metabolitos suelen ser bajos en condiciones industriales, y los costos asociados al cultivo, cosecha y procesamiento continúan siendo elevados lo que limita su viabilidad comercial. En este sentido, el desarrollo de estrategias de mejoramiento genético, optimización de medios de cultivo y automatización de fotobiorreactores resulta esencial para incrementar la productividad y reducir costos (Escobedo et al., 2021).

De la misma manera, las microalgas han emergido como una materia prima prometedora para la generación de biocombustibles de tercera generación, debido a su elevada capacidad de producir biomasa rica en lípidos sin competir con tierras agrícolas para alimentos. Se han desarrollado diversas investigaciones, donde se muestra que las condiciones de estrés nutricional en muchas especies de microalgas aumentan la acumulación de lípidos, lo cual es óptimo para la conversión a biodiésel.

Además, se enfatiza que la optimización de variables de cultivo como la concentración de nitrógeno, la intensidad luminosa y los fotoperiodos resulta fundamental para maximizar tanto la productividad de biomasa como la eficacia en la síntesis de lípidos (Moshood et al., 2021).

2.2.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Arthrospira platensis* ha sido objeto de revisión constante debido a su amplia diversidad morfológica y a las similitudes estructurales que presenta con otras cianobacterias filamentosas. Las especies pertenecientes al género *Arthrospira* se distinguen por la presencia de tricomas helicoidales o espiralados, carentes de células heterocistes y acinetos, y por su modo de reproducción mediante fragmentación. Estas características morfológicas y fisiológicas han permitido diferenciar a *Arthrospira* de otros géneros afines, consolidando su posición dentro del filo Cyanobacteriota. En la Tabla 2 se presenta la taxonomía actualizada de *Arthrospira platensis*, basada en los registros del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Tabla 2. Taxonomía de la microalga *Arthrospira platensis*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Reino	<i>Bacillati</i>
Filo	<i>Cyanobacteriota</i>
Clase	<i>Cyanophyceae</i>
Subclase	<i>Oscillatoriophyycideae</i>
Orden	<i>Oscillatoriales</i>
Familia	<i>Microcoleaceae</i>
Género	<i>Arthrospira</i>
Especie	<i>Arthrospira platensis</i>

Fuente: (Schoch et al., 2020)

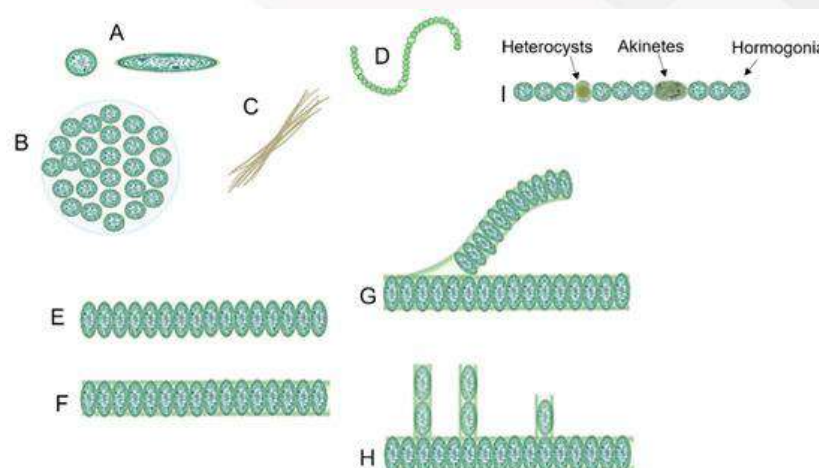
2.2.3 Cianobacterias

Las cianobacterias, también conocidas como algas verdeazuladas, son microorganismos fotosintéticos primarios que han habitado la Tierra durante más de 3 000 millones de años, siendo clave en la oxigenación de la atmósfera primitiva. Su genoma es relativamente simple y su alta capacidad adaptativa les permiten crecer

con recursos mínimos luz, agua y CO₂, lo que favorece la ingeniería genética y su utilización biotecnológica. Estos organismos pueden existir en formas celulares individuales, coloniales o filamentosa y habitan ambientes muy diversa agua dulce, salina, suelos e incluso superficies rocosas sin competir por tierras cultivables. Además, poseen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, producir una amplia gama de metabolitos pigmentos como ficobiliproteínas, carotenoides, polisacáridos y ácidos grasos poliinsaturados y actuar como biofertilizantes, agentes de remediación ambiental o fuentes de compuestos bioactivos (Zahra et al., 2020).

Morfológicamente, las cianobacterias presentan una amplia diversidad de formas que refleja su gran adaptabilidad ecológica. Pueden encontrarse como células unicelulares esféricas u ovoides, o agrupadas en colonias dentro de una matriz mucilaginosas que las protege del estrés ambiental. También existen especies filamentosas, cuyos tricomas pueden presentarse con o sin vaina, adoptando en algunos casos estructuras espirales o con ramificación falsa o verdadera. En los filamentos se diferencian células especializadas como los heterocistos, encargados de fijar nitrógeno; las akinetas, que actúan como células de resistencia; y los hormogonios, que permiten la reproducción y dispersión (Allaf & Peerhossaini, 2022). En la Figura 1, se detallan las diversas morfológicas descritas, además, esta variabilidad morfológica confiere a las cianobacterias una notable capacidad de adaptación y un alto potencial biotecnológico.

Figura 1. Morfología de cianobacterias



Nota: A) Unicelulares o esféricas, B) En forma de colonias, C) Filamentosas, D) Espirales, E) Tricomas sin vaina, F) Tricomas con vaina, G) Ramificación falsa, H) Ramificación completa. **Fuente:** (Allaf & Peerhossaini, 2022)

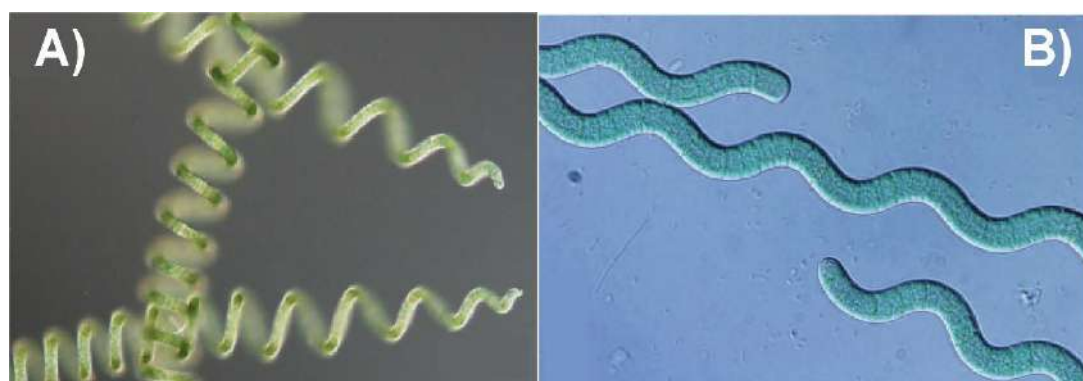
2.2.4 Morfología de *Arthrospira platensis*

Arthrospira platensis es una cianobacteria filamentosas de forma helicoidal que se desarrolla en trichomas largos mediante fisión binaria y propagación por fragmentación controlada. Durante su cultivo en fotobiorreactores, los filamentos pueden fragmentarse en segmentos cortos llamados hormogonios, originados en células especializadas llamadas necridias que se degradan y liberan parte del contenido celular para formar nuevas unidades viables. A lo largo del periodo de crecimiento los trichomas aumentan su longitud hasta alcanzar su morfología helicoidal típica, con diámetros exteriores entre 20 y 60 μm y longitudes que pueden variar entre 100 y 500 μm , dependiendo de condiciones como la luz, el CO_2 y el suministro de iones bicarbonato. Actualmente se ha reportado una gran variedad de esta cepa por estructuras distintas *A. platensis*, *A. maxima* y *A. fusiformis* (Sinetova et al., 2024).

En términos fisiológicos, *A. platensis* exhibe una gran plasticidad morfológica en respuesta a las condiciones del medio. Estudios recientes han demostrado que, bajo ambientes alcalinos similares a los naturales, los filamentos pueden presentar hélices más cerradas, un aumento del diámetro celular y una reducción en la longitud promedio del trichoma, lo cual constituye una adaptación fisiológica para optimizar la absorción de luz y nutrientes en condiciones limitantes. Estas variaciones estructurales están estrechamente ligadas a su metabolismo fotosintético y a la eficiencia del uso del carbono, ya que los cambios en la geometría del filamento permiten maximizar la superficie de exposición a la luz y mejorar la transferencia de gases disueltos (Huarachi-Olivera et al., 2015).

Por otra parte, en los estudios de *Arthrospira platensis* se han identificado dos variedades claramente diferenciadas por su morfología: Paracas y Lonar. Ambas presentan rasgos morfológicos y fisiológicos que reflejan su adaptación a distintos ambientes naturales, en la Figura 2 se observan diferencias visuales. La cepa Paracas, originaria de ecosistemas costeros alcalinos del Perú, se distingue por presentar tricomas helicoidales regulares, con espirales bien definidas, un diámetro exterior mayor (entre 40 y 60 μm) y una estructura compacta y uniforme (Delrue et al., 2017b). Esta conformación favorece la flotabilidad y optimiza la captación de luz en medios ricos en carbonatos. En contraste, la cepa Lonar, aislada del lago Lonar en la India, exhibe tricomas menos espiralados o parcialmente rectos, con un diámetro menor (entre 20 y 35 μm) y una disposición celular más laxa, lo que sugiere una adaptación a condiciones de mayor variabilidad en salinidad y disponibilidad de nutrientes.

Figura 2. Diferencia morfológica de *Arthrospira platensis*, A) Variadas paracas, B) Variedad lonar



Fuente: (Nowicka-Krawczyk et al., 2019)

2.2.5 Factores que influyen en el crecimiento de *Arthrospira platensis*

Existen diversos factores fundamentales que influyen en el desarrollo de un cultivo de *Arthrospira platensis*, se detallan a continuación:

2.2.5.1 pH

El pH constituye uno de los factores más determinantes en el crecimiento de *Arthrospira platensis*, dado que influye directamente en la disponibilidad de nutrientes, la estabilidad celular y la actividad enzimática del cultivo. Esta cianobacteria presenta una preferencia por ambientes alcalinos, con un rango óptimo de crecimiento entre 9.0 y 10.5, donde las condiciones favorecen la solubilidad del bicarbonato y la disponibilidad de carbono inorgánico para la

fotosíntesis. De esta forma, valores inferiores a este rango, afectan a la captación de dióxido de carbono y la fijación de carbono, causando una baja tasa de división celular y la producción de biomasa (Li et al., 2022).

Durante la fase exponencial de crecimiento, el pH tiende a incrementarse como consecuencia de la asimilación del CO₂ y la liberación de hidroxilos (OH⁻), lo cual modifica la alcalinidad del medio. Sin embargo, si el pH supera los valores críticos mayor a 11, puede inducir estrés celular, degradación de pigmentos como la ficocianina y reducción en la eficiencia fotosintética. Para evitarlo, se recomienda la utilización de tampones o la inyección controlada de CO₂ que permita mantener la concentración de carbonatos en equilibrio. Este balance es fundamental, ya que un pH estable garantiza la actividad enzimática adecuada y la integridad de las membranas celulares. Además, el pH tiene una relación estrecha con la biodisponibilidad de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, esenciales para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. En medios con pH muy elevado, algunos micronutrientes pueden precipitar, disminuyendo su asimilación y afectando la productividad del cultivo (Ismaiel et al., 2016). Por lo tanto, el manejo del pH actúa como regulador del metabolismo y es un indicador de la salud general del sistema de cultivo.

2.2.5.2 Temperatura

La temperatura es uno de los factores ambientales más relevantes en el crecimiento y metabolismo de *Arthrospira platensis*, ya que influye en la velocidad de las reacciones bioquímicas, la fotosíntesis, la solubilidad de los gases y la estabilidad estructural de las células. Esta microalga se desarrolla de manera óptima en un rango de temperatura entre 30°C y 35°C, dentro de este rango se observa una buena tasa de división celular y acumulación de biomasa. De esta forma, temperaturas inferiores a 25 °C afectan a las enzimas responsables del metabolismo fotosintético disminuyen su actividad, reduciendo la asimilación de carbono y la síntesis de proteínas. Por otra parte, temperaturas superiores a 38°C pueden causar la desnaturalización de proteínas y la degradación de pigmentos fotosintéticos como la ficocianina y la clorofila (Kumar et al., 2011).

Durante la fase exponencial del cultivo, la regulación térmica es esencial para mantener la homeostasis celular. Las variaciones bruscas de temperatura pueden alterar la permeabilidad de las membranas y el equilibrio osmótico, provocando estrés fisiológico afectando al crecimiento de la microalga.

Además, la temperatura interactúa con otros factores como el pH y la intensidad lumínica, afectando al proceso de fotosíntesis y la composición bioquímica de la biomasa. Por ejemplo, un incremento de temperatura dentro del rango óptimo puede potenciar la eficiencia de la fijación de CO₂ y el rendimiento de proteínas. Por otra parte, la temperatura influye en la viscosidad del medio y en la transferencia de gases, aspectos importantes en sistemas de cultivo cerrados (Shiraishi et al., 2024).

2.2.5.3 Intensidad lumínica y tipo de luz

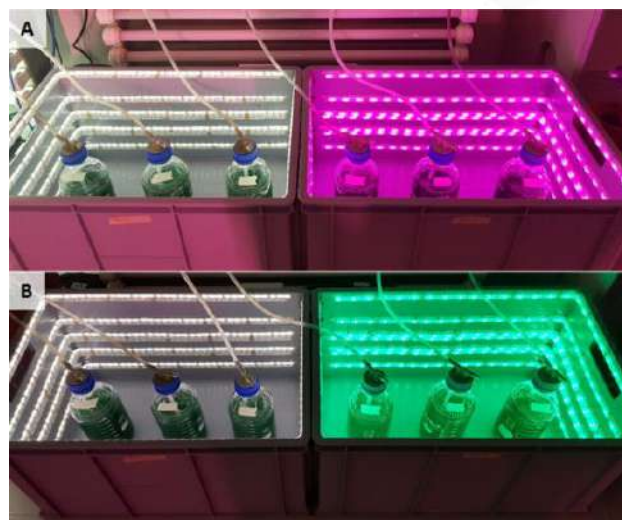
La intensidad luminosa constituye un factor importante en el crecimiento y metabolismo fotosintético de esta microalga, ya que la luz actúa como fuente primaria de energía para la fijación de carbono y la síntesis de compuestos orgánicos. En cultivos de microalgas, la cantidad y calidad de la luz inciden directamente en la tasa de división celular, la producción de pigmentos fotosintéticos y el rendimiento total de biomasa. Por lo tanto, *Arthrospira platensis* presenta un rango óptimo de irradiancia entre 2,000 y 6,000 lux, equivalente a aproximadamente 40–120 $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$, dependiendo del espesor óptico del cultivo y del tipo de reactor utilizado (Jian-Fei et al., 2023).

En condiciones de baja intensidad luminosa, la velocidad fotosintética disminuye, lo que genera un crecimiento lento y menor acumulación de proteínas y pigmentos. Por el contrario, cuando la luz es excesiva, pueden producirse fenómenos de fotoinhibición, caracterizados por el daño de los centros de reacción del fotosistema II y la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que afectan la estabilidad celular y reducen la productividad. Para evitar estos efectos negativos, se recomienda ajustar la iluminación según la densidad óptica del cultivo y promover la agitación continua o el uso de sistemas de iluminación intermitente, que mejoran la distribución homogénea de la luz (Zhang et al., 2024).

Por otra, se ha demostrado que la calidad espectral de la luz también influye de manera significativa en el crecimiento y la composición bioquímica de *Arthrospira platensis*, en la Figura 3 se ejemplifica un sistema de cultivo con diferente tipo de luz. De esta forma, la luz roja (620–700 nm) estimula la actividad fotosintética y la producción de biomasa, debido a su absorción eficiente por la clorofila a. En cambio, la luz verde (520–560 nm) favorece la síntesis de ficocianina y proteínas solubles, incrementando el contenido de pigmentos antioxidantes y la estabilidad al proceso de fotosíntesis (Jung et al.,

2022b). De esta forma, el uso combinado de luces rojas y verdes mediante sistemas LED ha demostrado ser una estrategia eficiente para optimizar el crecimiento de cultivo de microalgas.

Figura 3. Sistema de cultivo con diferentes tipos de luz, A) Luz blanca y roja, B) Luz blanca y verde



Fuente: (Jung et al., 2022b)

2.2.5.4 Fotoperiodo

El fotoperiodo se define como la alternancia entre los periodos de luz y oscuridad en un ciclo de cultivo, desempeña un papel esencial en la regulación del crecimiento y metabolismo de *Arthrospira platensis*. Este factor controla procesos fisiológicos relacionados con la fotosíntesis, la respiración y la acumulación de biomasa, al influir directamente en la eficiencia de captura de energía luminosa. Durante las horas de iluminación, la microalga realiza la fijación de dióxido de carbono y la síntesis de compuestos orgánicos, mientras que en la fase de oscuridad se llevan a cabo procesos respiratorios y de redistribución metabólica que favorecen la estabilidad energética del sistema celular (Maltsev et al., 2021).

Diversos estudios han demostrado que *Arthrospira platensis* presenta un rendimiento óptimo cuando se cultiva bajo un fotoperiodo de 12:12 o 16:8 horas luz: oscuridad respectivamente, ya que estos intervalos permiten equilibrar la fase fotosintética con la fase respiratoria. En condiciones de iluminación continua 24 horas luz, inicialmente se observa un incremento en la tasa de crecimiento, sin embargo, a largo plazo pueden generarse efectos adversos

como estrés lumínico, fotoinhibición y alteración en la estructura de los tilacoides. Por el contrario, periodos prolongados de oscuridad reducen la productividad debido a la disminución de la fotosíntesis y la pérdida de reservas energéticas (de Moraes et al., 2022).

2.2.6 Medio de cultivo para *Arthrospira platensis*

Los medios de cultivo deben proporcionar macro y micronutrientes esenciales para el adecuado crecimiento y metabolismo celular de las microalgas. En el caso de *Arthrospira platensis*, los medios de cultivo son soluciones acuosas que contienen los elementos químicos fundamentales que garantizan la disponibilidad de carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, calcio, magnesio y oligoelementos necesarios para sus procesos fotosintéticos y biosintéticos, en la Tabla 3 se detallan los medios utilizados. La composición del medio de cultivo varía en función de los requerimientos fisiológicos de la cepa y del objetivo del cultivo, como puede ser la producción de biomasa, proteínas, pigmentos o compuestos bioactivos.

Tabla 3. Medios de cultivo para *Arthrospira platensis*

Medio de cultivo	Descripción general
Zarrouk	Medio alcalino estándar, contiene carbonato y bicarbonato de sodio, nitrato de sodio, fosfato, sulfato y oligoelementos.
BG-11	Medio formulado para cianobacterias de agua dulce, con nitrato de sodio como fuente de nitrógeno y sin bicarbonato.
Conway	Medio empleado originalmente para microalgas marinas; contiene nitrato, fosfato, silicato, vitaminas y trazas de metales.
F/2	Medio marino enriquecido con nitratos, fosfatos, hierro y vitaminas del grupo B.

Fuente:(Yu et al., 2019)

De esta forma, los macronutrientes, requeridos en mayores concentraciones, comprenden los elementos carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), potasio (K), sodio (Na), magnesio (Mg) y calcio (Ca), los cuales desempeñan funciones estructurales y metabólicas fundamentales. El carbono se suministra habitualmente en forma de bicarbonato o carbonato de sodio, los cuales actúan además como sistema

tampón que mantiene la alcalinidad del medio dentro del rango óptimo de pH. Los micronutrientes, resultan igualmente indispensables para el metabolismo celular, ya que actúan como cofactores enzimáticos en diversas reacciones bioquímicas. Entre los más importantes se encuentran el hierro (Fe), el manganeso (Mn), el zinc (Zn), el cobre (Cu), el cobalto (Co), el molibdeno (Mo) y el boro (B). La Tabla 4 se encuentra las cantidades de macronutrientes y micronutrientes según el medio de cultivo. Estos nutrientes ayudan al proceso de transporte electrónico, síntesis de clorofila, síntesis enzimática y estabilidad metabólica.

Tabla 4. Composición química de medios de cultivos para *Arthrospira platensis*

Componente	Zarrouk (g/L)	BG-11 (g/L)	F/2 (g/L)	Conway (g/L)
NaHCO₃	16.80	-	-	-
NO₃⁻	2.50	1.0	0.055	0.074
PO₄³⁻	0.50	0.017	0.0034	0.016
Fe²⁺	0.01	6.5×10 ⁻⁵	2.5×10 ⁻⁴	1.9×10 ⁻⁴
Cu²⁺	-	2.0×10 ⁻⁵	2.5×10 ⁻³	5.1×10 ⁻⁶
Co²⁺	-	1.2×10 ⁻⁵	2.5×10 ⁻³	5.0×10 ⁻⁶
Zn²⁺	0.02	5.0×10 ⁻⁵	5.0×10 ⁻³	1.0×10 ⁻⁵
SO₄²⁻	0.01	2.9×10 ⁻²	1.9×10 ⁻³	-
Mn²⁺	0.01	5.0×10 ⁻⁴	5.0×10 ⁻²	1.6×10 ⁻⁴
Mo⁶⁺	-	1.7×10 ⁻⁴	2.5×10 ⁻³	7.0×10 ⁻⁷
EDTA	0.08	8.0×10 ⁻²	3.4×10 ⁻³	3.9×10 ⁻²
B³⁺	-	5.1×10 ⁻⁴	-	5.9×10 ⁻³
Mg²⁺	0.20	7.4×10 ⁻³	-	-

Fuente: (Khemiri et al., 2022)

2.2.7 Producción de biomasa de microalgas

La producción de biomasa de microalgas se refiere al conjunto de procesos biotecnológicos orientados al cultivo controlado de microorganismos fotosintéticos unicelulares con el propósito de obtener una alta densidad celular. Este proceso implica el aprovechamiento eficiente de la luz, el dióxido de carbono, los nutrientes y la temperatura, factores que determinan la tasa de crecimiento y la composición bioquímica de las microalgas. De esta forma, las microalgas presentan elevadas tasas de crecimiento y una notable capacidad para acumular compuestos de interés como proteínas, lípidos, pigmentos y carbohidratos bajo condiciones controladas. Su

cultivo puede realizarse en sistemas abiertos tipo raceway o cerrados como los fotobiorreactores, siendo estos últimos los más adecuados para mantener condiciones estables de luz, temperatura, pH y concentración de nutrientes, factores que inciden directamente en la productividad de la biomasa (Guzmán et al., 2021).

El proceso de producción de biomasa microalgal comprende tres etapas fundamentales: la fase de inoculación, en la que se inicia el cultivo a partir de un inóculo puro y saludable; la fase de crecimiento exponencial, donde se optimizan las condiciones ambientales y nutricionales para maximizar la tasa de división celular; y la fase estacionaria, en la cual la densidad celular alcanza su punto máximo antes de la cosecha. La elección del medio de cultivo es determinante, pues la disponibilidad de macronutrientes como nitrógeno, fósforo y carbono, así como de micronutrientes esenciales (Fe, Mg, Zn, etc.), condiciona la síntesis de biomoléculas específicas. En algunos casos, la limitación de nutrientes se utiliza estratégicamente para inducir la acumulación de metabolitos como lípidos o pigmentos (Tan et al., 2020).

2.2.8 Tasa específica de crecimiento

La tasa específica de crecimiento de las microalgas se define como el ritmo al cual aumenta la biomasa o el número de células en un determinado periodo de tiempo bajo condiciones de cultivo específicas. Este parámetro refleja la eficiencia metabólica del organismo y depende directamente de factores ambientales, el seguimiento de la tasa de crecimiento permite evaluar el desempeño del cultivo y determinar el momento óptimo para la cosecha, asegurando una mayor productividad y calidad de la biomasa obtenida.

La tasa de crecimiento representa un parámetro biológico esencial que describe la velocidad con la cual la población celular incrementa su biomasa a lo largo del tiempo. En el estudio de los cultivos de microalgas, esta tasa permite evaluar la eficiencia del proceso de multiplicación celular y la adaptación del organismo a las condiciones ambientales y nutricionales establecidas. El crecimiento de la microalga se desarrolla siguiendo un patrón sigmoideal que comprende varias fases: una fase de adaptación o latencia, en la cual las células se ajustan a las nuevas condiciones del medio; una fase exponencial o logarítmica, donde la división celular ocurre a una velocidad constante y la tasa de crecimiento alcanza su máximo valor; una fase estacionaria, caracterizada por el equilibrio entre el número de células nuevas y las que mueren, debido a la disminución de nutrientes o al aumento de productos

metabólicos y finalmente una fase de declinación donde la biomasa comienza a reducirse (Ryndin et al., 2023).

2.2.9 Tiempo de duplicación

El tiempo de duplicación se define como el período necesario para que una población de microalgas duplique su número de células o su concentración de biomasa bajo condiciones de crecimiento específicas. Este parámetro constituye un indicador fundamental de la velocidad de proliferación y del estado fisiológico del cultivo, ya que refleja la capacidad de las microalgas para adaptarse y aprovechar los recursos disponibles en el medio. Un tiempo de duplicación corto indica un crecimiento eficiente, mientras que un tiempo prolongado puede señalar limitaciones nutricionales, estrés ambiental o desequilibrio en las condiciones del cultivo.

De esta forma, el tiempo de duplicación se calcula a partir de la tasa específica de crecimiento, mediante la relación inversa entre ambas variables. Su control y análisis permiten determinar la fase de crecimiento exponencial y establecer el momento óptimo para la cosecha o la aplicación de tratamientos experimentales. Por ello, este parámetro resulta esencial en la optimización de procesos productivos, ya que contribuye a maximizar la productividad celular y el rendimiento de biomasa en sistemas abiertos y cerrados, como los fotobiorreactores (Kalinina et al., 2023).

2.2.10 Proceso de obtención de biomasa de *Arthrospira platensis*

El proceso de obtención de biomasa de *Arthrospira platensis* comprende una serie de etapas que permiten el crecimiento, concentración y recolección de las células, con el propósito de aprovechar su alto contenido de proteínas, pigmentos y compuestos bioactivos. La producción de biomasa se inicia con la fase de inoculación, donde se transfiere un cultivo puro y saludable a un medio fresco, asegurando la homogeneidad y la pureza del sistema. En esta etapa, las células comienzan a adaptarse al entorno y a activar su metabolismo fotosintético para iniciar la fase de crecimiento.

Posteriormente, durante la fase de crecimiento exponencial, *A. platensis* alcanza su máxima tasa de división celular gracias a la disponibilidad óptima de luz, nutrientes y condiciones ambientales favorables, como un pH entre 9.0 y 10.5 y una temperatura favorable. En este periodo se maximiza la productividad del cultivo y la eficiencia fotosintética, resultando en una elevada acumulación de biomasa. La monitorización del crecimiento se realiza mediante la medición de la densidad óptica, el peso seco o la concentración de clorofila, lo que permite

determinar el momento ideal para la cosecha. Cuando el cultivo alcanza la fase estacionaria, la concentración de nutrientes comienza a disminuir y el crecimiento celular se estabiliza, por lo que se considera el punto adecuado para la recolección de biomasa (Jacob et al., 2024).

La cosecha o recolección constituye una etapa crítica del proceso y se realiza comúnmente mediante filtración, centrifugación o flotación natural, dependiendo del volumen y la escala de producción. Estas técnicas permiten separar las células del medio de cultivo y obtener una pasta concentrada que se denomina como biomasa fresca. Posteriormente, la biomasa se somete a un proceso de lavado con agua destilada para eliminar sales y residuos, seguido de una etapa de secado que puede efectuarse por métodos como el secado solar, de aire forzado o por aspersión, procurando conservar la integridad de los compuestos bioactivos (Montalvo et al., 2019).

2.2.11 Producción y función de la ficocianina

La ficocianina es un pigmento proteico hidrosoluble perteneciente a la familia de las ficobiliproteínas, presente en los ficobilisomas de *Arthrospira platensis* y responsable de su característico color azul verdoso. Desde un punto de vista estructural, la ficocianina está compuesta por subunidades α y β que forman complejos proteicos con cromóforos de ficocianobilina, los cuales actúan como antenas colectoras de luz en el proceso fotosintético. Su principal función biológica consiste en absorber la radiación en el rango de 615–650 nm y transferir la energía captada hacia la clorofila a, contribuyendo de manera significativa a la eficiencia fotosintética de la cianobacteria (Kannaujiya et al., 2023).

La producción de ficocianina en cianobacterias depende de factores ambientales y nutricionales que influyen directamente en su metabolismo fotosintético. Entre los factores más determinantes se encuentran la intensidad y calidad de la luz, el pH, la temperatura, la disponibilidad de nitrógeno y fósforo y el estado fisiológico del cultivo. Diversos estudios han demostrado que condiciones de luz moderada, combinadas con una adecuada concentración de nitrato y una temperatura cercana a los 30 °C, favorecen la síntesis de ficobiliproteínas. Asimismo, la limitación de ciertos nutrientes puede inducir una sobreproducción del pigmento como mecanismo de protección frente al estrés ambiental. En este sentido, la fase exponencial del crecimiento es considerada el periodo óptimo para la cosecha de biomasa destinada a la extracción de ficocianina, ya que es cuando el contenido celular del pigmento alcanza su máximo nivel (Nikolova et al., 2024).

2.2.12 Efecto de la luz en la producción de ficocianina

La luz constituye un factor determinante en la producción de ficocianina por *Arthrospira platensis*, ya que actúa como fuente primaria de energía en la fotosíntesis y como regulador de los mecanismos metabólicos que controlan la síntesis de pigmentos. La cantidad y calidad de la radiación influyen directamente sobre la estructura y función de los ficobilisomas, afectando su contenido celular y su eficiencia en la transferencia de energía. La aplicación de la intensidad lumínica moderada, comprendida entre 3,500 y 10.000 lux, favorece la mayor tasa de acumulación de ficobiliproteínas, mientras que valores superiores pueden causar fotoinhibición, estrés oxidativo y degradación del pigmento. Por el contrario, intensidades inferiores a 2,000 lux limitan la actividad fotosintética y reducen la productividad de ficocianina al restringir la energía disponible para el metabolismo celular (Jian-Fei et al., 2023b).

El espectro de luz también influye en la cantidad y calidad del pigmento producido. Las longitudes de onda rojas (620-680 nm) estimulan directamente la síntesis de ficocianina, mientras que la luz azul (450-480 nm) favorece la producción de clorofila y carotenoides, demostrando la capacidad de *A. platensis* para ajustar su metabolismo lumínico. Además, fotoperiodos equilibrados de 16 horas de luz y 8 de oscuridad contribuyen a mantener la estabilidad metabólica y evitar la degradación del pigmento por exceso de radiación (Nikolova et al., 2024).

2.2.13 Métodos de extracción y purificación de ficocianina

Los métodos de extracción y purificación de ficocianina comprenden un conjunto de procedimientos físicos y químicos que permiten la liberación del pigmento manteniendo su estructura nativa. Entre los métodos más empleados se encuentran la extracción acuosa, la sonicación, los ciclos de congelación y descongelación, y la homogeneización a alta presión. La extracción acuosa consiste en suspender la biomasa en un tampón fosfato o Tris a pH neutro y baja fuerza iónica, permitiendo la disolución del pigmento por difusión. Los métodos físicos como la sonicación, la congelación y descongelación facilitan la ruptura de las células y aumentan el rendimiento de extracción, aunque deben realizarse a baja temperatura para evitar la degradación del pigmento (D. Kumar et al., 2014).

Una vez obtenida la fase líquida con ficocianina, es necesario separar las impurezas celulares mediante procesos de clarificación y purificación. La clarificación se realiza por centrifugación o filtración, eliminando los residuos

celulares. La purificación, en cambio, busca aumentar la pureza del pigmento y eliminar proteínas acompañantes. Entre los métodos más utilizados se encuentran la precipitación con sulfato de amonio, la ultrafiltración y las técnicas cromatográficas. La precipitación salina permite concentrar la ficocianina mediante diferencias de solubilidad, mientras que la cromatografía de intercambio iónico es el método más eficaz para alcanzar purezas elevadas, ya que separa las proteínas según su carga eléctrica (Ibrahimi et al., 2025)

2.2.14 Biorreactores

Los biorreactores son sistemas diseñados para el cultivo controlado de microorganismos, como las microalgas, con el fin de optimizar su crecimiento y la producción de compuestos de interés biotecnológico. Estos equipos permiten regular parámetros esenciales como la luz, la temperatura, el pH, el suministro de CO₂ y la agitación, garantizando condiciones favorables para la fotosíntesis y la multiplicación celular. En el caso de las microalgas, los biorreactores se clasifican principalmente en sistemas abiertos y sistemas cerrados, según su nivel de control y aislamiento del ambiente externo. La elección del tipo de sistema depende de los objetivos del cultivo, la escala de producción y la pureza requerida de la biomasa o metabolitos generados.

2.2.14.1 Sistemas abiertos

Los sistemas abiertos, como los estanques circulares o de canal (raceways), se caracterizan por estar expuestos al ambiente, lo que los convierte en una alternativa económica y sencilla para la producción a gran escala. En estos sistemas, la luz solar actúa como fuente principal de energía, mientras que la agitación y el suministro de nutrientes se mantienen mediante paletas o bombas de recirculación. Sin embargo, presentan limitaciones relacionadas con la evaporación, la contaminación por microorganismos no deseados y la dificultad para controlar variables ambientales. A pesar de ello, siguen siendo ampliamente utilizados para el cultivo de especies robustas como *Arthrospira platensis*, destinadas a la producción de biomasa con fines alimentarios o agrícolas.

Figura 4. Cultivo de microalgas en sistema abierto

Figura 4. Cultivo de microalgas en sistema abierto



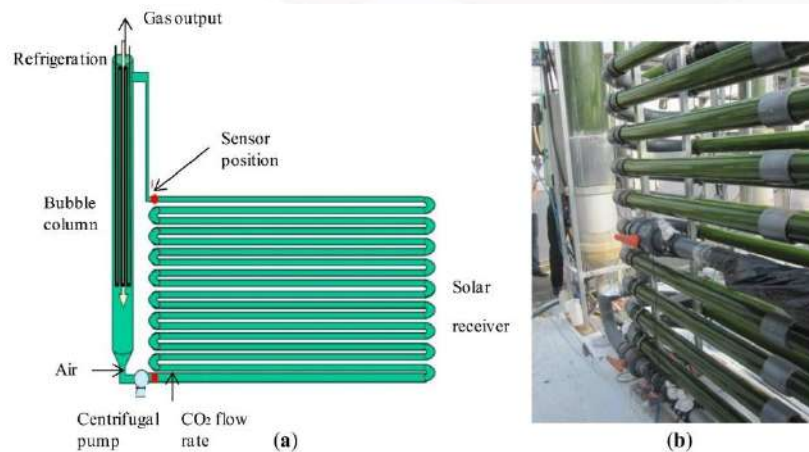
Fuente: (Novoveská et al., 2023)

2.2.14.2 Sistemas cerrados

Los sistemas cerrados, conocidos como fotobiorreactores, permiten un control más preciso de las condiciones de cultivo y minimizan el riesgo de contaminación. Estos sistemas pueden adoptar diversas configuraciones, como tubos, paneles planos o columnas de burbujeo, donde las microalgas reciben luz artificial o natural de manera uniforme. La circulación del medio y el suministro de gases se regulan cuidadosamente para mantener niveles óptimos de oxígeno y dióxido de carbono. Gracias a su alta eficiencia y productividad, los sistemas cerrados son ideales para la obtención de biomasa de alta pureza o de metabolitos específicos, como la ficocianina. Aunque su costo inicial es mayor que el de los sistemas abiertos, ofrecen ventajas significativas en la investigación, la producción farmacéutica y la biotecnología ambiental.

Figura 5. Esquema y diseño de un fotobiorreactor de sistema cerrado

Figura 5. Esquema y diseño de un fotobiorreactor de sistema cerrado



Fuente:(Dormido et al., 2014)

2.2.15 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica utilizada para identificar y caracterizar los grupos funcionales presentes en una muestra mediante la absorción de radiación infrarroja. En el ámbito biotecnológico, esta herramienta permite estudiar la composición química de biomoléculas como proteínas, lípidos, carbohidratos y pigmentos, proporcionando información estructural sin necesidad de destruir la muestra. Cada enlace químico absorbe energía en una longitud de onda específica, generando un espectro característico que actúa como huella digital de la sustancia analizada. En el estudio de microalgas, la FTIR se aplica para evaluar la composición bioquímica de la biomasa y monitorear la pureza o integridad de compuestos como la ficocianina. Esta técnica permite identificar variaciones en los enlaces amida, carboxilo, hidroxilo o fosfato, lo que resulta útil para determinar la presencia de proteínas, ácidos grasos, carbohidratos y pigmentos (Díaz et al., 2024).

2.3. Marco Teórico

Las microalgas constituyen uno de los recursos biotecnológicos más versátiles para la producción de compuestos de valor agregado, debido a su rápida tasa de crecimiento, alta eficiencia fotosintética y capacidad de adaptación a diversos ambientes. La microalga *Arthrospira platensis* ha despertado interés mundial por su potencial para generar biomasa rica en proteínas, pigmentos naturales como la ficocianina y metabolitos bioactivos aplicables en las industrias alimentaria, farmacéutica y energética. De esta forma, los ficobilisomas presentes en sus tilacoides concentran pigmentos como la ficocianina, responsables de la absorción de luz en

longitudes de onda complementarias a la clorofila. Este mecanismo le permite aprovechar eficazmente la radiación lumínica, para producir compuesto de interés biotecnológico como expolisacaridos, vitaminas y aminoácidos (Morais Junior et al., 2020).

El crecimiento y metabolismo de *Arthrospira platensis* depende de la interacción equilibrada de varios factores ambientales. El pH óptimo para su desarrollo se sitúa entre 8.0 y 10.5, rango en el cual se maximiza la disponibilidad de bicarbonatos, la fuente principal de carbono inorgánico. La temperatura para el desarrollo de un cultivo oscila entre 26 y 35 °C, mientras que intensidades lumínicas moderadas entre 3,000 - 12000 lux favorecen la síntesis de pigmentos y proteínas. Diversos estudios han demostrado que la combinación adecuada de estos parámetros permite mantener cultivos semicontinuos estables, caracterizados por altas tasas específicas de crecimiento y tiempos de duplicación reducidos (Demirden et al., 2024). En estos sistemas, la tasa de crecimiento exponencial refleja la eficiencia metabólica del cultivo y constituye un indicador fundamental para determinar el momento óptimo de cosecha (Barati et al., 2025)

Por otra parte, el medio *Zarrouk* se considera como el medio estándar empleado para el crecimiento de *Arthrospira platensis* debido a su alta alcalinidad y contenido de bicarbonato de sodio, que actúa como fuente de carbono y estabilizador. No obstante, se han desarrollado modificaciones orientadas a la optimización de nutrientes y reducción de costos. Investigaciones recientes indican que la sustitución parcial del nitrato de sodio por urea o nitrato de potasio mejora la asimilación de nitrógeno y la producción de ficocianina, al tiempo que reduce la precipitación de sales y el consumo energético del sistema (Milia et al., 2025). Además, la suplementación con dióxido de carbono gaseoso ha demostrado incrementar la tasa fotosintética y el rendimiento de biomasa en sistemas semicontinuos (Jung et al., 2024)

En investigaciones previas de (Hawrot-Paw & Sasiadek, 2023) se ha demostrado que la biomasa generada bajo condiciones controladas puede alcanzar concentraciones de 0.7-2.5 g/L, dependiendo del diseño del fotobiorreactor y la estrategia de alimentación. Durante la fase exponencial, las células acumulan pigmentos fotosintéticos y proteínas de alto valor nutricional, siendo este el momento más adecuado para la cosecha. La productividad de biomasa se ve directamente influida por la intensidad luminosa, el suministro de carbono y el equilibrio de nutrientes; por tanto, el control de estos factores es esencial para garantizar una alta eficiencia de conversión energética (de Souza et al., 2021)

Por otra parte, la eficiencia en la obtención de ficocianina depende en gran medida de los métodos de extracción y purificación empleados. Los procedimientos convencionales, como la congelación y descongelación, han sido sustituidos por técnicas más sostenibles y de mayor rendimiento, entre ellas la sonicación, homogenización con ruptura mecánica, la disrupción por ultrasonido y los campos eléctricos pulsados (PEF). Estas metodologías permiten la liberación del pigmento con mínimas alteraciones estructurales, reducen el uso de solventes tóxicos y preservan la actividad biológica de la proteína (Nisticò et al., 2022). En los últimos años, la aplicación de procesos combinados, como la ultrafiltración acoplada a cromatografía de intercambio iónico, ha permitido alcanzar niveles de pureza altos adecuados para uso farmacéutico y alimentario.

De esta forma, para obtener biomasa y biocompuesto se requieren sistemas de cultivos efectivos como los fotobiorreactores semicontinuos que se han consolidado como la tecnología más eficiente para la producción sostenible de microalgas y metabolitos de alto valor. Estos sistemas permiten mantener un flujo constante de nutrientes a medida que se escalan los cultivos, también permiten eliminar productos metabólicos inhibitorios y controlar variables críticas como la luz, el pH y la temperatura. Su diseño puede ser tubular, plano o columna de burbujeo, donde cada uno de estos ofrece ventajas específicas en términos de distribución de luz y transferencia de masa (Abdur Razzak et al., 2024). En este contexto, la operación semicontinua resulta particularmente ventajosa, ya que prolonga la fase exponencial del cultivo y permite una producción constante de biomasa y ficocianina a lo largo del tiempo (Sarker & Kaparaju, 2023)

Por otra parte, para maximizar la obtención de productos y subproductos de las microalgas se requieren aplicar técnicas estadísticas y matemáticas como el modelo de superficie de respuesta RSM. Este tipo de modelo permite modelar y optimizar procesos en los que una o varias respuestas dependen de múltiples factores cuantitativos. (Tzachor et al., 2024) menciona que en cultivos de *Arthrospira platensis*, la aplicación de RSM permite identificar combinaciones de variables operativas que maximizan simultáneamente la biomasa obtenida, la tasa específica de crecimiento y el rendimiento de ficocianina, sin generar estrés celular, a diferencia de los métodos univariados tradicionales que analizan un factor a la vez y no consideran las posibles interacciones entre variables.

Finalmente, la caracterización funcional de la ficocianina mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) permite identificar los grupos funcionales

responsables de su estructura y propiedades bioquímicas. Esta técnica analítica no destructiva se basa en la absorción de radiación infrarroja por los enlaces químicos de la molécula, generando un espectro característico. En el caso de la ficocianina, las bandas amida I y II revelan información sobre la conformación secundaria de la proteína, mientras que las señales de los grupos hidroxilo y carbonilo confirman la presencia de interacciones de hidrógeno y la naturaleza cromofórica del compuesto (Ma'mun et al., 2024). El uso de FTIR se ha consolidado como una herramienta eficiente para la validación de pureza y estabilidad de pigmentos naturales, permitiendo comparar la estructura de la ficocianina extraída con patrones de referencia y monitorear posibles alteraciones durante el proceso de purificación.

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1. Tipo y diseño de investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental y cuantitativo, ya que se manipularon de manera controlada variables independientes con el fin de evaluar su efecto sobre la producción y caracterización funcional de la ficocianina obtenida del cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis*. La fase experimental se llevó a cabo en los laboratorios de Biología de la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), utilizando un fotobiorreactor semicontinuo a escala de laboratorio. Este sistema permitió mantener condiciones de temperatura, pH, aireación e intensidad luminosa, garantizando la reproducibilidad y validez de los resultados obtenidos.

El experimento se desarrolló bajo un diseño completamente al azar (DCA), en el cual las corridas fueron aleatorizadas para evitar sesgos y garantizar la independencia de las observaciones. El diseño estadístico aplicado correspondió a un modelo de Superficie de Respuesta (RSM) del tipo Box-Behnken, considerando tres factores principales: concentración de carbono, intensidad lumínica y dosificación de nutrientes, cada uno con tres niveles bajo, medio y alto. En la Tabla 5, se presentan las variables experimentales y los niveles establecidos para cada unidad experimental. De esta forma, el modelo permitió evaluar como variables respuesta la ficocianina obtenida, la productividad del cultivo y la biomasa seca generada, con el propósito de determinar las condiciones óptimas de cultivo que maximicen la eficiencia en la producción de compuestos de interés.

Tabla 5. Variables y niveles del diseño experimental Box-Behnken

Factores	Unidad	Nivel bajo (- 1)	Nivel medio (0)	Nivel alto (+1)
Concentración de Carbono (NaHCO_3)	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	5	12.5	20
Nivel de iluminación	lux	3 500	6 500	9 500
Dosificación de Macronutrientes	$\text{L}\cdot\text{m}^{-3}$	10	20	30

3.2. La población y la muestra

La población del estudio estuvo constituida por cultivos de la microalga *Arthrospira platensis*, mantenidos en condiciones controladas y utilizados como modelo biológico para la obtención de biomasa y compuestos bioactivos. Esta especie fue seleccionada

por su alta tasa de crecimiento, su capacidad de adaptación a medios alcalinos y su potencial para la producción de ficocianina. La muestra experimental se conformó por los cultivos inoculados en el fotobiorreactor semicontinuo bajo las condiciones definidas por el diseño Box-Behnken de tres factores dando como resultado la aplicación de 15 tratamientos, cada unidad experimental correspondió a una combinación factorial específica y fue replicado por duplicado, con el fin de garantizar la validez estadística de los resultados y reducir el error experimental. En la Tabla 6 se detallan las unidades experimentales.

Tabla 6. Matriz experimental del diseño Box–Behnken

Tratamientos	Concentración de Carbono (g·L ⁻¹)	Nivel de iluminación (lux)	Dosificación de Macronutrientes (L·m ⁻³)
1	5.0	3 500	20
2	20.0	3 500	20
3	5.0	9 500	20
4	20.0	9 500	20
5	5.0	6 500	10
6	20.0	6 500	10
7	5.0	6 500	30
8	20.0	6 500	30
9	12.5	3 500	10
10	12.5	9 500	10
11	12.5	3 500	30
12	12.5	9 500	30
13	12.5	6 500	20
14	12.5	6 500	20
15	12.5	6 500	20

Fuente: Autor

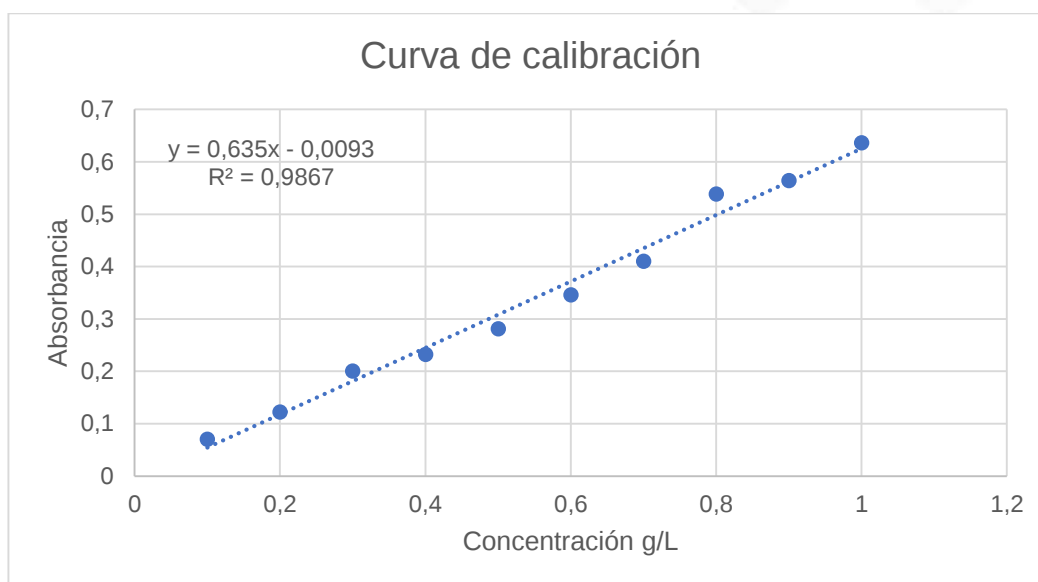
3.3. Los métodos y las técnicas

3.3.1 Preparación del inóculo

Se inició un cultivo madre de 250 mL de *Arthrospira platensis* mantenido en medio Zarrouk, el cual sirvió como punto de partida para el proceso de escalamiento del volumen de cultivo. El cultivo inicial se mantuvo en condiciones controladas de laboratorio, verificando periódicamente parámetros fisicoquímicos como pH, temperatura y luminosidad para garantizar la estabilidad fisiológica de la cepa. El escalamiento del volumen se realizó agregando ½ del volumen inicial hasta alcanzar

una concentración óptima de forma progresiva, midiendo la densidad óptica en 750 nm a partir de una curva de calibración de biomasa seca (Tanaka et al., 2020). En la figura 6, se presentan los estándares y valores de absorbancia obtenidos en la curva de calibración, presentando un R^2 con ajuste óptimo.

Figura 6. Curva de calibración Absorbancia vs Concentración

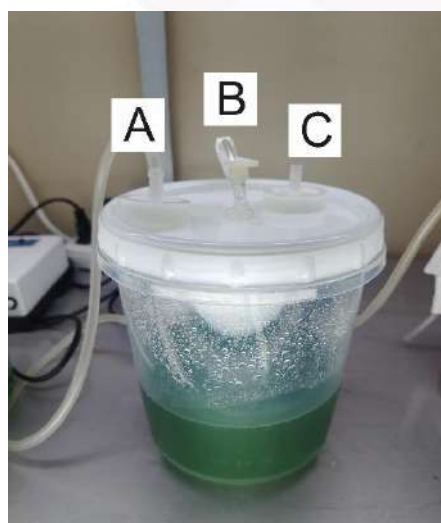


Fuente: Autor

3.3.2 Montaje del fotobiorreactor y condiciones de cultivo

Para el montaje del fotobiorreactor se utilizó un frasco plástico transparente de polipropileno (PP) termorresistente, con una capacidad de 1.25L para el escalado del cultivo, el material seleccionado ofrece una adecuada transmisión de luz y estabilidad térmica en autoclave. El fotoperiodo se controló mediante un temporizador mecánico, programado en un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (12:12 h) para mantener un régimen fotosintético estable. En la tapa superior del reactor se realizaron tres orificios funcionales, el primero se destinó a la entrada de aire, manteniendo una aireación constante de 3.2 L/min proporcionada por una bomba de aire modelo SC-7500, acoplada a un filtro de jeringa estéril de 0.45 μm , con el propósito de asegurar la esterilidad del flujo gaseoso y prevenir contaminaciones externas. El segundo orificio se habilitó como salida de gases, también equipado con un filtro de jeringa de 0.45 μm , para evitar la acumulación de gases. El tercer orificio se adaptó con un kit de venoclisis, empleado para la toma aséptica de muestras destinadas a los análisis espectrofotométricos y de biomasa, en la figura 7 se muestran la estructura del fotobiorreactor.

Figura 7. Fotobiorreactor de sistema semicontinuo



Nota: A) Entrada de aire acoplada a bomba de aire y filtro 0.45 μm , B) Puerto de muestreo o adición de nutrientes, C) Salida de aire con filtro 0.45 μm

Para las condiciones de cultivo se utilizó como fuente lumínica una luz LED fluorescente de tonalidad blanca fría, posicionada a una distancia que varía en función de la variable nivel lumínica sobre la superficie del recipiente. El monitoreo del crecimiento se efectuó cada 48 horas mediante la medición de la densidad óptica a 750 nm (OD_{750}) con un espectrofotómetro BK-UV1600PC, las muestras son tomadas mediante un kit de venoclisis, lo que permitió determinar la fase de crecimiento a partir de una curva de calibración de biomasa seca. Las condiciones iniciales de cultivo se resumen en la Tabla 7, donde se detallan los parámetros controlados durante el experimento: pH inicial 9.0, fotoperiodo 12:12h, temperatura 28 °C, y nivel de iluminación variable según las unidades experimentales.

Tabla 7. Condiciones de cultivo empleados en el fotobiorreactor

Variable	Valor o Rango
Temperatura	28 - 30 °C
Aireación	3.2 L/min
Fotoperiodo	12/12h
pH	9 - 10.5
Nivel de iluminación	3500 - 9500

Fuente: Autor

3.3.3 Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo empleado en la presente investigación fue el medio *Zarrouk* modificado, formulado para proporcionar los nutrientes esenciales requeridos para el buen desarrollo de la microalga. La modificación del medio se realizó en función de la metodología descrita por (Jacob et al., 2022); para la preparación del medio se elaboraron soluciones stock de macronutrientes y micronutrientes que varían según los tratamientos establecidos en el diseño experimental, los cuales son dosificados en el medio base compuesto por bicarbonato de sodio como fuente de carbono inorgánico y cloruro de sodio. En la Tabla 8 se muestran las proporciones del medio base y los nutrientes en solución stock. Por otra parte, el medio fue esterilizado en autoclave a 121 °C por 15 min, y una vez enfriadas a temperatura ambiente, se procedió al inoculado aséptico del cultivo.

Tabla 8. Medio de cultivo Zarrouk modificado

Medio Base	Cantidad	Macronutrientes	Cantidad	Micronutrientes	Cantidad
NaHCO ₃	10 g·L ⁻¹	KNO ₃	100 g·L ⁻¹	FeSO ₄	10 g·L ⁻¹
NaCl	5 g·L ⁻¹	NH ₄ H ₂ PO ₄	10 g·L ⁻¹	C ₆ H ₈ O ₇	0.5 g·L ⁻¹
Macronutrientes	20 mL	K ₂ SO ₄	5 g·L ⁻¹	EDTA	0.1 g·L ⁻¹
Micronutrientes	2 mL	MgSO ₄	5 g·L ⁻¹		

Fuente: Autor

3.3.4 Extracción de biomasa y productividad de cultivos

Una vez que los cultivos alcanzaron la fase estacionaria de 7 días se procedió a realizar la cosecha sacrificando la unidad experimental completa. La recolección de biomasa se efectuó mediante filtración por gravedad, utilizando una malla de nylon de 20 µm como medio de separación. Posteriormente, el filtrado se dejó decantar durante 30 minutos para eliminar el exceso de agua y facilitar la obtención de la biomasa concentrada. La biomasa fresca obtenida fue pesada en placas Petri previamente esterilizadas y taradas, registrando su masa con una balanza analítica de precisión ±0.001 g. Posteriormente, las muestras fueron secadas en una mufla a 60 °C durante 8 horas con el objetivo de eliminar la humedad residual, el contenido de biomasa seca se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$X = \frac{Pf - Pi}{V}$$

Donde:

- Pf = es el peso final (placa + biomasa seca)
- Pi = es el peso inicial de la placa vacía
- V = Volumen del cultivo filtrado

Por otra parte, la productividad de la biomasa se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$Px = \frac{Xf - Xi}{Tf - Ti}$$

Donde Xf y Xi representan la concentración final e inicial respectivamente de la biomasa obtenidos por espectrofotometría, Tf y Ti es el intervalo de tiempo en días, estos parámetros permitieron evaluar la eficiencia del crecimiento de la microalga bajo diferentes condiciones experimentales.

3.3.5 Determinación de tasa de crecimiento específica y tiempo de duplicación

Una vez obtenido los valores de biomasa a partir de la curva de calibración presentada en la Figura 5, se procedió a determinar la tasa de crecimiento aplicando la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{\ln(X2) - \ln(X1)}{T2 - T1}$$

Donde X1 y X2 representan la concentración de biomasa g·L⁻¹ en los tiempos T1 y T2, de esta forma, a partir de la tasa de crecimiento se determinó el tiempo de duplicación, que indica el período necesario para que la biomasa duplique su concentración bajo las condiciones de cultivo establecidas, aplicando la siguiente ecuación:

$$Tiempo\ duplicación = \frac{\ln(2)}{\mu}$$

Estos parámetros cinéticos permitieron evaluar el crecimiento de *Arthrospira platensis* en cada uno de los tratamientos establecidos por el diseño experimental Box-Behnken, identificando las condiciones de cultivo que maximizan la productividad celular y la estabilidad del sistema semicontinuo.

3.3.6 Extracción y cuantificación de ficocianina

La extracción de ficocianina se realizó a partir de la biomasa seca aplicando el método de homogenización por ruptura mecánica siguiendo la metodología de (Lobatón García et al., 2017). Por lo tanto, se pesaron 0.1 g de biomasa seca, los

cuales fueron previamente pulverizados en un mortero hasta obtener un polvo fino con el fin de aumentar el área de contacto y facilitar la liberación del pigmento. Posteriormente, la biomasa triturada fue suspendida en 10 mL de tampón fosfato (0.1 M, pH 7.0) en tubos de ensayo esterilizados. La mezcla se mantuvo bajo agitación constante durante 30 minutos a temperatura ambiente, evitando la exposición directa a la luz para prevenir la degradación de la ficocianina y se utilizó un ultrasonido de 45 kHz para facilitar la obtención del extracto. Posteriormente, la muestra fue centrifugada a 4000 rpm durante 5 minutos, para determinar la concentración de ficocianina se utilizó el sobrenadante que contenía la fracción soluble y se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración Ficocianina} \left(\frac{mg}{mL} \right) = \frac{A_{615} - 0.474(A_{652})}{5.34}$$

3.4. Procesamiento estadístico de la información

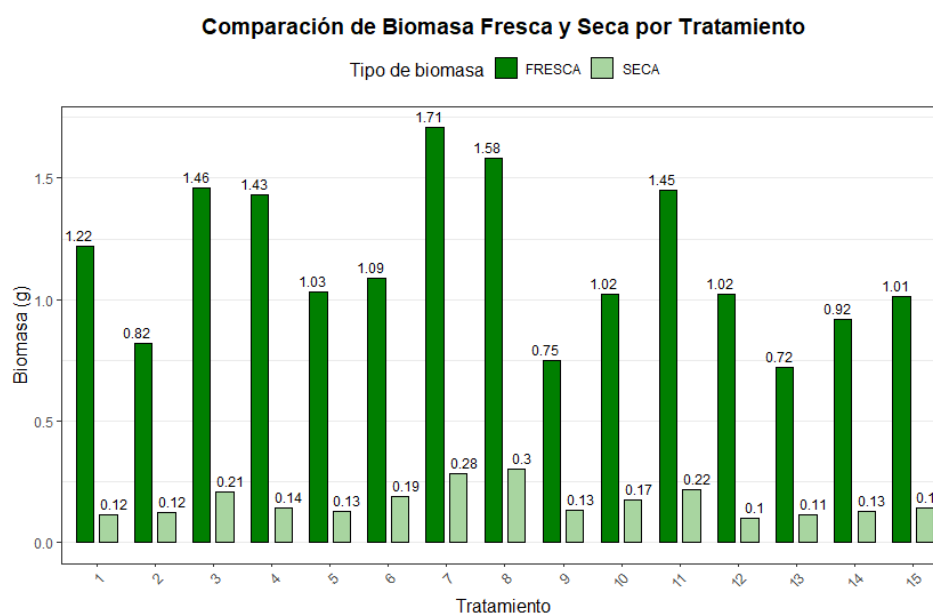
Los resultados experimentales fueron procesados y analizados mediante el uso del software Minitab, en el cual se estableció el modelo estadístico Box-Behnken correspondiente a la metodología de Superficie de Respuesta (RSM). Este modelo permitió evaluar la influencia individual y combinada de los factores independientes concentración de carbono, nivel de iluminación y dosificación de macronutrientes sobre las variables respuesta: biomasa seca, tasa de crecimiento y concentración de ficocianina. Las gráficas tridimensionales, superficies de respuesta y curvas de contorno se generaron utilizando el software RStudio y OriginPro, lo que permitió visualizar las interacciones entre las variables y determinar las condiciones óptimas de cultivo. Una vez identificados los parámetros óptimos a partir del modelo estadístico, se realizó un cultivo de validación bajo dichas condiciones, verificando experimentalmente la concordancia entre los valores observados y los predichos por el modelo. Finalmente, los extractos obtenidos fueron cuantificados y caracterizados mediante espectroscopía FTIR, confirmando la presencia de los grupos funcionales en la ficocianina.

CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Análisis e Interpretación de Resultados

En la Figura 8 se presenta la comparación de biomasa fresca y seca obtenida en cada tratamiento del cultivo de *Arthrospira platensis*. Los valores de biomasa fresca oscilaron entre 0.72 y 1.71 g, mientras que la biomasa seca varió en el rango de 0.102 a 0.38g evidenciando diferencias asociadas a las condiciones experimentales aplicadas. De esta forma, se observa que los tratamientos con niveles intermedios y altos de iluminación (6500 - 9500 lux) y concentraciones de carbono moderadas de $12.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ favorecieron el crecimiento celular y la acumulación de biomasa. Por otra parte, los tratamientos con bajo aporte de carbono y baja intensidad luminica mostraron valores inferiores, lo cual concuerda con la limitación en la disponibilidad de carbono inorgánico y energía lumínica necesarias para la fotosíntesis.

Figura 8. Comparación de Biomasa Fresca y Seca por Tratamiento



Fuente: Autor

Además, en la Tabla 9 se presenta los valores obtenidos de biomasa fresca, biomasa seca y productividad en los cultivos semicontinuos de *Arthrospira platensis*. Los resultados muestran una variación en la biomasa seca entre 0.102 y $0.404 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, con porcentajes de rendimiento que oscilaron entre 9 % y 19 %. Por lo tanto, se establece que el tratamiento 8, correspondiente a $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de carbono, 6500 lux de iluminación y $30 \text{ L}\cdot\text{m}^{-3}$ de macronutrientes, con un rendimiento del 19 % y una productividad de $0.10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$, presenta la mayor cantidad de biomasa seca en $0.404 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Estos resultados indican que una intensidad lumínica intermedia proporciona una radiación

suficiente para maximizar la fotosíntesis sin inducir fotoinhibición, mientras que una alta concentración de nutrientes promueve la síntesis de macromoléculas estructurales.

Tabla 9. Producción de biomasa y productividad de cultivos de *Arthrospira platensis*

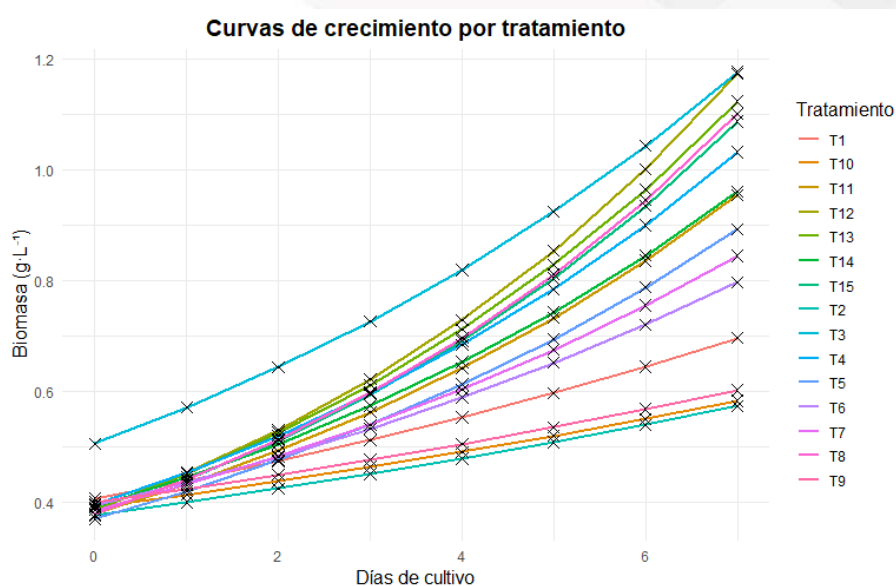
Tratamiento	Fresca (g)	Seca (g)	Seca (g·L ⁻¹)	Rendimiento (%)	Productividad (g·L ⁻¹ ·día ⁻¹)
1	1.22	0.12	0.15	9	0.04
2	0.82	0.13	0.17	15	0.03
3	1.46	0.21	0.28	14	0.10
4	1.43	0.14	0.19	10	0.09
5	1.03	0.13	0.18	13	0.07
6	1.09	0.19	0.25	17	0.06
7	1.71	0.29	0.38	17	0.07
8	1.58	0.30	0.40	19	0.10
9	0.75	0.13	0.18	18	0.03
10	1.02	0.18	0.23	17	0.03
11	1.45	0.22	0.29	15	0.08
12	1.02	0.10	0.14	10	0.11
13	0.72	0.11	0.15	16	0.11
14	0.92	0.13	0.17	14	0.08
15	1.01	0.14	0.19	14	0.10

Fuente: Autor

4.2. Evaluación de tasa de crecimiento y tiempo de duplicación

En la Figura X se observa la evolución del crecimiento celular de *Arthrospira platensis* durante los siete días de cultivo en condiciones semicontinuas. Las curvas muestran una tendencia ascendente característica de la fase exponencial de crecimiento, donde la biomasa se incrementa progresivamente con el tiempo. De esta forma, se pudo determinar que la tasa de crecimiento osciló entre 0.06 y 0.16 g·día⁻¹, evidenciando una notable variación asociada a los factores experimentales evaluados. Los tratamientos T8, T12, T13 y T15 presentaron los valores más altos de μ , comprendidos entre 0.15 y 0.16 g·día⁻¹, acompañados de tiempos de duplicación menores a 5 días, lo que indica un crecimiento acelerado y eficiente bajo dichas condiciones.

Figura 9. Cinética de crecimiento de *Arthrospira platensis* en función del tiempo de cultivo



Fuente: Autor

Además, en la Tabla 10 se presentan los valores de tasa de crecimiento expresados en $\text{g} \cdot \text{día}^{-1}$ y el correspondiente tiempo de duplicación para los 15 tratamientos evaluados. Los resultados se obtuvieron a partir de la ecuación logarítmica de crecimiento exponencial aplicando los valores iniciales (X_i) y finales (X_f) de biomasa durante el periodo de 7 días de cultivo. Por lo tanto, el tratamiento T12 alcanzó el valor máximo de $\mu = 0.16 \text{ g} \cdot \text{día}^{-1}$ y un tiempo de duplicación de 4.36 días, siendo identificado como el más favorable para la multiplicación celular, por lo contrario, los tratamientos T2, T9 y T10 registraron las tasas más bajas lo que refleja una menor eficiencia metabólica probablemente asociada a la limitación de carbono disponible o efecto de fotoinhibición. Estos resultados sugieren que la combinación de una iluminación alta y una dosificación elevada de macronutrientes promueve una mayor tasa fotosintética y una rápida regeneración de biomasa.

Tabla 10. Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación de *Arthrospira platensis*

Tratamiento	$\mu \text{ (g} \cdot \text{día}^{-1}\text{)}$	Td (días)
T1	0.08	9.021
T2	0.06	11.545
T3	0.12	5.748
T4	0.14	5.062
T5	0.13	5.514
T6	0.10	6.887
T7	0.11	6.203
T8	0.15	4.542
T9	0.06	11.901
T10	0.06	12.140
T11	0.13	5.243

T12	0.16	4.366
T13	0.15	4.563
T14	0.13	5.395
T15	0.15	4.598

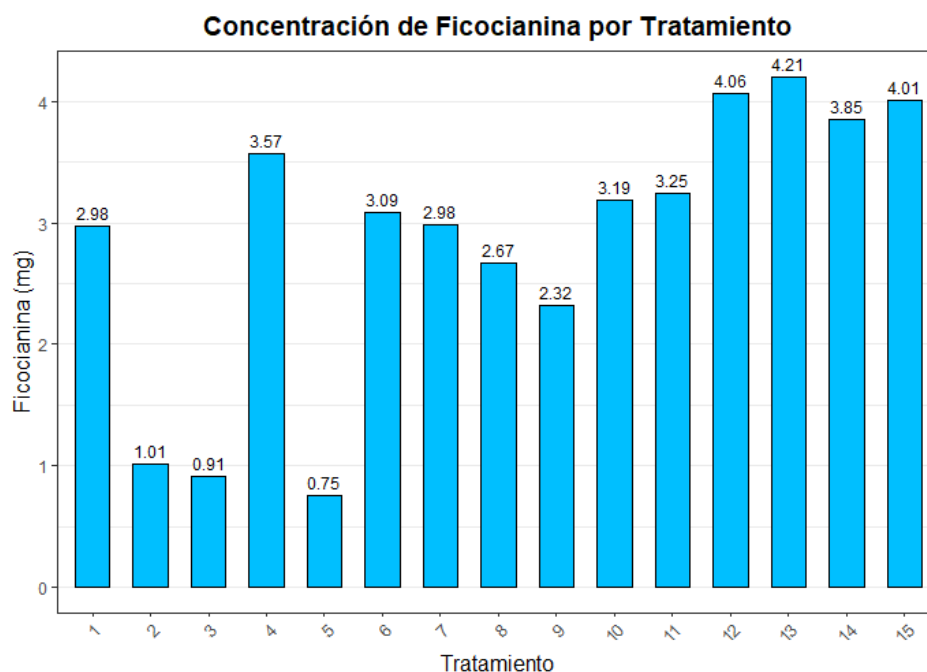
Fuente: Autor

4.3. Análisis de producción de ficocianina

4.3.1. Determinación de la cantidad de ficocianina y aplicación de modelo de superficie.

En la Figura 10 se observa la variación en la concentración de ficocianina obtenida en las 15 unidades experimentales. Los valores oscilaron entre 0.75mg y 4.21mg, mostrando diferencias en la obtención de ficocianina a partir de biomasa de *Arthrospira platensis* frente a los cambios en la concentración de carbono, intensidad lumínica y dosificación de macronutrientes. Los tratamientos 12, 13, 14 y 15, correspondientes a niveles intermedios de carbono de $12.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y condiciones lumínicas de 6500–9500 lux, alcanzaron las mayores concentraciones de ficocianina, destacando el tratamiento 13 con 4.21mg, seguido por el tratamiento 12 con 4.06mg. Estos resultados sugieren que la combinación equilibrada de luz y carbono favorece la producción de ficocianina sin causar estrés celular.

Figura 10. Concentración de Ficocianina por Tratamiento



Fuente: Autor

Este análisis fue respaldado mediante la aplicación de un modelo de regresión de superficie de respuesta (RSM), cuyo resumen estadístico se presenta en la Tabla 11. Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) evidencian que el modelo propuesto fue altamente significativo ($p < 0.001$), con un coeficiente de determinación $R^2 = 97.19 \%$, un R^2 ajustado de 95.92% y un error estándar del modelo ($S = 0.245$). Estos valores confirman que el modelo explica de manera sólida la variabilidad observada en la producción de ficocianina, ajustándose adecuadamente a los datos experimentales. De esta forma, las tres variables independientes presentaron efectos significativos sobre la respuesta, demostrando que tanto la disponibilidad de carbono como la intensidad lumínica y la concentración de nutrientes influyen directamente en la producción de la ficocianina.

Tabla 11. Análisis de varianza del modelo de regresión de superficie de respuesta

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	S	R^2	R^2 -aj
Modelo	9	41,7898	4,6433	76,82	0,000	0,245	97,19%	95,92%
Lineal	3	6,4879	2,1626	35,78	0,000			
Carbono	1	1,0185	1,0185	16,85	0,001			
Lux	1	2,1967	2,1967	36,34	0,000			
Macro	1	3,2727	3,2727	54,14	0,000			
Cuadrado	3	17,5537	5,8512	96,80	0,000			
Carbono*Carbono	1	15,5933	15,5933	257,98	0,000			
Lux*Lux	1	2,8782	2,8782	47,62	0,000			
Macro*Macro	1	0,2477	0,2477	4,10	0,056			
Interacción de 2 factores	3	17,7483	5,9161	97,88	0,000			
Carbono*Lux	1	14,2267	14,2267	235,37	0,000			
Carbono*Macro	1	3,5196	3,5196	58,23	0,000			
Lux*Macro	1	0,0019	0,0019	0,03	0,861			
Error	20	1,2089	0,0604					
Falta de ajuste	3	1,0811	0,3604	47,94	0,000			
Error puro	17	0,1278	0,0075					
Total	29	42,9987						

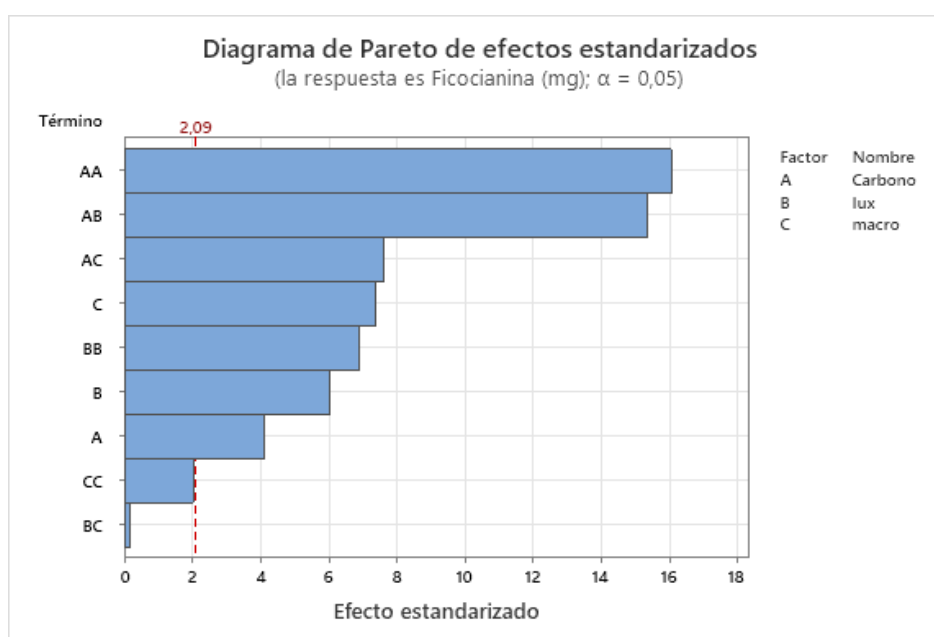
Fuente: Autor

4.3.2. Evaluación de los factores experimentales

Teniendo en cuenta que el modelo de Box-Behnken fue significativo se procedió a evaluar los efectos de los factores experimentales sobre las variables respuesta. En

la Figura 11 se presenta el diagrama de Pareto de efectos estandarizados correspondiente a la variable Ficocianina, obtenido a partir del modelo de superficie de respuesta. Este gráfico permite identificar los factores y las interacciones que ejercen una influencia estadísticamente significativa sobre la producción del pigmento, considerando un nivel de confianza del 95 %.

Figura 11. Efectos de los factores experimentales



Fuente: Autor

Por lo tanto, se pudo establecer que los términos carbono (AA) y la interacción carbono - luz (AB) presentan los efectos más elevados, superando ampliamente el umbral de significancia. Esto indica que tanto el efecto cuadrático del carbono como su interacción con la iluminación son determinantes en la respuesta del sistema, influyendo de manera directa en la producción de ficocianina, en este sentido, la producción máxima de la proteína se alcanza bajo condiciones de carbono y luz equilibradas, mientras que desviaciones extremas en cualquiera de estos factores reducen el rendimiento debido a limitaciones metabólicas o fotoinhibición. El efecto individual de la intensidad lumínica (B) y los términos cuadráticos luz (BB) y macronutrientes (CC) también resultaron relevantes, aunque en menor magnitud, lo que sugiere que la luz actúa como factor regulador secundario, modulando la eficiencia fotosintética y el metabolismo de nitrógeno.

Los resultados obtenidos a partir del análisis de varianza (ANOVA) y el diagrama de Pareto son respaldados por la Tabla 12, donde se presentan las pruebas que verifican los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de

errores. El test de Shapiro-Wilk ($p = 0.276$) confirma que los residuos del modelo siguen una distribución normal. El test de Breusch-Pagan ($p = 0.1149$) indica la ausencia de heterocedasticidad, lo cual demuestra que las varianzas son homogéneas entre los tratamientos. Finalmente, el test de Durbin-Watson ($p = 0.5594$) evidencia independencia de los errores, descartando autocorrelación.

Tabla 12. Pruebas de supuestos del modelo de superficie de respuesta

Supuesto evaluado	Prueba estadística	Estadístico (W / BP / DW)	Valor p
Normalidad	Shapiro-Wilk	W = 0.9303	0.276
Homocedasticidad	Breusch-Pagan	BP = 14.21	0.115
Independencia de errores	Durbin-Watson	DW = 2.37	0.559

Fuente: Autor

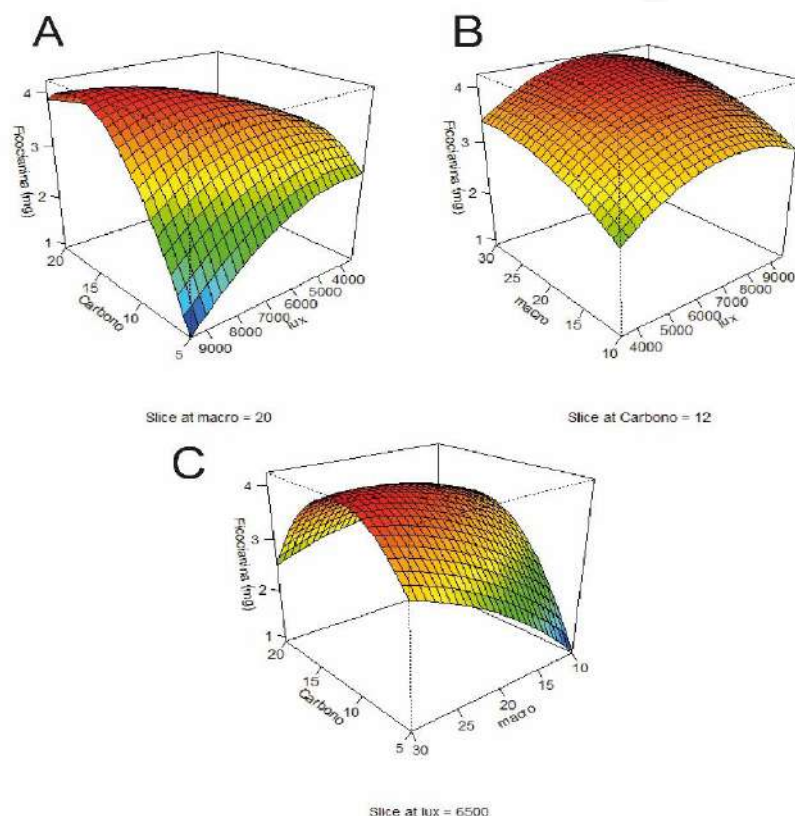
4.4. Optimización de la producción de ficocianina

Para optimizar el modelo experimental, se analizó la Figura 12, la cual muestra las superficies de respuesta tridimensionales obtenidas a partir del modelo Box-Behnken aplicado a la variable dependiente Ficocianina. Estas gráficas permiten visualizar la influencia e interacción entre los factores Carbono, Lux y Macronutrientes, identificando las combinaciones óptimas para la producción de ficocianina. De esta forma, En la Gráfica A, se representa la interacción entre el Carbono y Lux, manteniendo constante la concentración de macronutrientes en 20, la superficie presenta una tendencia cóncava ascendente, donde el aumento del carbono y la disminución de la intensidad luminosa favorecen la acumulación de ficocianina. Se observa que valores moderados de ambos factores promueven una mayor producción, alcanzando el punto óptimo alrededor de 12-15 g/L de carbono y 4000-6000 lux.

Por otra parte, en la Gráfica B, muestra la interacción entre Macronutriente y Lux con el Carbono fijo en 12 g/L, se aprecia una superficie con curvatura pronunciada que refleja una relación cuadrática entre ambos factores. La producción de ficocianina aumenta con niveles intermedios de macronutrientes y luz, alcanzando su máximo alrededor de Macro = 25 y Lux = 5500-6500. Por encima de estos valores, la respuesta del sistema tiende a disminuir, lo que sugiere un posible efecto de inhibición por exceso de nutrientes o saturación metabólica en la fase fotosintética. De la misma forma, la Gráfica C evidencia la interacción entre Carbono y Macronutriente, manteniendo constante el nivel de Lux en 6500. La superficie en forma de domo indica que las concentraciones intermedias de ambos factores resultan favorables para la

síntesis del pigmento, encontrándose el máximo rendimiento en torno a Carbono = 12-15 g/L y Macro = 20-25, este comportamiento confirma que el equilibrio entre la fuente de carbono y los nutrientes son determinantes para la producción de ficocianina

Figura 12. Superficies de respuesta tridimensionales para la optimización de la producción de ficocianina



Fuente: Autor

De esta forma, se aplicó el optimizador de respuesta del software Minitab, con el objetivo de determinar la combinación de niveles de los factores que maximizan la producción de ficocianina. En la Tabla 13, se presentan los valores óptimos de configuración obtenidos a partir del modelo predictivo, junto con los intervalos de confianza y predicción al 95%. Según el análisis, las condiciones óptimas para la producción del pigmento se alcanzan con 12.42 g/L de carbono, 7318 lux de intensidad luminosa, y una concentración de macronutrientes de 30 mL. Bajo estas condiciones, el modelo estimó una respuesta de 4.32 mg de ficocianina, con un error estándar de ajuste de 0,110 mg y un intervalo de confianza de 4.09 - 4.55 mg.

Tabla 13. Parámetros de predicción múltiple

Variable	Valor de configuración
----------	------------------------

Carbono	12.42			
Lux	7318.18			
Macronutrientes	30			
Respuesta	Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
Ficocianina (mg)	4.32	0,11	(4,09; 4,55)	(3,76; 4,88)

Fuente: Autor

Para validar las variables optimizadas, se realizó una corrida experimental por triplicado bajo las condiciones óptimas durante un periodo de 7 días, registrándose los valores experimentales presentados en la Tabla 14. Los resultados mostraron una producción promedio de ficocianina de 4.38 ± 0.08 mg/mL, lo que coincide con la predicción del modelo, confirmando su capacidad de ajuste y validez predictiva. Además, se observó una tendencia positiva en el rendimiento total y en la biomasa seca, evidenciando que la combinación de los factores optimizados maximiza la síntesis de ficocianina y la producción de biomasa.

Tabla 14. Resultados experimentales para la maximizar la producción de ficocianina.

Tratamiento	Ficocianina (mg)	μ	Td	Fresca (g)	Seca (g)	Rendimiento
R1	4.353	0.155	4.479	1.110	0.110	10%
R2	4.470	0.156	4.436	0.963	0.121	13%
R3	4.312	0.154	4.502	0.991	0.145	15%

Fuente: Autor

4.5. Caracterización funcional mediante espectroscopia FTIR

La caracterización funcional de la ficocianina extraída se llevó a cabo mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, técnica que permite identificar los grupos funcionales asociados a la estructura proteica. En la Figura 13, se muestran los espectros obtenidos para las muestras L0 y L1, donde L0 corresponde a la unidad experimental T13, considerada como referencia, mientras que L1 representa la muestra posterior al proceso de optimización. Los principales picos de absorción y sus respectivas asignaciones se presentan de manera detallada en la Tabla 15, permitiendo identificar los grupos funcionales predominantes y corroborar la presencia de señales típicas de proteínas, polisacáridos y cromóforos característicos de la ficocianina.

Tabla 15. Grupos funcionales identificados de ficocianina mediante FTIR

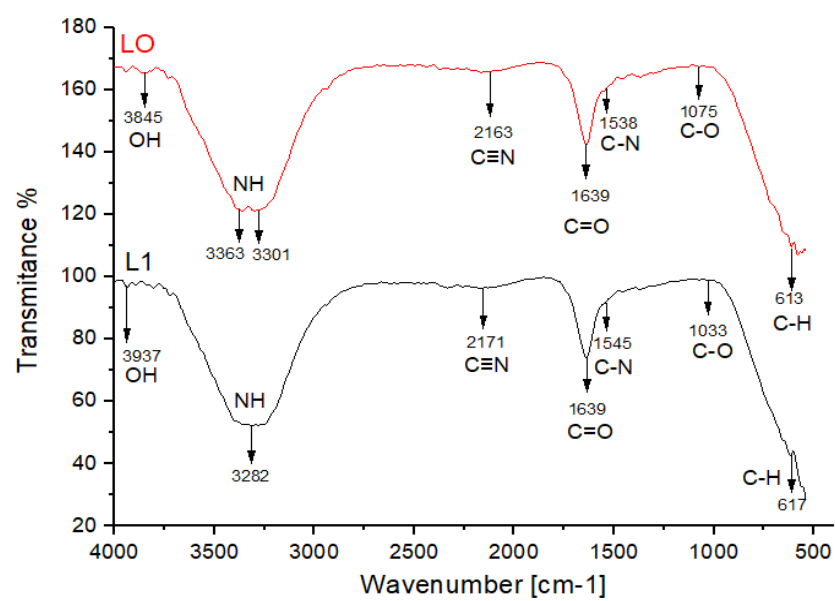
L0 (cm ⁻¹)	L1 (cm ⁻¹)	Grupo funcional principal	Descripción
3845	3937	O-H	Grupos hidroxilo
3363	-	N-H	Estiramiento N-H (Amida A, enlace peptídico)
3301	3282	N-H	
2163	2171	C≡N	Estiramiento C≡N indicador de compuesto nitrogenado
1639	1639	C=O	Amida I estiramiento C=O del enlace peptídico
1538	1545	C-N / N-H	Amida II C-N + flexión N-H (proteína)
1075	1033	C-O / C-O-C	Estiramiento C-O y C-OC, presencia de polisacáridos o glicoproteínas
613	617	C-H	Huella de Cromóforo

Fuente: Autor

El espectro de la muestra L1 muestra desplazamientos ligeros en comparación con la muestra L0, evidenciando modificaciones estructurales menores en los grupos amida y fenólicos. La banda intensa en 1639 cm⁻¹ (C=O) y las señales en 1538-1545 cm⁻¹ (C-N/N-H) confirman la presencia de proteínas, específicamente las estructuras amídicas típicas de la ficocianina, que reflejan la naturaleza polipeptídica del pigmento. Por otra parte, las bandas en el rango entre 3300-3400 cm⁻¹ corresponden a los grupos funcionales de OH y NH, relacionados con interacciones por puentes de hidrógeno, mientras que los picos en la región de 1075-1033 cm⁻¹ indican la presencia de polisacáridos o glicoproteínas, componentes asociados a la matriz extracelular o estructuras accesorias del complejo proteico.

De esta forma, la aparición de un pico débil en 2163-2171 cm⁻¹ (C≡N) sugiere la posible presencia de compuestos nitrogenados derivados de los pigmentos biliproteicos y las señales en la zona de 600 cm⁻¹ corresponden a las vibraciones C-H, consideradas la huella espectral del cromóforo, responsable de la absorción característica de la ficocianina. Por lo tanto, estos resultados confirman la integridad estructural del pigmento proteico, corroborando la presencia de los grupos funcionales amídicos, hidroxilos y cromóforos típicos de la ficocianina obtenida como extracto crudo en estudios previos por (Qiao et al., 2022)

Figura 13. Espectros FTIR de la muestra de ficocianina



Fuente: Autor

CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

5.1. Discusión

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de variables operativas en el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* sobre la producción y caracterización funcional de ficocianina mediante la aplicación del modelo estadístico Box-Behnken. Los resultados obtenidos permiten confirmar la hipótesis planteada, al demostrar que el control y la optimización de los factores de cultivo como la concentración de carbono, el nivel de iluminación y la dosificación de macronutrientes ejercen una influencia significativa en la productividad de biomasa y en la síntesis del pigmento.

De esta forma, la cuantificación de la biomasa fresca y seca evidenció una relación directa entre la disponibilidad de carbono y la tasa de crecimiento celular, concordando con lo señalado por Freire Balseca et al. (2024) y Wang et al. (2025), quienes destacan que el carbono constituye la principal fuente inorgánica utilizada por *Arthrospira platensis* para la fotosíntesis y la fijación de CO₂. La biomasa obtenida bajo parámetros óptimos presentó un incremento promedio del 15% en comparación con los tratamientos iniciales, confirmando la eficiencia del sistema para mantener la estabilidad fisiológica del cultivo y una alta productividad sostenida en el tiempo.

En cuanto a la tasa de crecimiento específica y el tiempo de duplicación, los resultados fueron coherentes con los reportados por Barati et al. (2025) y Demirden et al. (2024), quienes señalan que la combinación de una iluminación moderada entre 4000 y 8000 lux y una adecuada concentración de nutrientes favorece la fase exponencial del crecimiento. En este estudio, las tasas de crecimiento observadas (0.55-0.159 g/días) reflejan una elevada eficiencia metabólica del cultivo bajo las condiciones controladas del fotobiorreactor, mientras que el tiempo de duplicación se mantuvo en rangos similares a los reportados por sistemas semicontinuos optimizados, demostrando la efectividad del control lumínico.

El modelo de superficie de respuesta (RSM) permitió identificar interacciones significativas entre las variables, confirmando la naturaleza cuadrática del proceso. Tal como mencionan Tzachor et al. (2024), el uso de RSM en bioprocesos permite predecir de manera precisa los puntos óptimos de operación y analizar sinergias entre factores. En este caso, las superficies de respuesta mostraron que el incremento simultáneo del carbono y los macronutrientes, junto con una iluminación intermedia, maximiza la síntesis de ficocianina, lo que coincide con los hallazgos de Jung et al.

(2022) sobre la relación entre intensidad lumínica y biosíntesis de pigmentos en cianobacterias.

La validación experimental del optimizador del software Minitab confirmó la confiabilidad del modelo, ya que la respuesta promedio de 4,38 mg de ficocianina fue muy cercana al valor predicho (4,33 mg), con un error estándar mínimo. Este resultado reafirma la hipótesis de que el control simultáneo de las variables de cultivo permite mejorar significativamente la producción de ficocianina, de la misma manera, Pereira et al. (2024) y Zeitler et al. (2024) demostraron que la disponibilidad balanceada de carbono y nitrógeno incrementa la síntesis de ficocianinas en condiciones controladas.

Por otra parte, los resultados experimentales obtenidos bajo las condiciones óptimas determinadas por el modelo Box-Behnken confirman que la interacción entre las variables operativas ejerce un efecto significativo en la productividad del sistema. El aumento simultáneo del carbono y los macronutrientes, junto con una iluminación intermedia de 7318 lux, permitió alcanzar una mayor concentración de ficocianina y un rendimiento superior en biomasa, evidenciando la eficiencia del modelo para predecir y optimizar el comportamiento del cultivo. Estos resultados coinciden con los reportados por Barbosa et al. (2023) quienes sostienen que el equilibrio entre los factores lumínicos y nutricionales potencia la actividad metabólica de la microalga.

La optimización de los parámetros de cultivo aplicando un modelo experimental Box-Behnken permitió maximizar la producción de ficocianina y establecer una correlación el crecimiento celular y la acumulación de la proteína lo largo del tiempo con variación de parámetros. Por lo tanto, estos resultados respaldan lo señalado por Nikolova et al. (2024), quien plantea que la luz y la disponibilidad de nutrientes actúan como reguladores metabólicos del contenido proteico en *Arthrospira platensis*. Además, la obtención de una cantidad considerable de biomasa seca y el porcentaje de rendimiento del 15% indican que las condiciones optimizadas favorecen tanto la productividad celular como la síntesis de ficocianina.

Por otra parte, la caracterización funcional de la ficocianina mediante FTIR permitió confirmar la presencia de los grupos funcionales característicos de este biocompuesto. En el estudio reciente reportado por (Ismail et al., 2023), se demuestra que las bandas dominantes corresponden a vibraciones amida, hidroxilos y enlaces asociados al cromóforo, lo que constituyen resultados sólidos en la determinación estructural de la proteína. La banda de 1639 cm^{-1} (Amida I) y el modo combinado C-N / -NH entre $1538\text{-}1545\text{ cm}^{-1}$ (Amida II) reflejan la estructura polipeptídica de la ficocianina, coincidiendo con el desplazamiento de Amida I, sin embargo, se sugiere que es

importante realizar un proceso de purificación para mejorar la resolución de las bandas.

De la misma manera, en estudios previos por (Shafiei et al., 2024) los picos en el rango de 3300-3400 cm^{-1} , asociadas a grupos -OH y -NH, son consideradas indicadores de interacciones por puentes de hidrógeno típicas en proteínas hidrofílicas. Estas bandas también fueron reportadas en extracto crudo y purificado, registrando un desplazamiento de 3293 a 3416 cm^{-1} tras purificación. Por lo tanto, en relación con estos hallazgos los espectros obtenidos para las muestras L0 y L1 muestran la presencia de bandas amídicas, grupos hidroxilo y señales del cromóforo, lo que confirma que la ficocianina extraída conserva las características funcionales propias del pigmento y es comparable a las reportadas en estudios previos.

5.2. Conclusiones

El presente estudio permitió evaluar el efecto de variables en el cultivo semicontinuo de *Arthrospira platensis* sobre la producción y caracterización funcional de ficocianina, mediante la aplicación del modelo estadístico Box-Behnken y el análisis de superficie de respuesta (RSM). Los resultados experimentales demostraron que la combinación equilibrada de los factores concentración de carbono, intensidad lumínica y dosificación de macronutrientes influye de manera significativa en el crecimiento celular y en la acumulación de ficocianina validando el enfoque experimental propuesto.

Se determinó que la concentración de carbono es un factor muy influyente sobre la tasa de crecimiento y la productividad de biomasa, al actuar como fuente inorgánica esencial para la fijación de CO_2 durante la fotosíntesis. El incremento de este componente hasta niveles óptimos permitió alcanzar un rendimiento de biomasa seca del 15 % en comparación con los tratamientos iniciales, manteniendo la estabilidad fisiológica del cultivo durante el proceso semicontinuo. Este comportamiento confirma que la disponibilidad de carbono junto a una adecuada relación de nutrientes potencia el metabolismo de la microalga.

Por otra parte, aplicar una iluminación controlada mostró un efecto positivo sobre la fase exponencial de crecimiento y la síntesis de ficocianina, evidenciando que una intensidad lumínica intermedia evita la fotoinhibición y favorece al crecimiento de *Arthrospira platensis*. Este hallazgo resalta la importancia de mantener condiciones óptimas de irradiancia dentro del fotobiorreactor, ya que tanto los excesos como las deficiencias de luz limitan la producción de proteínas y la estabilidad de las células.

De la misma forma, la dosificación de macronutrientes fue un factor determinante en la producción de ficocianina, se pudo comprobar que la proporción de macronutrientes en el medio de cultivo estimula la acumulación de ficobiliproteínas sin comprometer el crecimiento celular.

El modelo Box-Behnken, aplicado mediante el análisis de superficie de respuesta, permitió describir con precisión las interacciones entre los factores de estudio, evidenciando que la respuesta del sistema depende tanto del efecto individual de cada variable como de su interacción combinada. Los supuestos estadísticos evaluados en el análisis de varianza, como la normalidad de los residuos, la homogeneidad de varianzas y la independencia de los errores, respaldaron la robustez y validez del modelo. De esta forma, es posible afirmar que los resultados obtenidos son significativos y confiables para la predicción de las condiciones óptimas del cultivo.

5.3. Recomendaciones

Se sugiere aplicar el modelo estadístico Box-Behnken y el análisis de Superficie de Respuesta (RSM) para determinar los parámetros óptimos en diferentes métodos de extracción de ficocianina, como la extracción asistida por ultrasonido, microondas, campos eléctricos pulsados o enzimática. El uso de este tipo de modelos permitiría establecer combinaciones eficientes de variables como tiempo, potencia, temperatura y relación sólido-líquido, optimizando el rendimiento, la pureza y la estabilidad del pigmento extraído.

De igual manera, se recomienda evaluar la efectividad del modelo en condiciones de mayor escala, aplicándolo en fotobiorreactores piloto o industriales, a fin de analizar su comportamiento bajo variaciones de flujo, aireación y luz artificial con diferentes espectros LED. Esto permitiría validar el modelo propuesto en condiciones reales de operación y establecer estrategias de control automático basadas en los parámetros óptimos identificados. Así mismo, es posible incluir más variables de estudio como temperatura, pH, micronutrientes y la potencia de agitación del cultivo para análisis futuros en la extracción de ficocianina.

Finalmente, se sugiere realizar una caracterización más profunda del pigmento mediante técnicas instrumentales que complementen la cuantificación de la proteína. Entre ellas, la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) permitirían identificar con mayor precisión la composición molecular de la ficocianina, así como posibles subunidades o compuestos asociados a su estructura proteica. De igual modo, la espectroscopía FTIR y los análisis de

fluorescencia podrían emplearse para evaluar la integridad de los grupos funcionales y confirmar la pureza del pigmento obtenido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdur Razzak, S., Bahar, K., Islam, K. M. O., Haniffa, A. K., Faruque, M. O., Hossain, S. M. Z., & Hossain, M. M. (2024). Microalgae cultivation in photobioreactors: sustainable solutions for a greener future. *Green Chemical Engineering*, 5(4), 418–439. <https://doi.org/10.1016/J.GCE.2023.10.004>
- Abreu, A. P., Martins, R., & Nunes, J. (2023). Emerging Applications of *Chlorella* sp. and *Spirulina* (*Arthrospira*) sp. *Bioengineering* 2023, Vol. 10, Page 955, 10(8), 955. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING10080955>
- 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* 2022, Vol. 11, Page 3063, 11(22), 3063. <https://doi.org/10.3390/PLANTS11223063>
- Allaf, M. M., & Peerhossaini, H. (2022). Cyanobacteria: Model Microorganisms and Beyond. *Microorganisms* 2022, Vol. 10, Page 696, 10(4), 696. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10040696>
- Barati, B., Li, Y., Gusev, S., Rousseau, D. P. L., & Van Hulle, S. W. H. (2025). Unlocking the potential of brewery wastewater: Sustainable cultivation of *Arthrospira platensis* for biomass and phycocyanin production. *Journal of Water Process Engineering*, 70, 107107. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2025.107107>
- Barbosa, M. J., Janssen, M., Südfeld, C., D'Adamo, S., & Wijffels, R. H. (2023). Hypes, hopes, and the way forward for microalgal biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 41(3), 452–471. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2022.12.017>
- Bautista, E. G., & Laroche, C. (2021). *Arthrospira platensis* as a Feasible Feedstock for Bioethanol Production. *Applied Sciences* 2021, Vol. 11, Page 6756, 11(15), 6756. <https://doi.org/10.3390/APP11156756>
- Chiong, M. C., Chong, C. T., Ng, J. H., Lam, S. S., Tran, M. V., Chong, W. W. F., Mohd Jaafar, M. N., & Valera-Medina, A. (2018). Liquid biofuels production and emissions performance in gas turbines: A review. *Energy Conversion and Management*, 173, 640–658. <https://doi.org/10.1016/J.ENCONMAN.2018.07.082>

- Chrismadha, T., Satya, A., Satya, I. A., Rosidah, R., Satya, A. D. M., Pangestuti, R., Harimawan, A., Setiadi, T., Chew, K. W., & Show, P. L. (2022). Outdoor Inclined Plastic Column Photobioreactor: Growth, and Biochemicals Response of *Arthrospira platensis* Culture on Daily Solar Irradiance in a Tropical Place. *Metabolites* 2022, Vol. 12, Page 1199, 12(12), 1199. <https://doi.org/10.3390/METABO12121199>
- Citi, V., Torre, S., Flori, L., Usai, L., Aktay, N., Dunford, N. T., Lutz, G. A., & Nieri, P. (2024). Nutraceutical Features of the Phycobiliprotein C-Phycocyanin: Evidence from *Arthrospira platensis* (Spirulina). *Nutrients*, 16(11), 1752. <https://doi.org/10.3390/NU16111752/S1>
- Costa, E., Ribeiro, M., Filipe-Ribeiro, L., Cosme, F., & Nunes, F. M. (2024). Protein Extraction from *Arthrospira platensis* for Use in Food Processing. *Medical Sciences Forum* 2023, Vol. 23, Page 8, 23(1), 8. <https://doi.org/10.3390/MSF2023023008>
- Dębowski, M., Zieliński, M., Vdovychenko, A., & Kazimierowicz, J. (2024). The Use of the Autotrophic Culture of *Arthrospira platensis* for CO₂ Fixation from Biogas Combustion. *Processes* 2024, Vol. 12, Page 396, 12(2), 396. <https://doi.org/10.3390/PR12020396>
- Delrue, F., Alaux, E., Moudjaoui, L., Gaignard, C., Fleury, G., Perilhou, A., Richaud, P., Petitjean, M., & Sassi, J. F. (2017a). Optimization of *Arthrospira platensis* (Spirulina) Growth: From Laboratory Scale to Pilot Scale. *Fermentation* 2017, Vol. 3, Page 59, 3(4), 59. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION3040059>
- Delrue, F., Alaux, E., Moudjaoui, L., Gaignard, C., Fleury, G., Perilhou, A., Richaud, P., Petitjean, M., & Sassi, J. F. (2017b). Optimization of *Arthrospira platensis* (Spirulina) Growth: From Laboratory Scale to Pilot Scale. *Fermentation* 2017, Vol. 3, Page 59, 3(4), 59. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION3040059>
- Demirden, S. F., Erdogan, B., Öncel, D. Ş., & Oñcel, S. S. (2024). Effect of culture hydrodynamics on *Arthrospira platensis* production using a single-use photobioreactor system through a CFD supported approach. *Biotechnology Progress*, 40(6), e3480. <https://doi.org/10.1002/BTPR.3480>
- de Moraes, E. G., Conceição, J. de A., Nunes, I. L., Druzian, J. I., de Moraes, M. G., da Rosa, A. P. C., & Costa, J. A. V. (2022). Effect of Photoperiod and Glycerol Supplementation on the Biomass Productivity and Protein Production of *Spirulina* sp. LEB 18 Cultures. *Applied Sciences* 2022, Vol. 12, Page 12329, 12(23), 12329. <https://doi.org/10.3390/APP122312329>
- de Souza, D. S., Valadão, R. C., de Souza, E. R. P., Barbosa, M. I. M. J., & de Mendonça, H. V. (2021). Enhanced *Arthrospira platensis* Biomass Production Combined with Anaerobic Cattle

Wastewater Bioremediation. *Bioenergy Research*, 15(1), 412.
<https://doi.org/10.1007/S12155-021-10258-4>

Díaz, S., Romero, F., Suárez, L., Ríos, R., Alemán, M., Venuleo, M., & Ortega, Z. (2024). Characterization of Microalgae Biomass-Based Composites Obtained through Rotational Molding. *Polymers*, 16(13), 1807. <https://doi.org/10.3390/POLYM16131807/S1>

Dormido, R., Sánchez, J., Duro, N., Dormido-Canto, S., Guinaldo, M., & Dormido, S. (2014). An Interactive Tool for Outdoor Computer Controlled Cultivation of Microalgae in a Tubular Photobioreactor System. *Sensors* 2014, Vol. 14, Pages 4466-4483, 14(3), 4466–4483. <https://doi.org/10.3390/S140304466>

Escobedo, M. J., Calderón, A. C., Escobedo, M. J., & Calderón, A. C. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Scientia Agropecuaria*, 12(2), 265–282. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2021.030>

Freire Balseca, D. A., Castro Reyes, K. S., & Maldonado Rodríguez, M. E. (2024). Optimization of an Alternative Culture Medium for Phycocyanin Production from *Arthrospira platensis* under Laboratory Conditions. *Microorganisms*, 12(2), 363. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS12020363>

Guzmán, J. L., Acien, F. G., & Berenguel, M. (2021). Modelling and control of microalgae production in industrial photobioreactors. *RIAI - Revista Iberoamericana de Automatica e Informatica Industrial*, 18(1), 1–18. <https://doi.org/10.4995/RIAI.2020.13604>

Hawrot-Paw, M., & Sasiadek, M. (2023). Optimization of Microalgal Biomass Production in Vertical Tubular Photobioreactors. *Energies* 2023, Vol. 16, Page 2429, 16(5), 2429. <https://doi.org/10.3390/EN16052429>

Huarachi-Olivera, R., Yapo-Pari, Ú., Dueñas-Gonza, Á., González-Juárez, R., Condori-Huamanga, J., Pacheco-Salazar, D. G., & Soto-Flores, J. (2015). Adaptabilidad de *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyta) en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales. *Idesia (Arica)*, 33(1), 103–112. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292015000100011>

Ibrahimi, N., Sánchez-Quintero, Á., Unterholzner, A., Parsy, A., Adrien, A., Le Guer, Y., de Ferron, A. S., Fernandes, S. C. M., Pécastaing, L., & Beigbeder, J. B. (2025). Enhancing the extraction of C-phycocyanin and water-soluble metabolites from *Arthrospira platensis* using pulsed electric field technology. *Journal of Biotechnology*, 407, 59–69. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2025.08.005>

- Ismaiel, M. M. S., El-Ayouty, Y. M., & Piercey-Normore, M. (2016). Role of pH on antioxidants production by *Spirulina (Arthrospira) platensis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 298. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2016.01.003>
- Ismail, M. M., El-Fakharany, E. M., & Hegazy, G. E. (2023). Purification and fractionation of phycobiliproteins from *Arthrospira platensis* and *Corallina officinalis* with evaluating their biological activities. *Scientific Reports* 2023 13:1, 13(1), 14270-. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41001-y>
- Jacob, R. H., Afify, A. S., Shanab, S. M. M., Shalaby, E. A., & Hafez, R. M. (2022). Biotechnological studies on *Arthrospira platensis* biomass cultivated in enriched culture with chelated leather waste and chelated glycinate. *Biomass Conversion and Biorefinery* 2022 14:21, 14(21), 26977–26999. <https://doi.org/10.1007/S13399-022-03473-2>
- Jacob, R. H., Afify, A. S., Shanab, S. M. M., Shalaby, E. A., & Hafez, R. M. (2024). Biotechnological studies on *Arthrospira platensis* biomass cultivated in enriched culture with chelated leather waste and chelated glycinate. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(21), 26977–26999. <https://doi.org/10.1007/S13399-022-03473-2/FIGURES/9>
- Jian-Fei, S., Meng-hui, S., & Xiao-nan, Z. (2023a). Response surface optimization of light conditions for organic matter accumulation in two different shapes of *Arthrospira platensis*. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.1047685>
- Jian-Fei, S., Meng-hui, S., & Xiao-nan, Z. (2023b). Response surface optimization of light conditions for organic matter accumulation in two different shapes of *Arthrospira platensis*. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1047685. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.1047685/BIBTEX>
- Jung, C. H. G., Waldeck, P., Sykora, S., Braune, S., Petrick, I., Küpper, J. H., & Jung, F. (2022a). Influence of Different Light-Emitting Diode Colors on Growth and Phycobiliprotein Generation of *Arthrospira platensis*. *Life* 2022, Vol. 12, Page 895, 12(6), 895. <https://doi.org/10.3390/LIFE12060895>
- Jung, C. H. G., Waldeck, P., Sykora, S., Braune, S., Petrick, I., Küpper, J. H., & Jung, F. (2022b). Influence of Different Light-Emitting Diode Colors on Growth and Phycobiliprotein Generation of *Arthrospira platensis*. *Life*, 12(6), 895. <https://doi.org/10.3390/LIFE12060895>
- Jung, Waldeck, P., Braune, S., Petrick, I., Küpper, J. H., & Jung, F. (2024). Decarbonization of *Arthrospira platensis* production by using atmospheric CO₂ as an exclusive carbon source: proof of principle. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 21(4), 4635–4644. <https://doi.org/10.1007/S13762-023-05215-X/FIGURES/4>

- Kalinina, A., Naumov, V., Verakhina, A., Ovchinnikova, S., Yakovleva, D., Dobrov, A., Sokolova, T., Lukyanova, J., & Afanasieva, P. (2023). Study of the Influence of the Temperature and Time of Microalgae Cultivation on the Reproduction Rate of Chlorella and Scenedesmus Microalgae When Cultured in a Tubular Photobioreactor. *Microbiology Research 2023*, Vol. 14, Pages 2105-2112, 14(4), 2105–2112. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES14040142>
- Kannaujiya, V. K., Amin, N., Pandey, S., Jaiswal, M., & Sinha, R. P. (2023). Phycocyanin from Arthrospira: Production, applications, and advances. *Handbook of Food and Feed from Microalgae: Production, Application, Regulation, and Sustainability*, 237–252. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99196-4.00048-6>
- Khemiri, S., Bouchech, I., Berrejeb, N., Mejri, M., Smaali, I., & Khelifi, N. (2022). Effects of Growth Medium Variation on the Nutri-Functional Properties of Microalgae Used for the Enrichment of Ricotta. *Food Technology and Biotechnology*, 60(1), 29. <https://doi.org/10.17113/FTB.60.01.22.7105>
- Kumar, D., Dhar, D. W., Pabbi, S., Kumar, N., & Walia, S. (2014). Extraction and purification of C-phycocyanin from Spirulina platensis (CCC540). *Indian Journal of Plant Physiology*, 19(2), 184. <https://doi.org/10.1007/S40502-014-0094-7>
- 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*, 42(3), 1128. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220110003000034>
- Li, Z., Liu, Y., Zhou, T., Cao, L., Cai, Y., Wang, Y., Cui, X., Yan, H., Ruan, R., & Zhang, Q. (2022). Effects of Culture Conditions on the Performance of Arthrospira platensis and Its Production of Exopolysaccharides. *Foods 2022*, Vol. 11, Page 2020, 11(14), 2020. <https://doi.org/10.3390/FOODS11142020>
- Lobatón García, H. F., Schwerna, P., & Buchholz, R. (2017). Coproducción de ficocianina y exopolisacáridos en el cultivo de Arthrospira platensis. *Idesia (Arica)*, 35(2), 79–86. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292017005000028>
- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M., & Maltseva, S. (2021). Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition. *Biology*, 10(10), 1060. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10101060>
- Ma'mun, S., Prasetyo, M. W., Anugrah, A. R., Ruliandi, A. P., & Pramuwardani, D. (2024). Bioethanol from Arthrospira platensis biomass using a combined pretreatment. *Chemical Engineering Journal Advances*, 19, 100616. <https://doi.org/10.1016/J.CEJA.2024.100616>

- Markou, G., Kougia, E., Arapoglou, D., Chentir, I., Andreou, V., & Tzovenis, I. (2023). Production of *Arthrospira platensis*: Effects on Growth and Biochemical Composition of Long-Term Acclimatization at Different Salinities. *Bioengineering* 2023, Vol. 10, Page 233, 10(2), 233. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING10020233>
- Michalak, I., Mironiuk, M., Godlewska, K., Trynda, J., & Marycz, K. (2020). *Arthrospira* (Spirulina) *platensis*: An effective biosorbent for nutrients. *Process Biochemistry*, 88, 129–137. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2019.10.004>
- Milia, M., Andreotti, V., Giglioli, A., Pasquini, V., Addis, P., & Angioni, A. (2025). Use of Enriched Mine Water to Grow the Cyanobacterium *Arthrospira platensis* in Photobioreactors. *Foods* 2025, Vol. 14, Page 1665, 14(10), 1665. <https://doi.org/10.3390/FOODS14101665>
- Montalvo, G. E. B., Thomaz-Soccol, V., Vandenberghe, L. P. S., Carvalho, J. C., Faulds, C. B., Bertrand, E., Prado, M. R. M., Bonatto, S. J. R., & Soccol, C. R. (2019). *Arthrospira maxima* OF15 biomass cultivation at laboratory and pilot scale from sugarcane vinasse for potential biological new peptides production. *Bioresource Technology*, 273, 103–113. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.10.081>
- Morais Junior, W. G., Gorgich, M., Corrêa, P. S., Martins, A. A., Mata, T. M., & Caetano, N. S. (2020). Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. *Aquaculture*, 528, 735562. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735562>
- Moshood, T. D., Nawanir, G., & Mahmud, F. (2021). Microalgae biofuels production: A systematic review on socioeconomic prospects of microalgae biofuels and policy implications. *Environmental Challenges*, 5, 100207. <https://doi.org/10.1016/J.ENV.2021.100207>
- Nikolova, K., Petkova, N., Mihaylova, D., Gentscheva, G., Gavrilov, G., Pehlivanov, I., & Andonova, V. (2024). Extraction of Phycocyanin and Chlorophyll from *Spirulina* by “Green Methods.” *Separations* 2024, Vol. 11, Page 57, 11(2), 57. <https://doi.org/10.3390/SEPARATIONS11020057>
- Nisticò, D. M., Piro, A., Oliva, D., Osso, V., Mazzuca, S., Fagà, F. A., Morelli, R., Conidi, C., Figoli, A., & Cassano, A. (2022). A Combination of Aqueous Extraction and Ultrafiltration for the Purification of Phycocyanin from *Arthrospira maxima*. *Microorganisms*, 10(2), 308. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10020308/S1>
- Novoveská, L., Nielsen, S. L., Eroldoğan, O. T., Haznedaroglu, B. Z., Rinkevich, B., Fazi, S., Robbens, J., Vasquez, M., & Einarsson, H. (2023). Overview and Challenges of Large-Scale

Cultivation of Photosynthetic Microalgae and Cyanobacteria. *Marine Drugs* 2023, Vol. 21, Page 445, 21(8), 445. <https://doi.org/10.3390/MD21080445>

Nowicka-Krawczyk, P., Mühlsteinová, R., & Hauer, T. (2019). Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria). *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-36831-0>;TECHMETA

Pereira, A. S. A. de P., Magalhães, I. B., Silva, T. A., Reis, A. J. D. dos, Couto, E. de A. do, & Calijuri, M. L. (2024). Municipal and industrial wastewater blending: Effect of the carbon/nitrogen ratio on microalgae productivity and biocompound accumulation. *Journal of Environmental Management*, 370, 122760. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2024.122760>

Pez Jaeschke, D., Rocha Teixeira, I., Damasceno Ferreira Marczak, L., & Domeneghini Mercali, G. (2021). Phycocyanin from *Spirulina*: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, 143, 110314. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110314>

Podgórska-Kryszczuk, I. (2024). Effect of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) Fortification on Physicochemical, Nutritional, Bioactive, Textural, and Sensory Properties of Vegan Basil Pesto. *Nutrients* 2024, Vol. 16, Page 2825, 16(17), 2825. <https://doi.org/10.3390/NU16172825>

Prates, D. da F., Radmann, E. M., Duarte, J. H., Morais, M. G. de, & Costa, J. A. V. (2018). *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. *Bioresource Technology*, 256, 38–43. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.01.122>

Qiao, B. W., Liu, X. T., Wang, C. X., Song, S., Ai, C. Q., & Fu, Y. H. (2022). Preparation, Characterization, and Antioxidant Properties of Phycocyanin Complexes Based on Sodium Alginate and Lysozyme. *Frontiers in Nutrition*, 9, 890942. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.890942>;BIBTEX

Ryndin, K. G., Butyrin, A. V., Grigorenko, A. V., Chunzhuk, E. A., Chernova, N. I., Kiseleva, S. V., Malaniy, S. Y., Bakumenko, E. A., Slavkina, O. V., Ossipov, K., Maryutina, T. A., Kumar, V., & Vlaskin, M. S. (2023). From the Cultivation of *Arthrospira platensis* at an Increased CO₂ Concentration to the Bio-Oil Production by Hydrothermal Liquefaction. *Applied Sciences* 2023, Vol. 13, Page 9950, 13(17), 9950. <https://doi.org/10.3390/APP13179950>

Sarker, N. K., & Kaparaju, P. (2023). A Critical Review on the Status and Progress of Microalgae Cultivation in Outdoor Photobioreactors Conducted over 35 Years (1986–2021). *Energies*, 16(7), 3105. <https://doi.org/10.3390/EN16073105>;S1

- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hottton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020. <https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062>
- Shafiei, M., Shafiei, M., Mohseni Sani, N., Guo, W., Guo, S., Vali, H., & Akbari Noghabi, K. (2024). A new and promising C-phycocyanin-producing cyanobacterial strain, *Cyanobium* sp. MMK01: practical strategy towards developing a methodology to achieve C-phycocyanin with ultra-high purity. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1394617. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2024.1394617/FULL>
- Shiraishi, H., Sasase, M., & Nakashima, A. S. (2024). Helicoid Morphology of *Arthrospira platensis* NIES-39 Confers Temperature Compensation in the Longitudinal Movement Velocity of Its Trichomes. *Phycology*, 4(1), 104–116. <https://doi.org/10.3390/PHYCOLOGY4010006/S1>
- Sinetova, M. A., Kupriyanova, E. V., & Los, D. A. (2024). *Spirulina*/*Arthrospira*/*Limnospira*—Three Names of the Single Organism. *Foods* 2024, Vol. 13, Page 2762, 13(17), 2762. <https://doi.org/10.3390/FOODS13172762>
- Spennati, E., Casazza, A. A., Converti, A., & Busca, G. (2020). Thermocatalytic Pyrolysis of Exhausted *Arthrospira platensis* Biomass after Protein or Lipid Recovery. *Energies* 2020, Vol. 13, Page 5246, 13(20), 5246. <https://doi.org/10.3390/EN13205246>
- Tanaka, K., Kishi, M., Assaye, H., & Toda, T. (2020). Low temperatures in dark period affect biomass productivity of a cyanobacterium *Arthrospira platensis*. *Algal Research*, 52, 102132. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2020.102132>
- Tan, J. Sen, Lee, S. Y., Chew, K. W., Lam, M. K., Lim, J. W., Ho, S. H., & Show, P. L. (2020). A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered*, 11(1), 116. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1711626>
- Tzachor, A., van den Oever, S. P., Mayer, H. K., Asfur, M., Smidt-Jensen, A., Geirsdóttir, M., Jensen, S., & Smáráson, B. O. (2024). Photonic management of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) in scalable photobioreactors to achieve biologically active unopposed vitamin B12. *Discover Food*, 4(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/S44187-024-00152-1/TABLES/6>
- Vernès, L., Granvillain, P., Chemat, F., & Vian, M. (2015). Phycocyanin from *Arthrospira platensis*. Production, Extraction and Analysis. *Current Biotechnology*, 4(4), 481–491. <https://doi.org/10.2174/2211550104666151006002418>

- Wang, X., Ma, S., & Kong, F. (2024). Microalgae Biotechnology: Methods and Applications. *Bioengineering* 2024, Vol. 11, Page 965, 11(10), 965. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING11100965>
- Wang, X., Xie, Y., Zhou, Z., Ruan, R., Zhou, C., & Cheng, Y. (2025). Factors Influencing Phycocyanin Synthesis in Microalgae and Culture Strategies: Toward Efficient Production of Alternative Proteins. *Sustainability* 2025, Vol. 17, Page 5962, 17(13), 5962. <https://doi.org/10.3390/SU17135962>
- Yu, J., Hu, H., Wu, X., Wang, C., Zhou, T., Liu, Y., Ruan, R., & Zheng, H. (2019). Continuous cultivation of *Arthrospira platensis* for phycocyanin production in large-scale outdoor raceway ponds using microfiltered culture medium. *Bioresource Technology*, 287, 121420. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121420>
- Zahra, Z., Choo, D. H., Lee, H., & Parveen, A. (2020). Cyanobacteria: Review of Current Potentials and Applications. *Environments* 2020, Vol. 7, Page 13, 7(2), 13. <https://doi.org/10.3390/ENVIRONMENTS7020013>
- Zeitler, C., Braune, S., Waldeck, P., Jung, C. G. H., Küpper, J. H., Petrick, I., & Jung, F. (2024). Response of *Arthrospira platensis* to nitrogen depletion and the effect of aqueous extracts on tumor and non-tumor cells. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 88(Suppl 1), S95. <https://doi.org/10.3233/CH-248108>
- Zhang, Y., Li, X., Li, Y., Liu, S., Chen, Y., Jia, M., Wang, X., Zhang, L., Gao, Q., Zhang, L., Yu, D., & Ge, B. (2024). Regulation of different light conditions for efficient biomass production and protein accumulation of *Spirulina platensis*. *Journal of Oceanology and Limnology*, 42(1), 174–186. <https://doi.org/10.1007/S00343-023-2360-X/METRICS>

ANEXOS





