

Artículo Original

Evaluación de la influencia de diferentes medios de cultivo sobre el crecimiento de *Arthrospira platensis*

Evaluation of the influence of different culture media on the growth of *Arthrospira platensis*

Yadira Gutiérrez Barroso ¹², Denia González León ^{2*}, Lorena Safonts Grenier ¹, Jenny del Valle Martínez ², Meyvis González López ²

¹Empresa de Producción y Comercialización de Productos Naturales (GENIX-LABIOFAM), Unidad de Desarrollo e Innovación.

² Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría (CUJAE), Facultad de Ingeniería Química.

*denia@quimica.cujae.edu.cu

Resumen

La cianobacteria *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) es cultivada para obtener productos de alto valor comercial debido a que contiene del 40 al 70 % de proteína, cuenta con todos los aminoácidos esenciales, minerales, vitaminas, antioxidantes y pigmentos (ficocianina y carotenoides). Ha sido sumamente estudiada por su potencial nutricional, antioxidante, terapéutico y coadyuvante en el tratamiento de la obesidad. El proceso de desarrollo para la obtención de polvo de *Spirulina* cuenta con una etapa fermentativa, en la cual se hace necesario evaluar diferentes medios de cultivo con el fin de determinar con cual se alcanzan los mayores valores de biomasa. Se realizó un estudio de nuevas condiciones de operación a partir de la evaluación de diferentes medios de cultivo *Spirel*, *OFFER*, *Shlösser* y *BG11*. La fermentación se realizó en Erlenmeyer de 250 mL con 200 mL de medio de cultivo y 20 % de inóculo. El experimento se realizó por triplicado a temperatura ambiente, con agitación y luminosidad controladas. La fermentación duró 10 días y se monitoreó el cultivo con un espectrofotómetro ($\lambda=560$ nm), lo que permitió elaborar la curva de crecimiento para cada experimento. La producción máxima de biomasa se obtuvo con el medio de cultivo *Spirel* (14,58 g/L) en la fase de crecimiento exponencial, seguido del medio *OFFER* (10,06 g/L), *Shlösser* (9,62 g/L) y por último *BG11* (6,33 g/L).

Palabras claves: microorganismo, fermentación, crecimiento, biomasa, medio de cultivo.

Abstract:

Spirulina cyanobacterium (*Arthrospira platensis*) is cultured due to its high market value. This is the case, due to its protein content, which is roughly 40 to 70 %, it has all the essential amino acids, minerals, vitamins, antioxidants and pigments (phycocyanin and carotenoid). It has been thoroughly researched given its nutritional potential

antioxidant properties and its integration in obesity treatments. The development process to obtain Spirulina powder has a fermentation stage, in which it is necessary to

evaluate different culture media in order to determine which one achieves the highest biomass values. There was a conducted study for each culture protocol *Spirel*, *OFFER*, *Shlösser* and *BG11* and its individual results were evaluated. This fermentation took place in a 250 mL Erlenmeyer flask, containing 200 mL of the culture medium and 20 % of inoculum. The experiment was done three times at room temperature, with controlled agitation and lighting. The fermentation process lasted 10 days and was monitored with a spectrophotometer ($\lambda=560$ nm), which gave place to creating the growing curve for each experiment. The maximum biomass production was obtained with *Spirel* (14,48 g/L) in the exponential growing phase, followed by *OFFER* medium (10,06 g/L), *Shlösser* (9,62 g/L) and lastly *BG11* (6,33 g/L).

Keywords: microorganism, fermentation, growth, biomass, culture medium.

1. Introducción

Las cianobacterias se han estudiado ampliamente con el fin de producir compuestos que son de interés en las grandes industrias: alimentarias, farmacológicas, cosméticas, acuícolas, entre otras; esto, gracias a sus potenciales usos en la producción de biodiesel, tratamiento de aguas residuales, elaboración de pigmentos para alimentos, antioxidantes para la dieta humana, entre muchos otros [1, 2]. Existen diversas especies de cianobacterias que poseen características nutracéuticas. El término *Spirulina* se utiliza para referirse principalmente a dos especies: *Arthrospira platensis* y *Arthrospira máxima*, las cuales son las que mayor importancia tienen en la economía y en la industria de productos alimenticios. Estas son cultivadas, cosechadas y vendidas para fabricar productos con propiedades nutritivas y su consumo está relacionado con la reducción y prevención del desarrollo de patologías tales como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, cáncer, entre otras; lo cual está asociado fundamentalmente al alto contenido en fibra que contienen [3].

Arthrospira platensis es una cianobacteria que pertenece al *phylum* Cianobacteria y que en la naturaleza habita en lagos alcalinos de zonas tropicales. La forma de espiral de sus tricomas le dio su nombre común, se considera como un tricoma helicoidal de forma cilíndrica e inmóvil, cuya reproducción se realiza por ruptura intracelular. Su talla oscila entre 13 y 25 μm . Puede ser cosechada y procesada debido a su alto contenido en macro y micronutrientes [4, 5]. Es más elevada en proteínas que otros alimentos. Su sobresaliente perfil nutricional también incluye los ácidos grasos esenciales, el ácido gamma linoleico (GLA), lípidos, ácidos nucleicos, ácido ribonucleico y ácido desoxirribonucleico (RNA y DNA), vitamina B12, vitamina B y E y fotoquímicos, tales como carotenos, clorofila (purificador de sangre), ficocianina (pigmento azul) la cual es una proteína que se conoce como inhibidora del cáncer [6]. Esta especie es capaz de convertir la energía del sol en compuestos químicos usando dióxido de carbono y liberando oxígeno, además de fijar el nitrógeno del medio [7].

Arthrospira platensis puede cultivarse fácilmente, en biorreactores y sistemas acuosos abiertos, naturales y artificiales, en los que el medio de cultivo líquido contiene sales como bicarbonato de sodio y nitratos, que contribuyen a la alcalinidad del medio, uno

de los factores más determinantes en el escalado y producción [8]. El primer medio sintético formulado para el cultivo de *Spirulina* fue el medio *Zarrouk*, que todavía se utiliza como medio cultivo estándar aunque es considerado un medio de cultivo costoso debido a la alta concentración de sales de grado analítico [9, 10]. Posteriormente diferentes medios de cultivo se han probado como el medio *Bangladesh*, el medio *OFFER*, el medio *CFTIR*, el medio *Rao* y el *Shlösser* [9, 11]. La iluminación es importante por ser un organismo fotoautotrófico, y para lograr una adecuada distribución de nutrientes, se mantiene agitación por medio mecánico o por burbujeo [12]. Se conoce que la composición de la biomasa puede ser manipulada mediante las condiciones de cultivo. Estas condiciones optimizadas para la generación de biomasa son las habitualmente utilizadas en la producción comercial de *Spirulina* [13].

El cultivo comercial e industrial de *Spirulina* ha estado exclusivamente basado en el sistema de cultivo autotrófico, donde se requiere adicionar nutrientes que son necesarios para los procesos metabólicos en la producción de biomasa. Uno de los nutrientes principales es la incorporación de carbono, el cual tiene gran influencia en la definición de los costos de producción de un cultivo masivo [14]. El presente estudio pretende evaluar el efecto de la composición de diferentes medios de cultivo en la producción de biomasa de *Arthrospira platensis*.

2. Materiales y Métodos

Obtención de la cepa

La cepa de *Arthrospira platensis* utilizada para llevar a cabo este trabajo es de procedencia brasileña (código *SPB*) mantenida en el laboratorio de la UEB Spirulina Jaruco de la Empresa GENIX-LABIOFAM en el banco de trabajo a:

- Cámara climática a 17 °C
- Temperatura ambiente

Arthrospira platensis se mantiene en el cepario del laboratorio, en tubos de ensayo que contiene el medio de cultivo *Spirel* estéril.

Obtención del inóculo

Se tomaron 50 mL del subcultivo de *Arthrospira platensis* mantenidos en el cepario del Laboratorio y se inoculó un Erlenmeyer de 500 mL añadiendo 200 mL de medio *Spirel* previamente preparado, para obtener un volumen inicial de 250 mL y una densidad óptica (D.O) de 0,2.

Se fue añadiendo gradualmente medio *Spirel* hasta que el cultivo alcanzó una D.O de 0,5 y un volumen final de 3 L, a partir del cual se extrajo la jalea para realizar las siembras en los diferentes medios de cultivo.

Medios de cultivos

Se pesaron los nutrientes para cada medio de cultivo (Tabla 1). Agregando 1 L de agua destilada a un matraz de 1 L y se fueron disolviendo las sales a temperatura ambiente con agitación moderada en dos matraces por separado para evitar insolubilidad de las mismas. Se eligieron cuatro medios de cultivos, el medio *Spirel*, *OFERR*, *Shlösser* y *BG11*, propuestos en la bibliografía debido a su capacidad para proporcionar los nutrientes necesarios para el crecimiento de esta cianobacteria, así como su simplicidad y bajo costo [9, 11].

Tabla 1. Concentración de nutrientes en cada medio de cultivo a emplear

Nutrientes	Spirel	OFERR	BG11	Shlösser
NaHCO ₃ (g/L)	16,8	8,0	-	13,61
NaCl (g/L)	1,0	5,0	-	1,0
MgSO ₄ .7H ₂ O(g/L)	0,2	0,16	0,075	0,20
CaCl ₂ .2H ₂ O (g/L)	0,02	-	0,036	0,04
FeSO ₄ .7H ₂ O (g/L)	0,01	0,05	0,006	-
KCl (g/L)	1,0	-	-	-
K ₂ HPO ₄ (g/L)	0,25	0,052	0,04	0,5
NaNO ₃ (g/L)	-	0,5	1,5	2,5
K ₂ SO ₄ (g/L)	-	1,0	-	1,0
EDTA (g/L)	0,04	-	0,02	-
Urea (g/L)	0,1	0,2	-	-
Na ₂ CO ₃ (g/L)	-	-	0,01	4,03

Condiciones del cultivo

Se filtraron 80 mL del cultivo de *Arthrospira platensis*. Se inocularon los Erlenmeyer de 250 mL con la biomasa filtrada anteriormente y 200 mL de cada medio de cultivo, cerrados posteriormente con tapones de algodones estériles. El experimento se realizó por triplicado, haciendo un total de 12 muestras. La cepa de *Arthrospira platensis* se inoculó en los medios de cultivo en condiciones de laboratorio durante diez días. Cada matraz con el cultivo se coloca en fotoperiodos de 12 h de luz natural y 12 h de oscuridad, agitación en zaranda y temperatura ambiente. Se tomaron lecturas de absorbancia diariamente en un espectrofotómetro, para lo cual se registró la medición de absorbancia a 560 nm para la evaluación de la turbidez del medio. Se realizó un monitoreo con el microscopio óptico controlando los siguientes parámetros: color, morfología, pigmentación, número de espiras, fragmentación, contaminantes y materia orgánica.

Determinación de biomasa

Para poder calcular los diferentes parámetros del proceso que tienen relación con la biomasa, es necesario disponer de una metodología que permita cuantificar la misma.

Para ello se realizó una curva de calibración que permitió correlacionar D.O y la determinación gravimétrica o peso seco (PS).

El procedimiento para elaborar la curva de calibración se describe a continuación: A un cultivo de cianobacterias se le midió la densidad óptica a 560 nm en espectrofotómetro UV-visible (Shimadzu, modelo UV-1700), y teniendo en cuenta el valor de D.O obtenido se tomaron 20 mL de la solución original y se mezcló con igual volumen de agua destilada lo que resultó en una reducción a la mitad su concentración inicial. El proceso se repitió en serie cuatro veces obteniéndose una solución final con una concentración $\frac{1}{16}$ veces menor que la solución original. A dichas diluciones se le midió posteriormente la densidad óptica por triplicado.

Posteriormente, los tubos *Eppendorf* de 1,5 mL fueron lavados con agua destilada y puestos a secar 24 h en estufa a 100 °C hasta peso constante y se determinó su peso seco inicial mediante balanza analítica (Electronic Balance, modelo FA1204).

Luego de secados los tubos, se pipeteó 1 mL de cada dilución a los *Eppendorf*, por triplicado. Haciendo un total de 15 muestras. Los mismos fueron puestos a secar aproximadamente 48 h en la estufa a 105 °C hasta peso constante y se determinó su peso seco final mediante balanza analítica.

La cantidad de biomasa, expresada como peso seco, se determinó según la Ecuación 1.

$$Biomasa \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{P_f - P_i}{V_s} \quad (1)$$

Donde:

P_f - Peso seco final (g)

P_i - Peso seco inicial (g)

V_s - Volumen de suspensión (L)

Posteriormente, se correlacionaron los valores obtenidos de biomasa con las determinaciones de D.O reales con el fin de hallar la regresión lineal correspondiente.

Cinética y cuantificación de crecimiento

Para determinar la curva de crecimiento de *Spirulina* en los diferentes medios de cultivo se tomaron muestras periódicas cada día durante 10 días aproximadamente a la misma hora, se determinó su densidad óptica y se determinó la biomasa utilizando la curva de calibración. Lo que permitió la estimación de parámetros de interés como la velocidad específica de crecimiento (μ), el tiempo de duplicación (T_d) y el índice de crecimiento (IC).

Velocidad específica de crecimiento (μ): Los datos del crecimiento celular fueron graficados en la forma de logaritmo natural vs tiempo. Esto permitió la obtención de

una línea recta sobre la fase de crecimiento exponencial. El valor de la pendiente de esta parte lineal de la curva corresponde al valor de μ , cuyas unidades están definidas como tiempo⁻¹.

Tiempo de duplicación (Td): otro parámetro importante a conocer en un proceso discontinuo es el tiempo de duplicación de la biomasa, que se define como el tiempo que tarda una población celular en duplicar su número durante el crecimiento exponencial. El mismo fue calculado a partir de la Ecuación 2.

$$Td = \frac{\ln(2)}{\mu} \quad (2)$$

Índice de crecimiento (IC): expresa la cantidad de veces que la biomasa inicial (inóculo) se ha duplicado a lo largo de un período de cultivo. El índice de crecimiento fue calculado utilizando la Ecuación 3:

$$IC = \frac{CB_2 - CB_1}{CB_1} \quad (3)$$

Donde:

CB_2 –Concentración de biomasa final (g/L)

CB_1 –Concentración de biomasa inicial (g/L)

Análisis estadístico

Para la determinación de las curvas de crecimiento y los parámetros cinéticos de cada experimento realizado se utilizó el programa Microsoft Office Excel Professional Plus 2019 (versión 16.0.11601.20144).

La existencia de diferencias significativas entre la biomasa final obtenida en cada experimento se determinó a partir de un análisis de la varianza (ANOVA). Posteriormente se realizó el test de rangos múltiples para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras y establecer así grupos homogéneos. Para ambos procedimientos el nivel de confianza aplicado fue del 95,0 %. Dichos análisis se realizaron mediante el programa estadístico *Statgraphics Centurion XV.II* (versión 15.02.0014).

3. Análisis de los resultados

Determinación de Biomasa: Curva densidad óptica versus peso seco

A partir de los datos obtenidos se realizó la curva de calibración (**Fig.1**) que permitió cuantificar la cantidad de biomasa expresada en gramos de peso seco por litro de medio de cultivo (g PS/L) en función de la medición de la densidad óptica (D.O) a una $\lambda=560$ nm. La Ecuación 4 representa la correlación lineal obtenida junto con su valor de R^2 .

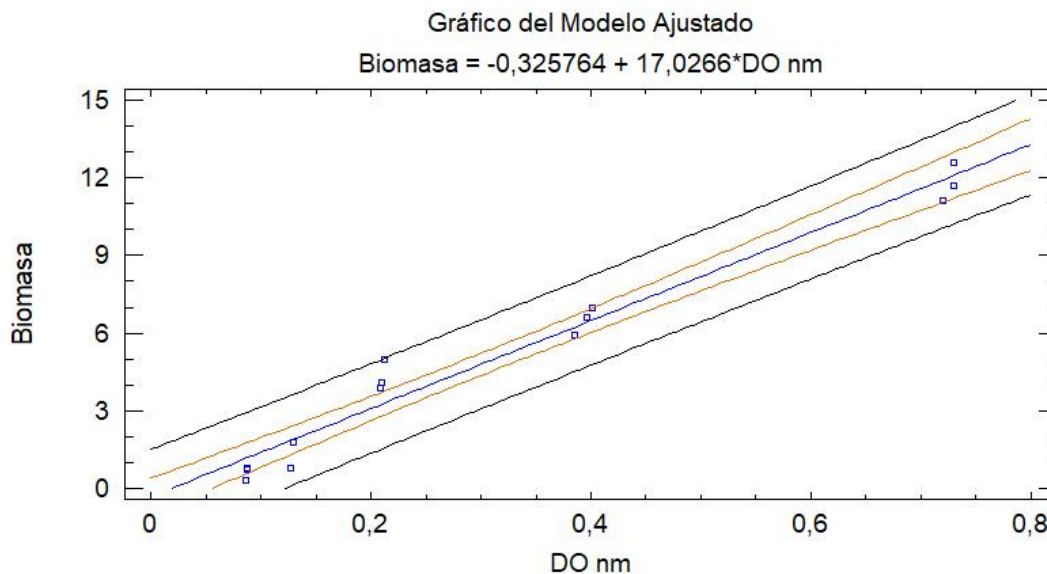


Fig.1 Curva de calibración de Biomasa (g PS/L) vs Absorbancia 560 nm

$$Biomasa \left(\frac{g \text{ P.S.}}{L} \right) = 17,03 * D.O - 0,33 \quad R^2=0,9686 \quad \text{Ecuación 4}$$

Al observar los puntos en la gráfica, se puede apreciar que estos ajustan a una recta, siendo el Coeficiente de Correlación igual a 0,98. El estadístico R^2 indica que el modelo ajustado explica 96,86 % de la variabilidad de la biomasa. Puesto que el valor-P (0,2736) de Durbin Watson es mayor que 0,05 no hay indicación de una posible autocorrelación serial de los residuos. El modelo puede ser adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95,0 %.

Influencia de diferentes medios de cultivo sobre el crecimiento de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*)

En la **Fig.2** se puede apreciar el crecimiento de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) para los distintos medios de cultivo evaluados (*Spirel*, *OFERR*, *Shlösser* y *BG11*), graficando logaritmo natural de la concentración de biomasa en g PS/L versus el tiempo en días. Se observó crecimiento en todas las condiciones ensayadas. En el medio de cultivo *Spirel* se apreció un crecimiento de tipo exponencial durante todos los días, esto se debe a que este medio de cultivo es precisamente en el que se conserva la cepa por lo que la fase adaptativa no se manifiesta. Tomando como referencia el medio *Spirel*, en el medio de cultivo *OFERR* la concentración de la fuente de carbono (NaHCO_3) disminuye en 52,2 % y se incrementa la concentración de urea al doble. En este medio de cultivo la fase de adaptación fue de dos días y a partir de este periodo se aprecia un crecimiento exponencial. Comparado con el medio *Spirel*, el medio de cultivo *Shlösser* presenta como fuente de carbono el carbonato de sodio (4,03 g/L) y el bicarbonato de sodio (13,61 g/L) que en su conjunto aportan la misma cantidad a la del medio *Spirel*. Por su parte la fuente de nitrógeno es el nitrato de sodio, con un aporte superior en 90 % a lo

que aporta la urea. En el medio de cultivo *Shlösser* se observó hasta el cuarto día la fase de adaptación donde el cultivo de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) se acopla a las condiciones establecidas, a partir del cuarto día se aprecia un crecimiento exponencial. Por su parte el medio de cultivo BG11 presenta como fuente de carbono el carbonato de sodio NaCO_3 (0,01 g/L) con una disminución significativa comparado al medio de cultivo *Spirel*, como fuente de nitrógeno cuenta con el nitrato de sodio (NaNO_3) el cual aporta un 81 % superior a lo que aporta la urea. El medio de cultivo *BG11*, es el medio de cultivo con las concentraciones más bajas de nutrientes, esta causa provocó que se prolongara la fase adaptativa durante 6 días, a partir del sexto día se aprecia crecimiento.

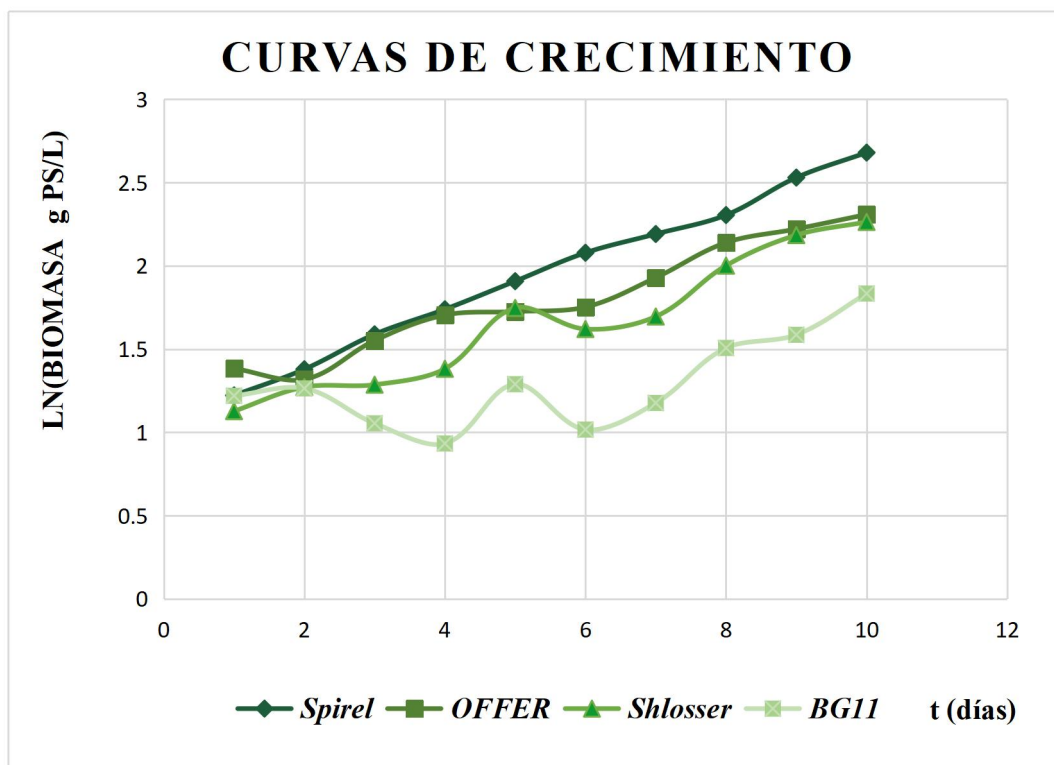


Fig.2 Curvas de crecimiento de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) bajo la influencia de diferentes medios de cultivo

A los 10 días de cultivo la mayor concentración se observó en el medio de cultivo *Spirel*, la biomasa final para el medio de cultivo OFFER y *Shlösser* son valores cercanos, presentado el medio *Shlösser* una mayor velocidad específica de crecimiento y a su vez un menor tiempo de duplicación. El mayor índice de crecimiento se reportó en el medio de cultivo *Spirel*. Por su parte el medio de cultivo BG11, aunque su velocidad de crecimiento fue mayor reportó el valor de biomasa final más desfavorable; esto puede deberse a la disminución significativa en la concentración de los nutrientes y a que la fase adaptativa se prolongó más. En la **Tabla 2** se detallan los parámetros cinéticos de crecimiento para las distintas condiciones.

Tabla 2. Parámetros de crecimiento de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) para los distintos medios de cultivo.

Medios de cultivo	Velocidad específica de crecimiento (μ)(días ⁻¹)	Tiempo de duplicación Td (días)	Índice de crecimiento	Biomasa final (g/L)
<i>Spirel</i>	0,16	4,35	3,3	14,58
<i>OFERR</i>	0,12	5,90	1,52	10,06
<i>Shlösser</i>	0,14	4,98	2,11	9,62
<i>BG11</i>	0,19	3,3	0,87	6,33



Fig.3 Crecimiento de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) en los diferentes medios de cultivo

En la **Fig.3** se observa la coloración final alcanzada en cada experimento, siendo el medio *Spirel* el de mayor biomasa, el medio *Shlösser* y *OFERR* muy similares y el medio de cultivo *BG11* de menor concentración de biomasa, por su parte este medio también presenta una coloración más verde amarillenta que puede deberse a que presenta un déficit de nutrientes. Al observarse al microscopio no se observan cambios morfológicos significativos predomina una población en espiral de buen tamaño y buena pigmentación. No se observaron contaminantes solo presencia de materia orgánica producto de la degradación.

Análisis estadístico

Tabla 3. ANOVA para biomasa por tipo de medio

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	85,7886	3	28,5962	9,66666E31	0,0000
Intra grupos	0,0	8	0,0		
Total (Corr.)	85,7886	11			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de biomasa entre un tipo de medio y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se seleccionó las pruebas de múltiples rangos. Método: 95,0 porcentaje LSD

Tabla 4. Resultados de las pruebas de múltiples rangos para biomasa por tipo de medio

Tipo de medio	Casos	Media	Grupos Homogéneos
<i>BG11</i>	3	6,7689	X
<i>OFFER</i>	3	9,48709	X
<i>Shlösser</i>	3	10,7746	X
<i>Spirel</i>	3	14,2041	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
<i>BG11 – OFFER</i>	*	-2,71819	0,0
<i>BG11 – Shlösser</i>	*	-4,00575	0,0
<i>BG11 – Spirel</i>	*	-7,43516	0,0
<i>OFFER – Shlösser</i>	*	-1,28756	0,0
<i>OFFER – Spirel</i>	*	-4,71697	0,0
<i>Shlösser – Spirel</i>	*	-3,42941	0,0

Los resultados obtenidos muestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los medios con un nivel del 95,0% de confianza.

4. Conclusiones

Se obtuvieron los gráficos y parámetros necesarios para evaluar la cinética de crecimiento de los diferentes medios propuestos. El medio *Spirel* resultó ser el más favorable para el cultivo de *Spirulina Platensis*, obteniendo una mayor producción de biomasa (14,58 g/L) y un mayor índice de crecimiento (3,30).

Referencias

1. Romero, L., et al., *Producción de pigmentos procedentes de Arthrospira máxima cultivada en fotobiorreactores*. Revista Colombiana de Biotecnología, 2017. **19**: p. 108-117 DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.59671>.
2. Galarza, K.O. and W.M. Calero, *Aplicaciones de la espirulina - planta marina: revisión panorámica*. Salud, Ciencia y Tecnología, 2022. **2** DOI: <https://doi.org/10.56294/saludcyt2022174>.
3. Rodríguez, J.H. and N.O. González, *Spirulina platensis en el tratamiento de la obesidad y de algunas de sus consecuencias*. Revista Cubana de Medicina General Integral, 2021. **37**.
4. Soni, R.A., K. Sudhakar, and R.S. Rana *Spirulina – From growth to nutritional product: A review*. Trends in Food Science & Technology, 2017. **69**, 157-171 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>.
5. Soni, R.A., K. Sudhakar, and R.S. Rana, *Comparative study on the growth performance of Spirulina platensis on modifying culture media*. Energy Reports, 2019. **5**: p. 327-336 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2019.02.009>.
6. AlFadhly, N.K.Z., et al., *Trends and Technological Advancements in the Possible Food Applications of Spirulina and Their Health Benefits: A Review*. Molecules, 2022. **27**: p. 5584 DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27175584>.
7. Rahim, A., et al., *Chemical characterization and nutritional value of Spirulina platensis cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco)*. South African Journal of Botany, 2021. **141**: p. 235-242 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.05.006>.
8. Martinez, G.T., *Producción de ficocianina a partir de Spirulina maxima en biorreactor PBR tubular para la industria de alimentos*. 2019, Universidad de Santander: Bucaramanga.
9. Devanathan, J., Selvam, and N. Ramanathan, *Optimization of biomass production of spirulina platensis in seawater medium*. Life Science Archives, 2016. **2**: p. 708-716 DOI: <https://doi.org/10.21276/lisa.2016.2.5.7>.
10. Maza, L.R., M. Guevara, and J.F. Bernal, *Crecimiento y pigmentos de Spirulina subsalsa cultivada a diferentes salinidades y concentraciones de nitrógeno*. Revista tiempo&economia, 2018. **1** DOI: <https://doi.org/10.21789/22561498.1402>.
11. Raoof, B., B.d. Kaushik, and R. Prasanna, *Formulation of a low cost medium for mass production of Spirulina*. Biomass and Bioenergy, 2006. **30**: p. 537-542 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.09.006>.
12. AlFadhly, N.K.Z., et al., *Tendencias Affecting the Growth and Cultivation of Genus Spirulina: An Investigative Review on Current Trends*. Plants, 2022. **11** DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11223063>.
13. Maroneze, M.M., C.A.M. Herrera, and A.M. Jiménez, *Perspectivas sobre los sistemas de cultivo de microalgas: una revisión crítica*. Revista BioTecnología, 2021. **25**: p. 11-34.
14. Costa, J.A.V., et al., *Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery*. Bioresource Technology, 2019. **292**.

Este artículo no presenta conflicto de intereses.

Contribución autoral

- Yadira Gutiérrez Barroso. Autor principal. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-3974-7687> Conceptualización, investigación, metodología, análisis formal e interpretación de los resultados, redacción del borrador original, redacción (revisión y edición)
- Denia González León. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8493-5174> Conceptualización, investigación, metodología, análisis formal e interpretación de los resultados, revisión crítica de la versión final y su aprobación, (revisión y edición).
- Lorena Safonts Grenier. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-4097-9625> Recursos, supervisión, análisis formal e interpretación de los resultados, revisión crítica de la versión final y su aprobación, (revisión y edición).
- Jenny del Valle Martínez. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-5853-6330> Curación de datos, investigación, metodología e interpretación de los resultados.
- Meyvis González López. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-9386-5096> Curación de datos, investigación, metodología e interpretación de los resultados.