



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

**EFFECTOS DE LA ABSORCIÓN DE DIFERENTES ESPECTROS
DE LUZ SOBRE EL CRECIMIENTO Y SÍNTESIS BIOQUÍMICA EN
LAS MICROALGAS *Tetraselmis spp.* y *Rhodomonas spp.*,
MEDIANTE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

Biólogo

Autor:

Bryan Andrés Mendieta Toala

Tutor:

Blga. Janeth Galarza Tipán PhD.

La Libertad – Ecuador

2021

TRIBUNAL DE GRADO



Firmado electrónicamente por:
**MAYRA MAGALI
CUENCA ZAMBRANO**

Blga. Mayra Cuenca Zambrano, Mgt.

Decana



Firmado electrónicamente por:
**JIMMY AGUSTIN
VILLON MORENO**

Ing. Jimmy Villón Moreno, MSc.

Director



Firmado electrónicamente por:
**ISABEL JANETH
GALARZA TIPAN**

Blga. Janeth Galarza Tipán, Ph.D.

Docente Tutor



Firmado electrónicamente por:
**DOUGLAS
FRANKLIN VERA
IZURIETA**

Blgo. Douglas Vera Izurieta, M.Sc.

Docente de Área

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme sabiduría, salud, fortaleza y guiarme a lo largo de mi carrera estudiantil.

Cuando se trata de agradecer el amor, los valores, la motivación y el impulso, los desvelos y el sacrificio y la protección las palabras se evaporan, siento grandes emociones y un profundo agradecimiento a mí amada madre y hermanos quienes con sus palabras de aliento me fortalecían a lo largo de toda la carrera.

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar el proceso de formación profesional.

En particular a la Dra. Janeth Galarza Tipán. Mgt, Phd, tutor de tesina que con sus ideas y vasto conocimiento profesional orientó el presente trabajo.

Me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque han contribuido a mi formación académica, por sus sabios consejos, grandiosas enseñanzas y sobre todo su valiosa amistad.

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación bibliográfica es dedicado a Dios, por haberme concedido una familia maravillosa que ha creído en mí, fomentándome el ejemplo de superación, sacrificio y humildad sobre todo el valor de la vida.

A mis padres que fueron mis mayores promotores durante éste proceso, con su ayuda que fue incondicional en mi educación y en mi bienestar y salud he llegado hasta éste punto.

A la memoria de mi abuela, que fue sin duda una fuente de motivación y fortaleza para ser mejor y continuar con lo que me apasiona, demostrándome que con amor todo sacrificio y entrega tiene su recompensa, hoy mi corazón eleva esta dedicatoria al cielo.

A mi amado hijo, que es una gran bendición en mi vida y mi principal motivación y razón del esfuerzo del presente, impulsándome cada día para un exitoso futuro.

ABREVIATURAS

LED: (Light Emitting Diode) “Diodo emisor de luz.

RFA: Radiación fotosintética activa.

PAR: Photosynthetic Active Radiation.

nm: Nanómetros “Sistema internacional de medidas”.

pH: Potencial de Hidrógeno.

µg: Micro gramos “Sistema internacional de medidas”.

Spp: Referente a todas las especies individuales de un género.

ATP: Adenín Tri Fosfato.

NADPH: Nicotín, Adenín Di-nucleótido Fosfato.

CO₂: Di óxido de Carbono.

ÍNDICE

TRIBUNAL DE GRADO	I
AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIA	III
ABREVIATURAS	IV
RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUCCIÓN	12
2. JUSTIFICACIÓN	14
3. OBJETIVOS	16
3.1. Objetivo general	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. MARCO TEÓRICO	17
4.1. Fotosíntesis vegetal	17
4.1.1. Etapa luminosa	18
4.1.2. Etapa oscura	18
4.2. Factores que afectan la fotosíntesis	19
4.2.1. Calidad de la luz	19
4.2.2. Intensidad de la luz	19
4.3. Importancia de la incidencia de luz en el proceso de fotosíntesis	20
4.3.1. La luz como energía	20
4.3.2. Pigmentos y fotosíntesis	20
4.4. Efectos de los espectros de luz en cultivos microalgales	22
4.4.1. La luz roja	22
4.4.2. La luz azul y verde	22
4.5. Cultivo de microalgas de interés comercial	22
4.5.1. <i>Tetraselmis spp</i>	23
4.5.2. <i>Rhodomonas spp</i>	24
4.6. Composición bioquímica de las microalgas	25
4.6.1. Lípidos	25
4.6.2. Carbohidratos	27
4.6.3. Proteínas	28
5. METODOLOGÍA	30

5.1. Tipo de investigación.....	30
5.2. Recopilación de información para las condiciones de cultivo.....	30
5.3. Recopilación de información para la obtención de metabolitos.....	30
5.4. Organización de la información.....	31
5.5. Análisis de la información.....	31
6. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN.....	33
7. CONCLUSIONES.....	48
8. BIBLIOGRAFÍA.....	49
9. ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Proceso de fotosíntesis realizado por microalgas	17
Imagen 2. La actividad fotosintética de la planta ocurre entre 400 y 700 nm... 19	
Imagen 3. Pigmentos microalgales y su espectro de absorción.....	21
Imagen 4. Vista de flagelos de Tetraselmis spp. Escala: 10 μ	24
Imagen 5. Vista microscópica de Rhodomonas Spp	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Principales tipos de lípidos y sus características.....	26
Tabla 2. Concentración de lípidos por célula en diferentes especies de microalgas (Costard, 2012).	26
Tabla 3: Clasificación de los principales Hidratos de Carbono	27
Tabla 4: Composición de suplementos alimentos y especies de microalgas. “Peso seco”.	29
Tabla 5: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional “Blanca” Tetraselmis y Rhodomonas.	33
Tabla 6: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz Azul Tetraselmis y Rhodomonas.	33
Tabla 7: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz Roja Tetraselmis y Rhodomonas.	34
Tabla 8: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz Verde en Tetraselmis y Rhodomonas spp.....	34
Tabla 9: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional “Blanco” en Amphora sp.	35
Tabla 10: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional “Azul” en Amphora sp.	36
Tabla 11: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional “verde” en Amphora sp.....	36

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparación en la síntesis lipídica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Tetraselmis spp.....	38
Gráfico 2. Comparación en la síntesis Proteica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Tetraselmis spp.....	38
Gráfico 3. Comparación en la síntesis de carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Tetraselmis spp.	39
Gráfico 4. Comparación en la síntesis lipídica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Rhodomonas spp.....	40
Gráfico 5. Comparación en la síntesis Proteica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Rhodomonas spp.....	40
Gráfico 6. Comparación en la síntesis de Carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Rhodomonas spp.....	41
Gráfico 7. Comparación en la síntesis de Lípidos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Amphora sp.....	42
Gráfico 8. Comparación en la síntesis de Carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Amphora sp.....	42
Gráfico 9. Comparación en la síntesis de Carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Amphora sp.....	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Condiciones de cultivo reportados para el crecimiento de Tetraselmis Spp y Rhodomonas Spp.....	54
Anexo 2. Metodología para el análisis de metabolitos en cultivos de las microalgas Tetraselmis spp y Rhodomonas spp	55
Anexo 3. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz convencional “Blanco”... 	56
Anexo 4. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Azul.	57
Anexo 5. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Rojo.....	58
Anexo 6. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Verde.....	59

**EFFECTOS DE LA ABSORCIÓN DE DIFERENTES ESPECTROS DE LUZ
SOBRE EL CRECIMIENTO Y SÍNTESIS BIOQUÍMICA EN LAS
MICROALGAS *Tetraselmis spp.* y *Rhodomonas spp.* MEDIANTE REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA.**

Autor: Bryan Andrés Mendieta Toala

Tutor: Ph.D, Janeth Galarza Tipán, Mgt.

RESUMEN

Las microalgas, son un diverso grupo de microorganismos fotosintéticos cuya principal habilidad se basa en la captación de luz solar y de esta manera sintetizar reservas de energía en forma de lípidos, carbohidratos o proteínas. Debido a que pueden ser cultivadas en sistemas de cultivos abiertos como lagos, piscinas naturales, o en sistemas de cultivos cerrados altamente controlados que alcanzan mayores productividades, las microalgas toman un rol importante en industrias alimentarias, farmacéuticas y biotecnológicas, y puede ser estimulado con variaciones en las condiciones de cultivo como los espectros de luz y longitudes de onda. Por medio de la lectura de reportes bibliográficos basados en cultivos microalgales de *Tetraselmis spp* y *Rhodomonas spp* irradiados con los diferentes espectros de luz “Blanco, verde, rojo, y azul”, el presente trabajo establece las mejores condiciones para el crecimiento y síntesis bioquímica de metabolitos de interés comercial como lípidos, carbohidratos y proteínas. La mayor productividad en la síntesis lipídica (77.75 pg/cel), se dio en los cultivos de *Tetraselmis spp*, irradiados con el espectro de luz verde. En relación a los carbohidratos, el espectro de luz azul fue quién mostró los mejores resultados (11.37 pg/cel) en los cultivos de *Tetraselmis spp*. Sin embargo, la mayor síntesis de proteínas se dio con el espectro de luz blanco, dentro de los cultivos de *Amphora sp* con valores de (51.89 pg/cel). demostrando que la luz incidente de los cultivos microalgales es un factor importante determinante en el crecimiento y síntesis bioquímica.

Palabras claves: Fotosíntesis, metabolitos, espectros de luz, síntesis bioquímica, longitudes de onda.

ABSTRACT

Microalgae, are a diverse group of photosynthetic microorganisms whose main ability is based on capturing sunlight and thus synthesizing energy reserves in the form of lipids, carbohydrates or proteins. Because they can be cultivated in open culture systems such as lakes, natural pools, or in highly controlled closed culture systems that achieve higher productivities, microalgae play an important role in food, pharmaceutical and biotechnological industries, and can be stimulated with variations in culture conditions such as light spectra and wavelengths. By reading literature reports based on microalgal cultures of *Tetraselmis* spp and *Rhodomonas* spp irradiated with the different light spectra "white, green, red, and blue", the present report establishes the best conditions for the growth and biochemical synthesis of metabolites of commercial interest such as lipids, carbohydrates, and proteins. The highest productivity in lipid synthesis (77.75 pg/cel) was found in *Tetraselmis* spp. cultures irradiated with the green light spectrum. In relation to carbohydrates, the blue light spectrum showed the best results (11.37 pg/cel) in the cultures of *Tetraselmis* spp. However, the highest protein synthesis occurred with the white light spectrum in the cultures of *Amphora* sp with values of (51.89 pg/cel), demonstrating that the incident light of the microalgal cultures is an important determinant factor in growth and biochemical synthesis.

Keywords: Photosynthesis, metabolites, light spectra, biochemical synthesis, wavelengths.

1. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son organismos unicelulares fotoautótrofos que dependen principalmente de la luz, es decir, utilizan la energía lumínica proveniente del sol junto con la materia inorgánica para la producción de biomasa y metabolitos de interés comercial mediante un proceso anabólico denominado fotosíntesis. La incidencia de factores físico-químicos tales como nitrógeno y fósforo en su forma inorgánica, dióxido de carbono, y sobre todo la disponibilidad de luz con sus longitudes de onda, son elementales para llevar a cabo éste proceso (Chisti, 2017).

Sin embargo, durante la fotosíntesis, las distintas longitudes de onda de la luz del sol no son asimiladas de igual manera por los organismos fotosintéticos, debido a que contienen ciertas moléculas denominadas pigmentos las cuales son las encargadas de absorber solamente longitudes de onda específicas de la luz visible, mientras que reflejan otras, como es el caso de las microalgas, cuya luz que estas utilizan para realizar su fotosíntesis está restringida a longitudes de onda comprendida entre los (400-700)nm, rango denominado “Radiación fotosintética activa” (PAR) el cual abarca los espectros de luz verde (529 - 497)nm, luz azul (450 - 475)nm, y luz roja (620 - 700)nm (Garibay A. V., 2009) (Hill, 1996) abriendo paso a nuevas metodologías de control y crecimiento celular de las microalgas acondicionando la intensidad y penetración de las longitudes de onda.

El conjunto de longitudes de onda que absorbe un pigmento es conocido como su espectro de absorción y cada uno de estos espectros atribuye diferentes efectos sobre las microalgas en momentos específicos de su desarrollo y dependiendo de la penetración de estos, metabolitos como lípidos, proteínas y carbohidratos varían en la concentración producida durante la fotosíntesis, estos espectros al estar directamente relacionados con el crecimiento y la síntesis bioquímica de metabolitos, son considerados como base para el desarrollo de numerosas y nuevas aplicaciones en el campo de la biotecnología por medio de la implementación de microalgas (Garibay A. V., 2009); (Hill, 1996).

Las investigaciones sobre el uso de microalgas, en la actualidad han alcanzado una enorme importancia debido fundamentalmente a la combinación de usos que se les pueden atribuir. Los metabolitos que son obtenidos en base al cultivo estos microorganismos, permiten la fabricación de productos para la salud y nutrición como aditivos alimenticios, cosméticos, pigmentos naturales, antioxidantes y biofertilizantes. Asimismo, sus lípidos poseen ácidos grasos esenciales que mejoran la nutrición de todo organismo y permiten el desarrollo de biocombustibles como nuevas alternativas para disminuir el uso del combustible convencional (Santos, 2014); (Fu, 2013).

Ante la necesidad de solucionar problemas de contaminación y energías no renovables, nuevas investigaciones son motivadas en torno al desarrollo de combustibles sostenibles como el biodiesel, obtenido a través del bioetanol producido primordialmente en la fermentación de los carbohidratos presentes en cultivos microalgales de *Nannochloropsis* spp., *Chlorella* spp. y *Tetraselmis* spp., que al ser irradiados únicamente con luz azul a (470)nm demostraron una mayor concentración en la producción de lípidos (Pérez & Fernández, 2011); (Chee, 2014).

En el campo de la acuicultura, los estadíos larvales de camarones, peces o moluscos son los más propensos a mostrar valores altos en mortalidades principalmente por la deficiencia de valor nutricional en el alimento disponible. Microalgas como *Tetraselmis* spp, y *Rhodomonas* spp., aportan un importante valor nutricional rico en lípidos y proteínas dando solución a éste problema. (Tremblaya, 2007); (Pérez, A. & Labbé, J, 2014) (Lavens & Sorgeloos, 1996) incluso, estos cultivos podrían beneficiarse aún más, puesto que cultivos microalgales al ser irradiados con luz roja demuestran una mejor actividad en la síntesis de proteínas y tiempo de crecimiento (Meisel, Urbina, & Pinto, 2011).

La finalidad de esta investigación es, mediante de una revisión bibliográfica establecer las mejores condiciones para el crecimiento y síntesis bioquímica de estas dos microalgas de interés comercial “*Tetraselmis* spp, y *Rhodomonas* spp.” sometidos a diferentes espectros de luz y diferenciarlos de cultivos convencionales sentando un precedente potencial en ambas microalgas.

2. JUSTIFICACIÓN

Las microalgas son consideradas como una fuente potencial de metabolitos de interés comercial con actividades biológicas de suma importancia, que no han sido explotados ampliamente, los cuales tienen un gran campo de aplicación en industrias agrícolas, energéticas, ambientales y alimenticias.

Pese a la capacidad que poseen las microalgas de desarrollarse en un sinnúmero de ambientes controlados, lo que se conoce es muy poco de los beneficios y propiedades de las mismas, destacando el desconocimiento sobre los efectos que produce la absorción de diferentes longitudes de onda del espectro de luz durante el proceso de fotosíntesis en el crecimiento y síntesis bioquímica de los metabolitos antes mencionados.

No obstante, se ha establecido que acondicionando el espectro de luz es posible obtener una mayor tasa de crecimiento dentro de los cultivos de microalgas, esto demuestra que las microalgas responden y se adaptan a variaciones en las condiciones de cultivo, convirtiéndose en una gran ventaja que debería ser aprovechada en estudios futuros al variar la incidencia de los espectros de luz para modificar de manera positiva los efectos en la biosíntesis de metabolitos.

Por otra parte, se explica el potencial de los microorganismos fotosintetizadores para la producción de sustancias de interés químico, farmacéutico e industrial y el beneficio que representa para el hombre, específicamente a partir de *Rhodomonas Spp* y *Tetraselmis Spp*, por lo que la aplicación de metodologías basadas en el acondicionamiento de los espectros de luz durante los fotoperiodos de cultivos, está recibiendo una mayor atención.

Al seleccionar la luz suplementaria cuando se trabaja con luz artificial, es indispensable elegir la fuente de luz correcta, tomando en cuenta que la clorofila actúa mejor al ser irradiada con luz violeta y roja, es ideal exponer las microalgas a esta calidad de luz a (610-700) nm.

Debido a que la producción de biomasa microalgal ha proporcionado una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas, los beneficiarios de esta investigación serán la comunidad científica, las industrias farmacéuticas y cosméticas, el

incremento en actividades sostenibles como la acuicultura, el desarrollo de biocombustibles, y entre otros que van en beneficio de la sociedad en general.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Establecer las mejores condiciones de crecimiento y síntesis bioquímica de *Tetraselmis* spp y *Rhodomonas* spp sometidos a diferentes espectros de luz “roja, verde, y azul” y comparados con luz blanca, por medio de reportes bibliográficos.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar los metabolitos producidos “lípidos, proteínas y carbohidratos” en los cultivos de *Tetraselmis* spp. y *Rhodomonas* spp., bajo el efecto de los diferentes espectros de luz “roja, verde, azul y blanca”, mediante reportes bibliográficos.
- Describir el cultivo de *Tetraselmis* spp. y de *Rhodomonas* spp., y analizar el crecimiento de estas microalgas bajo el efecto de los diferentes espectros de luz “roja, verde, azul y blanca”, mediante reportes bibliográficos.
- Analizar los principales métodos aplicados en la extracción y cuantificación de metabolitos en microalgas, mediante reportes bibliográficos.
- Analizar la producción de metabolitos en una Diatomea “*Amphora* sp” por medio de reportes bibliográficos, y comparar con los reportado para *Tetraselmis* spp y *Rhodomonas* spp.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Fotosíntesis vegetal.

La fotosíntesis es la reacción química donde el dióxido de carbono (CO_2) junto con el agua forman azúcares y producen oxígeno en presencia de energía luminosa (Figura 1), constituyendo uno de los mecanismos bioquímicos de mayor relevancia del planeta debido a que implica la síntesis de nutrientes orgánicos que almacenan energía lumínica proveniente del sol en distintas moléculas útiles como lo son los carbohidratos y lípidos. (Chen J. , 2018) Posteriormente, las moléculas orgánicas sintetizadas pueden ser empleadas como fuente de energía bioquímica para sostener procesos vitales como la respiración celular y reacciones que forman parte del metabolismo fotosintético.

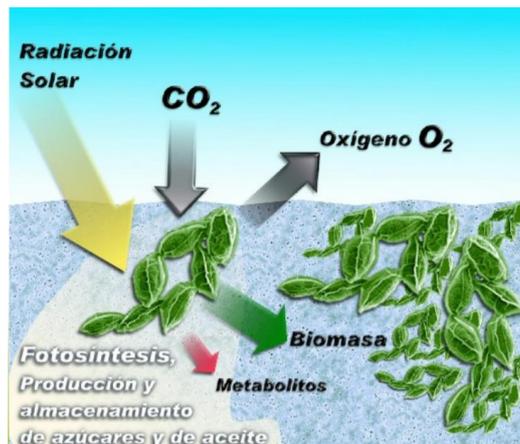


Imagen 1. Proceso de fotosíntesis realizado por microalgas

Fuente: <https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>

La luz representa uno de los factores más heterogéneos, espacial y temporalmente, de entre los que afectan a los vegetales. La luz, por su naturaleza energética, representa además un factor de riesgo añadido en las plantas que la requieren para el proceso de fotosíntesis (Chen J. , 2018), lo cual la vuelve indispensable para el desarrollo de microalgas que se desarrollan en ambientes controlados. Para llevar a cabo la fotosíntesis, es necesaria la

presencia de clorofila, un pigmento fotosensible, es cual se caracteriza por conferir la tonalidad verdosa de las plantas y de microorganismos fotosintéticos. En las plantas y microalgas, la fotosíntesis se lleva a cabo en organelos especializados denominados cloroplastos, en los que se encuentra la clorofila, y ocurre en dos etapas diferenciadas: etapa luminosa y etapa oscura (Raffino, 2020).

4.1.1. Etapa luminosa

Durante la fase dependiente de la luz, las microalgas captan la energía de sol por medio de la clorofila y de esta manera son producidas las reacciones biolumínicas para la síntesis de ATP y NADHP. El proceso comienza cuando las moléculas de clorofila entran en contacto con la radiación solar y los electrones de sus capas superiores son excitados, desatando una cadena de transporte de electrones, lo cual es aprovechado para la síntesis de ATP (adenín trifosfato) y NADPH (nicotín, adenín dinucleótido fosfato). La ruptura de una molécula de agua en el proceso denominado fotólisis permite que una molécula de clorofila recupere el electrón que perdió al ser excitada, resultado en la liberación de una molécula de oxígeno en la atmósfera como desecho de esta etapa de la fotosíntesis (Raffino, 2020).

4.1.2. Etapa oscura

También conocida como etapa sintética, durante esta etapa, las microalgas aprovechan el (CO₂), nutrientes en el medio y aprovechan las moléculas generadas en la etapa previa para la síntesis orgánica de metabolitos a través de un circuito de reacciones químicas complejas conocido como el ciclo de Calvil-Benson (Raffino, 2020).

4.2. Factores que afectan la fotosíntesis

4.2.1. Calidad de la luz

Como se mencionó con anterioridad, las plantas y microalgas realizan el proceso de fotosíntesis mientras están expuestas a la radiación (RFA); esto se refiere a la calidad de la luz incidente (Figura 2). El pigmento conocido como clorofila absorbe de manera más eficiente los espectros de la luz azul violeta y la luz roja. De tal manera que resulta preferente exponer a las plantas a esta calidad de luz, en cierta intensidad. Al seleccionar luz suplementaria y, especialmente cuando se trabaja únicamente con luz artificial, es indispensable elegir la fuente correcta de luz.

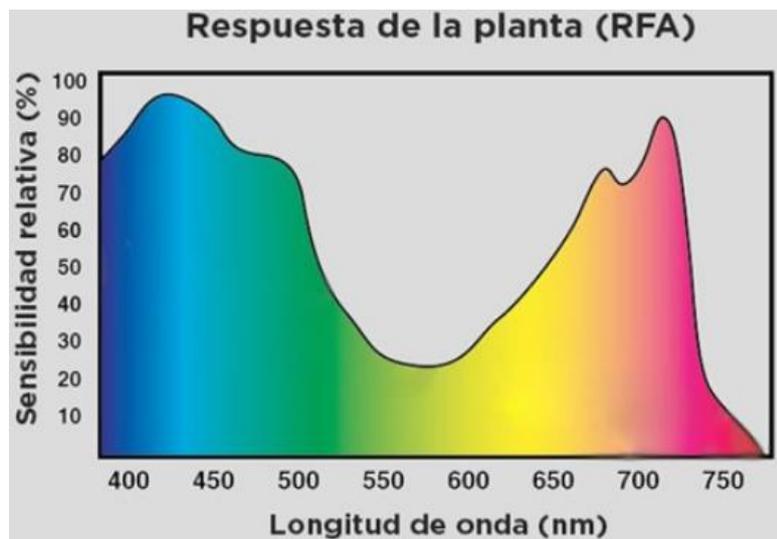


Imagen 2. La actividad fotosintética de la planta ocurre entre 400 y 700 nm.

Fuente: www.supergrowled.com/orchid-led-grow-lights

4.2.2. Intensidad de la luz

Sin importar la fuente de energía lumínica, las microalgas necesitan una intensidad de luz mínima para iniciar el proceso de fotosíntesis; esto es conocido como punto de compensación de luz, y en éste punto el (CO₂) absorbido es igual al (CO₂) liberado. A medida que aumenta la intensidad de luz o la cantidad de energía proveniente de una fuente de luz, la velocidad de fotosíntesis se ve en

aumento (Chen J. , 2018). Sin embargo, esto no significa que la intensidad de luz pueda ser ilimitada, debido a que si la intensidad de luz alcanza cierto nivel, la velocidad de la fotosíntesis es plana. Es más, se puede dañar la clorofila a causa de la extrema intensidad de la luz, lo que implica un desaceleración en la velocidad de fotosíntesis.

4.3. Importancia de la incidencia de luz en el proceso de fotosíntesis.

El crecimiento, asimilación de nutrientes y la actividad biosintética de los organismos fotosintetizadores dependen directa y principalmente de la disponibilidad de luz tanto en calidad lumínica como en intensidad. La actividad fotosintética aumenta con el incremento de la intensidad lumínica hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento en el punto de saturación de luz. Superado éste punto las altas intensidades de luz pueden atrofiar los foto receptores “cloroplastos”, provocando de esta manera la foto inhibición (Pérez & Labbé, 2014).

4.3.1. La luz como energía

La luz siendo un tipo de energía, puede desplazarse en forma de ondas y corresponde a la parte visible del espectro electromagnético dentro del rango (400-700 nm). Proporciona la energía necesaria para la excitación del fotosistema provocando la liberación de electrones de la clorofila, iniciando una cadena de transporte de electrones en la fase lumínica y la consecuente formación de ATP que posteriormente será utilizado en el ciclo de Calvin (Raven & Johnson, 2002; Hill, 1996) y síntesis metabólica en su fase oscura.

4.3.2. Pigmentos y fotosíntesis

Se podría asegurar que los pigmentos fotosintéticos son la base de la vida sobre el planeta. Son sustancias capaces de captar energía lumínica para transformarla en energía química por medio del proceso de fotosíntesis. Sin embargo, la captación de energía para la acción fotosintética no es la única

función que mantienen los pigmentos fotosintéticos. Los diferentes tipos de clorofilas que se dan en los organismos fotosintéticos presentan pequeñas diferencias que marcaron desde su aparición la adaptabilidad para aprovechar la energía lumínica en ambientes muy diferenciados (Manrique, 2003). La gran variedad de sustancias que abarca el concepto de pigmentos, se diferencia en su composición, biogénesis y estructura molecular, y estas diferencias son razón de las diversas propiedades que se le atribuyen.

Los pigmentos fotosintéticos son los encargados de absorción de los fotones de luz y cada variedad posee un pico de absorción específico a una longitud de onda con respecto al espectro de luz visible (Figura. 3). Pigmentos como clorofila a, clorofila b, xantofilas, ficoeritrinas, carotenos, ficocianinas, y aloficocianinas son característicos de los diferentes grupos de microalgas (Raven & Johnson, 2002).

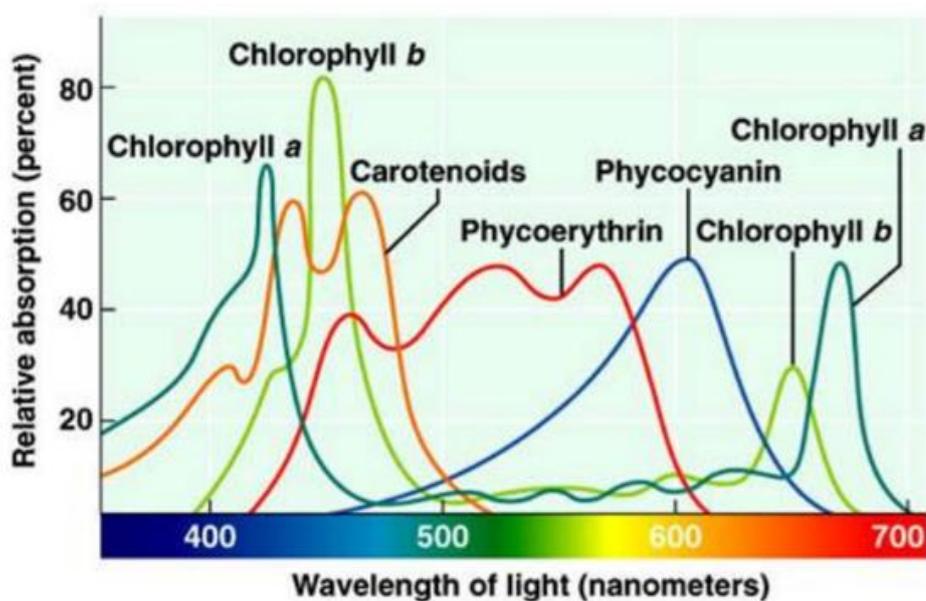


Imagen 3. Pigmentos microalgales y su espectro de absorción

Fuente: (Raven & Johnson, 2002)

4.4. Efectos de los espectros de luz en cultivos microalgales.

La luz que utilizan las microalgas para realizar el proceso de fotosíntesis está comprendida en longitudes de ondas que corresponden al rango de (400-700) nm, rango denominado radiación fotosintéticamente activa (PAR), el cual abarca los espectros de roja (620-700) nm, luz azul (450-475) nm, y verde (529 -497) nm, que se relacionan directamente con el crecimiento microalgal y la síntesis de metabolitos fotosintéticos como lípidos, carbohidratos y proteínas (Garibay, Vázquez, Sanchez, Serrano, & Martinez, 2009) (Hill, 1996).

4.4.1. La luz roja

Estimula la síntesis de proteínas además de provocar una mayor excitación en los electrones de la clorofila incrementando así la actividad fotosintética de los pigmentos relacionados directamente con el crecimiento y desarrollo de las microalgas (Meisel, Urbina, & Pinto, 2011).

4.4.2. La luz azul y verde

Por otro lado, la luz azul y luz verde inducen una mayor síntesis de lípidos y carbohidratos respectivamente. La respuesta a estos estímulos varía de acuerdo a la composición pigmentaria de los diferentes grupos de microalgas (Pérez, J. & Fernández, P, 2011) (Abiusi, 2013) (Fernández, D., Chica, C. & Parra, M, 2013) (Sánchez, M & Voltolina D, 2002) (Tzovenis, I., De Pauw N., & Sorgeloos, P, 2003) (Cañizares, 1994).

4.5. Cultivo de microalgas de interés comercial.

En los últimos años, se han logrado importantes avances con la implementación de microalgas para diversos fines como la salud humana, la cosmetología, prevención y purificación de la contaminación acuática, acuicultura, industrias farmacéuticas, producción de pigmentos naturales, entre otros. Hay constancia

de aproximadamente 493 especies de microalgas que pueden ser utilizadas como alternativas en la alimentación del hombre y otros animales. Debido a la cantidad de aplicaciones que poseen, su uso está proporcionando numerosas líneas de investigación, como por ejemplo, la producción de energía en forma de biocombustibles, producción de sustancias como vitaminas, ácidos grasos, etc.

En relación al medio ambiente, las microalgas pueden utilizarse como biorremediadores que atribuyen fijando el (CO₂) para reducir las emisiones del mismo responsable del efecto invernadero. Los metabolitos que son obtenidos en base al cultivo estos microorganismos, permiten la fabricación de productos para la salud y nutrición como aditivos alimenticios, cosméticos, pigmentos naturales, antioxidantes y biofertilizantes (Santos, 2014) (Fu, 2013).

4.5.1. *Tetraselmis spp*

Tetraselmis spp., corresponde al género de microalgas unicelulares móviles de tonalidad verde debido a la presencia de las clorofilas a y b, esta microalgas es considerada como el flagelado marino más fácil de cultivar en grandes y masivas cantidades y es utilizada como alimento para larvas de crustáceos y moluscos en la acuicultura debido principalmente a su alto valor nutricional (Ulloa, 2011). *Tetraselmis spp.*, posee una forma ovoide, elipsoidal con un tamaño que oscila entre los 8 y 10 micrómetros de diámetro. Algunas presentan una invaginación en la parte anterior de la célula donde se insertan 4 flagelos. En especies de agua dulce se distinguen dos vacuolas contráctiles cerca de la base de los flagelos. La célula presenta un solo cloroplasto con forma de copa con un pirenoide basal y un estigma. El pirenoide puede permanecer ausente independientemente de la especie. Su reproducción asexual se desarrolla por bipartición y su reproducción sexual es desconocida. Aunque *Tetraselmis spp.*, habita generalmente en ambientes marinos, han sido descrita un total de 7 especies de agua dulce (Nakada, 2015) (Guiry, 2016).

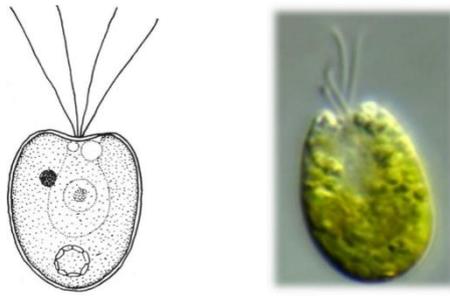


Imagen 4. Vista de flagelos de *Tetraselmis* spp. Escala: 10 μ

Fuente: (Nakada, 2015)

4.5.2. *Rhodomonas* spp

Rhodomonas spp., es una microalga marina biflagelada de coloración rojiza, generalmente ovoide, aplanada dorsiventralmente y carente de pared celular. Su tamaño puede variar entre 10-14 μ m de longitud y 5-7 μ m de ancho (Hill, D. & Wetherbee, R, 1989).

En este grupo de organismos, los pigmentos fotosintéticos principales son clorofila a y clorofila c2, mientras que la clorofila b nunca está presente. Poseen además -caroteno y la xantofila aloxantina, combinados con los pigmentos ficobilínicos: ficoeritrina o ficocianin (Guevara, 2011). Su reproducción es asexual por división mitótica.



Imagen 5. Vista microscópica de *Rhodomonas* Spp

Fuente: Bruey. (2011)

Diatomeas “*Amphora sp*”

Las diatomeas son organismos unicelulares o coloniales (1-500 μm de longitud). Poseen una pared celular rígida de sílice denominada frústula, la cual consta de dos valvas, la epiteca (valva superior) y la hipoteca (valva inferior). Su formación es el resultado del inicio de la valva dentro de una vesícula de deposición de sílice durante la división celular.

Las diatomeas bentónicas pertenecientes al género *Amphora* presentan una movilidad baja debido principalmente a su gran fuerza de adhesión al sustrato en que habitan

La mayor absorción de los carotenoides contenidos por las diatomeas se da en la región verde-amarilla del espectro de luz visible (Arbones, Figueiras, & Zapata, 1996).

4.6. Composición bioquímica de las microalgas

4.6.1. Lípidos

Las grasas son un subgrupo de compuestos conocidos también como lípidos, los cuales pueden ser encontrados en todo tipo de organismo vivo y que poseen como propiedad general ser hidrofóbicos (insolubles en agua). Estos compuestos son también conocidas como triglicéridos, moléculas generadas a partir de la combinación de tres ácidos grasos con una molécula de glicerol (Badui, 2006). Debido a su gran variedad existen algunos inconvenientes al momento de clasificarlos, sin embargo pueden ser separados en tres grandes grupos gracias a su estructura química. (Tabla. 1)

Tabla 1: Principales tipos de lípidos y sus características

Lípidos simples.	•Grasas y aceites: Esteres de glicerol con ácidos monocarboxílicos.
	•Ceras: Ésteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos
Lípidos compuestos.	•Fosfoglicéridos: Ésteres que contienen ácido fosfórico con una base de nitrógeno.
	•Glucolípidos. Compuestos de hidratos de carbono, ácidos grasos y esfingosinol,
	•Lipoproteínas. Integradas por lípidos y proteínas.
Lípidos asociados	•Ácidos grasos (derivados de los lípidos simples).
	•Pigmentos.
	•Vitaminas liposolubles.
	•Esteroles.
	•Hidrocarburos.
	•Lípidos

Las microalgas son reconocidas como un potencial recurso de ácidos grasos que sirven para el cuidado de la salud humana mediante productos como los nutraceuticos. El porcentaje de los lípidos en la composición de las microalgas puede variar independientemente de la especie, sin embargo, un factor de gran importancia son las características fenotípicas y genotípicas además de las condiciones ambientales y de cultivo (Nuzzo, 2013). Su alto valor nutricional también puede ser explotado al ser utilizadas en la alimentación.

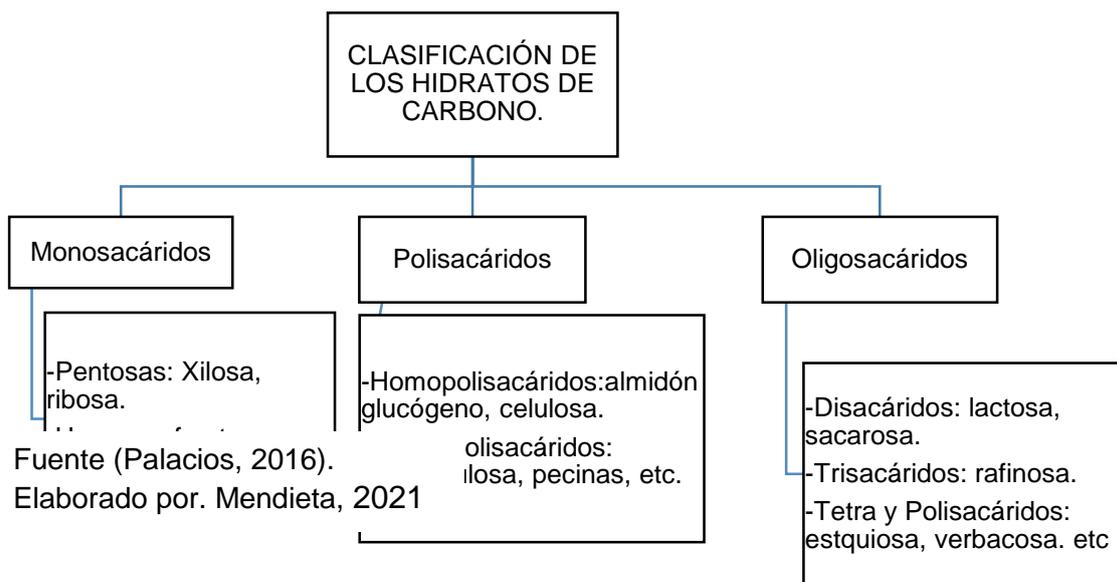
Tabla 2. Concentración de lípidos por célula en diferentes especies de microalgas (Costard, 2012).

Especie	Lípidos (pg/cel)
<i>Tetraselmis suecica</i>	44.56±6.2
<i>Rhodomonas spp</i>	39.2±3.85
<i>Thalassiosira spp</i>	39.6±7.8
<i>Isochrysis galbana</i>	17.04±2.3

4.6.2. Carbohidratos.

Los carbohidratos, como su nombre lo indica, son sustancias orgánicas conformadas por carbono (C), oxígeno (O), e hidrógeno (H), presentando la fórmula general $C_x(H_2O)_n$. Son los principales y más abundantes compuestos orgánicos que se pueden encontrar en la naturaleza, convirtiéndose en la principal fuente de energía para los organismos (Badui, 2006).

Tabla 3: Clasificación de los principales Hidratos de Carbono



Los carbohidratos son el mayor y principal producto derivado de la fotosíntesis y de la fijación del carbono por el metabolismo en el ciclo de Calvin. Estos pueden ser acumulados por las células en los plástidos como sustancias de reserva (almidón) o incorporados como componentes de la pared celular en las microalgas (celulosa, pectina o exopolisacaridos). El metabolismo y composición

de los carbohidratos (almidón y celulosa) difieren significativamente en cada especie (Chen C. Z., 2013)

Géneros de microalgas como *Scenedesmus*, *Chlorella*, *Dunaliella*, y *Chlamydomonas* pueden acumular azúcares como el almidón hasta un 50% de su peso celular seco, por tal razón, estas microalgas son el centro de investigaciones actuales encaminadas al desarrollo de biocombustibles a partir de este tipo de carbohidratos que son el resultado de la fotosíntesis microalgal.

Así como en la síntesis de lípidos y proteínas, las condiciones de cultivo también influyen en la producción de carbohidratos en las células. Se han sugerido numerosas estrategias que implican cambios en factores como luz, pH, suministro de CO₂ y nutrientes. Desafortunadamente la mayoría de investigaciones detallan que las mayores acumulaciones de este metabolito se encuentran en cultivos sometidos a condiciones de estrés ya sea por altas intensidades lumínicas o bajas concentraciones de N, lo cual aminora el crecimiento celular (Chen C. Z., 2013) (Carvalho, 2009) (D'Souza, F. & Kelly, G, 2000).

4.6.3. Proteínas.

Las proteínas son macromoléculas constituidas principalmente de aminoácidos que desempeñan diversas funciones, todas ellas de vital importancia para todo organismo vivo, representando aproximadamente la mitad del peso seco de las células de cualquier organismo (Verdú, 2009).

La composición bioquímica de las microalgas varía indiscriminadamente entre las distintas especies, sin embargo, las proteínas son el mayor constituyente orgánico presente en las células seguidas usualmente por los carbohidratos y los lípidos, expresando esta proporción en porcentaje de peso seco es de: 12-35%, 4.6-23% y 7.223% respectivamente. El contenido proteínico por célula es uno de los factores que más influyen en el momento de la valoración nutricional como alimento y también es el más susceptible a las variaciones en el medio de

cultivo a diferencia de los otros constituyentes celulares (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Los requerimientos nutricionales de animales en el campo de la acuicultura pueden ser sustituidos con la implementación de microalgas en sus dietas. Actualmente el interés de reemplazar suplementos nutricionales sintéticos por fuentes naturales como biomasa microalgal rica en aminoácidos esenciales y proteínas aumenta al igual que sus beneficios, además de otros metabolitos como carbohidratos y lípidos (Brown, 1997) (Guedes, Pinto, & Malcata, 2015) (Lupatsch, 2009).

Tabla 4: Composición de suplementos alimentos y especies de microalgas. “Peso seco”.

	%Proteínas	%Lípidos	%Carbohidratos
Balanceado para pescado	63.0	11.0	-
Alimento para aves	58.0	11.3	-
Soja	44.0	2.2	39.0
Harina de trigo	12.2	2.9	69.0
<i>Tetraselmis</i>	27.2	14.0	45.4
<i>Spirulina</i>	58.0	11.6	10.8
<i>Chlorella</i>	52.0	7.5	24.3

Fuente: Guedes, Pinto, 2015
Elaborado por. Mendieta, 2021

5. METODOLOGÍA

5.1. Tipo de investigación.

Para la realización del presente trabajo investigativo bibliográfico, se aplicó la metodología exploratorio-descriptiva, debido a que se pretende estudiar y analizar un problema, para poder de esta manera describir positivas e importantes propiedades que posteriormente serán analizadas con detenimiento. (Hernandez, 2014) Se aplicó a un tema de biología relacionado al cultivo de microalgas, posteriormente se realizó un respectivo análisis exhaustivo de diferentes artículos científicos basados en metodologías de acondicionamiento de diferentes espectros de luz para la obtención de metabolitos de interés comercial.

5.2. Recopilación de información para las condiciones de cultivo.

Se recopiló de manera sistemática información sobre el cultivo de microalgas marinas de interés comercial con miras en aplicaciones biotecnológicas, basado en metodologías de acondicionamiento de diferentes espectros de luz como la luz incidente durante los cultivos, mediante revisión de datos bibliográficos en repositorios digitales de universidades del País, revistas digitales científicas, informes técnicos, y en bibliotecas virtuales públicas del País.

Se consideraron las investigaciones realizadas durante el periodo 2010-2020 centradas en el estudio fotosintético de microalgas irradiadas con diferentes espectros de luz, por medio de la implementación de palabras claves como “acondicionamiento de luz” o “espectros de luz” al momento de realizar la investigación. Luego de aplicar los criterios de aceptación, se retuvo un total de diez documentos de investigación científica, para para realización del presente trabajo bibliográfico.

5.3. Recopilación de información para la obtención de metabolitos.

Una vez definido y establecido el problema a investigar, la implementación de palabras claves como “acondicionamiento de luz”, “espectros de luz” y “síntesis

de metabolitos” fueron fundamentales en la recopilación bibliográfica para el desarrollo del trabajo presente. Tomando en cuenta la cantidad y calidad de información relevante proveniente de la documentación adquirida, se consideraron las investigaciones que principalmente se basaban en el estudio fotosintético, síntesis y cuantificación de metabolitos “carbohidratos, lípidos y proteínas” como el resultado del proceso fotosintético en microalgas de interés comercial.

5.4. Organización de la información.

La búsqueda bibliográfica fue organizada y analizada, aplicando los criterios de selectividad para de esta manera poder identificar los documentos de mayor relevancia, tomando en cuenta los principales objetivos y el motivo de esta investigación bibliográfica. Teniendo en consideración documentación sobre la variación en el acondicionamiento de la luz incidente dentro de los cultivos de las microalgas *Tetraselmis* y *Rhodomonas* al igual que documentación relevante que se refiera a la síntesis de metabolitos de gran interés “carbohidratos, lípidos y proteínas” productos de la fotosíntesis microalgal, y que pueden ser aplicados en un sinnúmero de industrias debido a los beneficios que se les atribuyen.

Una vez culminada la revisión bibliográfica, los datos recolectados de los diferentes documentos revisados, fueron esquematizados de manera clara y ordenada mediante la implementación de tablas para poder cumplir con el propósito de esta investigación.

5.5. Análisis de la información.

Se realizó un respectivo análisis sobre los principales artículos con las ideas más importantes como en el caso de la tesis de Grado de David Palacios Bohórquez realizada en el año 2016 que trata los aspectos más relevantes para el tema de estudio como lo son las variaciones en los espectros y longitudes de ondas en la incidencia de luz sobre los cultivos de microalgas, de tal manera que el cuerpo de la investigación fue adoptando forma y en conjunto con la lectura de los resúmenes y conclusiones de dichos artículos finalmente se seleccionaron los

de verdadera relevancia para la investigación y de esta manera ceder una mayor concentración a la lectura sobre un menor número de artículos, revistas científicas, tesis de grados ya identificados como los de mayor interés.

6. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

6.1.1 Comparación en la síntesis bioquímica de metabolitos irradiados con los diferentes espectros de luz.

Tabla 5: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional "Blanca" *Tetraselmis* y *Rhodomonas*.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz Blanca (380-700) nm.				
Especie		Cuantificación de la síntesis metabólica		
		Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
<i>Tetraselmis spp.</i>	pg/cel	36.57	6.15	14.02
<i>Rhodomonas spp</i>	pg/celL	30.47	3.22	16.04

En los datos que se pueden apreciar en la tabla 5, se puede notar claramente que los metabolitos producidos en mayor cantidad fueron; lípidos en el cultivo de *Tetraselmis spp*, con un total de 36.57.11 pg/cel y proteínas en el cultivo de *Rhodomonas spp*, con una cantidad de 16.04 pg/cel. Tanto los lípidos como las proteínas fueron sintetizados en mayor cantidad que los carbohidratos en ambos cultivos, Sin embargo, el cultivo de *Tetraselmis spp*, superó al cultivo de *Rhodomonas spp* en la síntesis bioquímica de carbohidratos con el espectro de luz blanca con una longitud de onda entre los (380-700) nm.

Tabla 6: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz Azul *Tetraselmis* y *Rhodomonas*.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz azul (450-500) nm.				
Especie		Cuantificación de la síntesis metabólica		
		Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
<i>Tetraselmis spp.</i>	pg/celL	34.88	11.37	11.38
<i>Rhodomonas spp</i>	pg/celL	23.75	5.82	14.22

En la tabla 6, se puede apreciar, que el metabolito producido en mayor cantidad en los cultivos de *Tetraselmis*, fueron los lípidos con un valor de 34.8 pg/cil, y 23.75 pg/cil en los cultivos de *Rhodomonas*, los carbohidratos tuvieron una mayor participación en los cultivos de *Tetraselmis* con valores de 11.37 a diferencia de los 5.82 pg/cil de *Rhodomonas*, en la síntesis de proteínas no se dio una diferencia significativa.

Tabla 7: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz Roja Tetraselmis y Rhodomonas.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz Roja (610-750) nm.				
Especie		Cuantificación de la síntesis metabólica		
		Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
<i>Tetraselmis spp.</i>	pg/ceL	31.35	8.72	18.36
<i>Rhodomonas spp.</i>	pg/ceL	15.28	4.07	3.79

Como se puede apreciar en la tabla 7, la síntesis de lípidos y proteínas en los cultivos de *Tetraselmis spp.* mostraron una diferencia significativa con respecto al cultivo de *Rhodomonas spp.* debido a que demostraron valores de 31.35 pg/cil y 18.36 pg/cil respectivamente que los diferencia de 15.25 y 3.79 en los cultivos de *Rhodomonas*, sin embargo, los cultivos demostraron una superioridad en la síntesis de carbohidratos con un valor de 8.72 pg/cil para *Tetraselmis spp.* y 4.04 pg/cil para *Rhodomonas spp.* en los cultivos irradiados con el espectro de luz roja con una longitud de onda de (610-750) nm.

Tabla 8: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz Verde en Tetraselmis y Rhodomonas spp.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz Verde (500-570) nm.				
Especie		Cuantificación de la síntesis metabólica		
		Lípidos	carbohidratos	Proteínas
<i>Tetraselmis</i> spp.	pg/celL	77.75	7.33	16.25
<i>Rhodomonas</i> spp	pg/celL	21.09	4.04	20.42

Los cultivos irradiados con el espectro de luz verde con una longitud de onda de (500-570) nm, mostraron valores sobresalientes en la síntesis de lípidos en el cultivo de *Tetraselmis spp* con valores de 77.75 pg/cil. Se debe resaltar que la producción de proteínas fue superior en el cultivo de *Rhodomonas spp* con un valor de 20.42 pg/cil por encima del 16.25 pg/cil en la síntesis proteica de *Tetraselmis spp*.

Tabla 9: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional "Blanco" en *Amphora sp*.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz Blanca (500-550) nm.				
Especie		Cuantificación de la síntesis metabólica		
		Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
<i>Amphora spp.</i>	pg/cel	19.012	2.50	51.089

Como indica la Tabla 9, se puede apreciar que el metabolito producido los cultivos de *Amphora* sp en mayor cantidad corresponde a las Proteínas con un valor de 51.08 pg/cel, seguido de los lípidos y carbohidratos con valores de 19.01 y 2.5 pg/cel, con respecto a la síntesis bioquímica empleando el espectro de luz convencional “Blanco”.

Tabla 10: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional “Azul” en *Amphora* sp.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz Azul (450-500) nm.				
Especie		Cuantificación de la síntesis metabólica		
		Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
<i>Amphora spp.</i>	pg/cel	5.50	1.77	39.1

En los datos que se pueden apreciar en la tabla 10, se puede notar claramente que los metabolitos producidos en mayor cantidad fueron; proteínas en el cultivo de *Amphora* spp, con un total de 39.1 pg/cel. Tanto los lípidos como los carbohidratos fueron sintetizados en menor cantidad que las proteínas en los cultivos de *Amphora* spp empleando es espectro de luz azul con una longitud de onda entre los (450-500) nm.

Tabla 11: Comparación en la síntesis bioquímica en cultivos irradiados con el espectro de luz convencional “verde” en *Amphora* sp.

Cultivos de microalgas irradiados con el espectro de luz Verde (510-550) nm.	
Especie	Cuantificación de la síntesis metabólica

		Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
<i>Amphora spp.</i>	pg/cel	13.05	2.70	27.170

Como se puede apreciar en la tabla 11, en los cultivos irradiados con el espectro de luz verde, las proteínas mostraron los niveles más altos en comparación a los lípidos y carbohidratos, con valores de 27.17, 13.05 y 2.7 pg/cel respectivamente.

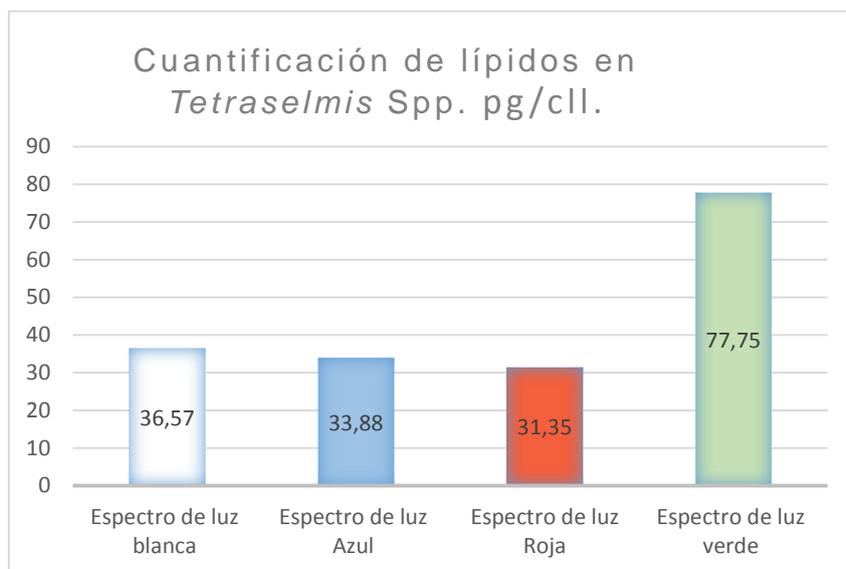


Gráfico 1. Comparación en la síntesis lipídica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Tetraselmis spp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

Al realizar una comparación entre la síntesis de lípidos sobre los cultivos irradiados con los diferentes espectros de luz y longitudes de onda, se puede apreciar que la mayor producción lipídica tuvo lugar en el cultivo irradiado con el espectro de luz verde con un total de 77.75 pg/cll, seguidos del cultivo irradiado con el espectro de luz blanco con 36.57 µg/ml. Sin embargo, vale mencionar que los espectros de luz blanco, azul y rojo no mostraron diferencia significativa en la síntesis lipídica.

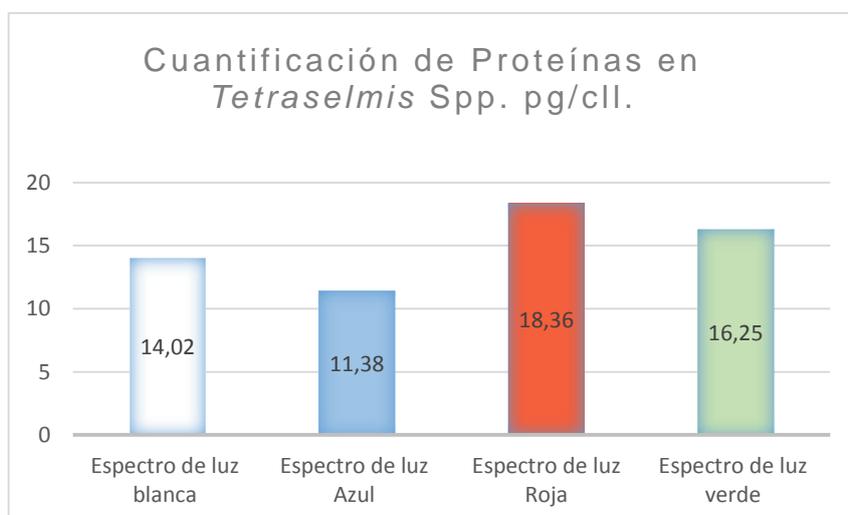


Gráfico 2. Comparación en la síntesis Proteica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de Tetraselmis spp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

Como indica la gráfica 2, la mayor productividad de proteínas se dio en el cultivo irradiado con el espectro de luz roja con un resultado de 18.36 pg/cll, a diferencia de los cultivos irradiados los espectros verde y blanco con 16.25 pg/clll y 14.02 pg/cll respectivamente para cada espectro, el espectro de luz azul fue quien demostró menor productividad en la síntesis de proteínas con un valor de 11.38 pg/cll,

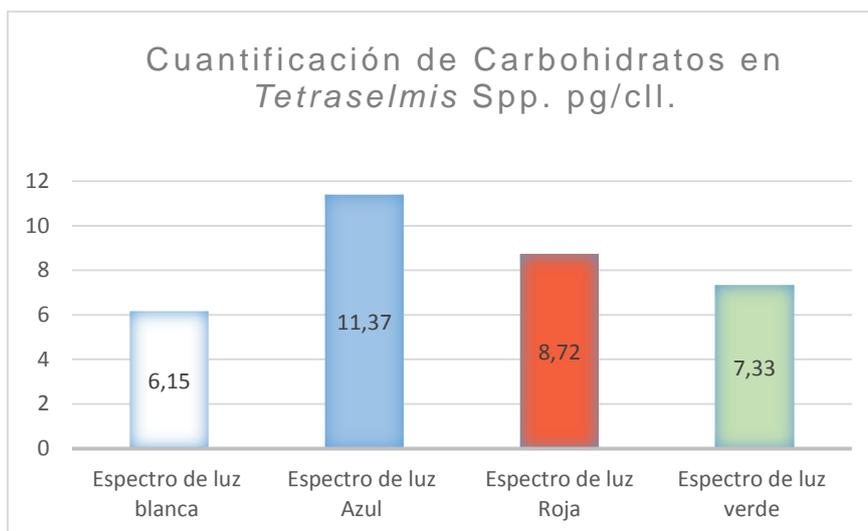


Gráfico 3. Comparación en la síntesis de carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Tetraselmis* spp.

Elaborador por: Mendieta, 2021.

En la gráfica 3, se puede apreciar que la mayor productividad de carbohidratos tuvo lugar en el cultivo irradiado con el espectro de luz azul con un total de 11.37 pg/cll, los niveles más bajos se dieron en los cultivos irradiados con los espectro de luz roja, verde y blanca con niveles de 8.72 pg/cll, 7.33 pg/cll y 6.15 pg/cll respectivamente para cada uno, cabe mencionar que el espectro de luz azul demuestra una diferencia significativa de casi el doble del total en la síntesis bioquímica de lípidos utilizando el espectro convencional.

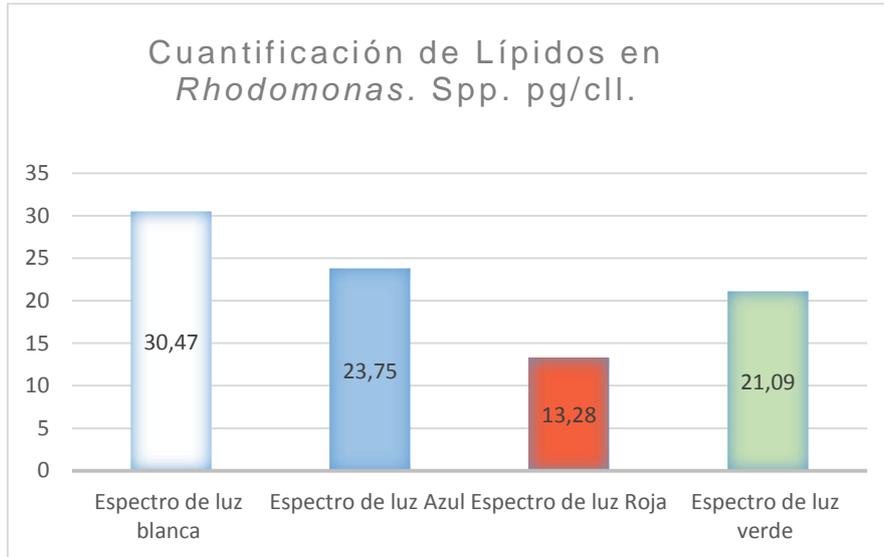


Gráfico 4. Comparación en la síntesis lipídica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Rhodomonas* spp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

En la gráfica 4, se puede apreciar que dentro de los cultivos *Rhodomonas* spp la mayor productividad lipídica se dio en los cultivos de irradiados con los espectros de luz blanco y azul con unos valores de 30.47 pg/cll y 23.75 pg/cll respectivamente. A diferencia de los cultivos de *Tetraselmis* spp en los que la mayor productividad lipídica se dio en cultivos irradiados con el espectro de luz verde, en los cultivos de *Rhodomonas*, el espectro de luz roja tuvo la menor productividad en la síntesis de lípidos con un valor de 13.28 pg/cll.

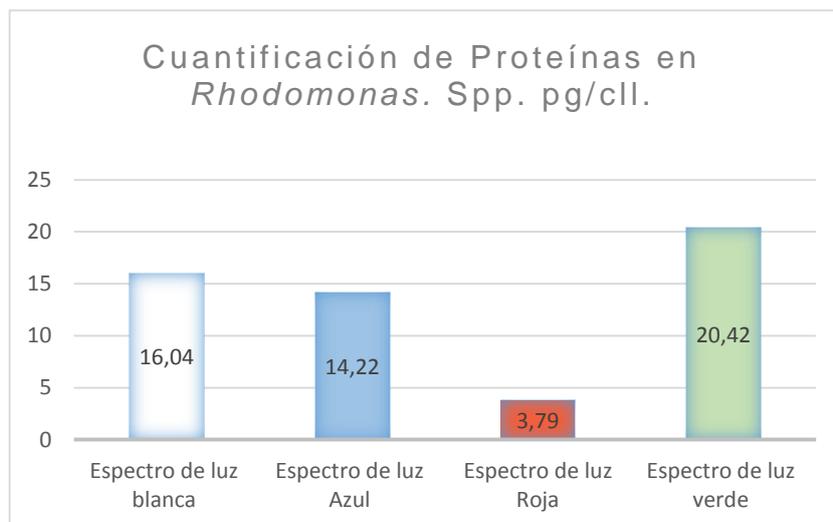


Gráfico 5. Comparación en la síntesis Proteica con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Rhodomonas* spp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

En la gráfica 5, se puede apreciar que en los cultivos de *Rhodomonas*, la mayor productividad en la síntesis proteica tuvo lugar en los cultivos irradiados con el espectro de luz verde con valores de 20.42 pg/cil, seguido de los espectros de luz blanca y azul con 16.04 y 14.22 pg/cil sin mostrar diferencia significativa entre ambos. Sin embargo, los cultivos irradiados con el espectro de luz roja mostraron los valores más bajos (3.79pg/cil) en la síntesis de éste metabolito a diferencia del efecto que tuvo en los cultivos de *Tetraselmis* puesto que mostró los niveles más altos en relación con los otros espectros, indicando que existe una clara diferencia en la fisiología de cada especie.

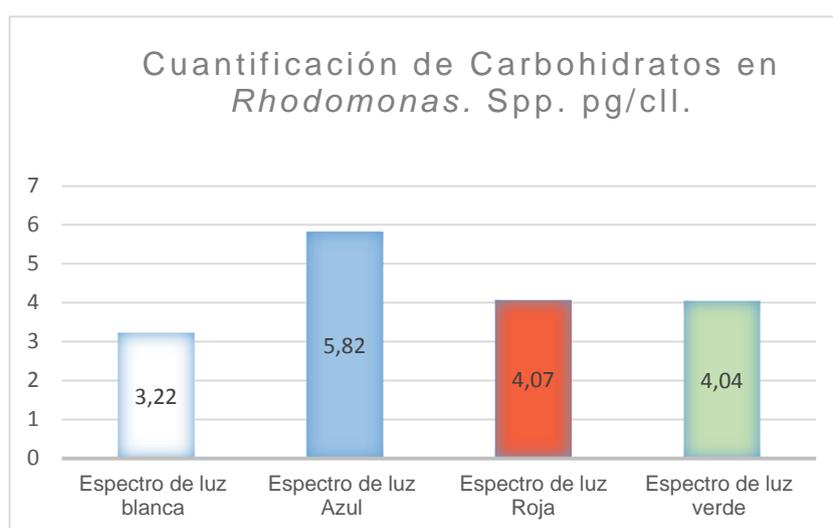


Gráfico 6. Comparación en la síntesis de Carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Rhodomonas* spp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

En la gráfica 6, se puede apreciar que la mayor productividad de carbohidratos se dio en los cultivos irradiados con el espectro de luz azul con un valor de 5.82 pg/cil y seguido de los espectros de luz rojo, verde y blanca con valores de 4.07, 4.04, y 3.22 pg/cil respectivamente sin mostrar una diferencia significativa en su producción. A diferencia de lo otros metabolitos, la síntesis de carbohidratos en los cultivos de *Rhodomonas* spp, no mostraron diferencia significativa puesto que sus valores no varían mucho entre sí.

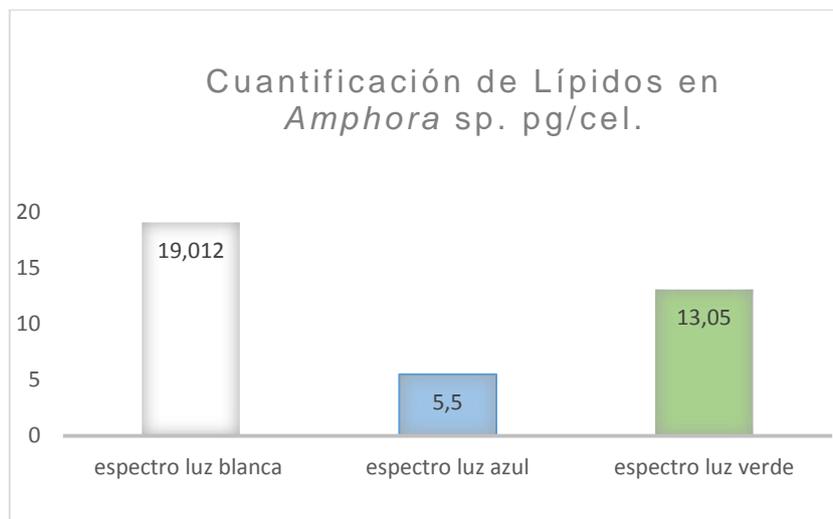


Gráfico 7. Comparación en la síntesis de Lípidos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Amphora* sp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

Al realizar una comparación entre la síntesis de lípidos sobre los cultivos irradiados con los diferentes espectros de luz y longitudes de onda, se puede apreciar que la mayor producción lipídica tuvo lugar en el cultivo irradiado con el espectro de luz blanco con un total de 19.012 pg/cell, seguido del cultivo irradiado con el espectro de luz verde con 13.05 pg/cell. Sin embargo, vale mencionar que los espectros de luz blanca, verde, superaron notoriamente los 5.5 pg/cel del espectro de luz azul en la síntesis lipídica de *Amphora* spp.

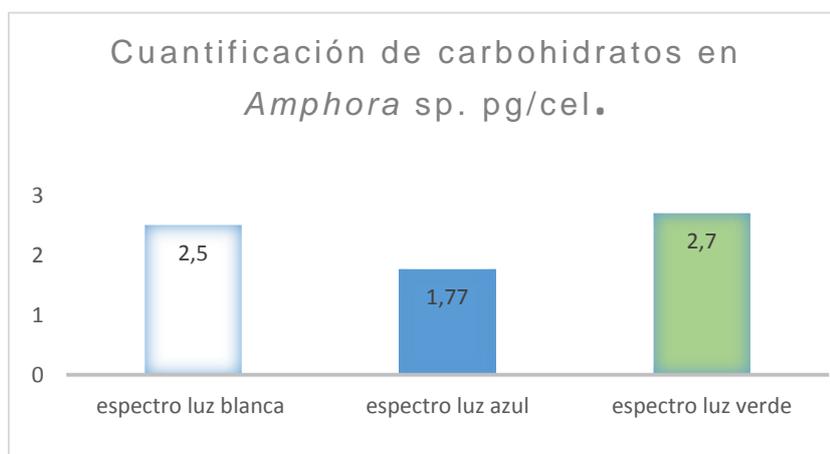


Gráfico 8. Comparación en la síntesis de Carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Amphora* sp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

En la gráfica 8, se puede apreciar que la mayor productividad de carbohidratos tuvo lugar en el cultivo irradiado con el espectro de luz verde con un total de 2.70 pg/cel, los niveles más bajos se dieron en los cultivos irradiados con los espectro de luz blanca y azul, con niveles de 2.5 pg/cel, y 1.77 pg/cel respectivamente para cada uno, cabe mencionar que la síntesis de carbohidratos irradiados con los diferencias espectros de luz no mostraron diferencias significativas.

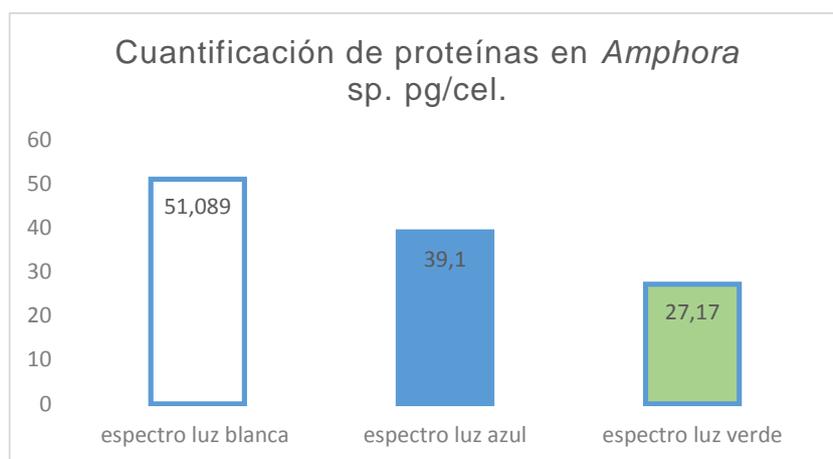


Gráfico 9. Comparación en la síntesis de Carbohidratos con los diferentes espectros de luz, en cultivos de *Amphora* sp

Elaborador por: Mendieta, 2021.

Como indica la gráfica 9, la mayor productividad de proteínas se dio en el cultivo irradiado con el espectro de luz blanca con un resultado de 51.089 pg/cel, a diferencia de los cultivos irradiados los espectros azul y verde con 39.1 pg/cel y 27.17 pg/cel respectivamente para cada espectro.

6.1.2

Descripción y análisis del crecimiento en los cultivos de *Tetraselmis* spp, *Rhodomonas* spp y *Amphora* sp bajo el efecto de los diferentes espectros de luz.

Durante el acondicionamiento y la implementación de esta metodología que consiste en la variación de los espectros de luz durante los cultivos, es importante mencionar que cada espectro de luz no tuvo el mismo efecto en las tres microalgas, tomando como ejemplo el caso del espectro de luz azul (Tabla 6), el cual en los cultivos de *Tetraselmis* spp mostró valores por encima de los que señaló el cultivo irradiado con luz blanca (Tabla 5)) únicamente en la síntesis de carbohidratos, al igual que sucedió en *Rhodomonas*. En cambio, en el caso de *Amphora*, el espectro de luz azul no tuvo efecto positivo en ninguno de los metabolitos.

Según esto, lo que indica (Palacios, 2016), la síntesis bioquímica en los cultivos de *Tetraselmis* spp, al realizar la cuantificación por espectrofotometría (Anexo 2) es superior a la síntesis convencional utilizando el espectro de luz blanca en la síntesis lipídica. Por tal razón es el acondicionamiento ideal para una mayor productividad lipídica en la microalga *Tetraselmis*. Aunque, la producción de proteínas fue superior en el cultivo irradiado con el espectro de luz roja (Gráfica 2).

En los cultivos de *Rhodomonas* spp, la mayor síntesis lipídica se produjo en los cultivos irradiados con los espectro de luz blanco mostrando ser el acondicionamiento óptimo (Gráfico 4), en la síntesis proteica, los mejores resultados se obtuvieron en los cultivos irradiados con el espectro verde, muy por encima del cultivo con el espectro de luz blanco como se indica en la (gráfica 5), en relación a la cuantificación de carbohidratos (Gráfica 6) los resultados indican que la producción de carbohidratos se beneficia con el espectro de luz azul a diferencias del espectro blanco según los resultados obtenidos mediante la implementación del (Bligh y Dyer, 1976) para la cuantificación de metabolitos por espectrofotometría.

El espectro de luz verde favoreció la síntesis de carbohidratos en los cultivos de *Amphora* sp (Romero, 2015). Indicando ser la mejor opción para una mayor obtención de carbohidratos en los cultivos de *Amphora* sp. Los cultivos irradiados

con el espectro de luz convencional fue superior en los metabolitos proteínas y lípidos.

A continuación se describe un protocolo de cultivo de *Tetraselmis* spp, adaptado de Palacios 2016 para la obtención de una mayor productividad en la síntesis bioquímica de Metabolitos “lípidos, carbohidratos y proteínas”.

	Lípidos	Proteínas	Carbohidratos
Medio de cultivo.	(Guillard) f/2	(Guillard) f/2	(Guillard) f/2
pH.	8±0.5	8±0.5	8±0.5
Salinidad.	35-37 Ups	35-37 Ups	35-37 Ups
Temperatura.	25°C ± 2°C	25°C ± 2°C	25°C ± 2°C
Emisor de luz	LED	LED	LED
Espectro de luz.	VERDE	Rojo	Azul
Longitud de onda.	(500-570) nm.	(610-750) nm	(450-500) nm.
Aireación	constante	constante	constante
Fotoperiodo	12-12	12-12	12-12

A continuación se describe un protocolo de cultivo de *Rhodomonas* spp, adaptado de Palacios 2016 para la obtención de una mayor productividad en la síntesis bioquímica de Metabolitos “lípidos, carbohidratos y proteínas”.

	Lípidos	Proteínas	Carbohidratos
Medio de cultivo.	(Guillard) f/2	(Guillard) f/2	(Guillard) f/2
pH.	8±0.5	8±0.5	8±0.5
Salinidad.	34-35 Ups	34-35 Ups	34-35 Ups
Temperatura.	25°C ± 2°C	25°C ± 2°C	25°C ± 2°C
Emisor de luz	LED	LED	LED
Espectro de luz.	BLANCO	VERDE	AZUL
Longitud de onda.	(380-750) nm.	(500-570) nm.	(450-500) nm.
Aireación	constante	constante	constante
Fotoperiodo	12-12	12-12	12-12

A continuación se describe un protocolo de cultivo de *Amphora* sp, adaptado de Romero 2015 para la obtención de una mayor productividad en la síntesis bioquímica de Metabolitos “lípidos, carbohidratos y proteínas

	Lípidos	Carbohidratos	Proteínas
Medio de cultivo.	(Guillard) f/2	(Guillard) f/2	(Guillard) f/2
pH.	7.5-9	7.5-9	7.5-9
Salinidad.	32-34 Ups	32-34 Ups	32-34 Ups
Temperatura.	20°C ± 1°C	20°C ± 1°C	20°C ± 1°C
Emisor de luz	LED	LED	LED
Espectro de luz.	Blanco	Verde	Blanco
Longitud de onda.	(500-550) nm.	(510-550) nm.	(500-550) nm.
Aireación	constante	constante	constante
Fotoperiodo	12-12	12-12	12-12

6.1.3 Análisis de los principales métodos aplicados en la extracción y cuantificación de metabolitos.

Metabolitos	Método de extracción	Método de cuantificación
Proteína	Protocolo de Bradford (1976)	Ensayo de Bradford (colorimétricos)
Lípidos	Bligh y Dyer (1959)	Espectrofotometría
Carbohidratos	Fenol-ácido sulfúrico (Dubois (1956)	Espectrofotometría. (colorimétricos)
Clorofila a	Acetona:metanol 2:1	Espectrofotometría.
Carotenoides	Acetona:metanol 2:1	Espectrofotometría.

Metabolitos	Método de extracción	Método de cuantificación
Proteína	Correa-Reyes (2001)	Método de Lowry et al. (1951)
Lípidos	Bligh y Dyer (1959)	Pande et al. (1963).
Carbohidratos	Dubois et al. (1956) y Malara y Charra (1972b)	Whyte (1987)
Clorofila a	Acetona al 90%	Parsons et al. (1984).
Carotenoides	Acetona al 90%	Parsons et al. (1984).

De las diferentes metodologías que existen para la extracción de metabolitos, los más utilizados son: el método de (Bligh y Dyer) para la cuantificación de lípidos, y para la cuantificación de carbohidratos el método más empleado es el que propone Dubois en el año 1956, la cuantificación de estos metabolitos utilizando estas metodologías, puede verse facilitada con el método de cuantificación por Espectrofotometría al ser un método que tiene una mayor utilización en la actualidad.

Para la extracción de proteínas, sin lugar a dudas es el que proponen Correa y Reyes en el año 2001, puesto que tiene una mayor aceptación en la extracción de proteínas mejorando así la cuantificación empleando el método de Lowry de 1951.

7. CONCLUSIONES

Es evidente que es posible modificar de manera positiva el efecto en la síntesis bioquímica. La mayor productividad en la síntesis lipídica (77.75 pg/cel), se dio en los cultivos de *Tetraselmis* spp, irradiados con el espectro de luz verde. En relación a los carbohidratos, el espectro de luz azul fue quién mostró los mejores resultados (11.37 pg/cel) en los cultivos de *Tetraselmis* spp. Sin embargo, la síntesis de proteínas se vio favorecida en los cultivos de *Rhodomonas* spp irradiados con el espectro de luz verde (20.42 pg/cel).

La respuesta al estímulo de los espectros de luz con respecto a la composición pigmentaria de los diferentes grupos microalgales, es determinante en el crecimiento y síntesis bioquímica que se diferencia entre estas dos distintas especies de microalgas. Para el caso de *Tetraselmis* spp, las mayores densidades de crecimiento (1.3×10^6 cel/ml y 1.1×10^6 cel/ml) se obtuvieron en los tratamiento azul y rojo respectivamente. En *Rhodomonas* spp, el acondicionamiento de los espectros de luz no tuvieron diferencia significativa con respecto al cultivo convencional con luz blanca, donde la máxima densidad celular se obtuvo con el espectro de luz verde 2.2×10^6 cel/ml, indicando la importancia de conocer la fisiología de cada microalga.

Los principales métodos para la extracción de metabolitos en los cultivos de microalgas son el método de (Bling y Dyer) para la cuantificación de lípidos, y para la cuantificación de carbohidratos el método que propone Dubois en el año 1956, la cuantificación de estos metabolitos utilizando estas metodología, puede ver facilitada con el método de cuantificación por Espectrofotometría al ser un método que tiene una mayor aceptación en la actualidad. Para la extracción de proteínas, el método que proponen Correa y Reyes en el año 2001 tiene una mayor aceptación en la extracción de proteínas mejorando así la cuantificación empleando el método de Lowry de 1951.

La síntesis de proteínas, dentro de los cultivos de *Amphora* sp mostró valores de (51.89 pg/cel) con el espectro de luz blanca, siendo superior a la síntesis proteica de *Tetraselmis* y *Rhodomonas*, sin embargo, el cultivo de *Tetraselmis* mostró la mayo productividad lipídica con la luz verde, y *Rhodomonas* con la luz azul la mayor síntesis de carbohidratos.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abiusi, F. S. (2013). Photosynthetic Efficiency and Biochemical Composition of *Tetraselmis suecica* F&M-M33 Grown with LEDs of Different Colors. En *Biotechnology and Bioengineering* (Vol. 11). doi:10.1002/bit.25014
- Arbones, B., Figueiras, F., & Zapata, M. (1996). Determinación del coeficiente de absorción de fitoplancton en muestras de agua de mar natural: evidencia de una ecuación única para corregir la amplificación de la trayectoria en filtros de fibra de vidrio. *Marine Ecology Progress Series*, 137: 293 – 304.
- Badui, S. (2006). Lípidos . En *Química de los alimentos* (págs. 245-297). México: Pearson Educación.
- Brown, M. J. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. En *Aquaculture* 151. doi:10.1016/S0044-8486(96)01501-3
- Cañizares, R. C. (Septiembre de 1994). Las microalgas en la acuicultura. *Cuadernos sobre Biotecnología*, 1-50.
- Carvalho, A. M. (2009). Simultaneous effect of irradiance and temperature on biochemical composition of the microalga *Pavlova lutheri*. *Phycol.* doi:10.1007/s10811-009-9415-z
- Chee, T. M. (2014). *Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths* (Vol. 162). doi::10.1016/j.biortech.2014.03.113
- Chen, C. Z. (2013). Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal.*, 78, 1-10. doi:10.1016/j.bej.2013.03.006
- Chen, J. (5 de Octubre de 2018). *Conceptos básicos de la fotosíntesis*. Obtenido de PROMIX: <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/conceptos-basicos-de-la-fotosintesis/>

- Chen, J. (5 de Octubre de 2018). *Conceptos básicos de la fotosíntesis*. Obtenido de PROMIX: <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/conceptos-basicos-de-la-fotosintesis/>
- Chisti, Y. (2017). Biodiesel from microalgae. En *Biotechnology Advances Vol25* (págs. 294-306). Elsevier Inc. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- Costard, G. M. (2012). Chemical composition of five marine microalgae that occur on the Brazilian coast. En *International Journal of Fisheries and Aquaculture* (Vol. 4, págs. 191-201).
- D'Souza, F. & Kelly, G. (2000). Effects of a diet of a nitrogen-limited alga (*Tetraselmis suecica*) on growth survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*) larvae. *Aquaculture*, 181, 311-329. doi:10.1016/S0044-8486(99)00231-8
- Fernández, D., Chica, C. & Parra, M. (Junio de 2013). Obtención de ácidos grasos a partir de biomasa microalgal cultivada bajo diferentes condiciones de iluminación. *Revista Elementos*(3), 163-174. doi:10.15765/e.v3i3.418
- Fu, W. G. (2013). Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. En *Appl Microbiol Biotechnol* (Vol. 97, págs. 2395-240). doi:10.1007/s00253-012-4502-5
- Garibay, A. V. (2009). Biodiesel a partir de microalgas. En *BioTecnología. Vol 13. N°3.* (págs. 38-61).
- Garibay, A., Vázquez, R., Sanchez, M., Serrano, L., & Martinez, A. (2009). Biodiesel a partir de microalgas. 38-61.
- Guedes, A., Pinto, I., & Malcata, F. (2015). Application of Microalgae Protein to Aquafeed. En *Handbook of Marine Microalgae* (págs. 93-124). Busan: Blotechnology Advances.
- Guevara, M. (2011). Optimización de las condiciones de cultivo y mejoramiento *Rhodomonas salina*. *Tesis de doctorado*.

- Guiry, M. &. (23 de Mayo de 2016). *AlgaeBase*. Obtenido de World-wide electronic publication, National University of Ireland : <http://www.algaebase.org>
- Hernandez, R. S. (2014). *Metodología de la investigación*. México.
- Hill, D. & Wetherbee, R. (1989). A reappraisal of the genus *Rhodomonas*. En *Phycologia* 28 (págs. 143- 158). doi:10.2216/i0031-8884-28-2-
- Hill, W. (1996). Algal ecology: freshwater benthic ecosystems. En U. A. Press (Ed.), *Effects of light* (págs. 121-148). USA. doi:10.1016/B978-012668450-6/50034-5
- Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO(361)*, 295.
- Lupatsch, I. (2009). Quantifying nutritional requirements in aquaculture the factorial approach. En G. A. Burnell (Ed.), *New Technologies in Aquaculture: Improving Production Efficiency* (págs. 417-439). Cambridge.
- Manrique, E. R. (Enero de 2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistema-Revista científica y medio ambiente*, 12(1). doi:<https://doi.org/10.7818/ECOS.250>
- Meisel, L., Urbina, D., & Pinto, M. (2011). Fotorreceptores y Respuestas de Plantas a Señales Lumínicas. 1-10. Obtenido de <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Fotorreceptores%20y%20Respuestas%20de%20Plantas%20a%20Se%C3%B1ales%20Lum%C3%ADnicas.pdf>
- Nakada, T. &. (2015). Flagellate Green Algae. En R. G. John D. Wehr, *Ecology and Classification* (págs. 265-313). Aquatic Ecology. doi:10.1016/B978-0-12-385876-4.00006-2
- Nuzzo, G. G. (2013). Composition and Quantitation of Microalgal Lipids by ERETIC 1H NMR Method. doi:10.3390/md11103742

Palacios, D. (2016). Obtenido de file:///C:/Users/usuario/Desktop/documentos%20para%20la%20elaboraci%C3%B3n%20de%20la%20tesis%20del%20bello%20Andr%C3%A9s/TESIS%20David%20Palacios%20Bohorquez%20EFECTO%20DE%20LOS%20ESPECTROS%20DE%20LUZ%20AZUL,%20ROJA%20Y%20VERDE%20EN%20LA.pdf

Palacios, D. (2016). Efecto de los espectros de luz, azul, roja y verde en la multiplicación celular y síntesis bioquímica de *Rhodomonas* spp y *Tetraselmis* spp, en condiciones in vitro. (*Tesis de Grado*). UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, Guayaquil.

Pérez, A. & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173.

Pérez, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173.

Pérez, J. & Fernández, P. (2011). Synthesis of neutral lipids in *Chlorella* spp., under different light and carbonate conditions. En *Ciencia, Tecnología y Futuro* (Vol. 4).

Pérez, J., & Fernández, P. (2011). Synthesis of neutral lipids in *Chlorella* spp., under different light and carbonate conditions. En *Ciencia, Tecnología y Futuro* (Vol. 4).

Raffino, M. E. (11 de agosto de 2020). *Concepto.de*. Obtenido de <https://concepto.de/fotosintesis/>

Raven, P., & Johnson, G. (2002). Photosynthesis. En *Biology, 6th Edition*. (págs. 183-204). Boston USA: Published by McGraw-Hill.

Sánchez, M & Voltolina D. (2002). Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures. En *Ciencias Marinas* (Vol. 28, págs. 273-279).

Santos, M. G. (2014). Uso y aplicaciones potenciales. En *Anales de Mecánica y Electricidad* (págs. 20-28).

- Tremblaya, R. C. (2007). Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus*. *Aquaculture*, 262, 410-418. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.10.009
- Tzovenis, I., De Pauw N., & Sorgeloos, P. (2003). Optimization of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids I. Effect of different light regimes on growth and biomass production. En *Aquaculture 2003* (págs. 216-222). doi:10.1016/S0044-8486(02)00374-5
- Ulloa, R. (2011). Inducción de productos bioactivos en la microalga marina *Tetraselmis suecica*. *Tesis de doctorado*. España .
- Verdú, J. &. (2009). Proteínas. *Nutricion y Alimentacion Huamana*, 96-111.

9. ANEXOS

Anexo 1. Condiciones de cultivo reportados para el crecimiento de *Tetraselmis Spp* y *Rhodomonas Spp*.

Especie	Medios de cultivo	Condiciones de cultivo			Concentración celular (cel/mL)		Tipo de fuente de luz.	Espectros de luz (Longitud de onda)				Ref.
		pH	Salinidad UPS	Temperatura	Siembra	Cosecha		Blanca (nm)	Azul (nm)	Verde (nm)	Roja (nm)	
<i>Tetraselmis spp</i>	(Guillard) f/2	8±0.5	35-37	25°C ± 2°C	8,0 x 10 ⁴	9.5×10 ⁵	LED	380-750	450-500	500-570	610-750	(Palacios, 2016)
<i>Rhodomonas spp.</i>	(Guillard) f/2	8±0.5	34-35	25°C ± 2°C	8,0 x 10 ⁴	8.1×10 ⁵	LED	380-750	450-500	500-570	610-750	(Palacios, 2016)

Fuente: Palacios, 2016.

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 2. Metodología para el análisis de metabolitos en cultivos de las microalgas *Tetraselmis* spp y *Rhodomonas* spp

Metabolitos	Método de extracción	Método de cuantificación	Observaciones	Referencia
Proteína	Protocolo de Bradford (1976)	Ensayo de Bradford (colorimétricos)	<ul style="list-style-type: none"> Presenta una desventaja como la limitación a la cantidad de proteínas 	Recomendaciones de Bradford (1976). (Palacios, 2016) Arredondo, Esquivel y Voltolina (2007).
Lípidos	Bligh y Dyer (1959)	Espectrofotometría	<ul style="list-style-type: none"> Se basa en la homogenización de muestras húmedas a través del uso de solventes. 	(Palacios, 2016) Bligh y Dyer (1959)
Carbohidratos	fenol-ácido sulfúrico (Dubois (1956)	Espectrofotometría. (colorimétricos)	<ul style="list-style-type: none"> Se fundamenta en la hidrolisis de enlace glucosídicos mediante el H₂SO₄ y la reacción del fenol. 	Dubois et al. (1956). (Palacios, 2016)
Clorofila a	Acetona:metanol 2:1	Espectrofotometría.	<ul style="list-style-type: none"> Uso de en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10vis. 	(Palacios, 2016) (Morales, 2012)
Carotenoides	Acetona:metanol 2:1	Espectrofotometría.	<ul style="list-style-type: none"> Uso de en un espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10vis. 	(Palacios, 2016) (Morales, 2012)

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 3. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz convencional “Blanco”.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).						Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Clorofila b	Carotenoides	
<i>Tetraselmis spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	24.11 \pm 11.1 ^a	11.73 \pm 1.6 ^a	5.77 \pm 0.5 ^a	1.40 \pm 0.2 ^a	0.92 \pm 0.2 ^a	0.68 \pm 0.0 ^{ab}	(Palacios, 2016)
	pg/cel	36.57 \pm 11.5 ^a	14.02 \pm 2.0 ^a	6.15 \pm 0.5 ^a	1.82 \pm 0.5 ^a	1.19 \pm 0.4 ^b	0.68 \pm 0.0 ^a	
<i>Rhodomonas spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	30.47 \pm 8.25 ^a	31.27 \pm 2.6 ^b	6.55 \pm 1.06 ^a	2.82 \pm 0.07 ^b	0.70 \pm 0.06 ^b	1.1 \pm 0.06 ^a	(Palacios, 2016)
	pg/cel	30.47 \pm 8.25 ^a	16.04 \pm 1.19 ^a	3.22 \pm 0.55 ^a	1.47 \pm 0.07 ^a	0.39 \pm 0.04 ^a	0.56 \pm 0.06 ^b	

Fuente: Palacios, 2016.

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 4. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Azul.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).						Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Clorofila b	Carotenoides	
<i>Tetraselmis spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	41.88 \pm 11.8 ^a	13.65 \pm 1.6 ^a	14.25 \pm 1.3 ^a	1.13 \pm 0.1 ^a	0.64 \pm 0.1 ^a	0.61 \pm 0.0 ^a	(Palacios, 2016)
	pg/cel	34.88 \pm 9.48 ^a	11.37 \pm 1.3 ^b	11.38 \pm 1.1 ^a	0.9 \pm 0.1 ^b	0.54 \pm 0.0 ^a	0.51 \pm 0.1 ^b	
<i>Rhodomonas spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	27.71 \pm 5.06 ^a	12.08 \pm 1 ^a	4.50 \pm 1.06 ^a	1.24 \pm 0.04 ^b	0.41 \pm 0.04 ^b	0.50 \pm 0.04 ^b	(Palacios, 2016)
	pg/cel	23.75 \pm 5.26 ^a	14.22 \pm 1.49 ^a	5.82 \pm 1.1 ^a	1.85 \pm 0.04 ^a	0.61 \pm 0.04 ^a	0.75 \pm 0.04 ^a	

Fuente: Palacios, 2016.

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 5. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Rojo.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).						Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Clorofila b	Carotenoides	
<i>Tetraselmis spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	31.35 \pm 5.0 ^a	18.88 \pm 2.0 ^b	8.94 \pm 0.8 ^a	1.56 \pm 0.2 ^b	1.09 \pm 0.2 ^a	0.92 \pm 0.1 ^d	(Palacios, 2016)
	pg/cel	31.35 \pm 5.0 ^a	18.36 \pm 2.2 ^c	8.72 \pm 0.8	1.51 \pm 0.1 ^a	1.06 \pm 0.2 ^{abc}	0.89 \pm 0.1 ^a	
<i>Rhodomonas spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	27.51 \pm 4.56 ^a	7.10 \pm 1.81 ^a	6.64 \pm 1.0 ^a	2.64 \pm 0.26 ^a	0.70 \pm 0.20 ^a	1.10 \pm 0.26 ^a	(Palacios, 2016)
	pg/cel	15.28 \pm 3.80 ^a	3.79 \pm 0.87 ^d	4.07 \pm 0.91 ^a	1.46 \pm 0.20 ^a	0.42 \pm 0.20 ^a	0.60 \pm 0.19 ^{ab}	

Fuente: Palacios, 2016.

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 6. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Verde.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).						Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Clorofila b	Carotenoides	
<i>Tetraselmis spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	35.74 \pm 8.2 ^a	9.63 \pm 0.6 ^c	3.90 \pm 0.4 ^a	1.02 \pm 0.3 ^c	0.63 \pm 0.1 ^c	0.45 \pm 0.1 ^{ac}	(Palacios, 2016)
	pg/cel	77.75 \pm 12.6 ^a	16.25 \pm 1.3 ^a	7.33 \pm 1.3 ^a	2.01 \pm 0.6 ^c	1.28 \pm 0.3 ^c	0.92 \pm 0.2 ^a	
<i>Rhodomonas spp.</i>	$\mu\text{g/mL}$	30.75 \pm 9.21 ^a	28.31 \pm 1.90 ^b	5.55 \pm 0.52 ^a	2.18 \pm .14 ^{ab}	0.58 \pm 0.14 ^{ab}	0.81 \pm 0.14 ^{ab}	(Palacios, 2016)
	pg/cel	21.09 \pm 6.03 ^a	20.42 \pm 2.3 ^a	4.04 \pm 0.31 ^a	1.54 \pm 0.14 ^a	0.43 \pm 0.14 ^a	0.57 \pm 0.14 ^{ab}	

Fuente: Palacios, 2016.

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 7. Condiciones de cultivo reportados para el crecimiento de *Amphora Sp.*

Especie	Medios de cultivo	Condiciones de cultivo			Concentración celular (cel/mL)		Tipo de fuente de luz.	Intensidad lumínica $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Espectros de luz (Longitud de onda)			Ref.
		pH	Salinidad UPS	Temp	Siembra	Cosecha			Blanca (nm)	Azul (nm)	Verde (nm)	
<i>Amphora spp</i>	(Guillard) f/2	7.5-9	32-34	20°C $\pm 1^\circ\text{C}$		2.5×10^5	lámparas fluorescentes de 40watts	50	500-550	450-500	510-550	(Romero, 2015)

Fuente: Romero, 2015.

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 8. Metodología para el análisis de metabolitos en cultivos de la microalgas *Amphora* spp

Metabolitos	Método de extracción	Método de cuantificación	Observaciones	Referencia
Proteína	Correa-Reyes (2001)	El método de Lowry et al. (1951)	<ul style="list-style-type: none"> La extracción se realizó con el método descrito por Malara y Charra (1972a), 	Que se utiliza hidróxido de sodio y se consideraron las condiciones determinadas en la optimización de la extracción. (Romero, 2015) Correa-Reyes (2001)
Lípidos	Bligh y Dyer (1959)	Pande et al. (1963).	<ul style="list-style-type: none"> Se basa en la homogenización de muestras húmedas a través del uso de solventes. 	(Romero, 2015) Bligh y Dyer (1959)
Carbohidratos	Dubois et al. (1956) y Malara y Charra (1972b)	Whyte (1987)	<ul style="list-style-type: none"> Propone la selección de elementos mutantes o la adaptación de los organismos 	Dubois et al. (1956). (Romero, 2015)
Clorofila a	Acetona al 90%	Parsons et al. (1984).	<ul style="list-style-type: none"> Aquel que combina una serie de técnicas con resultados experimentales. 	(Romero, 2015)
Carotenoides	Acetona al 90%	Parsons et al. (1984).	<ul style="list-style-type: none"> Aquel que combina una serie de técnicas con resultados experimentales. 	(Romero, 2015)

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 9. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Blanco.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).						Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Clorofila b	Carotenoides	
<i>Amphora spp</i> Pg/cel	<i>exponencial</i>	19.012	51.089	2.50	0.24	0.63 \pm 0.1 ^c	0.045	(Romero, 2015)
	<i>estacionaria</i>	14.99	48.02	5.8	0.15	1.28 \pm 0.3 ^c	0.044	

Fuente: (Romero, 2015)

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 10. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz Azul.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).					Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Carotenoides	
<i>Amphora spp</i> Pg/cel	<i>exponencial</i>	5.50	39.1	1.77	0.13	0.026	(Romero, 2015)
	<i>estacionaria</i>	12.01	46.01	4.5	0..13	0.029	

Fuente: (Romero, 2015)

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 11. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz verde.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).					Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Carotenoides	
<i>Amphora spp</i> Pg/cel	<i>exponencial</i>	13.05	27.170	2.70	0.14	0.03	(Romero, 2015)
	<i>estacionaria</i>	14.50	55.02	7.20	0.16	0.045	

Fuente: (Romero, 2015)

Elaborado por: Mendieta, 2021.

Anexo 12. Cuantificación en la síntesis de metabolitos en cultivos microalgales irradiados con el espectro de luz amarillo.

Especie		Cuantificación de metabolitos de \pm SD, Fisher ($p < 0.05$).					Referencias
		Lípidos	Proteínas	Carbohidratos	Clorofila a	Carotenoides	
<i>Amphora spp</i> Pg/cel	<i>exponencial</i>	10.00	52.018	8.00	0.27	0.065	(Romero, 2015)
	<i>estacionaria</i>	18.50	45.01	12.5	0.23	0.063	

Fuente: (Romero, 2015)

Elaborado por: Mendieta, 2021.