



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

**“EFECTO DE DOS MEDIOS DE CULTIVO EN LA PRODUCCIÓN DE
CAROTENOIDES DE LA CIANOBACTERIA *Leptolyngbya spp.*”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGA

Autor:

PESANTEZ CONTRERAS SAMANTHA MICHELLE

TUTOR:

ING. JIMMY VILLÓN MORENO, MSc.

CO-TUTOR:

Blga. JANETH GALARZA TIPÁN, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2026

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“EFECTO DE DOS MEDIOS DE CULTIVO EN LA PRODUCCIÓN DE
CAROTENOIDES DE LA CIANOBACTERIA *Leptolyngbya spp.*”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGA

Autor:

PESANTEZ CONTRERAS SAMANTHA MICHELLE

TUTOR:

ING. JIMMY VILLÓN MORENO, MSc.

CO-TUTOR:

Blga. JANETH GALARZA TIPÁN, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2026

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, "**Efecto de dos medios de cultivo en la producción de carotenoides de la cianobacteria *Leptolyngbya spp.***", elaborado por **Pesantez Contreras Samantha Michelle**, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Bióloga, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



**Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.
DOCENTE TUTOR**

C.I. 0913270153

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista del Trabajo de Integración Curricular, "**Efecto de dos medios de cultivo en la producción de carotenoides de la cianobacteria *Leptolyngbya spp.***", elaborado por **Pesantez Contreras Samantha Michelle**, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Bióloga, me permito declarar que luego de haber evaluado su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación .

Atentamente



Blga. Isabel Coello Peralta, M.Sc.
DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0301902664

DEDICATORIA

A mis padres, Martha Contreras y Carlos Pesantez, quienes son mi principal motivación y la razón que me impulsa a esforzarme cada día. Gracias por su amor, sus sacrificios y su apoyo incondicional a lo largo de este camino.

A mi hermana Karen, por ser mi referente, mi inspiración y un ejemplo constante de perseverancia. A mi hermano Juan Carlos, por haber sido parte esencial de la decisión que me llevó a elegir esta carrera y descubrir mi vocación por la Biología.

A mi abuela Nancy, por alentarme cada día con sus palabras y su cariño; y a mi abuela Celina, quien, desde el cielo, continúa cuidándome e inspirándome a seguir adelante.

A mis amigos, por su infinita paciencia, por sostenerme en los momentos difíciles y por permanecer a mi lado durante cada etapa de este proceso.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal Península de Santa Elena, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente y proporcionarme los conocimientos y las experiencias necesarias para alcanzar esta meta.

A mis profesores, quienes sentaron las bases de mi formación como bióloga. Cada enseñanza, consejo y experiencia compartida contribuyó de manera significativa a mi crecimiento académico y personal.

A la Blga. Dennis Tomalá y a la Dra. Janeth Galarza, por despertar en mí la curiosidad científica que me permitió adentrarme en la investigación de laboratorio y descubrir mi pasión por el estudio de las microalgas.

A mi tutor, Ing. Jimmy Villón, por su disposición, orientación y apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

A María Figueroa y Laura Reyes, por brindarme su amistad, compartir sus conocimientos y acompañarme durante el proceso de elaboración de esta tesis.

A la Universidad Estatal de Bolívar, por abrirme las puertas de sus laboratorios y facilitar los recursos necesarios para el desarrollo de la fase experimental. De manera especial, agradezco a la Ing. María Fernanda Quinteros y a la Blga. Isabel Paredes por su valiosa ayuda y conocimientos.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Pesantez Contreras Samantha Michelle** como requisito parcial para la obtención del grado de Bióloga de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: martes 11 de agosto de 2026

Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc
DIRECTOR DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Blga. Isabel Coello Peralta, M.Sc.
DOCENTE DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc
DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

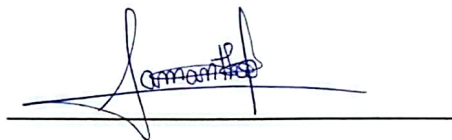
Blgo. Richard Duque Marín, Mgt.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Lic. Pascual Roca Silvestre, MSc.
SECRETARIO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, **Samantha Michelle Pesantez Contreras**, declaro que la presente investigación es de mi autoría, me hago responsable por las ideas, hechos, investigaciones y resultados que se presentan en este trabajo de integración curricular.

Por medio de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual de este trabajo a la **UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA (UPSE)**, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.



Samantha Michelle Pesantez Contreras
AUTORA

C.I. 0926054131

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	3
2. PROBLEMÁTICA	5
3. JUSTIFICACIÓN	8
4. OBJETIVO GENERAL	10
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
6. HIPÓTESIS	10
7. MARCO TEÓRICO	11
7.1. Cianobacterias	11
7.1.1. Definición y características generales	11
7.1.2. Clasificación taxonómica de las cianobacterias	12
7.1.3. Género <i>Leptolyngbya</i>	13
7.2. Medios de cultivo para cianobacterias	16
7.2.1. Medios más utilizados	17
7.2.2. Condiciones de cultivo	18
7.3. Cultivo de cianobacterias	19
7.3.1. Cultivo a nivel global	19
7.3.2. Cultivo a nivel regional	20
7.3.3. Cultivo a nivel nacional	21
7.4. Importancia biotecnológica	22
7.4.1. Aplicaciones de las cianobacterias	22
7.4.2. Aplicaciones acuícolas e industriales	23
7.5. Carotenoides en <i>Leptolyngbya</i> spp.	23
7.6. Carotenogénesis	26
7.7. Clorofilas a y b	29
7.8. Espectrofotometría UV-Vis para carotenoides totales	31
7.9. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	31
7.9.1. Componentes y secuencia de funcionamiento	32
7.9.2. Detección por arreglo de diodos	33
7.9.3. Identificación y cuantificación	33
7.10. Espectrofotometría para el seguimiento de la cinética de crecimiento	34
7.11. Determinación de biomasa por peso seco	35
8. MARCO METODOLÓGICO	36
8.1. Tipo de investigación	36
8.2. Área de estudio	37
8.3. Material biológico	39
8.4. Preparación de medios de cultivo	39
8.5. Purificación y escalamiento del cultivo	41
8.6. Condiciones de cultivo e inoculación experimental	42
8.7. Seguimiento de la cinética de crecimiento	43
8.7.1. Determinación de absorbancia	43
8.7.2. Determinación de biomasa por peso seco	43
8.8. Modelamiento de la cinética de crecimiento	44
8.8.1. Cálculo de parámetros cinéticos	46
8.9. Extracción de carotenoides totales	46
8.9.1. Cuantificación espectrofotométrica de pigmentos	47
8.10. Perfil pigmentario mediante HPLC-DAD	48
8.10.1. Preparación de extractos para HPLC	48
8.10.2. Condiciones cromatográficas	49
8.10.3. Preparación de estándares y curvas de calibración	50
8.11. Programas utilizados y organización de datos	55
8.12. Análisis estadístico	56
8.12.1. Modelos lineales mixtos para crecimiento	56
8.12.2. Comparación de parámetros cinéticos	57
8.12.3. Análisis de carotenoides totales y perfil pigmentario	57

8.12.4. Relación entre biomasa final y pigmentos	58
8.12.5. Síntesis del desempeño relativo	58
8.12.6. Evaluación productiva y económica exploratoria	59
9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	61
9.1. Cinética de crecimiento	61
9.1.1. Modelado de la cinética de crecimiento	67
9.1.2. Relación entre peso seco y densidad óptica a 720 nm.....	70
9.1.3. Parámetros cinéticos experimentales.....	72
9.2. Caracterización del contenido de pigmentos	73
9.2.1. Carotenoides totales	73
9.2.2. Perfil pigmentario determinado mediante HPLC.....	74
9.3. Comparación de los medios de cultivo	76
9.3.1. Relación entre biomasa final y contenido de pigmentos	76
9.3.2. Desempeño relativo de los medios de cultivo	78
9.3.3. Rendimiento productivo y evaluación económica exploratoria	79
10. DISCUSIÓN	82
11. CONCLUSIONES.....	89
12. RECOMENDACIONES.....	90
BIBLIOGRAFÍA	92
ANEXOS.....	107

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales órdenes de cianobacterias y su estado filogenético.....	12
Tabla 2 Clasificación taxonómica de <i>Leptolyngbya</i> spp.....	14
Tabla 3 Estudios disponibles sobre cianobacterias en Ecuador.....	21
Tabla 4 Formulación del medio SOT utilizado en el cultivo de <i>Leptolyngbya</i> spp.....	40
Tabla 5 Formulación del medio BG11 utilizado en el cultivo de <i>Leptolyngbya</i> spp.	40
Tabla 6 Componentes de la solución A5 utilizada en ambos medios.....	40
Tabla 7 Componentes de la solución A6 utilizada en ambos medios.....	41
Tabla 8 Criterios utilizados para identificar las fases de crecimiento a partir del modelo de Gompertz.....	45
Tabla 9 Condiciones cromatográficas utilizadas para el análisis de pigmentos por HPLC-DAD.	50
Tabla 10 Análisis de varianza de los modelos lineales mixtos ajustados para los indicadores de crecimiento de <i>Leptolyngbya</i> spp.....	61
Tabla 11 Comparaciones de medias marginales estimadas de la absorbancia a 647 nm entre BG11 y SOT por día de cultivo.	63
Tabla 12 Comparaciones de medias marginales estimadas de la absorbancia a 540 nm entre BG11 y SOT por día de cultivo.	65
Tabla 13 Parámetros estimados del modelo de Gompertz ajustado a la biomasa de <i>Leptolyngbya</i> spp.	67
Tabla 14 Parámetros del modelo de Gompertz ajustado a la densidad óptica a 720 nm de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	69
Tabla 15 Relación entre peso seco y densidad óptica a 720 nm.	70
Tabla 16 Parámetros cinéticos de crecimiento de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	72
Tabla 17 Efectos del modelo lineal ajustado para el contenido de carotenoides totales de <i>Leptolyngbya</i> spp.	73
Tabla 18 Resumen de los pigmentos cuantificados en <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	75
Tabla 19 Rendimiento volumétrico estimado de biomasa y pigmentos en BG11 y SOT.	79
Tabla 20 Sensibilidad económica del costo de medio y del beneficio bruto potencial de β -caroteno.	80
Tabla 21 Comparaciones de medias marginales estimadas de la absorbancia a 720 nm entre BG11 y SOT por día de cultivo.	107
Tabla 22 Comparaciones de medias marginales estimadas del peso seco entre BG11 y SOT por día de cultivo.	107
Tabla 23 Coeficientes del modelo lineal aditivo del contenido de carotenoides totales en función de la biomasa final y el medio de cultivo.....	108
Tabla 24 Modelos lineales entre la biomasa final y el contenido de pigmentos en <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.....	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Morfología de la cepa estudiada del género <i>Leptolyngbya</i> a 40×.....	14
Figura 2 Ruta biosintética de los carotenoides en cianobacterias.	27
Figura 3 Esquema del diseño experimental utilizado para evaluar el crecimiento y la producción de pigmentos de <i>Leptolyngbya</i> spp. en BG11 y SOT.	37
Figura 4 Vista satelital de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.	38
Figura 5 Flujo metodológico general aplicado desde la preparación de medios hasta el análisis estadístico.	42
Figura 6 Cromatograma del estándar de luteína.	51
Figura 7 Curva de calibración de luteína.	52
Figura 8 Cromatograma del estándar de clorofila b.	52
Figura 9 Curva de calibración de clorofila b.	53
Figura 10 Cromatograma del estándar de clorofila a.	53
Figura 11 Curva de calibración de clorofila a.	54
Figura 12 Cromatograma del estándar de β -caroteno.	54
Figura 13 Curva de calibración de β -caroteno.	55
Figura 14 Cinética de crecimiento de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante absorbancia a 720 nm.	62
Figura 15 Cinética de crecimiento de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante absorbancia a 647 nm.	63
Figura 16 Cinética de crecimiento de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante absorbancia a 540 nm.	64
Figura 17 Biomasa de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante peso seco.	66
Figura 18 Ajuste del modelo de Gompertz a la biomasa de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	67
Figura 19 Ajuste del modelo de Gompertz a la densidad óptica a 720 nm de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	68
Figura 20 Relación entre la densidad óptica a 720 nm y el peso seco de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	71
Figura 21 Comparación de los parámetros cinéticos experimentales de crecimiento de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	73
Figura 22 Contenido de carotenoides totales de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	74
Figura 23 Contenido de β -caroteno, luteína y clorofila a determinado mediante HPLC en cultivos de <i>Leptolyngbya</i> spp. desarrollados en BG11 y SOT.	75
Figura 24 Relación entre la biomasa final y el contenido de carotenoides totales en <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	77
Figura 25 Desempeño relativo de <i>Leptolyngbya</i> spp. cultivada en BG11 y SOT.	78

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Elaboración de extractos y análisis en HPLC	109
ANEXO 2. Collage de reactivos y materiales empleados para HPLC	109
ANEXO 3. Extracción de pigmentos y cuantificación de carotenoides totales.....	110
ANEXO 4 Cultivos de <i>Leptolyngbya spp.</i> en sus diferentes fases.	111
ANEXO 5. Cultivo madre con la misma densidad celular de <i>Leptolyngbya spp.</i> en SOT (dos matraces de la izquierda) y BG11 (dos matraces de la derecha).....	112
ANEXO 6. Comparación de BG11 (derecha) con presencia de biofilm y SOT (izquierda) al finalizar el ciclo experimental.	112
ANEXO 7. Observación microscópica de crecimiento en tubos.....	112
ANEXO 8. Toma de pH del medio y control de fotoperíodo.....	113
ANEXO 9. Muestras analizadas para biomasa seca.....	113
ANEXO 10. Observaciones microscópicas de 5 cultivos de <i>Leptolyngbya spp.</i> 40x en BG11	113
ANEXO 11. Observaciones microscópicas de 5 cultivos de <i>Leptolyngbya spp.</i> 40x en SOT.	114
ANEXO 12. Matriz de crecimiento empleada para análisis en R Studio.	114
ANEXO 13. Matriz de carotenoides totales empleada para análisis en R Studio.	118
ANEXO 14. Informe de ensayos N.º 789: análisis cromatográfico por HPLC-DAD	119

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
A	Valor máximo estimado por el modelo de Gompertz
AIC	Criterio de información de Akaike
BG11	Medio Blue-Green 11
CO ₂	Dióxido de carbono
DAD	Detector de arreglo de diodos
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EE	Error estándar
gl	Grados de libertad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HPLC-DAD	Cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos
IC 95 %	Intervalo de confianza del 95 %
k	Constante de crecimiento del modelo de Gompertz
MAATE	Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica
ND	No detectado
OD	Densidad óptica
OD540	Densidad óptica medida a 540 nm
OD647	Densidad óptica medida a 647 nm
OD720	Densidad óptica medida a 720 nm
p	Valor de probabilidad
PTFE	Politetrafluoroetileno
R ²	Coefficiente de determinación
RSE	Error estándar residual
SOT	Medio Spirulina–Ogawa–Terui
UV-Vis	Espectrofotometría ultravioleta-visible
μ	Tasa específica de crecimiento

RESUMEN

El presente estudio evaluó el efecto de los medios de cultivo BG11 y SOT sobre el crecimiento y la producción de carotenoides de *Leptolyngbya spp.* Se realizaron dos ciclos experimentales independientes bajo condiciones controladas de iluminación, temperatura, aireación y salinidad. La cinética de crecimiento se siguió mediante absorbancias a 720, 647 y 540 nm y peso seco; además, se calcularon la tasa específica de crecimiento, el tiempo de duplicación, la biomasa máxima y la productividad. Los carotenoides totales se cuantificaron por espectrofotometría y el perfil de β -caroteno, luteína y clorofilas se determinó mediante HPLC-DAD. Los datos de crecimiento se analizaron con modelos lineales mixtos y comparaciones de medias marginales estimadas. SOT presentó valores superiores de crecimiento a partir de la fase intermedia del cultivo y mostró una mayor tasa específica de crecimiento, biomasa máxima y productividad, junto con un menor tiempo de duplicación. El contenido de carotenoides totales fue mayor en SOT ($8,60 \pm 0,11 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) que en BG11 ($5,39 \pm 0,11 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; $p < 0,001$). El β -caroteno también fue superior en SOT ($p = 0,038$), mientras que la luteína no presentó diferencias significativas. Se concluye que SOT fue el medio más eficiente para el crecimiento de la cepa y para la acumulación de carotenoides totales y β -caroteno bajo las condiciones evaluadas.

Palabras clave: β -caroteno; cianobacterias; HPLC-DAD; pigmentos fotosintéticos; productividad.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of BG11 and Spirulina–Ogawa–Terui (SOT) culture media on the growth and carotenoid production of *Leptolyngbya spp.* Two independent experimental runs were carried out under controlled light, temperature, aeration, and salinity conditions. Growth kinetics were monitored through absorbance at 720, 647, and 540 nm and dry weight; specific growth rate, doubling time, maximum biomass, and productivity were also calculated. Total carotenoids were quantified by spectrophotometry, while β -carotene, lutein, and chlorophyll profiles were determined by HPLC-DAD. Growth data were analyzed using linear mixed-effects models and estimated marginal mean comparisons. SOT produced higher growth values from the intermediate culture phase onward and showed a higher specific growth rate, maximum biomass, and productivity, together with a shorter doubling time. Total carotenoid content was higher in SOT ($8.60 \pm 0.11 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) than in BG11 ($5.39 \pm 0.11 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; $p < 0.001$). β -Carotene was also significantly higher in SOT ($p = 0.038$), whereas lutein did not differ significantly between media. Under the evaluated conditions, SOT was therefore the most efficient medium for strain growth and for the accumulation of total carotenoids and β -carotene.

Keywords: β -carotene; cyanobacteria; HPLC-DAD; photosynthetic pigments; productivity.

1. INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son organismos procariotas capaces de realizar fotosíntesis oxigénica y presentan una amplia diversidad morfológica, fisiológica y ecológica (Sánchez-Baracaldo & Cardona, 2020). Su aparato fotosintético contiene clorofila *a* y ficobiliproteínas, relacionadas con la captación y transferencia de energía luminosa, además de carotenoides que intervienen en la fotoprotección y en la disipación del exceso de energía (Sandybayeva et al., 2022).

Los carotenoides son pigmentos isoprenoides que participan en la captación de luz, la disipación de energía y la protección del aparato fotosintético frente al estrés oxidativo. En microalgas y cianobacterias, su interés biotecnológico se relaciona con sus propiedades antioxidantes y con su uso potencial como pigmentos naturales en alimentos, cosméticos y otros productos de valor agregado (Chini Zittelli et al., 2023; Saini et al., 2020).

En el género *Leptolyngbya*, algunas cepas presentan tolerancia a condiciones alcalinas y salinas y pueden producir biomasa y pigmentos de interés. *Leptolyngbya* sp. KIOST-1, por ejemplo, fue caracterizada como una cepa basófila y eurihalina, mientras que investigaciones posteriores evaluaron su cultivo en sistemas de mayor escala (Kim et al., 2015; Lee et al., 2024). Otros estudios con cepas del mismo género han mostrado que el crecimiento también depende de la intensidad lumínica, el volumen de inóculo y el riesgo de fotooxidación durante el escalamiento (Schipper et al., 2021).

La producción de biomasa y la acumulación de pigmentos en cianobacterias están influenciadas por la composición del medio y por variables como la intensidad lumínica, la temperatura, el pH, la salinidad y la aireación. BG11 constituye una formulación de referencia utilizada para el aislamiento y mantenimiento de numerosas cianobacterias (Rippka et al., 1979). En cambio, SOT fue desarrollado originalmente para el cultivo de *Spirulina platensis*, actualmente denominada *Arthrospira platensis*, y contiene una concentración elevada de bicarbonato como fuente de carbono inorgánico (Ogawa & Terui, 1970). La formulación seleccionada debe corresponder a los requerimientos de la cepa y al producto que se pretende obtener, debido a que las condiciones favorables para la biomasa no necesariamente maximizan la concentración de pigmentos.

En esta investigación se compararon los medios BG11 y SOT para determinar su efecto sobre la cinética de crecimiento y la producción de carotenoides de la cepa *Leptolyngbya* sp. PM003. La comparación integró absorbancias multionda, biomasa seca, carotenoides totales y perfil pigmentario, con el propósito de establecer cuál medio presentó el mejor desempeño productivo bajo las condiciones controladas del ensayo.

2. PROBLEMÁTICA

Una proporción importante de los carotenoides de mayor interés comercial, particularmente el β -caroteno y la astaxantina, se obtiene mediante síntesis química debido a sus menores costos y a la posibilidad de mantener una producción uniforme a gran escala (Almagro et al., 2022; Saubenova et al., 2024). Aunque los compuestos autorizados se encuentran sujetos a evaluaciones de seguridad, el interés por ingredientes de origen natural ha impulsado la búsqueda de fuentes biológicas que permitan diversificar su producción. Entre estas alternativas se encuentran las cianobacterias, capaces de sintetizar carotenoides durante su crecimiento fotosintético (Sandybayeva et al., 2022).

La producción de carotenoides en cianobacterias varía entre cepas y responde a las condiciones en las que se desarrolla el cultivo. La disponibilidad de carbono, nitrógeno y fósforo, junto con la salinidad, la irradiancia y el estado fisiológico de las células, puede modificar tanto la formación de biomasa como la composición pigmentaria. Por esta razón, un aumento del crecimiento no implica necesariamente una mayor acumulación de carotenoides (Sandybayeva et al., 2022; Chini Zittelli et al., 2023; Tarko et al., 2012).

Los medios BG11 y SOT presentan diferencias en sus concentraciones de carbono inorgánico, nitrógeno, fósforo y otras sales. BG11 se utiliza como medio de referencia para el mantenimiento de diversas cianobacterias, mientras que SOT contiene una concentración elevada de bicarbonato y fue formulado para cultivos alcalinos de *Spirulina platensis*, actualmente clasificada como *Arthrospira*

platensis (Ogawa & Terui, 1970; Rippka et al., 1979). Aunque ambos medios se han empleado con organismos fotosintéticos, su desempeño debe evaluarse para cada cepa y producto de interés.

En cepas del género *Leptolyngbya* se han estudiado el crecimiento, la producción de biomasa y el escalamiento de los cultivos (Kim et al., 2015; Lee et al., 2024). En Ecuador, Vera Delgado et al. (2024) analizaron la composición de cianobacterias presentes en estanques camaroneros, mientras que Morales-Avendaño et al. (2025) evaluaron el aislamiento, cultivo, composición bioquímica y posible toxicidad de una cepa de *Leptolyngbya* sp. Estos trabajos aportan información ecológica y productiva sobre cianobacterias; sin embargo, no comparan el efecto de BG11 y SOT sobre la producción de carotenoides en la cepa PM003.

En los antecedentes consultados tampoco se identificaron estudios que integraran, para esta cepa, el análisis de la cinética de crecimiento, la productividad de biomasa, la cuantificación de carotenoides totales y la determinación del perfil pigmentario mediante HPLC-DAD. Por lo tanto, la selección del medio se apoyaba en resultados obtenidos con otras cianobacterias y no en datos específicos sobre el comportamiento de la cepa estudiada. Esta falta de información limitaba la elección de una formulación con base en criterios de crecimiento y producción pigmentaria y constituyó el problema científico abordado en la investigación.

A partir de esta situación se planteó la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál de los medios de cultivo, BG11 o SOT, presenta el mejor desempeño en términos de crecimiento, productividad de biomasa y producción de carotenoides en la cepa estudiada del género *Leptolyngbya*?

3. JUSTIFICACIÓN

La obtención de carotenoides mediante cultivos microbianos permite controlar la composición del medio, la iluminación, la temperatura y el momento de cosecha. También reduce la dependencia de los ciclos estacionales asociados con las materias primas vegetales. Estas características han motivado el estudio de microorganismos capaces de producir pigmentos bajo condiciones definidas, aunque el rendimiento final depende de la cepa y del sistema de cultivo utilizado (Saubenova et al., 2024).

Las cianobacterias sintetizan clorofila, ficobiliproteínas y carotenoides como parte de su aparato fotosintético. Además de intervenir en la captación de luz y la fotoprotección, algunos carotenoides presentan actividad antioxidante y pueden ser utilizados como compuestos de interés en alimentos, cosmética y otros productos naturales (Sandybayeva et al., 2022). Su cultivo permite obtener biomasa y pigmentos dentro de un mismo proceso, pero la proporción de estos componentes puede cambiar según las condiciones nutricionales y ambientales.

En cepas del género *Leptolyngbya* se han reportado crecimiento filamentoso, producción de biomasa y adaptación a diferentes condiciones de cultivo. También existen antecedentes de escalamiento; sin embargo, los resultados obtenidos con una cepa no pueden aplicarse directamente a otra, debido a que la respuesta fisiológica depende de sus características y de la composición del medio (Kim et al., 2015; Lee et al., 2024). Por esta razón, fue necesario evaluar experimentalmente el comportamiento de la cepa PM003 en los medios BG11 y SOT.

La selección de estos medios permitió comparar dos formulaciones con diferencias en la disponibilidad de carbono inorgánico, nitrógeno, fósforo y otras sales. El análisis no se limitó al crecimiento aparente de los cultivos. Se incluyeron mediciones de absorbancia a 720, 647 y 540 nm, determinación de biomasa por peso seco, cuantificación espectrofotométrica de carotenoides totales y caracterización del perfil pigmentario mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). La integración de estas mediciones permitió establecer si un mayor crecimiento estaba acompañado por cambios en el contenido y la composición de los pigmentos.

La investigación aporta datos sobre el crecimiento y la producción de carotenoides de una cepa de origen ecuatoriano cultivada bajo condiciones controladas. La comparación entre BG11 y SOT proporciona un criterio experimental para seleccionar el medio con mejor desempeño productivo y sirve como referencia para posteriores ensayos de optimización. Entre las variables que deberán estudiarse se encuentran la intensidad lumínica, el suministro de carbono, el momento de cosecha, la eficiencia de extracción y la estabilidad de los pigmentos.

Los resultados también pueden orientar futuras evaluaciones de escalamiento y aprovechamiento de los carotenoides en alimentos, acuicultura o productos naturales. Esta proyección debe interpretarse como una posibilidad de investigación, ya que la aplicación productiva requiere análisis adicionales de inocuidad, estabilidad, costos de operación, recuperación de los pigmentos y viabilidad económica.

4. OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de los medios de cultivo BG11 y SOT en cultivos de *Leptolyngbya spp.* utilizando métodos analíticos de extracción, determinando el medio con mayor producción de carotenoides.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la cinética de crecimiento de *Leptolyngbya spp.* mediante parámetros de cuantificación de biomasa.
2. Caracterizar el contenido de carotenoides utilizando métodos de cuantificación de pigmentos.
3. Comparar la cantidad de carotenoides obtenida en los cultivos de *Leptolyngbya spp.* en BG11 y SOT estableciendo el medio más eficiente en la producción de estos compuestos.

6. HIPÓTESIS

H1: El medio de cultivo SOT favorece una mayor producción de carotenoides de *Leptolyngbya spp.* en comparación con el medio BG11.

H0: El medio de cultivo SOT no favorece una mayor producción de carotenoides de *Leptolyngbya spp.* en comparación con el medio BG11.

7. MARCO TEÓRICO

7.1. Cianobacterias

7.1.1. Definición y características generales

Las cianobacterias pertenecen al dominio Bacteria y se distinguen por ser procariotas capaces de realizar fotosíntesis oxigénica, proceso en el que utilizan agua como donador de electrones y liberan oxígeno (Sánchez-Baracaldo & Cardona, 2020).

Este grupo presenta una amplia diversidad morfológica, con formas unicelulares, coloniales y filamentosas. En varias especies también se observa diferenciación celular y organización multicelular simple, lo que favorece su adaptación a distintos ambientes (Saleem et al., 2025).

Entre sus características celulares principales se encuentran la presencia de clorofila a y ficobiliproteínas, pigmentos que participan en la captación de luz. Además, poseen pared celular y, en muchas especies, membranas tilacoidales donde se desarrolla la fotosíntesis. En las formas filamentosas pueden aparecer heterocistos, especializados en la fijación de N₂, y acinetos, que funcionan como células de resistencia (Saleem et al., 2025).

Desde el punto de vista ecológico, las cianobacterias son productores primarios indispensables en ecosistemas terrestres y acuáticos. Participan de manera activa en los ciclos del carbono, nitrógeno y oxígeno, y se distribuyen en

ambientes muy diversos, desde desiertos hasta aguas oligotróficas y fuentes termales (Saleem et al., 2025).

Su importancia ecológica no se limita a la fotosíntesis. Diversos linajes fijan N₂ y contribuyen a la fertilidad de los suelos, la productividad oceánica y numerosas simbiosis con plantas (Soule & Garcia-Pichel, 2019). Asimismo, varias especies se investigan como biofertilizantes por su capacidad de fijar nitrógeno y por sus efectos promotores del crecimiento vegetal (Mishra et al., 2021).

7.1.2. Clasificación taxonómica de las cianobacterias

La taxonomía de las cianobacterias se encuentra en revisión constante, debido a que la clasificación morfológica clásica no siempre refleja de manera adecuada sus relaciones filogenéticas. El enfoque actual favorece una clasificación polifásica, que integra morfología, ecología, marcadores moleculares y, cada vez con mayor frecuencia, análisis genómicos completos (Cordeiro et al., 2020; Mareš, 2018).

Tabla 1

Principales órdenes de cianobacterias y su estado filogenético.

Orden	Rasgo general	Estado filogenético
Gloeobacterales	Linajes sin tilacoides	Monofilético
Nostocales	Filamentosos con heterocistos y acinetos	Monofilético
Chroococcidiopsidales	Frecuentes en hábitats extremos	Monofilético
Synechococcales	Unicelulares y filamentosos simples diversos	Polifilético y en revisión
Oscillatoriales	Filamentosos sin diferenciación celular	Polifilético y en revisión

Nota. Elaborado a partir de Cordeiro et al. (2020) y Mareš (2018).

Entre los géneros más estudiados se encuentran aquellos con relevancia biomédica, ecológica, agronómica o taxonómica. *Synechococcus* ha sido ampliamente analizado porque domina comunidades picoplanctónicas y contribuye de forma importante a la productividad primaria global; sin embargo, los estudios genómicos indican que no constituye un grupo homogéneo (Salazar et al., 2020).

Dentro de los géneros filamentosos y diazotróficos destacan *Nostoc*, *Anabaena*, *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Trichodesmium* y *Crocosphaera*, debido a su papel en la fijación de nitrógeno, las simbiosis y la formación de floraciones (J. S. Singh et al., 2016). En conjunto, la evidencia científica indica que las cianobacterias constituyen un grupo ancestral de bacterias fotosintéticas, con una amplia diversidad morfológica y funcional. Su participación fue determinante en la transformación de las condiciones redox de la Tierra y, pese a los avances filogenéticos, su clasificación continúa siendo un desafío por la complejidad de sus relaciones evolutivas (Schirrmeister et al., 2015).

7.1.3. Género *Leptolyngbya*

El género *Leptolyngbya* fue establecido por Anagnostidis y Komárek en 1988 para agrupar cianobacterias filamentosas caracterizadas por presentar tricomas delgados. Su especie tipo es *Leptolyngbya boryana*. En clasificaciones anteriores, el género se ubicaba dentro del orden Synechococcales; sin embargo, la revisión filogenómica de Strunecký et al. (2023) lo situó en el orden Leptolyngbyales y mantuvo su pertenencia a la familia Leptolyngbyaceae.

Tabla 2

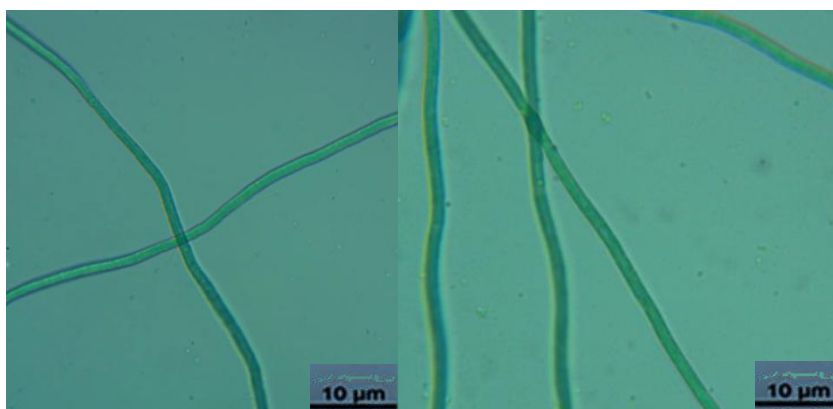
Clasificación taxonómica de Leptolyngbya spp.

Categoría taxonómica	Clasificación
Dominio	Bacteria
Filo	Cyanobacteriota
Clase	Cyanophyceae
Orden	Leptolyngbyales
Familia	Leptolyngbyaceae
Género	<i>Leptolyngbya</i>

Nota. Clasificación basada en Strunecký et al. (2023). En sistemas anteriores, la familia Leptolyngbyaceae se encontraba incluida en el orden Synechococcales.

Figura 1

Morfología de la cepa estudiada del género Leptolyngbya a 40×.



Nota. La imagen de la derecha es la cepa en medio SOT y la de la izquierda en BG11.

Desde el punto de vista morfológico, *Leptolyngbya* spp. comprende cianobacterias formadas por filamentos finos, cuyos tricomas generalmente presentan un diámetro menor de 3 µm. Los filamentos pueden encontrarse aislados, agrupados o dispuestos en enrollamientos laxos. El tricoma corresponde a la sucesión de células, mientras que el filamento incluye el tricoma y la vaina mucilaginosa cuando esta se encuentra presente. La sencillez de estos caracteres y su variación entre condiciones ambientales dificultan la diferenciación de especies mediante observación microscópica (Ahmed et al., 2014).

En la cepa MMG-1, aislada de la rizosfera de plantas de arroz, Ahmed et al. (2014) observaron tricomas verdes de 1,0 a 1,5 μm de ancho, crecimiento curvado sobre medio BG11 solidificado con agarosa y una vaina gruesa alrededor de los tricomas. Estas características corresponden a la cepa analizada por dichos autores y no deben atribuirse directamente a la cepa estudiada en esta investigación sin mediciones microscópicas propias.

Las especies asignadas a *Leptolyngbya* se han registrado en ambientes marinos, dulceacuícolas y terrestres, así como en suelos, fuentes termales y superficies subaéreas. Esta distribución amplia contrasta con la escasez de caracteres morfológicos que permitan separar los taxones. Como resultado, diferentes organismos con filamentos delgados y apariencia semejante fueron agrupados históricamente dentro del mismo género (Ahmed et al., 2014; Komárek et al., 2014).

Los análisis moleculares demostraron que *Leptolyngbya*, en su delimitación tradicional, es un grupo polifilético. Esto significa que no todas las cepas identificadas con ese nombre pertenecen a un único linaje evolutivo. La similitud morfológica ha ocasionado que algunos organismos sean asignados al género sin que exista una correspondencia completa con su posición filogenética, lo que ha conducido a la separación de nuevos géneros dentro de Leptolyngbyaceae (Komárek et al., 2014; Sciuto & Moro, 2016).

Debido a estas limitaciones, la identificación de *Leptolyngbya* spp. requiere un enfoque polifásico que combine morfología, características ecológicas y análisis moleculares. Entre los marcadores utilizados se encuentran el gen del ARN

ribosomal 16S y la región espaciadora 16S–23S ITS, cuya secuencia y estructura secundaria aportan información para diferenciar linajes con morfologías similares. Los análisis filogenómicos pueden complementar esta identificación cuando se dispone de secuencias genómicas suficientes (Sciuto & Moro, 2016; Strunecký et al., 2023).

En la presente investigación, la denominación *Leptolyngbya* spp. se mantiene a nivel de género y no implica la identificación de una especie determinada.

7.2. Medios de cultivo para cianobacterias

El cultivo de cianobacterias depende de la selección del medio nutritivo y del control de variables físicas como luz, temperatura, pH y aireación. En términos generales, el medio BG-11 se utiliza con frecuencia para cianobacterias dulceacuícolas y de laboratorio, mientras que el medio Zarrouk es más favorable para el cultivo de *Arthrospira* o *Spirulina*. La respuesta del cultivo puede variar según la especie, la cepa y el producto de interés (Cao et al., 2022; Pandey et al., 2023).

7.2.1. Medios más utilizados

El medio BG-11 es una de las formulaciones de referencia para el aislamiento, mantenimiento y producción de biomasa de cianobacterias de agua dulce y suelo. Su fórmula estándar contiene sales inorgánicas, oligoelementos y NaNO_3 como fuente principal de nitrógeno, aunque no siempre resulta adecuada

para cianobacterias marinas (Behle, 2016). En cultivos de *Nostoc sp.*, modificaciones del BG-11 con suplementación de nitrógeno han permitido mejorar el crecimiento bajo condiciones controladas (Mouga et al., 2024).

El medio Zarrouk, por su parte, es ampliamente empleado para el cultivo de *Arthrospira*, debido a su alta alcalinidad y a su contenido de bicarbonato y nitrato. Otros medios, como ASN III, ASM-1, BBM, Fogg, Allen-Arnon, CFTRI, RM6 y F/2, se seleccionan de acuerdo con la salinidad, la especie estudiada y el objetivo biotecnológico del cultivo (Parthiban & Jambulingam, 2023; Tarko et al., 2012).

El medio Spirulina–Ogawa–Terui (SOT) fue formulado originalmente para el cultivo de *Spirulina platensis*, actualmente reconocida dentro del género *Arthrospira*. Se caracteriza por su alcalinidad y por una elevada disponibilidad de carbono inorgánico, condiciones que favorecen a cianobacterias adaptadas a pH altos (Ogawa & Terui, 1970).

En su formulación estándar, el bicarbonato de sodio es el componente mayoritario ($16,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), acompañado por nitrato de sodio, fosfato dipotásico, sulfato de potasio, cloruro de sodio, magnesio, calcio, hierro, EDTA y soluciones de oligoelementos. El medio se ajusta aproximadamente a pH 9, por lo que proporciona carbono para la fotosíntesis y una capacidad amortiguadora superior a la de medios menos alcalinos (National Institute for Environmental Studies, n.d.).

La relación entre bicarbonato, nitrato y fosfato puede sostener el crecimiento y la síntesis de pigmentos; no obstante, una concentración alta de sales no garantiza por sí sola un mayor rendimiento. La respuesta depende de la tolerancia de la cepa, la salinidad, la irradiancia y la disponibilidad relativa de nutrientes. En

Arthrospira, incluso formulaciones diluidas de SOT han mantenido crecimiento y composición bioquímica favorables, lo que demuestra que el balance nutricional puede ser tan importante como la concentración absoluta (Hong et al., 2023).

La pertinencia de SOT para *Leptolyngbya* spp. cuenta con antecedentes directos. Kim et al. (2015) describieron una cepa basófila y eurihalina con buena propagación en este medio, mientras que Lee et al. (2024) compararon once formulaciones y determinaron que SOT produjo mayor biomasa, proteína y pigmentos fotosintéticos en *Leptolyngbya* sp. KIOST-1. Estos resultados justifican su comparación con BG11 en la cepa evaluada, sin asumir que la respuesta será idéntica entre aislamientos.

7.2.2. Condiciones de cultivo

Las condiciones físicas deben controlarse junto con la composición nutricional, porque regulan el crecimiento, la fotosíntesis y la acumulación de pigmentos. La intensidad lumínica, el fotoperiodo, la temperatura, el pH, la salinidad y la aireación interactúan con la fisiología de cada cepa; una condición favorable para la biomasa puede no maximizar el metabolito de interés (Schipper et al., 2021).

La luz constituye una de las variables más sensibles. Intensidades insuficientes limitan la fotosíntesis, mientras que un exceso puede causar fotooxidación y reducir la productividad. En cultivos densos, el autosombreado también genera gradientes de irradiancia, por lo que la agitación y la aireación

permiten alternar la exposición celular a zonas iluminadas y oscuras (Schipper et al., 2021).

El pH determina la disponibilidad de carbono inorgánico y la solubilidad de varios nutrientes. Las formulaciones alcalinas ricas en bicarbonato, como SOT, son adecuadas para cepas basófilas; sin embargo, el pH debe mantenerse dentro del intervalo de tolerancia del organismo. Para *Leptolyngbya sp.* KIOST-1 se ha documentado crecimiento entre pH 8,3 y 10,3 y en un amplio intervalo de salinidad (Lee et al., 2024).

La temperatura y el momento de cosecha completan el control del proceso. Temperaturas moderadas sostienen la actividad enzimática y la estabilidad pigmentaria, mientras que el estado fisiológico define la proporción entre crecimiento y acumulación de metabolitos. En consecuencia, los medios deben compararse bajo condiciones equivalentes y con un tiempo de cosecha previamente establecido. (Lee et al., 2024).

7.3. Cultivo de cianobacterias

7.3.1. Cultivo a nivel global

A escala global, las cianobacterias se utilizan en la producción de alimentos, piensos, compuestos bioactivos, fármacos y cosméticos. Sin embargo, su producción comercial exige sistemas de cultivo a gran escala, rendimientos altos y procesos eficientes. Estas limitaciones dificultan la transferencia directa de resultados obtenidos en laboratorio hacia una producción industrial estable. Por ello, las investigaciones actuales se enfocan en seleccionar especies de interés, optimizar fotobiorreactores, controlar la luz y la temperatura, mejorar el uso de agua

y nutrientes, y desarrollar métodos más eficientes de monitoreo y cosecha (Novoveská et al., 2023).

7.3.2. Cultivo a nivel regional

En América Latina, las investigaciones sobre cianobacterias se concentran en diferentes áreas, entre ellas el monitoreo de floraciones, la identificación de especies, la evaluación de riesgos ambientales y el potencial biotecnológico de cepas nativas. Argentina, Brasil y Uruguay presentan algunos de los estudios más completos sobre distribución de cianobacterias y eventos de proliferación. Entre 2000 y 2019 se reportaron floraciones en 295 cuerpos de agua de 14 países latinoamericanos y caribeños, lo que evidencia la importancia regional del monitoreo de estos organismos (Aguilera et al., 2023).

Además del monitoreo ambiental, existen investigaciones orientadas al cultivo y la evaluación bioquímica. En Brasil, por ejemplo, 20 especies aisladas de ambientes locales fueron cultivadas en fotobiorreactores cilíndricos para analizar su crecimiento y composición bioquímica, lo que muestra el interés regional por identificar cepas con posible aplicación biotecnológica (Baracho & Lombardi, 2023).

7.3.3. Cultivo a nivel nacional

En Ecuador, la información disponible sobre cianobacterias todavía es limitada y se concentra principalmente en estudios de monitoreo, identificación y aislamiento, más que en el desarrollo de una industria consolidada de cultivo y aprovechamiento comercial. En estanques destinados al cultivo de camarón en la provincia de Manabí, la abundancia de cianobacterias se relacionó principalmente

con la temperatura y el pH del agua. Durante la temporada seca se registraron concentraciones superiores a 3×10^6 células m^{-3} (Delgado et al., 2024).

También se han reportado investigaciones orientadas al aislamiento y la identificación molecular de cianobacterias en ecosistemas ecuatorianos. En el río Manglaralto, provincia de Santa Elena, se logró aislar *Arthrospira* en medio alcalino y *Anabaena* en medio BG-11, lo que sugiere el potencial de cepas nativas para estudios de cultivo y aplicaciones biotecnológicas futuras (Rochina Meza et al., 2026).

Tabla 3
Estudios disponibles sobre cianobacterias en Ecuador.

Estudio realizado en Ecuador	Enfoque	Principal hallazgo
Estanques camaroneros de Manabí	Ecología de cianobacterias y riesgo ambiental	La temperatura y el pH fueron los principales factores asociados con la abundancia de cianobacterias en los estanques.
Río Manglaralto, Santa Elena	Aislamiento, cultivo e identificación molecular	Se logró el aislamiento de <i>Arthrospira</i> en medio alcalino y de <i>Anabaena</i> en medio BG-11, lo que demuestra el potencial de especies nativas para cultivo.
Revisión con participación de investigadores ecuatorianos	Biotechnología y producción de biocombustibles	Ecuador participa en investigaciones regionales orientadas a optimizar el cultivo de cianobacterias para aplicaciones biotecnológicas.

Nota. Síntesis elaborada con base en Delgado et al. (2024), Rochina Meza et al. (2026) y estudios regionales relacionados.

7.4. Importancia biotecnológica

7.4.1. Aplicaciones de las cianobacterias

La importancia biotecnológica de las cianobacterias se relaciona con su capacidad para producir biomasa, pigmentos naturales, antioxidantes y metabolitos bioactivos. La literatura reciente las considera una plataforma versátil para obtener

bioproductos con aplicaciones en alimentos, acuicultura, cosmética, farmacia e industria, aunque muchas de estas aplicaciones aún se encuentran en fases experimentales o requieren optimización para alcanzar una producción comercial estable (Sandybayeva et al., 2022).

Las cianobacterias producen clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas, compuestos con valor comercial en alimentos, cosmética, investigación y salud. El interés por pigmentos naturales ha aumentado debido a la búsqueda de alternativas a los colorantes sintéticos. La ficocianina, obtenida principalmente de *Arthrospira platensis*, es uno de los casos más consolidados, ya que se emplea como colorante azul y como reactivo fluorescente; sin embargo, su inestabilidad química y los altos niveles de pureza exigidos en aplicaciones farmacéuticas pueden incrementar los costos de comercialización (Chini Zittelli et al., 2023).

Los carotenoides producidos por cianobacterias y microalgas poseen actividades antioxidantes, antiinflamatorias y fotoprotectoras, lo que explica su interés en alimentos funcionales, cosmética y salud (Saini et al., 2020). En el ámbito cosmético también destacan los aminoácidos tipo micosporina y la escitonemina, compuestos estudiados por su capacidad de absorber radiación ultravioleta y actuar como fotoprotectores naturales (R. Singh et al., 2017).

7.4.2. Aplicaciones acuícolas e industriales

En aplicaciones acuícolas e industriales, las cianobacterias pueden aprovecharse como fuente de biomasa, pigmentos, antioxidantes y compuestos con valor agregado. Su uso en alimento acuícola se relaciona con el aporte de nutrientes y pigmentos, mientras que en la industria se estudia su potencial para producir

bioproductos, metabolitos bioactivos y compuestos de interés cosmético o farmacéutico. No obstante, estas aplicaciones requieren controlar la calidad del cultivo, la estabilidad del producto y la posible presencia de toxinas en determinadas especies (Novoveská et al., 2023; Zahra et al., 2020).

Las cianobacterias son una fuente importante de metabolitos bioactivos con aplicaciones en los sectores farmacéutico y cosmético. Estos compuestos presentan actividades antibacterianas, antivirales, antifúngicas, antiinflamatorias e incluso anticancerígenas. Algunos metabolitos, como la apratoxina, la curacina A y la criptoficina, han mostrado resultados prometedores en investigaciones preclínicas. En cosmética, destacan por sus propiedades antioxidantes, fotoprotectoras y beneficiosas para el cuidado de la piel. Sin embargo, la mayoría de los estudios se ha desarrollado in vitro, por lo que todavía se requieren investigaciones adicionales para ampliar y validar sus aplicaciones (Zahra et al., 2020).

7.5. Carotenoides en *Leptolyngbya* spp.

Los carotenoides son tetraterpenos de 40 átomos de carbono formados, en su estructura básica, por ocho unidades isoprenoides. Se clasifican en carotenos, constituidos únicamente por carbono e hidrógeno, y xantofilas, que incorporan oxígeno en grupos hidroxilo, ceto, epóxido u otros grupos funcionales. El β -caroteno pertenece al primer grupo; la luteína, la zeaxantina y la equinenona son xantofilas. La cadena poliénica de dobles enlaces conjugados constituye el cromóforo responsable de la absorción en la región azul y azul-verde del espectro visible. El número de dobles enlaces, los grupos terminales y la configuración

geométrica modifican el máximo de absorción y el color observado (Takaichi & Mochimaru, 2007; Pagels et al., 2021).

En condiciones naturales predominan los isómeros todo-trans, aunque la luz, el calor, el oxígeno y los ácidos pueden favorecer isomerización y oxidación. La ruptura de la conjugación disminuye la intensidad del color y altera la respuesta espectral; por ello, la concentración medida depende tanto del contenido biológico como de la conservación química del pigmento. Esta inestabilidad explica por qué la exposición de los extractos durante la preparación puede producir pérdidas o generar isómeros que aparecen como picos adicionales en el análisis cromatográfico (Rivera & Canela-Garayoa, 2012).

En las cianobacterias, los carotenoides se encuentran principalmente en las membranas tilacoidales y en complejos pigmento-proteína. Allí cumplen tres funciones relacionadas: participan en la captación y transferencia de energía, estabilizan el ensamblaje de los fotosistemas y protegen frente a la fotooxidación. La desactivación del estado triplete de la clorofila y del oxígeno singlete limita la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO); además, determinados cetocarotenoides forman parte de la proteína carotenoide naranja (OCP), que disipa como calor el exceso de energía absorbida por los ficobilisomas. En mutantes de *Synechocystis sp. PCC 6803* deficientes en carotenoides se alteraron las membranas tilacoidales, el ensamblaje del fotosistema II (PSII), la oligomerización del fotosistema I (PSI) y la organización de los ficobilisomas (Sozer et al., 2010; Domonkos et al., 2013; Tóth et al., 2015).

La composición carotenoide no es uniforme entre cianobacterias. β -caroteno, zeaxantina, equinenona y glicósidos de mixol son frecuentes, mientras que otras xantofilas dependen de la dotación enzimática del linaje. Lopes et al. (2020) caracterizaron por HPLC-PDA extractos de cinco cepas, entre ellas *Nodosilinea (Leptolyngbya) antarctica* LEGE 13457 y una cepa tipo *Leptolyngbya* LEGE 13412; en el conjunto analizado se registraron β -caroteno todo-trans, zeaxantina, equinenona y derivados de luteína. Este antecedente demuestra variación a nivel de cepa y no justifica atribuir un perfil único a todas las especies incluidas bajo *Leptolyngbya* spp.

La acumulación de carotenoides resulta del balance entre biosíntesis, incorporación en complejos celulares y degradación. Irradiancia, calidad espectral, disponibilidad de nitrógeno y carbono, salinidad, temperatura, pH y fase de crecimiento pueden modificar ese balance. En *Leptolyngbya fragilis*, la radiación UV incrementó los pigmentos fotoprotectores, lo que se interpretó como una respuesta de aclimatación al estrés fotooxidativo (Kokabi et al., 2019). La composición del medio también puede cambiar simultáneamente biomasa y pigmentación: en *Leptolyngbya* sp. KIOST-1, el medio SOT produjo mayor biomasa y contenido de pigmentos fotosintéticos que las otras formulaciones evaluadas (Lee et al., 2024).

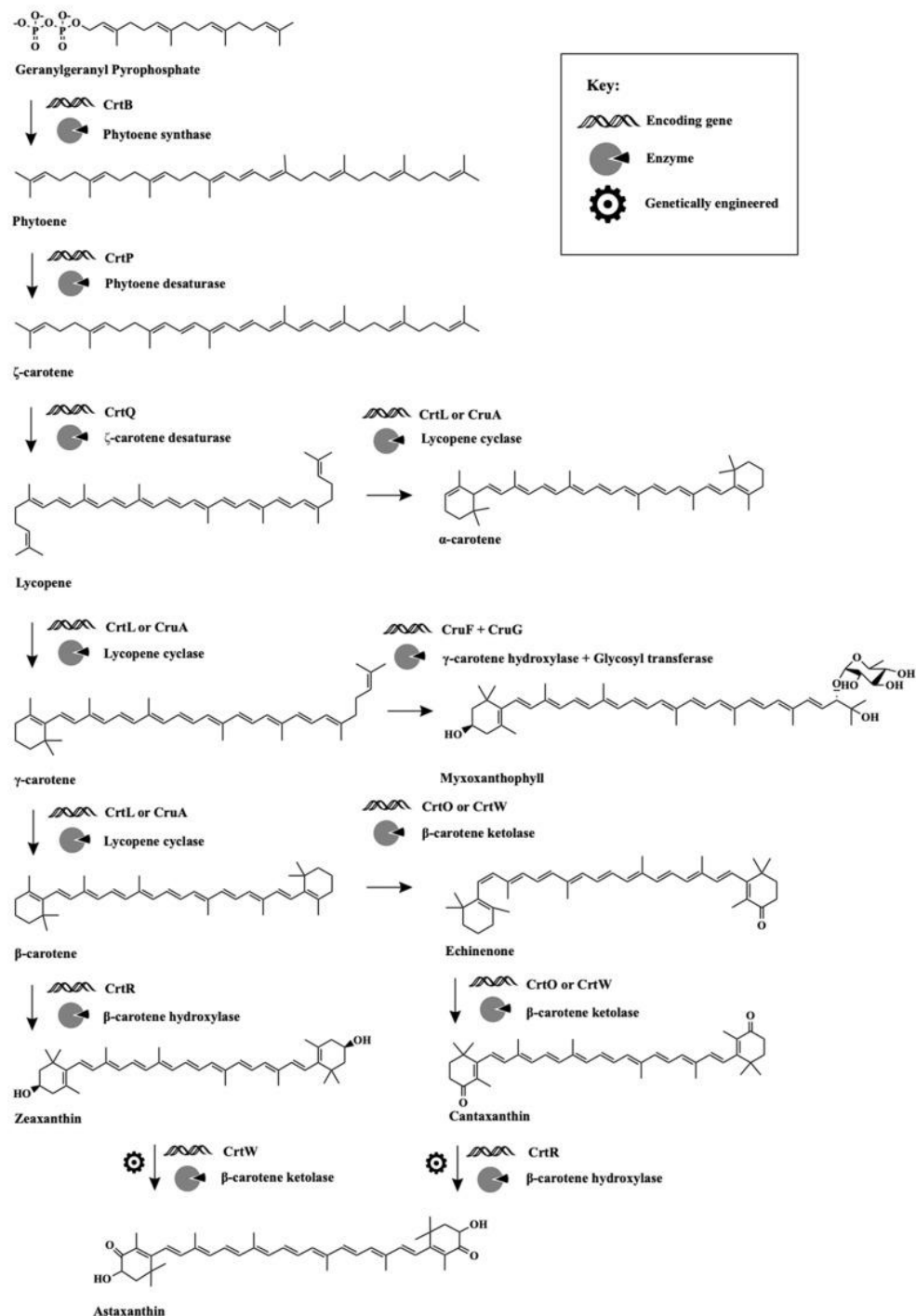
7.6. Carotenogénesis

La carotenogénesis cianobacteriana recibe precursores de la ruta del 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP). Esta vía produce isopentenil difosfato (IPP) y dimetilalil difosfato (DMAPP), unidades de cinco carbonos que originan geranilgeranil difosfato (GGPP). El GGPP también participa en la síntesis de la cadena fitol de las clorofilas y de otros isoprenoides; por ello, la formación de carotenoides comparte precursores con rutas esenciales de la célula (Domonkos et al., 2013).

El primer paso comprometido de la ruta es la condensación de dos moléculas de GGPP para formar fitoeno, reacción catalizada por la fitoeno sintasa CrtB. El fitoeno es incoloro porque posee menos dobles enlaces conjugados que los carotenoides posteriores. Las desaturaciones catalizadas por CrtP y CrtQ, junto con la isomerización atribuida a CrtH en diferentes modelos cianobacterianos, amplían el sistema conjugado hasta producir licopeno. La expresión de genes como *crtB*, *crtP*, *crtQ* y *crtR* responde a la luz y al estado metabólico, de manera que la ruta no funciona como una secuencia fija independiente de las condiciones celulares (Ryu et al., 2004; Pagels et al., 2021).

Figura 2

Ruta biosintética de los carotenoides en cianobacterias.



Nota. Tomada de Pagels et al. (2021).

El licopeno constituye el principal punto de ramificación. Su ciclación origina γ -caroteno, α -caroteno o β -caroteno, según la especificidad de las ciclasas presentes. Desde γ -caroteno, CruF y CruG participan en la formación de mixoxantofila, un carotenoide glicosilado característico de cianobacterias. La rama del β -caroteno produce zeaxantina por hidroxilación mediante CrtR y equinenona por cetolación mediante CrtO o CrtW. Reacciones posteriores pueden originar cantaxantina y 3'-hidroxiequinenona; esta última es un cromóforo frecuente de la OCP. La zeaxantina también puede conducir a nostoxantina o, en los linajes que poseen las enzimas correspondientes, a anteraxantina, violaxantina y neoxantina (Takaichi & Mochimaru, 2007; Pagels et al., 2021).

La Figura 2 representa posibilidades metabólicas descritas en cianobacterias, no una ruta demostrada para todas las cepas. La ausencia de una enzima bloquea la rama correspondiente, mientras que enzimas homólogas pueden presentar especificidades diferentes.

7.7. Clorofilas a y b

Las clorofilas son tetrapirroles del tipo clorina que coordinan un ion Mg^{2+} en el centro del anillo y poseen una cadena hidrofóbica, generalmente fitol, que facilita su inserción en las membranas tilacoidales. Presentan una banda intensa de Soret en la región azul y bandas Q en la región roja. La posición exacta de los máximos depende del solvente y, en la célula, de la interacción con proteínas y otros pigmentos. Por esa razón, los espectros de pigmentos purificados no son idénticos a los observados en células intactas (Ritchie, 2006).

La clorofila a es el pigmento indispensable de la fotosíntesis oxigénica: participa en los centros de reacción y en las antenas internas de PSI y PSII. En la fase final de su biosíntesis, la clorofila sintasa ChlG esterifica la clorofilida y genera la molécula hidrofóbica que se integra en los complejos de membrana. En *Synechocystis* sp. PCC 6803, ChlG interactúa con componentes asociados a la inserción y el ensamblaje de proteínas fotosintéticas, lo que vincula la síntesis del pigmento con la formación de los fotosistemas (Proctor et al., 2018).

La clorofila b difiere de la clorofila a por un grupo formilo en el carbono 7, donde la clorofila a posee un grupo metilo. Este cambio modifica la distribución electrónica y desplaza las bandas de absorción, lo que amplía el intervalo de luz utilizado por los organismos con antenas clorofila a/b. La mayoría de las cianobacterias, incluidas muchas formas filamentosas, utiliza clorofila a y ficobilisomas y no contiene clorofila b. Xu et al. (2001) demostraron que *Synechocystis* sp. PCC 6803 incorporó clorofila b en complejos funcionales solo después de expresar una clorofilida a oxigenasa exógena. Existen excepciones naturales, pero la clorofila b no puede asumirse como característica general de *Leptolyngbya* spp.

Las clorofilas son sensibles a condiciones ácidas, luz, oxígeno y temperatura. La pérdida del Mg^{2+} produce feofitinas, mientras que la separación de la cadena fitol genera clorofilidas o feofórbidos, según el estado del anillo. Estos derivados conservan parte de la absorción visible y pueden interferir en estimaciones espectrofotométricas o aparecer como picos cromatográficos separados. Por ello, un resultado de clorofila b calculado por ecuaciones espectrales

debe contrastarse con HPLC cuando la biología del organismo hace improbable su presencia; si no se observa un pico confirmado, corresponde informar no detectado o menor que el límite de detección, según el desempeño del método.

7.8. Espectrofotometría UV-Vis para carotenoides totales

La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) mide la atenuación de un haz de luz después de atravesar una muestra. El instrumento compara la intensidad incidente con la transmitida y expresa la señal como absorbancia. Una fuente emite radiación, el monocromador selecciona la longitud de onda, la cubeta define el trayecto óptico y el detector transforma la luz transmitida en una señal eléctrica. Para una solución homogénea y dentro del intervalo lineal, la ley de Beer-Lambert relaciona absorbancia y concentración.

La relación pierde linealidad cuando la muestra es demasiado concentrada, contiene partículas que dispersan luz, presenta interacciones químicas entre analitos o se mide fuera del intervalo útil del detector. El blanco corrige la absorción del solvente y de la cubeta, pero no compensa una extracción incompleta ni la degradación previa de los pigmentos.

Las ecuaciones multicomponente utilizan absorbancias en longitudes de onda asociadas con clorofilas a y b para corregir su contribución y estimar la fracción total de carotenos y xantofilas. Los coeficientes dependen del solvente y de la resolución espectral; una ecuación desarrollada para etanol no debe aplicarse

sin justificación a acetona, metanol u otra mezcla (Lichtenthaler & Buschmann, 2001; Ritchie, 2006).

7.9. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) separa los componentes de una mezcla antes de medirlos, cada compuesto migra a una velocidad determinada por su distribución entre una fase móvil líquida y una fase estacionaria contenida en una columna. La presión elevada no produce la separación por sí misma: permite mantener un flujo controlado a través de partículas pequeñas, que ofrecen una superficie amplia de interacción y aumentan la eficiencia cromatográfica (Van Heukelem & Thomas, 2001; Rivera & Canela-Garayoa, 2012).

En fase reversa, la fase estacionaria es relativamente apolar, como sílice modificada con cadenas C18 o C30, mientras que la fase móvil contiene solventes más polares cuya fuerza de elución puede modificarse durante la corrida. Después de la inyección, cada analito establece múltiples equilibrios entre ambas fases. Los compuestos con mayor afinidad por la fase estacionaria permanecen más tiempo en la columna y presentan un tiempo de retención mayor; los que permanecen preferentemente en la fase móvil eluyen antes. La retención de pigmentos depende de hidrofobicidad, grupos funcionales, geometría molecular, composición de la fase móvil y temperatura, por lo que no puede predecirse solo a partir de una clasificación general como caroteno o xantofila (Rivera & Canela-Garayoa, 2012).

7.9.1. Componentes y secuencia de funcionamiento

El equipo incluye reservorios de solventes, degasificador, sistema de mezcla, bomba, inyector o automuestreador, columna termostatada, detector y sistema de adquisición. El degasificador reduce burbujas que pueden alterar el flujo y la señal. La bomba impulsa la fase móvil con caudal reproducible y genera la presión necesaria para atravesar el lecho empacado. El inyector introduce un volumen definido en la corriente sin detenerla. La columna constituye el lugar donde ocurre la separación, y el control de temperatura ayuda a estabilizar viscosidad, presión, selectividad y tiempos de retención (Rivera & Canela-Garayoa, 2012).

7.9.2. Detección por arreglo de diodos

Las denominaciones DAD (*diode array detector*) y PDA (*photodiode array detector*) se utilizan para el mismo principio de detección multiespectral mediante una matriz de fotodiodos. Al salir de la columna, los analitos atraviesan la celda de flujo del detector de arreglo de diodos (DAD). Una fuente emite radiación UV-Vis; la luz transmitida por la celda se dispersa mediante una red de difracción y alcanza una matriz de fotodiodos. Cada diodo registra simultáneamente un intervalo estrecho de longitudes de onda. El resultado es una matriz tridimensional de absorbancia en función del tiempo y de la longitud de onda, de la cual pueden extraerse cromatogramas a longitudes seleccionadas y el espectro completo de cada punto del pico (Fernandes et al., 2020).

7.9.3. Identificación y cuantificación

La identificación se sustenta en la coincidencia del tiempo de retención y del espectro UV-Vis con un estándar auténtico analizado en el mismo sistema. (Lehmann et al., 2021; Fernandes et al., 2020). La cuantificación relaciona el área integrada del pico con una curva de calibración preparada con el estándar correspondiente. La pendiente es específica para cada compuesto, longitud de onda y configuración instrumental; Un método cuantitativo debe demostrar intervalo lineal, repetibilidad, precisión, recuperación, límites de detección y cuantificación, y estabilidad de los analitos. También debe comprobar que la resolución es suficiente frente a pigmentos vecinos y productos de degradación (Rowland et al., 2022; Lourenço-Lopes et al., 2022).

7.10. Espectrofotometría para el seguimiento de la cinética de crecimiento

Una curva de crecimiento describe el cambio de biomasa o abundancia celular con el tiempo, sus límites no siempre son nítidos en organismos fotosintéticos. La tasa específica de crecimiento (μ) representa el incremento de biomasa por unidad de biomasa y tiempo. Durante un intervalo que puede aproximarse a crecimiento exponencial, aplicarla a puntos de adaptación o fase estacionaria produce un valor sin significado biológico (Trenkenshu, 2019).

La densidad óptica (DO) permite seguir el cultivo de forma rápida y con bajo consumo de muestra. En suspensiones celulares, el detector recibe menos luz por absorción de pigmentos y por dispersión causada por células, filamentos y

agregados. Por ello, DO no es una medida directa de masa. Las longitudes de onda cercanas a 720–750 nm reducen la contribución de los principales pigmentos y reflejan sobre todo turbidez, mientras que 647 y 540 nm responden también a cambios de pigmentación y composición celular. Griffiths et al. (2011) mostraron que la variación del contenido pigmentario sesga la conversión entre DO y peso seco, con menor interferencia en la región cercana a 750 nm.

7.11. Determinación de biomasa por peso seco

El peso seco es una determinación gravimétrica de la materia particulada recuperada de un volumen conocido de cultivo después de eliminar el agua. La diferencia entre la masa final del soporte con biomasa y su masa inicial se transforma en concentración de biomasa. El resultado incluye todo sólido no volátil retenido con la muestra; no distingue células viables, células dañadas, material extracelular ni precipitados. Por ello, se considera una medida directa de biomasa particulada, pero no una medida específica del número de células o de la actividad metabólica (Zhu & Lee, 1997).

En cianobacterias filamentosas pueden ocurrir pérdidas por adhesión a paredes, transferencia incompleta o fragmentación del material. A pesar de estas limitaciones, el peso seco es la referencia gravimétrica para convertir DO en concentración de biomasa y para calcular productividad volumétrica (Su et al., 2016; Gao et al., 2024).

8. MARCO METODOLÓGICO

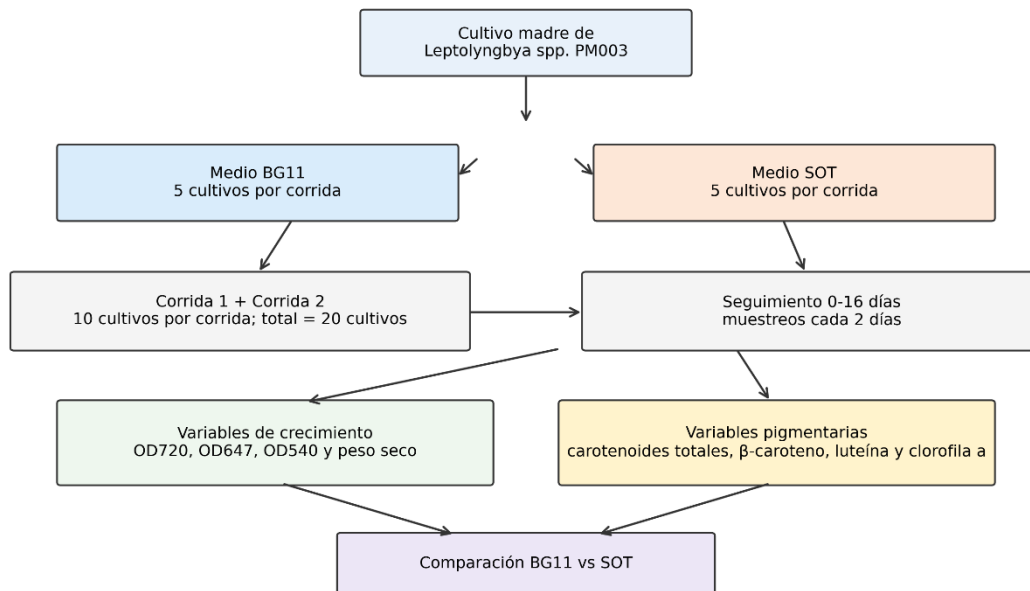
8.1. Tipo de investigación

La investigación se desarrolló con enfoque cuantitativo, de tipo experimental y comparativo, debido a que se analizó la respuesta de la cianobacteria *Leptolyngbya spp.* frente a dos medios de cultivo bajo condiciones controladas de laboratorio.

El factor de estudio o variable independiente fue el medio de cultivo, con dos niveles: BG11 y SOT. La respuesta experimental fueron las variables dependientes, las cuales incluyeron indicadores de crecimiento, como absorbancia a 720, 647 y 540 nm, peso seco, biomasa máxima, tasa específica de crecimiento, tiempo de duplicación y productividad; así como variables pigmentarias, entre ellas carotenoides totales, β -caroteno, luteína, clorofila *a* y clorofila *b*. El diseño tiene dos ciclos experimentales independientes para incorporar la reproducibilidad del ensayo y reducir el efecto de variaciones propias del manejo de cultivos discontinuos.

Figura 3

*Esquema del diseño experimental utilizado para evaluar el crecimiento y la producción de pigmentos de *Leptolyngbya* spp. en BG11 y SOT.*



Nota. OD = densidad óptica.

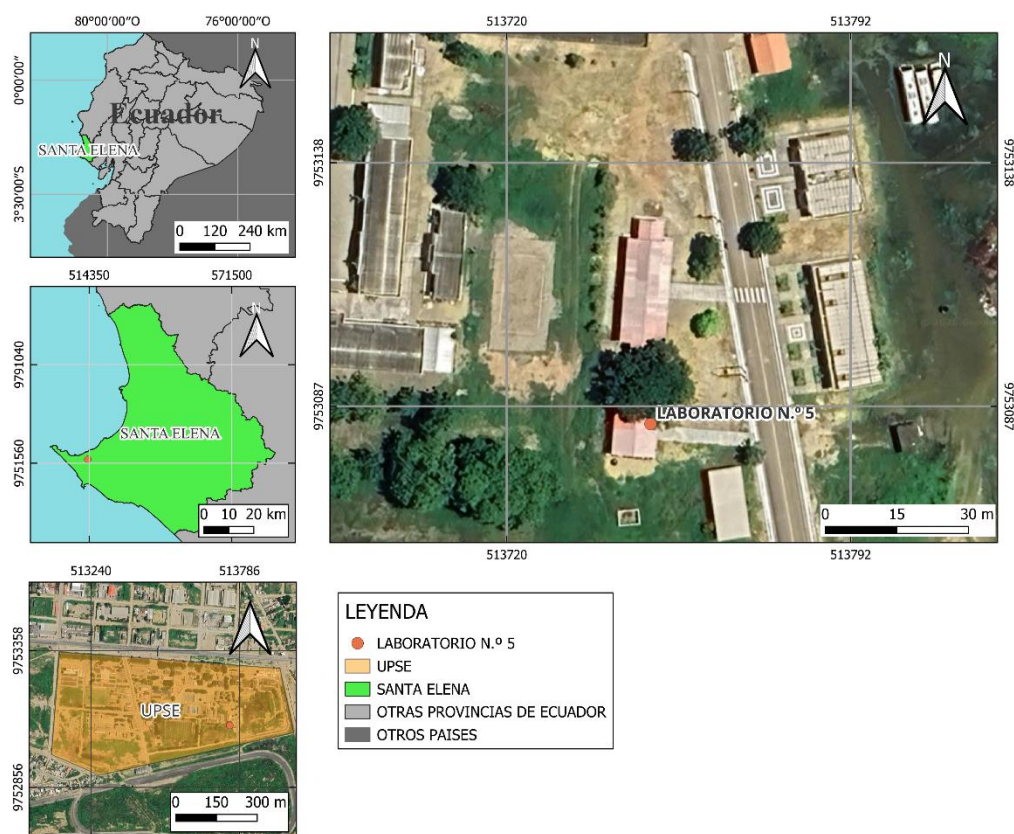
8.2. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio N.º 5 de la Facultad de Ciencias del Mar, como parte del proyecto “*Registro de una colección de cepas microalgales con valor biotecnológico para investigación y desarrollo de bioproductos*”, registrado con el código CUP: 91870000.0000.389574 y con permiso del Ministerio de Ambiente Agua y Transición MAATE-DBI-CM2022-0264, perteneciente a la Universidad Estatal Península de Santa Elena, bajo condiciones controladas de cultivo.

El análisis del perfil pigmentario mediante cromatografía líquida de alta resolución se efectuó en el laboratorio de Cromatografía de la Universidad Estatal de Bolívar, ubicado en los laboratorios de investigación y vinculación de la institución, Laguacoto II, km 1 1/2 vía a San Simón, cantón Guaranda, provincia de Bolívar, Ecuador. Bajo el proyecto “Dietas funcionales basadas en carotenoides derivados de dos especies de microalgas para mejorar la productividad y salud de peces (*Oncorhynchus myskiss*) en etapas iniciales“ RCU-005-2024-077

Figura 4

Vista satelital de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



Nota. Imagen creada con QGis.

8.3. Material biológico

Se empleó una cepa de la cianobacteria *Leptolyngbya spp.* registrada con el código PM003. La manipulación del material biológico se realizó bajo el permiso MAATE-DBI-CM-2022-0264. La cepa procede de los pozos de Ecuasal, ubicados en Salinas, provincia de Santa Elena, Ecuador, y fue mantenida en condiciones controladas de laboratorio previo a los ensayos experimentales.

Los cultivos de microalgas fueron observados microscópicamente para verificar su estado general, descartar contaminación visible y seleccionar el cultivo madre con mejor condición fisiológica.

8.4. Preparación de medios de cultivo

Se utilizaron los medios BG11 y SOT. BG11 se seleccionó por su uso extendido en el mantenimiento y cultivo de cianobacterias (Rippka et al., 1979). SOT se empleó como formulación alternativa, desarrollada originalmente para *Spirulina/Arthrospira* y posteriormente utilizada en cianobacterias filamentosas, incluidas cepas de *Leptolyngbya* (Kim et al., 2015; Ogawa & Terui, 1970).

Los medios fueron preparados con agua destilada y ajustados a una salinidad de 30 ppt mediante una solución hipersalina de cloruro de sodio (NaCl). Los reactivos se incorporaron en el orden indicado para cada formulación, con agitación manual constante, evitando precipitados o reacciones no deseadas entre sales. Posteriormente, los medios fueron esterilizados en autoclave y el pH se ajustó a 9 con solución de hidróxido de sodio antes de la inoculación.

Tabla 4*Formulación del medio SOT utilizado en el cultivo de Leptolyngbya spp.*

Compuesto	Nombre	Cantidad	Unidad
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio	16.8	g/L
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	Fosfato dipotásico	0.50	g/L
NaNO ₃	Nitrato de sodio	2.50	g/L
K ₂ SO ₄	Sulfato de potasio	1.00	g/L
MgSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	0.20	g/L
CaCl ₂ ·2H ₂ O	Cloruro de calcio dihidratado	0.04	g/L
FeSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de hierro heptahidratado	0.01	g/L
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	Ácido etilenodiaminetetraacético	0.08	g/L
A5 solution	micronutrientes	1	mL/L
A6 solution	Vitaminas	0.5	mL/L

Nota. Formulación basada en Ogawa y Terui (1970). Tras la disolución de los componentes, el pH se ajustó a 9,0 antes de la inoculación.

Tabla 5*Formulación del medio BG11 utilizado en el cultivo de Leptolyngbya spp.*

Compuesto	Nombre	Cantidad	Unidad
NaNO ₃	Nitrato de sodio	2.5	g/L
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	Fosfato dipotásico	0.03	g/L
MgSO ₄ ·7H ₂ O	Sulfato de magnesio heptahidratado	0.0375	g/L
CaCl ₂ ·2H ₂ O	Cloruro de calcio dihidratado	0.036	g/L
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sodio	0.02	g/L
C ₆ H ₈ O ₇	Acido citrico	0.006	g/L
C ₆ H ₁₁ FeNO ₇	Citrato de amonio férrico	0.006	g/L
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	Ácido etilendiaminotetraacético	0.001	g/L
A5 solution	micronutrientes	1	mL/L
A6 solution	Vitaminas	0.5	mL/L

Nota. Formulación basada en Rippka et al. (1979). El pH se ajustó a 9,0 para mantener condiciones comparables entre tratamientos.

Tabla 6*Componentes de la solución A5 utilizada en ambos medios.*

Compuesto	Nombre	Cantidad	Unidad
H ₃ BO ₃	Ácido bórico	2.86	g/L
MnCl ₂ 4H ₂ O	Cloruro de manganeso II	1.81	g/L
ZnSO ₄ 7H ₂ O	Sulfato de zinc	0.222	g/L
CuSO ₄ 5H ₂ O	Sulfato de cobre II	0.079	g/L

Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	Nitrato de cobalto II	0.0494	g/L
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	Molibdato de sodio	0.390	g/L

Tabla 7

Componentes de la solución A6 utilizada en ambos medios.

Componente	Cantidad	Unidad
Tiamina B1	0.1	g/L
Vitamina B12 (Cyanocobalamin)	0.5	g/L
Biotina	1	g/L

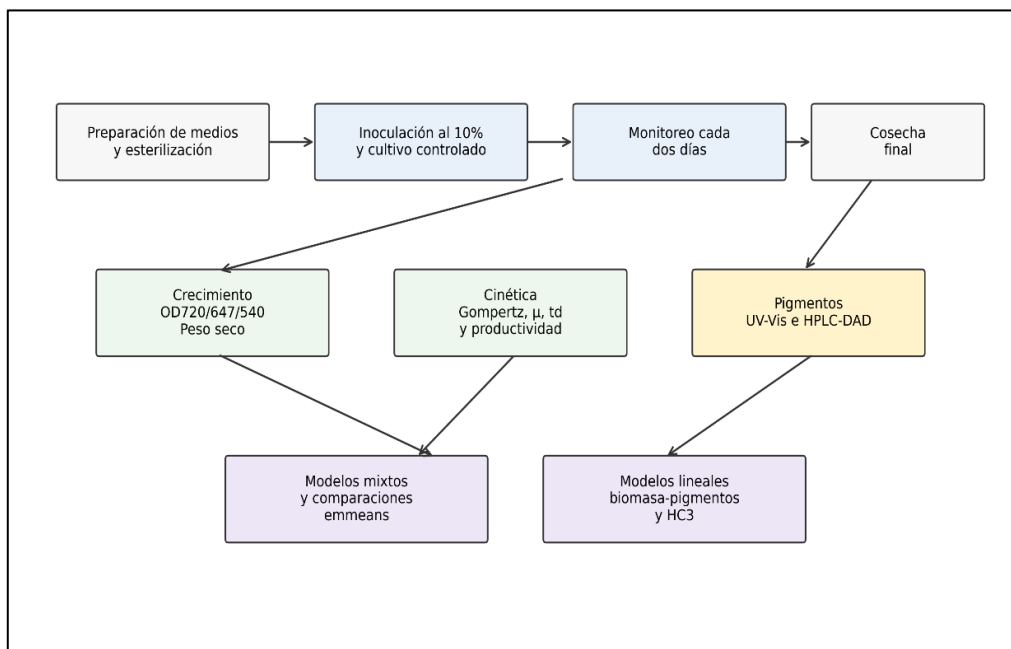
8.5. Purificación y escalamiento del cultivo

La cepa fue purificada por estriado en placas con agar según la metodología descrita por Arredondo-Vega y Voltolina (2007). Para la preparación del medio sólido, se incorporó Agar agar al medio de cultivo en una proporción de 1.5 g por cada 100 mL. El medio se sometió a ebullición, se esterilizó en autoclave a 121 °C, 15 psi y se distribuyó en cajas Petri bajo condiciones estériles. En cada placa se sembraron 50 µL de la suspensión de la cepa y se incubó hasta observar crecimiento colonial.

Después de diez días, las colonias seleccionadas fueron transferidas con asa de platino a tubos de ensayo con 10 mL de medio. Posteriormente, los cultivos se escalaron progresivamente a 50 mL y, luego de un nuevo período de crecimiento, a 500 mL. Durante el proceso se verificó la condición del cultivo mediante observación microscópica y control de pH, temperatura e iluminación. El cultivo madre seleccionado fue utilizado para la inoculación experimental.

Figura 5

Flujo metodológico general aplicado desde la preparación de medios hasta el análisis estadístico.



8.6. Condiciones de cultivo e inoculación experimental

La inoculación se realizó al 10 % (v/v), empleando un cultivo madre de ocho días en buen estado fisiológico. Cada unidad experimental se preparó en botellas de 1 L, adicionando 900 mL del medio correspondiente y 100 mL de inóculo. Los cultivos se mantuvieron con aireación constante mediante bombas de acuario y mangueras de silicona previamente desinfectadas.

Los cultivos se mantuvieron bajo fotoperiodo 12 h luz/12 h oscuridad, intensidad lumínica de $100 \pm 0.5 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y temperatura de $27 \pm 1 ^\circ\text{C}$. Estas condiciones se monitorearon con luxómetro VOLTCRAFT y termómetro de mercurio, respectivamente. El pH se controló con pHmetro digital y se mantuvo cercano a 9 durante el ensayo. La selección de un inóculo de 10 % es consistente

con trabajos de cultivo de *Leptolyngbya spp.* y otras cianobacterias filamentosas, donde el volumen de inoculación y la intensidad lumínica influyen en el rendimiento y la estabilidad del cultivo (Schipper et al., 2021).

8.7. Seguimiento de la cinética de crecimiento

El crecimiento se monitoreó desde el día 0 hasta el día 16, con muestreos intercalando un día. Para cada cultivo se registraron mediciones espectrofotométricas y biomasa por peso seco.

8.7.1. Determinación de absorbancia

La absorbancia se determinó mediante espectrofotometría UV-Vis en modo multionda, a 720, 647 y 540 nm. Antes de cada lectura, las muestras fueron homogenizadas para reducir la sedimentación celular. Se extrajeron alícuotas de 3 mL y se colocaron en celdas limpias y libres de opacidad. Cada muestra se leyó por triplicado y se registró el promedio como valor de absorbancia. El medio de cultivo correspondiente se empleó como blanco.

La absorbancia a 720 nm se utilizó como indicador general de crecimiento por su relación con la turbidez del cultivo, mientras que las lecturas a 647 y 540 nm se emplearon como medidas complementarias asociadas al comportamiento pigmentario y al desarrollo del cultivo.

8.7.2. Determinación de biomasa por peso seco

El peso seco se determinó como indicador directo de biomasa. Previamente, los tubos Eppendorf fueron secados a 105 °C durante 24 h, enfriados en desecador y pesados hasta alcanzar peso constante. Para cada muestreo se tomaron 10 mL de

cultivo en tubos Falcon de 15 mL, los cuales fueron rotulados y conservados a baja temperatura hasta su procesamiento.

Las muestras fueron centrifugadas a 4500 rpm durante 14 min. El sobrenadante se eliminó y el pellet se lavó dos veces con agua destilada, resuspendiendo la biomasa con vortex en cada lavado. Posteriormente, la biomasa fue transferida a tubos Eppendorf previamente pesados y secada a 105 °C durante 24 h. Después del secado, las muestras se enfriaron en desecador y se pesaron para calcular la biomasa seca. (Zhu & Lee, 1997; Su et al., 2016).

La biomasa se calculó mediante la ecuación:

$$X = (P_f - P_i)$$

donde X corresponde a la biomasa seca expresada en g·L⁻¹, P_f es el peso final del tubo con la biomasa seca y P_i es el peso inicial del tubo vacío.

8.8. Modelamiento de la cinética de crecimiento

La cinética de crecimiento fue descrita a partir de los datos de peso seco mediante el ajuste del modelo no lineal de Gompertz, una función sigmoideal utilizada para representar procesos biológicos con una fase inicial lenta, una fase de crecimiento acelerado y una aproximación progresiva a un valor máximo. El modelo se ajustó por separado para los medios BG11 y SOT.

$$X(t) = A \cdot \exp[-B \cdot \exp(-k \cdot t)]$$

donde X(t) representa la biomasa estimada en el tiempo t, A corresponde a la biomasa máxima estimada, B es el parámetro de desplazamiento de la curva, k es la constante de crecimiento y t corresponde al tiempo de cultivo.

A partir de los parámetros del modelo se calculó el punto de inflexión, que representa el momento de mayor velocidad de incremento de biomasa:

$$t_i = \ln(B) / k$$

La biomasa estimada en el punto de inflexión se obtuvo mediante:

$$X(t_i) = A / e$$

Para delimitar objetivamente las fases de crecimiento se utilizó el porcentaje de la biomasa máxima estimada por el modelo:

$$\%A = [X(t) / A] \times 100$$

Con este criterio, se consideró fase de adaptación cuando la biomasa estimada fue menor al 20 % de A, fase de crecimiento activo entre 20 y 80 % de A, y fase de desaceleración cuando superó el 80 % de A.

Tabla 8

Criterios utilizados para identificar las fases de crecimiento a partir del modelo de Gompertz.

Fase	Criterio operativo	Interpretación biológica
Adaptación o latencia	$X(t) < 20 \% \text{ de } A$	Incremento lento de biomasa y ajuste fisiológico inicial al medio de cultivo.
Crecimiento activo	$20 \% \leq X(t) \leq 80 \% \text{ de } A$	Periodo de mayor incremento de biomasa; incluye el punto de inflexión del modelo.
Desaceleración	$X(t) > 80 \% \text{ de } A$	Aproximación progresiva a la biomasa máxima estimada.

Nota. A = biomasa máxima estimada por el modelo de Gompertz; X(t) = biomasa estimada en el tiempo t.

8.8.1. Cálculo de parámetros cinéticos

La tasa específica de crecimiento se calculó durante el intervalo de crecimiento activo, empleando los valores de biomasa correspondientes al inicio y final del intervalo seleccionado. La ecuación utilizada fue:

$$\mu = [\ln(X_2) - \ln(X_1)] / (t_2 - t_1)$$

donde: μ es la tasa específica de crecimiento, X_1 y X_2 son las biomasa registradas al inicio y final del intervalo, y t_1 y t_2 son los tiempos correspondientes. El tiempo de duplicación se calculó como:

$$t_d = \ln(2) / \mu$$

La productividad de biomasa se estimó mediante la diferencia entre biomasa final e inicial dividida para el tiempo total de cultivo:

$$P = (X_f - X_i) / (t_f - t_i)$$

donde: P es la productividad de biomasa, X_f es la biomasa final, X_i es la biomasa inicial, t_f es el tiempo final y t_i es el tiempo inicial. Estos parámetros permitieron comparar la eficiencia de crecimiento entre BG11 y SOT.

8.9. Extracción de carotenoides totales

La cosecha para carotenoides totales se realizó al finalizar el período de cultivo en condiciones de poca luz. Para cada muestra se utilizaron 100 mg de biomasa húmeda. La biomasa cosechada se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se descongeló progresivamente antes de la extracción. Primero, se mantuvo en refrigeración y a temperatura ambiente durante 20 minutos en cada etapa, evitando exposición directa a la luz.

La extracción se realizó con etanol al 95 %. A cada muestra se añadieron 2 mL de solvente y perlas de vidrio pequeñas, medianas y grandes en una relación aproximada de 50 % (v/v) respecto al volumen de la suspensión. La ruptura celular se efectuó mediante vortex durante 5 min a 3110 rpm. Posteriormente, la muestra se transfirió a tubos de vidrio con tapa rosca, protegidos de la luz, y se mantuvo a -20°C durante 24 h.

Transcurrido este tiempo, las muestras fueron transferidas a tubos Falcon de 15 mL protegidos de la luz. Se aplicó vortex durante 5 min, las muestras se mantuvieron en hielo y se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 min para separar el sobrenadante pigmentario. El sobrenadante se recolectó en un matraz protegido con papel aluminio. El ciclo de extracción se repitió hasta obtener un pellet incoloro; en promedio se realizaron cinco ciclos por muestra. (Poojary et al., 2016; Rowland et al., 2022).

8.9.1. Cuantificación espectrofotométrica de pigmentos

El extracto pigmentario se analizó mediante espectrofotometría UV-Vis Thermo Scientific™ a 664, 649 y 470 nm. La cuantificación de clorofilas y carotenoides totales se realizó con las ecuaciones propuestas para extractos en etanol por Lichtenthaler y Buschmann (2001):

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = 13.36 A_{664} - 5.19 A_{649}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = 27.43 A_{649} - 8.12 A_{664}$$

$$\text{Carotenoides totales } (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = [1000 A_{470} - 2.13(\text{Clorofila a}) - 97.64(\text{Clorofila b})] / 209$$

Para expresar el contenido de carotenoides totales en función de la biomasa seca, se calculó un factor de conversión entre biomasa húmeda y seca mediante:

$$F = P_s / P_h$$

donde F corresponde al factor de conversión, P_s es el peso seco y P_h el peso húmedo de la muestra. La concentración final de pigmentos se expresó como $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de biomasa mediante:

$$C_p = (C_{\text{ext}} \times V \times D) / (W_h \times F)$$

donde C_p corresponde al contenido de pigmento expresado en $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de biomasa, C_{ext} es la concentración del extracto, V el volumen final del solvente, D el factor de dilución, W_h el peso húmedo utilizado en la extracción y F el factor de conversión a peso seco. Las unidades se ajustaron para expresar el resultado final en mg de pigmento por gramo de biomasa.

8.10. Perfil pigmentario mediante HPLC-DAD

El perfil pigmentario se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). La metodología se basó en el procedimiento LAP para identificación y cuantificación de pigmentos fotosintéticos en biomasa microalgal, que permite separar, identificar y cuantificar pigmentos mediante comparación con estándares analíticos (Rowland et al., 2022).

8.10.1. Preparación de extractos para HPLC

La biomasa cosechada se secó a 32 °C durante 24 h y posteriormente se maceró hasta obtener un polvo fino. De cada muestra se pesaron 80 mg en tubos de microcentrífuga de 2 mL y se añadieron ocho perlas de acero inoxidable de 2.4 mm. La muestra fue agitada mediante vortex durante 1 min a 6000 rpm. Luego, se transfirieron 20 mg de muestra a un nuevo tubo rotulado, se añadió 1 mL de agua

tipo I y se dejó reposar durante 30 min en refrigeración para favorecer la rehidratación y reducir actividad biológica residual.

Después de la rehidratación se adicionaron 500 μ L de metanol grado HPLC y 500 μ L de cloroformo grado HPLC. La mezcla se homogenizó durante 20 s a 6000 rpm en vortex después de agregar cada solvente y se centrifugó a 11 °C durante 5 min a 6000rpm. El sobrenadante se recuperó con micropipeta y se transfirió a un balón de aforo ámbar. El proceso de extracción se repitió cinco veces por muestra o hasta observar una reducción evidente del color del pellet. El volumen final se aforó a 5 mL con una mezcla 50:50 de metanol y cloroformo. Los extractos se conservaron en crioviales ámbar a -20 °C hasta su análisis.

Antes de la inyección, se tomaron 500 μ L de cada extracto con jeringa desmontable y se filtraron con filtros PTFE de 0.45 μ m y 13 mm de diámetro. El filtrado se colocó en viales ámbar de 2 mL para HPLC. Las diluciones variaron dependiendo la concentración de cada muestra.

8.10.2. Condiciones cromatográficas

Se utilizó un cromatógrafo Agilent 1260 Infinity equipado con detector DAD 1290 Infinity. La separación se realizó en una columna Kinetex EVO C18 de 5 μ m, 100 Å, 150 $\times$ 4.6 mm, mantenida a 25 °C. La fase móvil estuvo compuesta por metanol y acetato de etilo grado HPLC en proporción 80:20 (v/v). Los solventes fueron filtrados al vacío con membranas PTFE de 0.45 μ m y desgasificados en baño ultrasónico durante 10 min antes de su uso.

El flujo de la fase móvil fue de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, el volumen de inyección fue de $8 \text{ } \mu\text{L}$ y el tiempo de corrida por muestra fue de 10 min. El sistema se purgó antes de iniciar la secuencia para eliminar burbujas de aire. La adquisición y revisión de cromatogramas se realizó con el software OpenLab.

Tabla 9

Condiciones cromatográficas utilizadas para el análisis de pigmentos por HPLC-DAD.

Parámetro	Condición
Equipo	Agilent 1260 Infinity con detector DAD 1290 Infinity
Columna	Kinetex EVO C18, $5 \text{ } \mu\text{m}$, $100 \text{ } \text{\AA}$, $150 \times 4.6 \text{ mm}$
Temperatura de columna	$25 \text{ } ^\circ\text{C}$
Fase móvil	Metanol:acetato de etilo, 80:20 (v/v)
Flujo	$1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$
Volumen de inyección	$8 \text{ } \mu\text{L}$
Tiempo de corrida	10 min por muestra
Filtración de extractos	Filtros PTFE, $0.45 \text{ } \mu\text{m}$, 13 mm
Software de adquisición	OpenLab

8.10.3. Preparación de estándares y curvas de calibración

Se prepararon estándares analíticos de luteína, β -caroteno, clorofila a y clorofila b (Sigma-Aldrich). Para cada compuesto se elaboró una solución madre de $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y, a partir de ella, diluciones de trabajo dentro del rango lineal del detector. Las diluciones se prepararon con acetona y se analizaron antes de las muestras para verificar los tiempos de retención y construir las curvas de calibración.

La cuantificación de cada pigmento se realizó mediante regresión lineal entre el área cromatográfica y la concentración del estándar correspondiente:

$$\text{Área} = mC + b$$

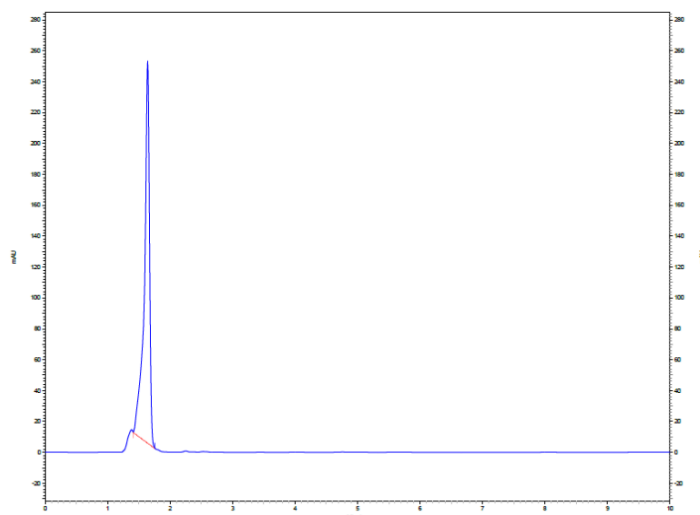
donde Área corresponde al área integrada del pico cromatográfico, C es la concentración del estándar, m la pendiente de la curva de calibración y b la ordenada al origen. La concentración de cada pigmento en las muestras se estimó despejando C:

$$C = (\text{Área} - b) / m$$

Los pigmentos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención y las curvas de calibración de los estándares.

Figura 6

Cromatograma del estándar de luteína.



Nota. Concentración de 10 mg/L (R1) obtenido por HPLC. Tiempo de retención 1.64 min.

Figura 7

Curva de calibración de luteína.

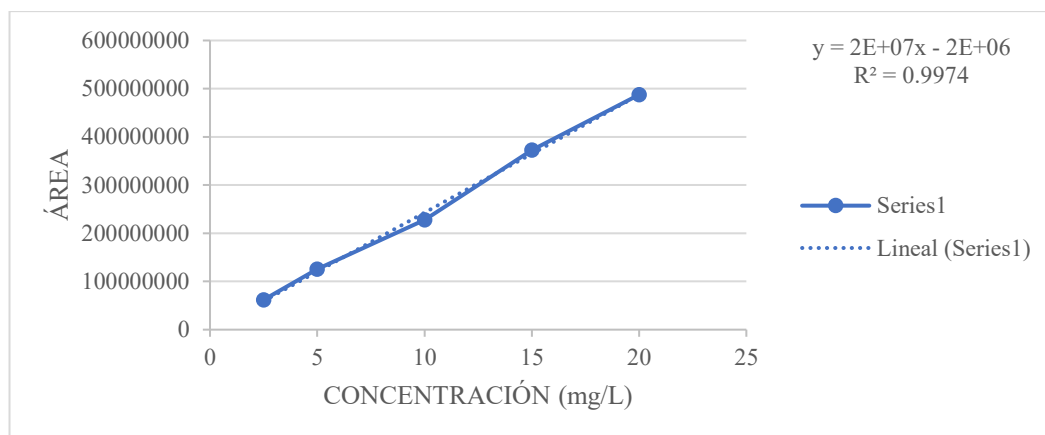
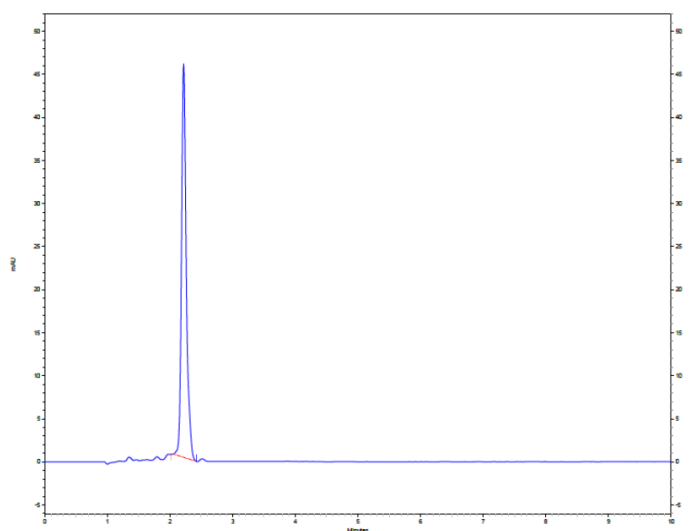


Figura 8

Cromatograma del estándar de clorofila b.



Nota. Concentración de 10.0 mg/L (R1) obtenido por HPLC. Tiempo de retención. 2.22 min

Figura 9

Curva de calibración de clorofila b.

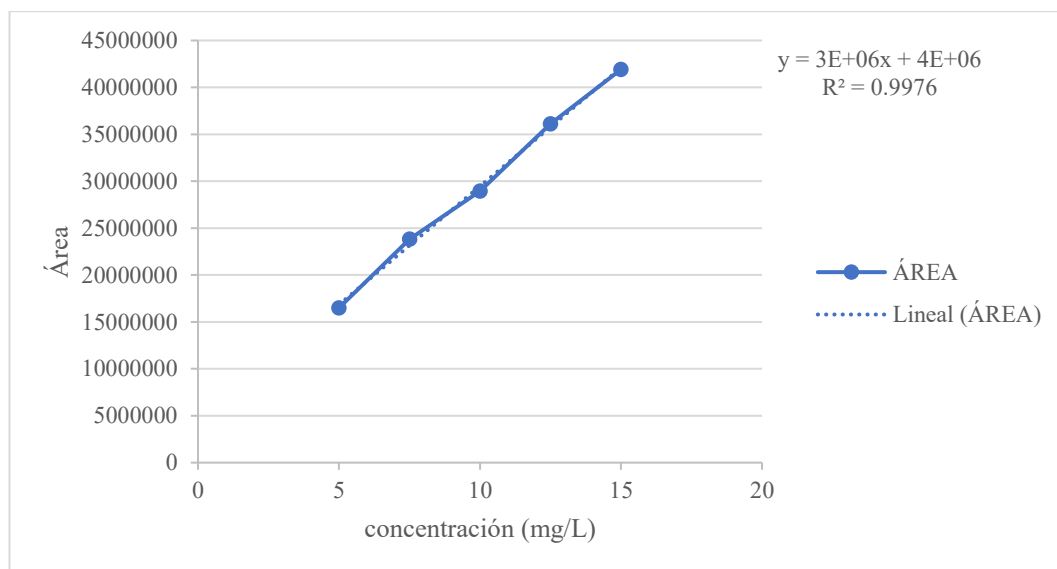
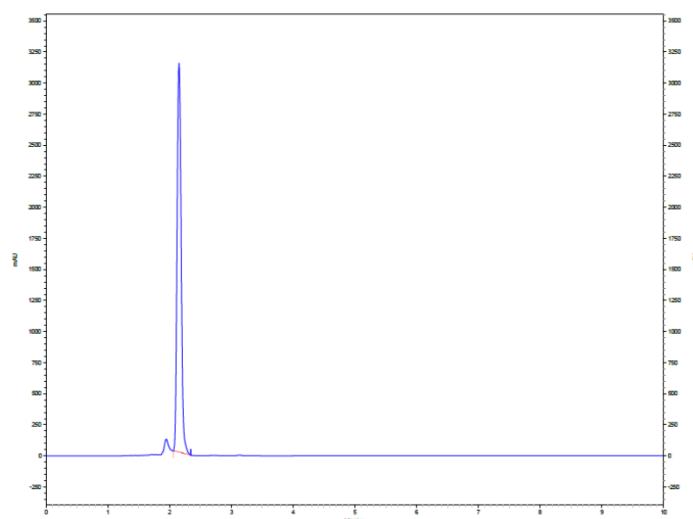


Figura 10

Cromatograma del estándar de clorofila a.



Nota. Concentración de 10.0 mg/L (R1) obtenido por HPLC. Tiempo de retención. 2.66 min.

Figura 11

Curva de calibración de clorofila a.

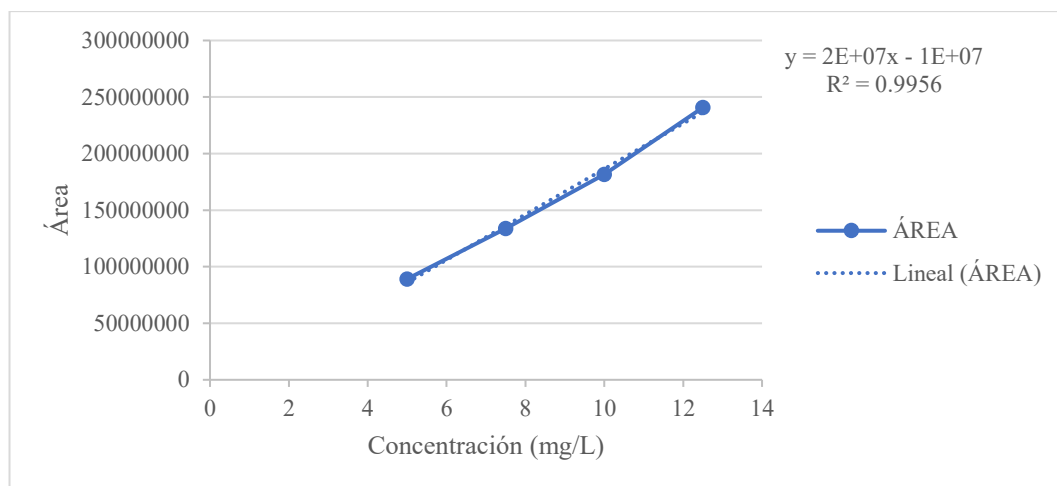
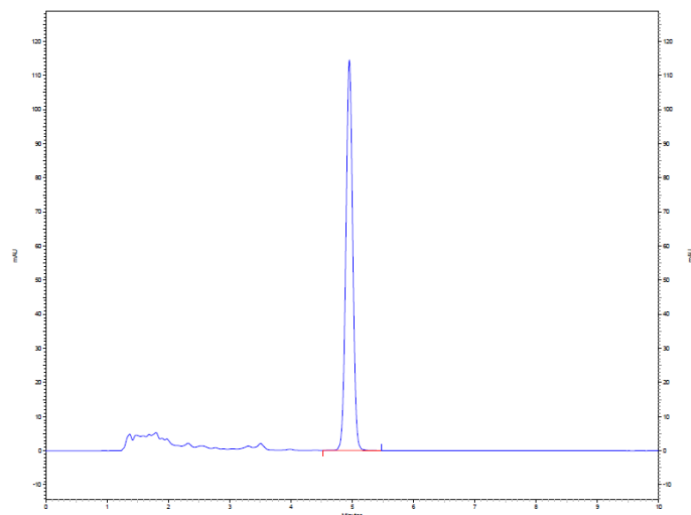


Figura 12

Cromatograma del estándar de β -caroteno.

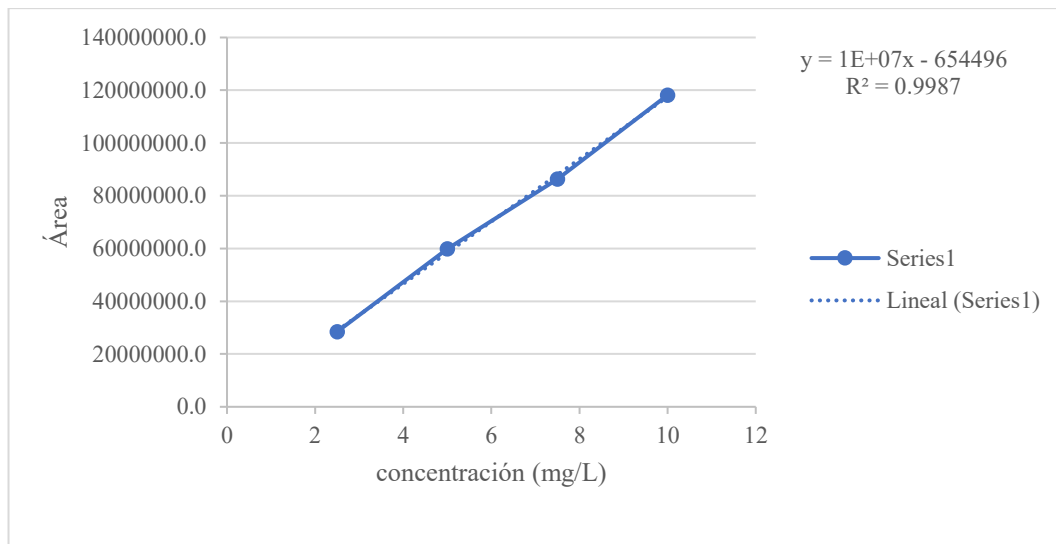


Nota. Concentración de 10.0 mg/L (R1) obtenido por HPLC. Tiempo de retención. 4.96

min.

Figura 13

Curva de calibración de β -caroteno.



8.11. Programas utilizados y organización de datos

Los datos experimentales fueron organizados inicialmente en Microsoft Excel, separando las hojas de crecimiento, peso seco, carotenoides totales y perfil pigmentario. Las variables principales de la matriz de crecimiento fueron: ciclo experimental, medio de cultivo, cultivo, día de evaluación, absorbancia a 720, 647 y 540 nm, y peso seco. Para pigmentos se organizaron las variables: medios de cultivo, ciclos experimentales, muestras, duplicados técnicos, carotenoides totales y concentraciones obtenidas por HPLC.

Los análisis estadísticos y la elaboración de figuras se realizaron en RStudio con R (R Core Team, 2025). Se utilizaron los paquetes readxl u openxlsx para importación de datos; dplyr y tidyr para depuración y organización; ggplot2 para visualización (Wickham, 2016); lme4 y lmerTest para modelos lineales mixtos

(Bates et al., 2015); emmeans para medias marginales estimadas y comparaciones post hoc (Lenth, 2026); DHARMA para diagnóstico de residuos simulados (Hartig, 2026); performance para R^2 marginal y condicional (Lüdecke et al., 2021); car para pruebas complementarias de supuestos (Fox & Weisberg, 2019); sandwich y lmtest para errores estándar robustos HC3 (Zeileis, 2004); y ggpubr para la organización de figuras multipanel cuando fue necesario.

8.12. Análisis estadístico

La normalidad de las variables de respuesta fue evaluada inicialmente mediante la prueba de Shapiro-Wilk como análisis exploratorio. Sin embargo, debido a que las mediciones de crecimiento correspondieron a un diseño longitudinal con medidas repetidas por cultivo, la validación principal de los supuestos se realizó sobre los residuos de los modelos ajustados.

8.12.1. Modelos lineales mixtos para crecimiento

Para evaluar el efecto del medio de cultivo y del tiempo sobre el crecimiento de *Leptolyngbya spp.*, se ajustaron modelos lineales mixtos independientes para OD720, OD647, OD540 y peso seco. En cada modelo, el medio de cultivo, el día de evaluación y su interacción fueron considerados efectos fijos, mientras que el cultivo individual fue incorporado como efecto aleatorio para representar la dependencia entre mediciones repetidas.

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 \text{Medio}_i + \beta_2 \text{Día}_j + \beta_3 (\text{Medio}_i \times \text{Día}_j) + u_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} representa la variable respuesta, β_0 es el intercepto, β_1 , β_2 y β_3 corresponden a los efectos fijos del medio, el tiempo y su interacción, u_k

representa el efecto aleatorio del cultivo y ε_{ijk} el error residual. Los grados de libertad se estimaron mediante el método de Kenward-Roger cuando fue aplicable. La presencia de interacción significativa entre medio y día justificó la comparación de medios dentro de cada tiempo de evaluación mediante medias marginales estimadas.

La adecuación de los modelos mixtos se verificó mediante residuos simulados con DHARMA, evaluando uniformidad, dispersión y presencia de valores atípicos. La bondad de ajuste se reportó mediante R^2 marginal y R^2 condicional, donde el primero expresa la variación explicada por los efectos fijos y el segundo incorpora también la variación asociada al efecto aleatorio.

8.12.2. Comparación de parámetros cinéticos

Los parámetros cinéticos derivados del peso seco se calcularon por réplica biológica. La comparación entre BG11 y SOT se realizó mediante prueba t de Welch, debido a que este procedimiento no asume igualdad de varianzas entre grupos y es apropiado para comparar dos tratamientos independientes. Los resultados se expresaron como media $\pm$ error estándar.

8.12.3. Análisis de carotenoides totales y perfil pigmentario

El contenido de carotenoides totales fue analizado mediante modelos lineales, considerando el medio de cultivo y el ciclo experimental como factores explicativos. Inicialmente se evaluó la interacción entre medio y ciclo; cuando esta no fue significativa, se reportó el modelo aditivo. Las comparaciones entre medios se realizaron mediante medias marginales estimadas.

Para el perfil pigmentario por HPLC se ajustaron modelos independientes para β -caroteno, luteína y clorofila a. En cada caso se evaluó el efecto del medio, del ciclo experimental y de la interacción entre ambos factores.

8.12.4. Relación entre biomasa final y pigmentos

Para evaluar si la biomasa final estuvo asociada con la acumulación de pigmentos, se ajustaron modelos lineales independientes para carotenoides totales, β -caroteno, luteína y clorofila a. En cada modelo se evaluó inicialmente la interacción entre biomasa final y medio de cultivo. Cuando la interacción no fue significativa, se reportó el modelo aditivo:

$$\text{Pigmento} = \beta_0 + \beta_1 \text{Biomasa final} + \beta_2 \text{Medio} + \varepsilon$$

Los supuestos se examinaron mediante diagnóstico gráfico de residuos y pruebas complementarias de normalidad y varianza no constante. Cuando se detectó heterocedasticidad, la inferencia se realizó con errores estándar robustos tipo HC3, calculados con los paquetes sandwich y lmtest.

8.12.5. Síntesis del desempeño relativo

Para comparar de forma integrada el desempeño de los medios BG11 y SOT, los indicadores principales fueron normalizados respecto al mejor valor observado para cada variable. Para indicadores donde un valor mayor representa mejor desempeño, se aplicó:

$$\text{Desempeño relativo (\%)} = (\text{Valor del medio} / \text{Valor máximo del indicador}) \times 100$$

Para el tiempo de duplicación, donde un valor menor representa mayor eficiencia, se aplicó:

$$\text{Desempeño relativo (\%)} = (\text{Valor mínimo del indicador} / \text{Valor del medio}) \times 100$$

8.12.6. Evaluación productiva y económica exploratoria

Se realizó una evaluación exploratoria por litro de cultivo para relacionar la biomasa obtenida con la cantidad potencial de cada pigmento. El rendimiento volumétrico del pigmento i (Y_i) se calculó multiplicando la biomasa máxima experimental ($X_{\text{máx}}$, $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) por su contenido en la biomasa (C_i , $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$). La productividad pigmentaria (P_i) se estimó a partir de la productividad de biomasa (P_X , $\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).

$$Y_i (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = X_{\text{máx}} (\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) \times C_i (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$$

$$P_i (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}) = P_X (\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}) \times C_i (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$$

Para clorofila a se mantuvieron separados los dos ciclos experimentales, debido a la interacción significativa medio $\times$ ciclo. La estimación volumétrica de cada ciclo se obtuvo con la biomasa máxima media del tratamiento y se consideró únicamente orientativa, porque no se dispuso de una biomasa máxima específica para cada muestra pigmentaria. La clorofila b no se incluyó en cálculos de rendimiento porque fue no detectada (ND), condición que no equivale a una concentración nula.

La evaluación monetaria se planteó como análisis de sensibilidad y no como presupuesto real del laboratorio. Se utilizó un costo bibliográfico de medio (CV): $\text{US\$}0.012 \cdot \text{L}^{-1}$, valor redondeado al convertir el costo químico de BG11 informado por Sharma et al. (2016) con el tipo de cambio promedio de 2016 (World Bank,

n.d.), este valor se aplicó por igual a BG11 y SOT para comparar el efecto del rendimiento.

$$\text{Costo de medio por biomasa (US\$} \cdot \text{kg}^{-1}) = (\text{CV} / \text{Xmáx}) \times 1000$$

El beneficio bruto potencial se monetizó únicamente con β -caroteno, porque los carotenoides totales constituyen una mezcla y asignar a toda esa masa el precio de un compuesto puro sobrestimaría el ingreso. Se adoptó un valor referencial de $\text{US\$}592.59 \cdot \text{kg}^{-1}$, derivado de $\text{US\$}1.6$ millones de venta anual para 2.7 t de β -caroteno en el escenario industrial de Ludwig et al. (2021).

$$\text{B}\beta (\text{US\$} \cdot \text{L}^{-1}) = [\text{Y}\beta (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) / 10^6] \times 592.59$$

$$\text{Costo de medio por } \beta - \text{caroteno (US\$} \cdot \text{mg}^{-1}) = \text{CV} / \text{Y}\beta$$

$$\text{Relación B/C} = \text{B}\beta / \text{CV}$$

$$\text{Rentabilidad sobre el costo variable (\%)} = [(\text{B}\beta - \text{CV}) / \text{CV}] \times 100$$

El costo crítico relativo se obtuvo comparando los rendimientos de ambos medios. SOT mantiene ventaja económica relativa mientras su costo total por litro no supere el costo de BG11 en una proporción mayor que el aumento de rendimiento del producto objetivo.

$$(\text{CSOT} / \text{CBG11})_{\text{crítico}} = \text{YSOT} / \text{YBG11}$$

El cálculo excluyó mano de obra, agua, energía de iluminación y aireación, inóculo, esterilización, cosecha, secado, solventes, recuperación y purificación, control de calidad, depreciación, empaque y comercialización.

9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

9.1. Cinética de crecimiento

La cinética de crecimiento fue evaluada mediante absorbancias a 720, 647 y 540 nm, además de peso seco. Para cada variable se ajustaron modelos lineales mixtos con medio de cultivo, día e interacción medio $\times$ día como efectos fijos, y el cultivo como efecto aleatorio. Los grados de libertad se estimaron mediante el método de Kenward-Roger.

Tabla 10

*Análisis de varianza de los modelos lineales mixtos ajustados para los indicadores de crecimiento de *Leptolyngbya* spp.*

Variable	Efecto	gl	gl residual	F	p
Absorbancia a 720 nm	Medio	1	18	32.78	< 0.001
	Día	8	144	279.91	< 0.001
	Medio $\times$ Día	8	144	5.35	< 0.001
Absorbancia a 647 nm	Medio	1	18	48.03	< 0.001
	Día	8	154	234.17	< 0.001
	Medio $\times$ Día	8	154	5.91	< 0.001
Absorbancia a 540 nm	Medio	1	18	17.85	< 0.001
	Día	8	154	197.57	< 0.001
	Medio $\times$ Día	8	154	2.63	0.010
Peso seco	Medio	1	18	72.89	< 0.001
	Día	8	162	916.45	< 0.001
	Medio $\times$ Día	8	162	2.45	0.016

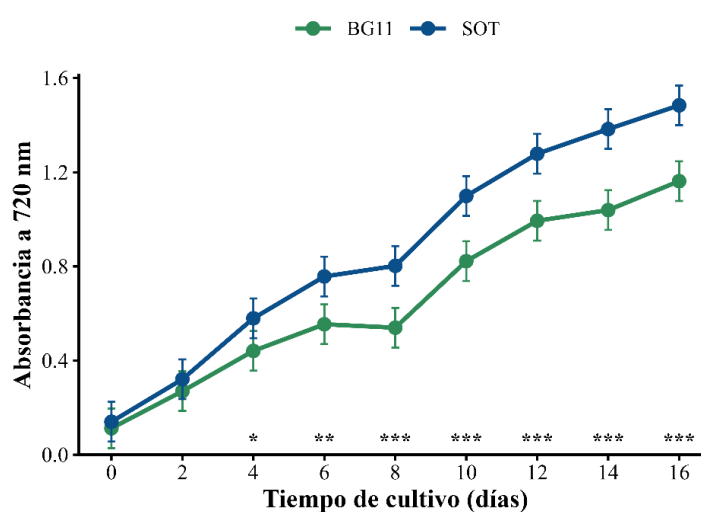
Nota. Para cada indicador de crecimiento se ajustó un modelo lineal mixto que incluyó el medio de cultivo, el día y la interacción medio $\times$ día como efectos fijos, y el cultivo como efecto aleatorio. Los grados de libertad se estimaron mediante la aproximación de Kenward-Roger. Los valores de p inferiores a 0.001 se presentan como $p < 0.001$.

Los modelos evidenciaron efectos significativos del medio de cultivo, del tiempo y de la interacción medio $\times$ día en todas las variables evaluadas (Tabla 10). La interacción significativa indicó que las diferencias entre los medios BG11 y SOT no se mantuvieron constantes a lo largo del período de cultivo, sino que variaron

según el día de evaluación. Por esta razón, se realizaron comparaciones entre ambos medios dentro de cada día mediante medias marginales estimadas.

Figura 14

Cinética de crecimiento de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante absorbancia a 720 nm.



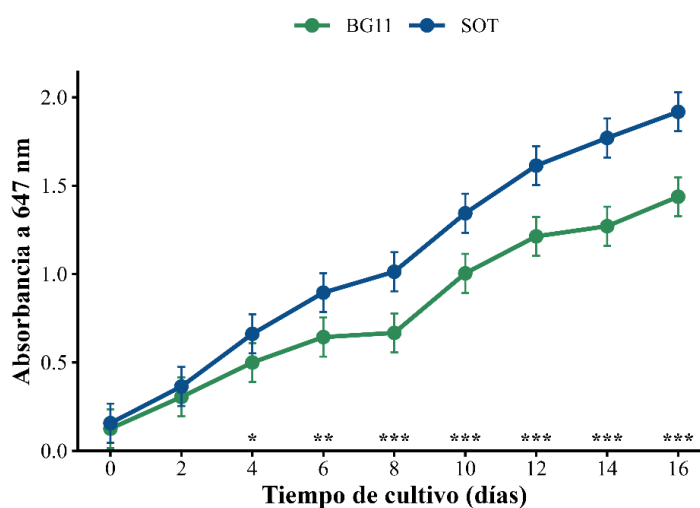
Nota. Los puntos representan las medias marginales estimadas del modelo lineal mixto y las barras de error corresponden al intervalo de confianza del 95 %. Los asteriscos indican diferencias significativas entre medios para cada día de evaluación, obtenidas mediante comparaciones de medias marginales estimadas.

Las condiciones del presente estudio son especialmente cercanas a antecedentes de *Leptolyngbya* tolerantes a alcalinidad y salinidad. Kim et al. (2015) reportaron propagación eficiente de *Leptolyngbya* sp. *KIOST-1* en SOT y un óptimo cercano a 30 °C. Posteriormente, Lee et al. (2024) observaron crecimiento de esa cepa entre 10 y 50 psu y pH 8.3–10.3, además de mayor biomasa y pigmentos fotosintéticos en SOT que en otros medios. La salinidad de 30 ppt y el pH 9 utilizados aquí caen dentro de esos intervalos. En una cepa estuarina del Caribe colombiano, Obando Montoya et al. (2025) encontraron mayor biomasa a 28 °C

que a 35 °C; aunque usaron distintas longitudes de onda y no puede hacerse una comparación cuantitativa directa, la cercanía térmica y el origen estuarino hacen que ese estudio sea regional y ecológicamente pertinente.

Figura 15

Cinética de crecimiento de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante absorbancia a 647 nm.



Nota. Los puntos representan las medias marginales estimadas del modelo lineal mixto y las barras de error corresponden al intervalo de confianza del 95 %. Los asteriscos indican diferencias significativas entre medios para cada día de evaluación.

Tabla 11

Comparaciones de medias marginales estimadas de la absorbancia a 647 nm entre BG11 y SOT por día de cultivo.

Día	Diferencia estimada (BG11 - SOT)	Error estándar	gl	t	p	Significancia
0	-0.031	0.078	77	-0.397	0.692	ns
2	-0.059	0.078	77	-0.758	0.451	ns
4	-0.162	0.078	77	-2.068	0.042	*
6	-0.251	0.078	77	-3.211	0.002	**
8	-0.346	0.078	77	-4.420	< 0.001	***
10	-0.340	0.078	77	-4.342	< 0.001	***
12	-0.400	0.078	77	-5.113	< 0.001	***

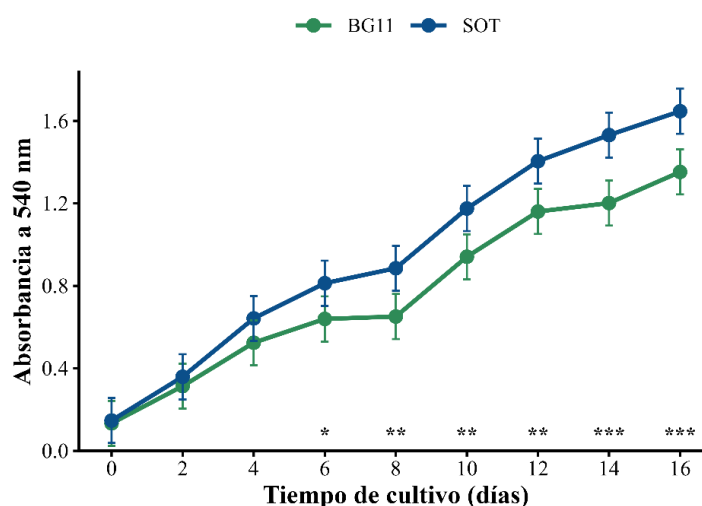
14	-0.499	0.078	77	-6.378	< 0.001	***
16	-0.480	0.078	77	-6.136	< 0.001	***

Nota. Las diferencias negativas indican valores superiores en SOT. ns = no significativo; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

La absorbancia a 647 nm mostró un comportamiento similar al observado a 720 nm. No se detectaron diferencias entre medios en los días 0 y 2; sin embargo, desde el día 4 el medio SOT registró valores significativamente superiores a BG11 ($p = 0.042$). La diferencia aumentó progresivamente, alcanzando el valor máximo en el día 14 (-0.499 unidades de absorbancia; $p < 0.001$), y permaneció significativa hasta el final del ensayo.

Figura 16

Cinética de crecimiento de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante absorbancia a 540 nm.



Nota. Los puntos representan las medias marginales estimadas del modelo lineal mixto y las barras de error corresponden al intervalo de confianza del 95 %. Los asteriscos indican diferencias significativas entre medios para cada día de evaluación.

Tabla 12

Comparaciones de medias marginales estimadas de la absorbancia a 540 nm entre BG11 y SOT por día de cultivo.

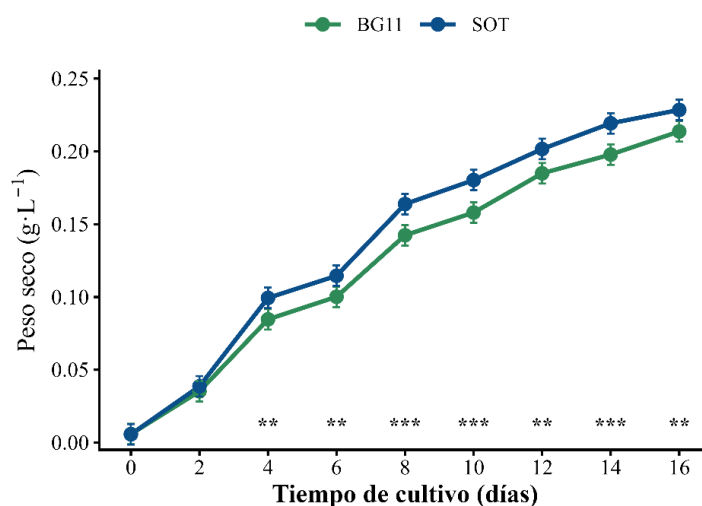
Día	Diferencia estimada (BG11 - SOT)	Error estándar	gl	t	p	Significancia
0	-0.014	0.077	60.6	-0.176	0.861	ns
2	-0.045	0.077	60.6	-0.587	0.560	ns
4	-0.118	0.077	60.6	-1.527	0.132	ns
6	-0.173	0.077	60.6	-2.243	0.029	*
8	-0.234	0.077	60.6	-3.034	0.004	**
10	-0.234	0.077	60.6	-3.027	0.004	**
12	-0.244	0.077	60.6	-3.159	0.003	**
14	-0.330	0.077	60.6	-4.269	< 0.001	***
16	-0.294	0.077	60.6	-3.811	< 0.001	***

Nota. Las diferencias negativas indican valores superiores en SOT. ns = no significativo; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

La absorbancia a 540 nm presentó diferencias significativas desde el día 6, cuando SOT superó a BG11 ($p = 0.029$). Esta diferencia se mantuvo hasta el día 16, aunque su magnitud fue menor que la registrada para las absorbancias a 720 y 647 nm. La mayor diferencia estimada se observó en el día 14 (-0.330 unidades de absorbancia; $p < 0.001$).

Figura 17

Biomasa de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT, determinada mediante peso seco.



Nota. Los puntos representan las medias marginales estimadas del modelo lineal mixto y las barras de error corresponden al intervalo de confianza del 95 %. Los asteriscos indican diferencias significativas entre medios para cada día de evaluación.

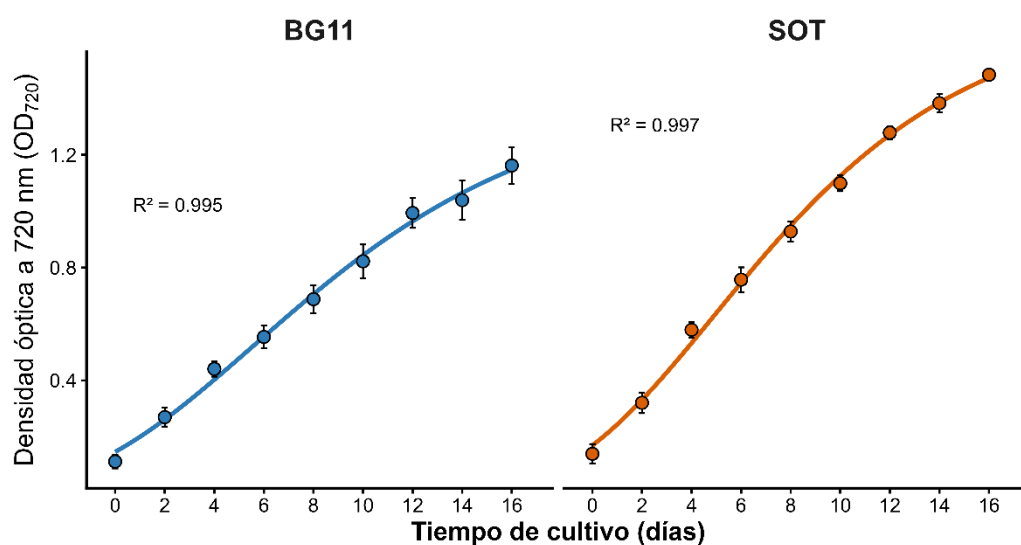
El peso seco confirmó la tendencia observada mediante espectrofotometría. Durante los días 0 y 2 no se detectaron diferencias entre medios, mientras que desde el día 4 SOT produjo una biomasa significativamente mayor que BG11. Las mayores diferencias se registraron en los días 8, 10 y 14, con valores entre -0.021 y -0.022 g·L⁻¹, lo que indica una acumulación de biomasa más alta y sostenida en SOT.

9.1.1. Modelado de la cinética de crecimiento

Los datos experimentales de biomasa obtenidos mediante peso seco fueron ajustados al modelo no lineal de Gompertz para representar el comportamiento sigmoidal del cultivo y estimar parámetros asociados al crecimiento en cada medio.

Figura 18

Ajuste del modelo de Gompertz a la biomasa de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT.



Nota. Los puntos representan los valores experimentales de peso seco y las líneas corresponden al ajuste del modelo de Gompertz. El coeficiente de determinación indica la calidad del ajuste para cada medio de cultivo.

Tabla 13

Parámetros estimados del modelo de Gompertz ajustado a la biomasa de Leptolyngbya spp.

Medio	A	B	k	R ²	AIC	RSE
BG11	0.229	2.752	0.213	0.991	-56.61	0.0082
SOT	0.238	2.801	0.243	0.989	-53.85	0.0095

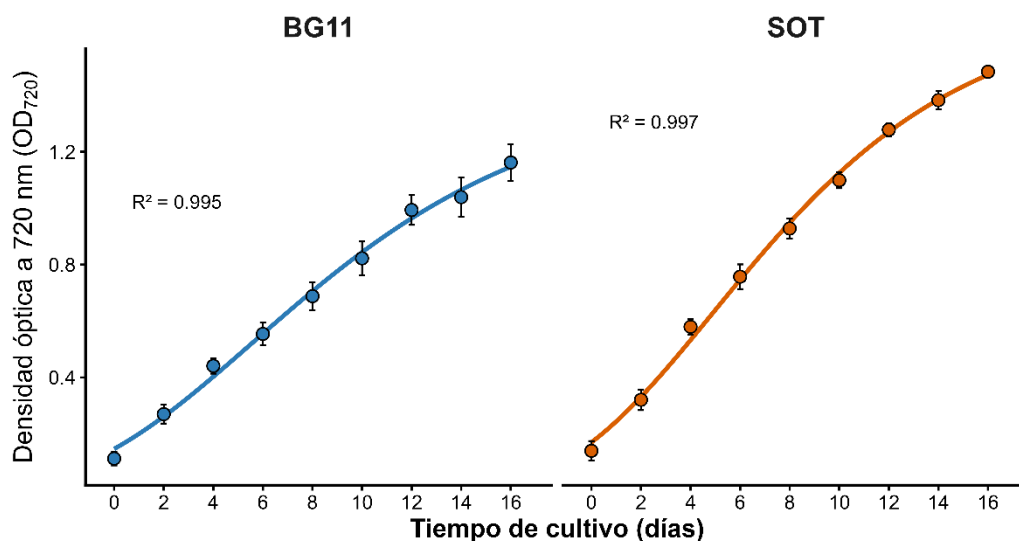
Nota. A = biomasa máxima estimada; B = parámetro de desplazamiento de la curva; k = constante de crecimiento; R² = coeficiente de determinación; AIC = criterio de información de Akaike; RSE = error estándar residual.

El ajuste de Gompertz mostró una biomasa máxima estimada ligeramente mayor en SOT (A = 0,238 g·L⁻¹) que en BG11 (A = 0,229 g·L⁻¹). El parámetro k

también fue superior en SOT (0,243 frente a 0,213), aunque ambos modelos presentaron una bondad de ajuste elevada ($R^2 \geq 0,989$).

Figura 19

Ajuste del modelo de Gompertz a la densidad óptica a 720 nm de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT.



Nota. Los puntos representan los valores experimentales de peso seco y las líneas corresponden al ajuste del modelo de Gompertz. El coeficiente de determinación indica la calidad del ajuste para cada medio de cultivo.

El modelo de Gompertz describió el crecimiento de *Leptolyngbya* spp. en ambos medios de cultivo, con elevados coeficientes de determinación obtenidos ($R^2 = 0.991$ para BG11 y $R^2 = 0.989$ para SOT), lo que indica que el modelo explicó más del 98 % de la variabilidad observada en los datos experimentales.

Ambos tratamientos presentaron una trayectoria de crecimiento con comportamiento sigmoideal (Figura 19), fue posible identificar tres etapas principales del crecimiento: una fase de adaptación durante los primeros días de

cultivo (0–2 días), una fase exponencial comprendida aproximadamente entre los días 2 y 10, y una fase de desaceleración o aproximación a la biomasa máxima entre los días 12 y 16. El punto de inflexión del modelo se estimó en 4.75 días para BG11 y 4.24 días para SOT, lo que indica que el medio SOT alcanzó ligeramente antes la etapa de mayor velocidad de crecimiento.

Aunque ambos medios mostraron una dinámica de crecimiento similar. Asimismo, el parámetro de crecimiento (k) fue mayor en SOT, indicando una velocidad de incremento de biomasa ligeramente superior durante la fase exponencial.

Tabla 14

*Parámetros del modelo de Gompertz ajustado a la densidad óptica a 720 nm de *Leptolyngbya* spp. cultivada en BG11 y SOT.*

Medio	A	B	k (d ⁻¹)	R ²	AIC	RSE	Punto de inflexión (d)	Día 20 % ODmax	Día 80 % ODmax
BG11	1.426	2.274	0.147	0.995	- 33.47	0.0296	5.60	2.36	15.83
SOT	1.713	2.311	0.170	0.997	- 34.56	0.0279	4.92	2.12	13.71

Nota. A representa la OD720 máxima estimada por el modelo; B corresponde al parámetro de desplazamiento de la curva; k representa la tasa de incremento de la OD720; R² indica la bondad de ajuste; AIC corresponde al criterio de información de Akaike; RSE representa el error estándar residual

El modelo de Gompertz ajustado a los valores de OD720 presentó una alta bondad de ajuste en ambos medios de cultivo, con valores de R² de 0.995 para BG11 y 0.997 para SOT. Esto indica que la densidad óptica a 720 nm describió adecuadamente la cinética de crecimiento de *Leptolyngbya* spp. durante el periodo experimental. El medio SOT presentó una OD720 máxima estimada superior ($A =$

1.713) en comparación con BG11 ($A = 1.426$), lo que sugiere una mayor acumulación celular bajo esta condición.

Además, el valor de k fue mayor en SOT (0.170 d^{-1}) que en BG11 (0.147 d^{-1}), indicando un incremento más rápido de la densidad óptica en el medio SOT. El punto de inflexión ocurrió antes en SOT, aproximadamente en el día 4.92, mientras que en BG11 se estimó en el día 5.60. Esto evidencia que los cultivos en SOT alcanzaron antes la etapa de mayor velocidad de incremento óptico.

Según el modelo de Gompertz, ambos cultivos presentaron una fase inicial de adaptación durante los primeros días. Posteriormente, la etapa de crecimiento activo se extendió desde aproximadamente el día 2 hasta el día 15.83 en BG11 y hasta el día 13.71 en SOT. El medio SOT alcanzó antes el 80 % de la OD720 máxima estimada, lo que sugiere una progresión más rápida hacia la fase de desaceleración.

9.1.2. Relación entre peso seco y densidad óptica a 720 nm

Tabla 15

Relación entre peso seco y densidad óptica a 720 nm.

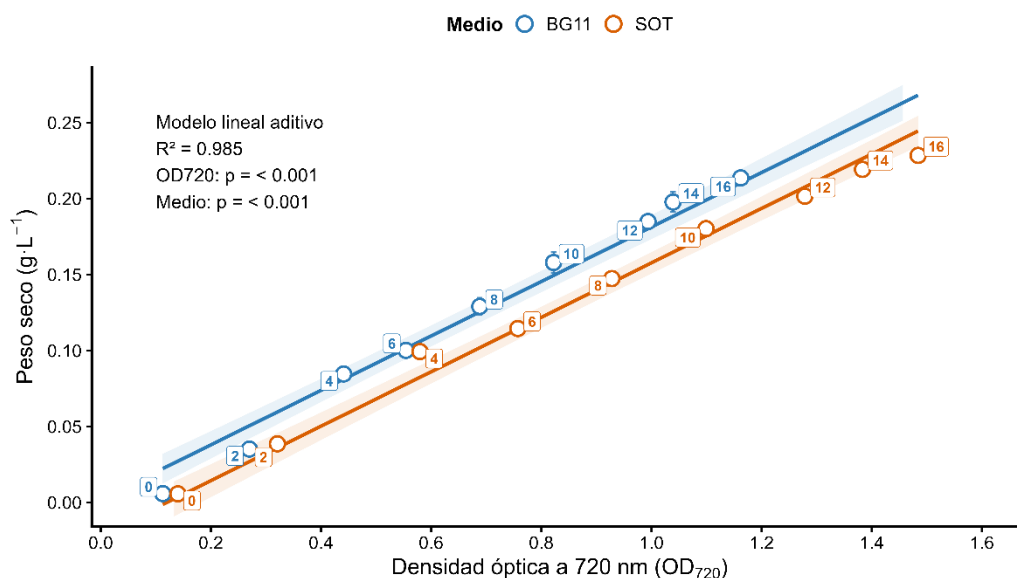
Día	Medio	n	OD720 media $\pm$ EE	OD720 máx. (%)	Peso seco media $\pm$ EE ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Peso seco máx. (%)	Fase estimada
0	BG11	10	0.112 ± 0.024	6.7	0.006 ± 0.000	2.7	Adaptación
2	BG11	10	0.270 ± 0.033	16.1	0.035 ± 0.001	16.5	Adaptación
4	BG11	10	0.441 ± 0.027	26.3	0.085 ± 0.005	39.6	Crecimiento activo
6	BG11	10	0.554 ± 0.041	33.0	0.100 ± 0.004	46.9	Crecimiento activo
8	BG11	10	0.540 ± 0.054	32.2	0.142 ± 0.007	66.6	Crecimiento activo
10	BG11	10	0.822 ± 0.060	49.0	0.158 ± 0.007	73.9	Crecimiento activo
12	BG11	10	0.994 ± 0.053	59.2	0.185 ± 0.005	86.5	desaceleración

14	BG11	10	1.039 ± 0.070	61.9	0.198 ± 0.007	92.6	desaceleración
16	BG11	10	1.162 ± 0.065	69.2	0.214 ± 0.004	100.0	desaceleración
0	SOT	10	0.140 ± 0.035	7.6	0.006 ± 0.000	2.5	Adaptación
2	SOT	10	0.321 ± 0.037	17.4	0.039 ± 0.000	16.9	Adaptación
4	SOT	10	0.580 ± 0.027	31.4	0.099 ± 0.001	43.5	Crecimiento activo
6	SOT	10	0.757 ± 0.044	41.0	0.115 ± 0.001	50.1	Crecimiento activo
8	SOT	10	0.802 ± 0.047	43.5	0.164 ± 0.001	71.7	Crecimiento activo
10	SOT	10	1.099 ± 0.028	59.6	0.180 ± 0.001	78.9	Crecimiento activo
12	SOT	10	1.278 ± 0.023	69.3	0.202 ± 0.001	88.2	desaceleración
14	SOT	10	1.383 ± 0.033	75.0	0.219 ± 0.001	96.0	desaceleración
16	SOT	10	1.484 ± 0.010	80.4	0.228 ± 0.002	100.0	Desaceleración

Nota. Los valores corresponden a media $\pm$ error estándar. El porcentaje de OD720 máxima se calculó respecto al valor máximo estimado por el modelo de Gompertz para cada medio, mientras que el porcentaje de peso seco máximo se calculó respecto al mayor peso seco promedio observado en cada medio. La fase estimada se asignó considerando los rangos: <20 % = adaptación; 20–80 % = crecimiento activo; >80 % = desaceleración. Cuando OD720 y peso seco no coincidieron completamente en la misma fase, se consideró una etapa de transición.

Figura 20

Relación entre la densidad óptica a 720 nm y el peso seco de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT.



Nota. Los puntos representan la media por día de cultivo y las barras de error corresponden al error estándar. Los números sobre cada punto indican el día de cultivo. Las líneas muestran el ajuste del modelo lineal y las bandas sombreadas representan el intervalo de confianza del 95 %.

La OD720 permitió seguir de forma rápida el avance del cultivo, mientras que el peso seco aportó una medida directa de la biomasa acumulada. En ambos medios, los días 0 y 2 correspondieron a una fase de adaptación, seguida por una etapa de crecimiento activo entre los días 4 y 10. A partir del día 12 se observó una transición hacia la desaceleración, principalmente evidenciada por el porcentaje de peso seco máximo. En SOT, el día 16 alcanzó valores superiores al 80 % tanto en OD720 como en peso seco, por lo que se clasificó como fase de desaceleración.

9.1.3. Parámetros cinéticos experimentales

A partir de la biomasa seca se estimaron los parámetros cinéticos de *Leptolyngbya spp.* en BG11 y SOT. SOT presentó valores significativamente superiores de tasa específica de crecimiento, biomasa máxima y productividad, además de un menor tiempo de duplicación (Tabla 16).

Tabla 16

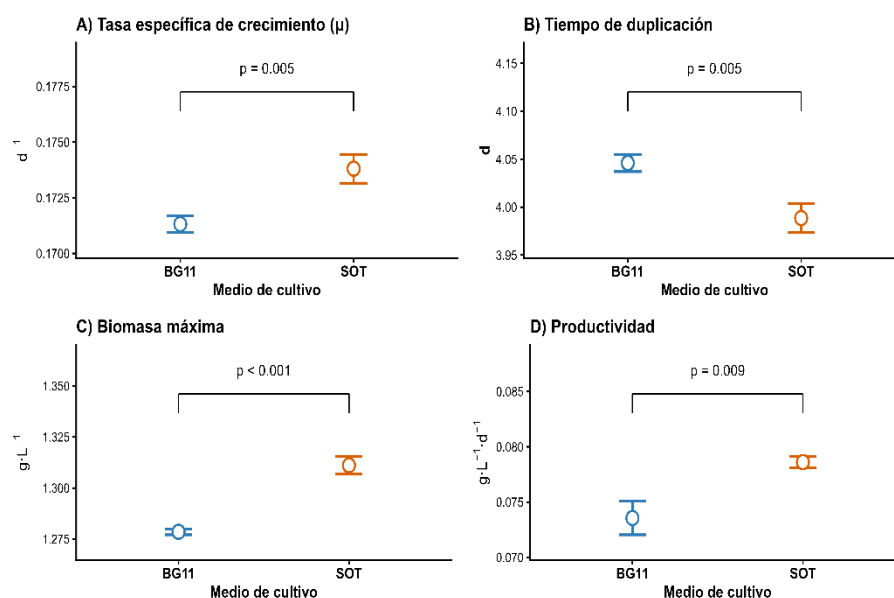
Parámetros cinéticos de crecimiento de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT.

Parámetro	BG11	SOT	<i>p</i>
Tasa específica de crecimiento, μ (d ⁻¹)	0.1713 ± 0.0004	0.1738 ± 0.0006	0.005
Tiempo de duplicación (d)	4.05 ± 0.01	3.99 ± 0.02	0.005
Biomasa máxima (g·L ⁻¹)	1.279 ± 0.001	1.311 ± 0.004	< 0.001
Productividad (g·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	0.0736 ± 0.0015	0.0786 ± 0.0005	0.009

Nota. Los valores se presentan como media ± error estándar. μ = tasa específica de crecimiento; d = días. La biomasa máxima y la productividad fueron calculadas a partir de la biomasa seca ajustada en g·L⁻¹. Los valores de *p* corresponden a la comparación entre medios de cultivo.

Figura 21

Comparación de los parámetros cinéticos experimentales de crecimiento de Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT.



Nota. Los puntos representan las medias ($n = 5$).

9.2. Caracterización del contenido de pigmentos

9.2.1. Carotenoides totales

Tabla 17

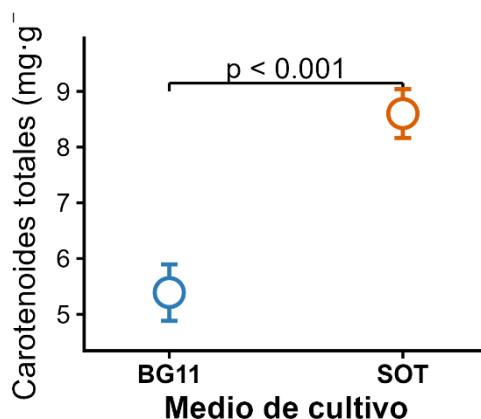
Efectos del modelo lineal ajustado para el contenido de carotenoides totales de Leptolyngbya spp.

Efecto	gl	gl residual	F	p
Medio	1	9	447.77	< 0.001
Ciclo	1	9	185.22	< 0.001

Nota. El modelo final incluyó el medio de cultivo y el ciclo experimental como efectos fijos. La interacción medio $\times$ ciclo fue evaluada inicialmente y no resultó significativa.

Figura 22

Contenido de carotenoides totales de *Leptolyngbya* spp. cultivada en BG11 y SOT.



Nota. Los puntos representan las medias de las muestras biológicas individuales ($n = 6$ por medio). La comparación entre medios se realizó mediante un modelo lineal ajustado por la corrida experimental.

El contenido de carotenoides totales fue significativamente mayor en SOT que en BG11 ($p < 0.001$). Las medias ajustadas fueron de $8.60 \pm 0.11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para SOT y $5.39 \pm 0.11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para BG11. Además, el ciclo experimental presentó un efecto significativo, aunque la interacción medio $\times$ ciclo no fue significativa, lo que indica que la diferencia entre medios se mantuvo de forma consistente en ambas corridas.

9.2.2. Perfil pigmentario determinado mediante HPLC

El análisis mediante HPLC permitió identificar y cuantificar β -caroteno, luteína y clorofila a en las muestras de *Leptolyngbya* spp. En contraste, la clorofila b no fue detectada bajo las condiciones analizadas. Los pigmentos evaluados presentaron respuestas diferenciadas frente al medio de cultivo y, en el caso de la clorofila a, frente a la corrida experimental.

Tabla 18

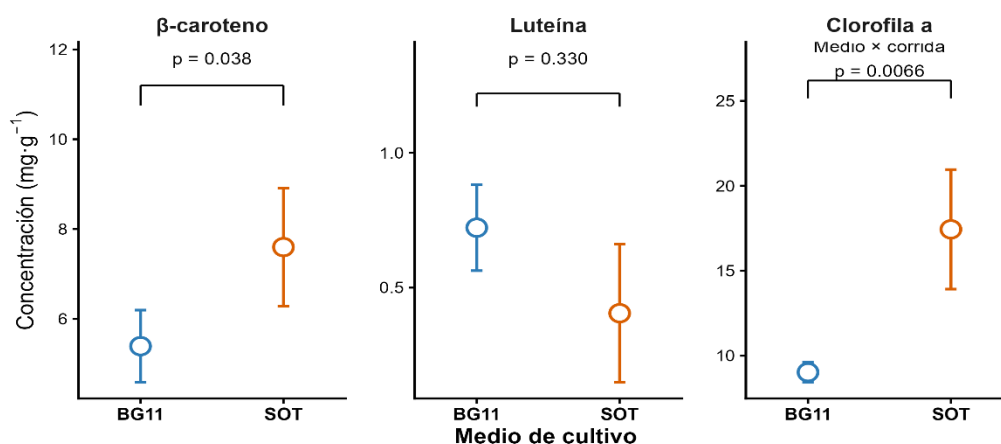
Resumen de los pigmentos cuantificados en Leptolyngbya spp. cultivada en BG11 y SOT.

Pigmento	BG11 (media $\pm$ EE)	SOT (media $\pm$ EE)	Resultado estadístico principal
Carotenoides totales	5.39 $\pm$ 0.11	8.60 $\pm$ 0.11	Medio: $p < 0.001$
β -caroteno	5.39 $\pm$ 0.64	7.60 $\pm$ 0.64	Medio: $p = 0.038$
Luteína	0.72 $\pm$ 0.22	0.41 $\pm$ 0.22	Medio: $p = 0.330$
Clorofila a			Medio $\times$ corrida: $p = 0.0066$
Clorofila b	ND	ND	No detectada

Nota. Los valores se expresan en $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, excepto en clorofila b, que se reporta como no detectada (ND). EE = error estándar.

Figura 23

Contenido de β -caroteno, luteína y clorofila a determinado mediante HPLC en cultivos de Leptolyngbya spp. desarrollados en BG11 y SOT.



Nota. Los puntos representan las observaciones individuales; los círculos blancos indican la media $\pm$ error estándar. Los colores corresponden al medio de cultivo. En β -caroteno y luteína se muestra el valor de p asociado al efecto del medio de cultivo. En clorofila a se presenta el valor de la interacción medio $\times$ corrida. La clorofila b no fue detectada.

El β -caroteno fue significativamente mayor en SOT que en BG11 ($p = 0.038$), con medias ajustadas de 7.60 ± 0.64 y $5.39 \pm 0.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. El ciclo experimental también tuvo un efecto significativo ($p = 0.002$), mientras que la interacción medio $\times$ ciclo no fue significativa ($p = 0.241$), lo que sugiere que la superioridad de SOT fue consistente entre corridas.

La luteína no mostró diferencias significativas entre medios ($p = 0.330$). Las medias ajustadas fueron de $0.72 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para BG11 y $0.41 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ para SOT. Este resultado indica que, bajo las condiciones evaluadas, la concentración de luteína fue relativamente similar entre tratamientos.

Para la clorofila a se detectó una interacción significativa entre medio de cultivo y ciclo experimental ($p = 0.0066$). En el primer ciclo experimental, SOT presentó mayor concentración que BG11 (24.57 ± 1.77 frente a $9.71 \pm 1.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; $p = 0.0003$). En el segundo ciclo, la diferencia entre medios no fue significativa ($p = 0.4515$). Además, la clorofila a disminuyó significativamente entre ciclo en SOT ($p = 0.0005$), mientras que en BG11 no se detectaron cambios significativos ($p = 0.596$).

9.3. Comparación de los medios de cultivo

9.3.1. Relación entre biomasa final y contenido de pigmentos

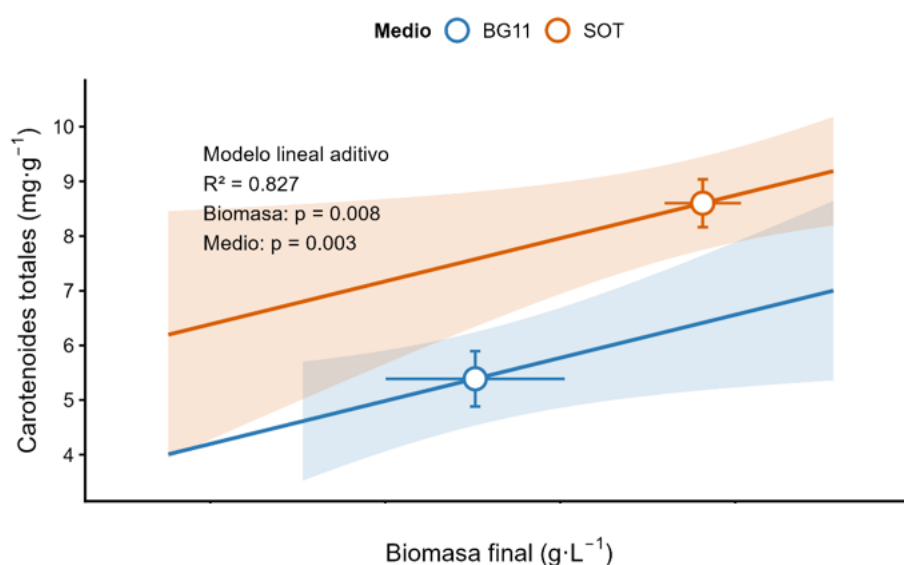
Se ajustaron modelos lineales independientes para carotenoides totales, β -caroteno, luteína y clorofila a. En todos los casos se evaluó inicialmente la interacción biomasa $\times$ medio; al no ser significativa, se reportaron modelos aditivos.

El modelo correspondiente a carotenoides totales explicó el 82.7 % de la variación observada ($R^2 = 0.827$). La biomasa final se asoció significativamente con la concentración de carotenoides ($p = 0.008$), y el medio de cultivo también tuvo un efecto significativo ($p = 0.003$). Esto indica que SOT favoreció una mayor acumulación de carotenoides totales incluso después de considerar la biomasa

alcanzada. En cambio, β -caroteno, luteína y clorofila a no presentaron una relación significativa con la biomasa final dentro de estos modelos.

Figura 24

*Relación entre la biomasa final y el contenido de carotenoides totales en *Leptolyngbya* spp. cultivada en BG11 y SOT.*



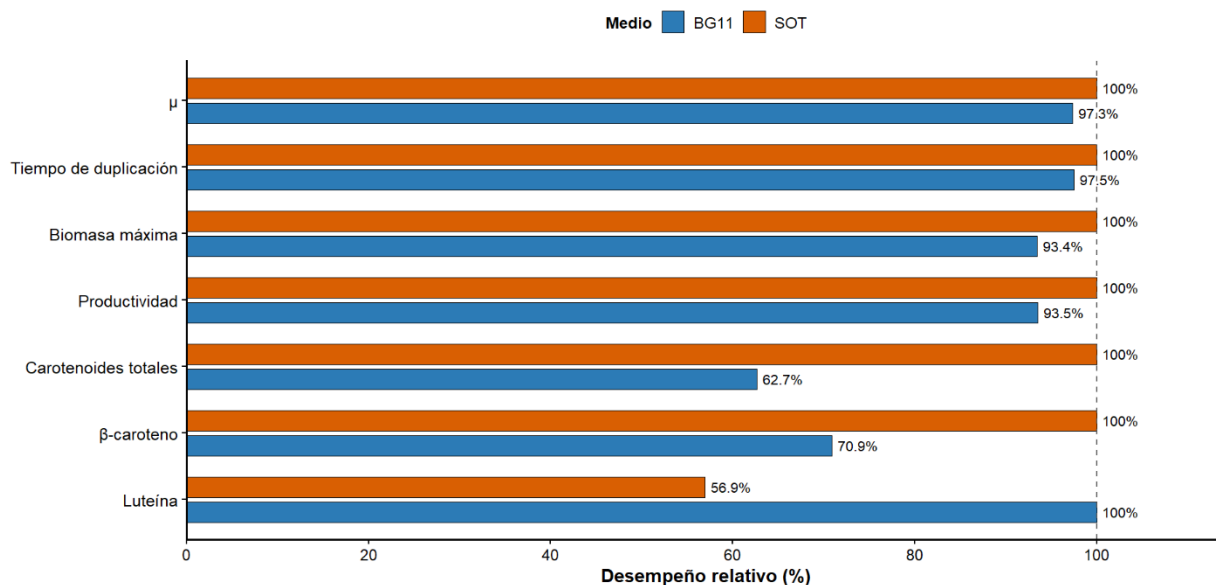
Nota. Los puntos indican las medias, los colores indican el medio de cultivo. Las líneas representan las predicciones del modelo lineal aditivo, con pendiente común para ambos medios debido a que la interacción biomasa $\times$ medio no fue significativa. Las bandas sombreadas corresponden al intervalo de confianza del 95 %.

9.3.2. Desempeño relativo de los medios de cultivo

Se normalizaron los principales indicadores respecto al mejor desempeño observado para cada variable para comparar de manera visual el comportamiento relativo de ambos medios.

Figura 25

*Desempeño relativo de *Leptolyngbya* spp. cultivada en BG11 y SOT.*



Nota. Los valores fueron normalizados respecto al mejor desempeño observado para cada indicador, expresándose como porcentaje. Para la tasa específica de crecimiento, biomasa máxima, productividad y pigmentos, el mayor valor fue considerado como mejor desempeño. En el caso del tiempo de duplicación, el menor valor fue considerado como mejor desempeño. La línea punteada indica el 100 %, correspondiente al mejor desempeño relativo para cada variable.

La comparación del desempeño relativo mostró que SOT alcanzó el 100 % en la mayoría de los indicadores: tasa específica de crecimiento, tiempo de duplicación, biomasa máxima, productividad, carotenoides totales y β -caroteno. BG11 alcanzó el mayor valor relativo únicamente en luteína, aunque esta diferencia no fue significativa. Por tanto, considerando el conjunto de indicadores de crecimiento y producción de carotenoides, SOT fue el medio con desempeño más consistente para *Leptolyngbya spp.* bajo las condiciones experimentales evaluadas.

9.3.3. Rendimiento productivo y evaluación económica exploratoria

A partir de la biomasa máxima y la concentración pigmentaria se estimó la cantidad de producto contenida en un litro de cultivo. SOT produjo $11.275 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de carotenoides totales y $9.964 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de β -caroteno, frente a $6.894 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para

ambos indicadores en BG11. La mayor biomasa y el mayor contenido específico de pigmento actuaron de forma conjunta; por ello, la ventaja volumétrica de SOT fue de 63.5 % para carotenoides totales y 44.5 % para β -caroteno (Tabla 19).

Tabla 19

Rendimiento volumétrico estimado de biomasa y pigmentos en BG11 y SOT.

Indicador	BG11	SOT	Lectura comparativa
Biomasa máxima ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.279	1.311	+2.5 % en SOT
Productividad de biomasa ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	0.0736	0.0786	+6.8 % en SOT
Carotenoides totales ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.894	11.275	+63.5 % en SOT
Productividad de carotenoides totales ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	0.397	0.676	+70.4 % en SOT
β -caroteno ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.894	9.964	+44.5 % en SOT
Productividad de β -caroteno ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	0.397	0.597	+50.6 % en SOT
Luteína ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.921	0.538	-41.6 % en SOT; diferencia no significativa
Productividad de luteína ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	0.053	0.032	Estimación descriptiva
Clorofila a, ciclo 1 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	12.419	32.211	Estimación orientativa; $p = 0.0003$
Clorofila a, ciclo 2 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	10.654	13.516	Estimación orientativa; $p = 0.4515$
Clorofila b	ND	ND	Rendimiento no calculable

Nota. Los rendimientos se calcularon con la biomasa máxima media y la concentración media del pigmento; no representan la recuperación final después de extracción y purificación. Para clorofila a se aplicó la biomasa máxima media del tratamiento a cada ciclo, por lo que las cifras son orientativas. ND = no detectada.

La luteína presentó un rendimiento descriptivo de $0.921 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en BG11 y $0.538 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en SOT, pero la diferencia entre medios no fue significativa ($p = 0.330$); por tanto, no se atribuyó una ventaja productiva a BG11. La clorofila a conservó la respuesta dependiente del ciclo y la clorofila b no generó una cantidad productiva estimable.

Tabla 20

Sensibilidad económica del costo de medio y del beneficio bruto potencial de β -caroteno.

Indicador	BG11	SOT	Interpretación
Costo variable de medio (US\$·L ⁻¹)	0.012	0.012	Banda bibliográfica; no costo local
Costo de medio por biomasa seca (US\$·kg ⁻¹)	9.38	9.15	A igual CV, SOT requiere 2.4 % menos por kg
Costo de medio por β -caroteno (US\$·mg ⁻¹)	0.00174	0.00120	No incluye recuperación ni purificación
Beneficio bruto potencial de β -caroteno (US\$·L ⁻¹)	0.0041	0.0059	+44.5 % en SOT
Relación B/C	0.340	0.492	Ambos < 1
Rentabilidad sobre CV (%)	-66.0	-50.8	Resultado negativo

Nota. B/C = relación beneficio/costo; CV = costo variable del medio. El beneficio se calculó solo con β -caroteno a US\$592.59·kg⁻¹, referencia derivada de Ludwig et al. (2021).

En ambos escenarios la relación B/C fue menor que uno, incluso antes de incorporar los costos posteriores al cultivo. Bajo el escenario inferior, cada litro de SOT generó un beneficio bruto potencial de US\$0.0059 frente a US\$0.0041 en BG11, pero la rentabilidad sobre el costo variable permaneció negativa (-50.8 % y -66.0 %, respectivamente). En consecuencia, los resultados no demuestran rentabilidad absoluta; sí muestran que SOT conserva una ventaja relativa si su costo real por litro no excede al de BG11 en más de 44.5 % para β -caroteno o 63.5 % para carotenoides totales.

10. DISCUSIÓN

El medio de cultivo influyó de manera significativa en el crecimiento de *Leptolyngbya spp.* y la interacción medio $\times$ día mostró que la ventaja no fue constante: apareció durante la fase activa y se amplió hasta el final del ensayo. La convergencia entre OD720, OD647, OD540 y peso seco reduce la posibilidad de que el patrón se deba únicamente a interferencia pigmentaria en la lectura óptica. BG11 es un medio general de mantenimiento, pero su uso extendido no implica que maximice simultáneamente biomasa y pigmentos en todas las cepas; en este caso, SOT proporcionó una respuesta superior bajo pH 9, salinidad de 30 ppt, 27 ± 1 °C, $100 \mu\text{mol fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y fotoperiodo 12:12 h.

En la absorbancia a 720 nm, relacionada principalmente con la densidad celular, las diferencias entre medios no fueron significativas al inicio del cultivo, pero desde el día 4 SOT presentó valores superiores a BG11 y esta tendencia se mantuvo hasta el día 16. Este resultado permite interpretar que la cepa no presentó una ventaja inmediata en SOT durante la fase de adaptación, sino que la respuesta diferencial apareció cuando las células entraron en una fase de mayor demanda metabólica. La misma tendencia se observó en la absorbancia a 647 nm, asociada a pigmentos fotosintéticos, y en la absorbancia a 540 nm, aunque en esta última la separación entre tratamientos ocurrió de forma más tardía. Por tanto, el mayor crecimiento en SOT no se limita a una sola medición, sino que se sostiene en varios indicadores fisiológicos.

La biomasa máxima fue de $1.311 \pm 0.004 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ en SOT y $1.279 \pm 0.001 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ en BG11, con productividades de 0.0786 ± 0.0005 y 0.0736 ± 0.0015

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, respectivamente. Taton et al. (2012), cultivaron *Leptolyngbya sp. BL0902* en Zarrouk con $100 \mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y fotoperiodo 12:12 h —condiciones lumínicas muy próximas—, pero con un ciclo térmico de 35:25 °C, y obtuvieron un tiempo de duplicación de 23 h. El valor de 3.99 d observado aquí es, por tanto, aproximadamente cuatro veces más largo. La diferencia puede reflejar la cepa, el régimen térmico, la agitación, el criterio de cálculo y el estado fisiológico.

Un antecedente ecuatoriano particularmente pertinente es el de Morales-Avendaño et al. (2025), quienes aislaron una cepa de *Leptolyngbya sp.* del embalse Sixto Durán Ballén, en Manabí, y la escalaron de 10 mL a 14 L en BG11o mediante cultivo discontinuo alimentado. Los cultivos se mantuvieron a 20 ± 2 °C, con fotoperiodo 24:0 h e irradiancias de 39.06, 78.13 y $156.25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, y recibieron adiciones periódicas de NaNO_3 . Los autores reportaron $1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de biomasa seca, valor numéricamente superior a los $1.311 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ obtenidos aquí en SOT y $1.279 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en BG11. Esta diferencia no demuestra una mayor eficiencia del BG11o: el antecedente utilizó una cepa de procedencia léntica continental, alimentación de nitrato, iluminación continua, menor temperatura y un seguimiento de 35 d, frente a los 16 d del presente ensayo.

Los parámetros cinéticos calculados a partir del peso seco confirmaron una ventaja estadísticamente consistente de SOT: mayor tasa específica, biomasa máxima y productividad, y menor tiempo de duplicación. El efecto es fisiológicamente plausible porque SOT contiene bicarbonato como reserva de carbono inorgánico y una carga de nutrientes distinta de BG11. En la comparación de once medios realizada por Lee et al. (2024), SOT favoreció la biomasa de

Leptolyngbya sp. *KIOST-1*; además, reducir a una quinta parte la relación C/N de SOT no disminuyó significativamente la biomasa en esa cepa. Este antecedente sugiere una ruta de optimización de costos, pero no demuestra que la misma reducción sea válida para la cepa PM003.

El ajuste de Gompertz describió la trayectoria sigmoideal de ambos tratamientos y permitió separar una fase de adaptación, una fase activa y una desaceleración final. Esta dinámica es coherente con un cultivo discontinuo, en el que el agotamiento parcial de nutrientes, los cambios de pH y el autosombreado reducen progresivamente la velocidad. El punto de inflexión más temprano y el mayor parámetro k en SOT indican una transición más rápida hacia el crecimiento activo, pero no sustituyen la medición experimental de nutrientes o carbono disuelto; por ello, el mecanismo atribuido al bicarbonato debe considerarse una explicación plausible y no una causalidad demostrada.

La productividad volumétrica de biomasa obtenida en este estudio fue de $0.0736 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ para BG11 y $0.0786 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ para SOT, equivalentes a 73.6 y 78.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectivamente. Estos valores son comparables con los reportados por Singh et al. (2014) para *Leptolyngbya* sp. ISTCY101, donde se registraron productividades de 78.9 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en BG11 suplementado con NaHCO_3 y 75.74 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en medio de agua de mar artificial. Esta similitud sugiere que la productividad estimada para *Leptolyngbya* spp. en el presente estudio se encuentra dentro de un rango biológicamente coherente para el género, especialmente

considerando que se trabajó a escala experimental y bajo condiciones de cultivo controladas.

SOT incrementó los carotenoides totales de 5.39 ± 0.11 a $8.60 \pm 0.11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($p < 0.001$). Este contenido supera los $4.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ recopilados para *Arthrospira platensis* por Pagels et al. (2021), pero es menor que los $40.88 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ obtenidos por Oinam et al. (2015) en *Leptolyngbya sp. BTA 287* a pH 9, $28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y 15 d, con $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de NaNO_3 y $0.20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de K_2HPO_4 . Aunque ambos estudios comparten alcalinidad, temperatura y duración cercanas, Oinam et al. emplearon 85 % de acetona y biomasa seca, mientras que aquí se utilizó 95 % de etanol sobre biomasa húmeda. Las diferencias de cepa, nutrientes, solvente, base de masa e iluminación impiden interpretar la cifra externa como una meta directamente alcanzable; sí indican que pH y relación N/P son factores pertinentes para una optimización posterior.

El β -caroteno fue significativamente mayor en SOT ($7.60 \pm 0.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) que en BG11 ($5.39 \pm 0.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), lo que produjo 9.964 frente a 6.894 mg por litro de cultivo. Pagels et al. (2021) reportaron $1.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de β -caroteno en extractos de *Gloeotheca sp.* obtenidos por extracción con líquido presurizado y señalaron que β -caroteno y zeaxantina predominan en *Arthrospira*; estas comparaciones apoyan el interés del compuesto, pero no constituyen una clasificación de productividad por las diferencias analíticas. En el sector productivo, el β -caroteno tiene valor como colorante natural, provitamina A e ingrediente para alimentos, suplementos, cosméticos y alimentación animal. No obstante, el contenido medido por HPLC no

equivale a producto vendible: todavía se requieren recuperación, pureza, estabilidad, inocuidad y cumplimiento regulatorio.

La luteína mostró $0.72 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ en BG11 y $0.41 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ en SOT, sin diferencia significativa ($p = 0.330$). Los rendimientos descriptivos fueron 0.921 y $0.538 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente, por debajo de los $2.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ reportados por Pagels et al. (2021) para *Gloeotheca sp.* bajo extracción presurizada. La luteína es de interés para suplementos, alimentos funcionales y formulaciones destinadas a nutrición ocular, además de alimentación animal; sin embargo, estos datos no demuestran que BG11 ofrezca una ventaja económica, porque el efecto del medio no fue significativo y el rendimiento volumétrico fue bajo. La ausencia de una respuesta clara también es compatible con que la rama α de la carotenogénesis no sea universal en cianobacterias y responda más a la cepa, luz y estado de cosecha que al medio por sí solo (Lehmann et al., 2021; Pagels et al., 2021).

La clorofila a presentó una interacción medio $\times$ ciclo: en el primer ciclo SOT superó a BG11 (24.57 ± 1.77 frente a $9.71 \pm 1.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; $p = 0.0003$), mientras que en el segundo la diferencia no fue significativa. Por ello, el intervalo productivo estimado para SOT ($13.516\text{--}32.211 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) no puede resumirse como un efecto general del medio. La clorofila a interesa como pigmento verde e ingrediente bioactivo, pero su comercialización es más exigente que la cuantificación analítica: la sustitución del Mg central, la luz, el calor y los medios ácidos favorecen pérdida del color, razón por la cual la industria suele estabilizar o transformar las clorofilas (Viera et al., 2019).

La clorofila b fue no detectada en ambos medios. Esto es coherente con la organización pigmentaria de muchas cianobacterias, dominada por clorofila a, ficobiliproteínas y carotenoides, aunque existen excepciones capaces de incorporar clorofila b (Xu et al., 2001). ND no significa cero: indica que la señal no cumplió los criterios del método y, sin un límite de detección o cuantificación aplicado a la matriz, no puede asignarse un rendimiento ni un valor económico a esta molécula.

El uso de modelos lineales mixtos fue adecuado para las mediciones repetidas de crecimiento, porque incorporó la variabilidad entre cultivos y evitó tratar observaciones longitudinales como independientes. La corrección de Kenward–Roger y el uso de errores robustos HC3 en los modelos que presentaron heterocedasticidad fortalecen la inferencia con un tamaño muestral moderado (Bates et al., 2015; Kenward & Roger, 1997; Kuznetsova et al., 2017). Aun así, dos ciclos experimentales permiten estimar repetibilidad.

La conversión a rendimiento volumétrico muestra por qué una diferencia pequeña de biomasa puede amplificarse cuando también aumenta el contenido específico: SOT produjo 63.5 % más carotenoides totales por litro y 44.5 % más β -caroteno que BG11.

El análisis de sensibilidad no demostró rentabilidad absoluta. Con un beneficio bruto de $\text{US\$}0.0041 \cdot \text{L}^{-1}$ en BG11 y $\text{US\$}0.0059 \cdot \text{L}^{-1}$ en SOT, las relaciones B/C fueron menores que uno con $\text{CV} = \text{US\$}0.012 \cdot \text{L}^{-1}$, por diferencias de país, año y proveedor, el costo no es igual al ensayo. SOT sí conserva una ventaja

relativa si su costo total por litro es, como máximo, 44.5 % superior al de BG11 para β -caroteno o 63.5 % para carotenoides totales.

Desde el punto de vista productivo, el β -caroteno es el objetivo más respaldado por este estudio porque aumentó de manera significativa y tiene una referencia industrial de valor. La luteína mantiene interés comercial, pero no mostró una respuesta concluyente al medio; la clorofila a requiere primero controlar la variabilidad entre ciclos y su estabilidad; y la clorofila b no puede considerarse producto al ser ND. Los carotenoides totales podrían valorizarse como extracto mixto solo después de estandarizar composición, inocuidad y estabilidad. La literatura señala, además, que la cosecha puede representar una fracción importante del costo de biomasa y que la viabilidad de pigmentos cianobacterianos depende de reducir costos y valorizar coproductos (Pagels et al., 2021).

Colusse et al. (2020) mostraron que el medio modifica ampliamente el costo de producción de biomasa microalgal, mientras que en Ecuador Freire Balseca et al. (2024) demostraron que sustituir o ajustar nutrientes puede reducir costos de cultivo de *Arthrospira* sin desligar la optimización del producto objetivo.

11. CONCLUSIONES

En relación con el primer objetivo, la cinética de crecimiento demostró que SOT favoreció el desarrollo de *Leptolyngbya spp.* Los efectos del medio, el día y su interacción fueron significativos en las absorbancias a 720, 647 y 540 nm y en el peso seco. SOT presentó una tasa específica de crecimiento mayor ($0,1738 \pm 0,0006 \text{ d}^{-1}$), menor tiempo de duplicación ($3,99 \pm 0,02 \text{ d}$), mayor biomasa máxima ($1,311 \pm 0,004 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) y mayor productividad ($0,0786 \pm 0,0005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) que BG11.

Con respecto al segundo objetivo, la caracterización pigmentaria evidenció que SOT incrementó los carotenoides totales hasta $8,60 \pm 0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, frente a $5,39 \pm 0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ en BG11 ($p < 0,001$). El β -caroteno también fue significativamente mayor en SOT ($p = 0,038$); en cambio, la luteína no presentó diferencias entre medios y la clorofila a mostró una respuesta dependiente del ciclo experimental. La clorofila b no fue detectada.

En cumplimiento del tercer objetivo, la integración de los indicadores de crecimiento y pigmentos permitió establecer que SOT fue el medio más eficiente bajo las condiciones evaluadas, porque superó a BG11 en biomasa, productividad, carotenoides totales y β -caroteno. En consecuencia, se acepta la hipótesis alternativa del estudio; esta conclusión se limita a la cepa, el intervalo de cultivo y las condiciones experimentales utilizadas. La evaluación económica exploratoria no demostró rentabilidad absoluta a escala de laboratorio: aun antes de incluir cosecha, extracción y purificación, la relación B/C fue menor que uno. SOT mantendría una ventaja relativa únicamente si su costo total por litro no excede al de BG11 en más de 44.5 % para β -caroteno o 63.5 % para carotenoides totales.

12. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar el medio SOT como base para futuros ensayos de cultivo de *Leptolyngbya* spp. orientados a la producción de carotenoides, especialmente cuando el objetivo sea incrementar carotenoides totales y β -caroteno.

Es recomendable evaluar diferentes intensidades lumínicas, fotoperiodos y tiempos de cosecha, debido a que los carotenoides pueden variar según el estado fisiológico del cultivo y las condiciones de iluminación.

Para estudios posteriores, se sugiere ampliar el perfil cromatográfico e incluir carotenoides como zeaxantina, equinenona y mixoxantofila, ya que son pigmentos frecuentes en cianobacterias y podrían aportar información más completa sobre la respuesta metabólica de la cepa.

Se recomienda mantener controles estrictos durante la extracción y análisis de pigmentos, incluyendo protección frente a la luz, control de temperatura y tiempos de procesamiento, debido a la sensibilidad de los carotenoides y clorofilas a la degradación.

Se recomienda registrar para cada lote el consumo y precio local de sales, agua, energía, aireación, esterilización, cosecha, secado, solventes, recuperación y análisis. Con esos datos debe recalcularse el costo por litro, por kilogramo de biomasa seca y por miligramo de pigmento recuperado, incluyendo una regla explícita de asignación para coproductos.

Se sugiere ensayar una reducción escalonada de bicarbonato y nitrógeno en SOT.

Antes de destinar la biomasa o los extractos de esta cepa de *Leptolyngbya spp.* a alimentos, acuicultura, suplementos o cosmética, se recomienda confirmar la identidad taxonómica a nivel de cepa e incorporar un análisis dirigido de cianotoxinas y bioensayos de toxicidad apropiados para el uso previsto. La ausencia de toxicidad no debe inferirse únicamente a partir de la identificación morfológica del género.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilera, A., Almanza, V., Haakonsson, S., Palacio, H., Rodas, G. B., Barros, M. U. G., Capelo-Neto, J., Urrutia, R., Aubriot, L., & Bonilla, S. (2023). Cyanobacterial bloom monitoring and assessment in Latin America. *Harmful Algae*, 125, 102429. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102429>
2. Ahmed, M., Stal, L. J., & Hasnain, S. (2014). The morphology and bioactivity of the rice field cyanobacterium *Leptolyngbya*. *Revista de Biología Tropical*, 62(3), 1251–1260. <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i3.8657>
3. Almagro, L., Correa-Sabater, J. M., Sabater-Jara, A. B., & Pedreño, M. A. (2022). Biotechnological production of β -carotene using plant in vitro cultures. *Planta*, 256(2), 41. <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03953-9>
4. Arredondo-Vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
5. Baracho, D. H., & Lombardi, A. T. (2023). Study of the growth and biochemical composition of 20 species of cyanobacteria cultured in cylindrical photobioreactors. *Microbial Cell Factories*, 22. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02035-z>
6. Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>

7. Behle, A. (2016). Recipe for standard BG-11 media (Version 1). protocols.io. <https://doi.org/10.17504/protocols.io.gtmbywk6>
8. Cao, J., Russo, D. A., Xie, T., Groß, G., & Zedler, J. A. Z. (2022). A droplet-based microfluidic platform enables high-throughput combinatorial optimization of cyanobacterial cultivation. *Scientific Reports*, 12. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19773-6>
9. Chini Zittelli, G., Lauceri, R., Faraloni, C., Benavides, A. S. M., & Torzillo, G. (2023). Valuable pigments from microalgae: Phycobiliproteins, primary carotenoids, and fucoxanthin. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 22, 1–57. <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00407-3>
10. Colusse, G. A., Borges Mendes, C. R., Rabello Duarte, M. E., de Carvalho, J. C., & Nosedá, M. D. (2020). Effects of different culture media on physiological features and laboratory scale production cost of *Dunaliella salina*. *Biotechnology Reports*, 27, e00508. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00508>
11. Cordeiro, R., Luz, R., Vasconcelos, V., Gonçalves, V., & Fonseca, A. (2020). Cyanobacteria phylogenetic studies reveal evidence for polyphyletic genera from thermal and freshwater habitats. *Diversity*, 12(8), 298. <https://doi.org/10.3390/d12080298>
12. Delgado, J., Pólit, P. A., Panta-Vélez, R. P., Rodríguez-Díaz, J., Dapena, J. D., Lozano, A., & Maddela, N. R. (2024). Identification and composition of cyanobacteria in Ecuadorian shrimp farming ponds: Possible risk to human

- health. *Current Microbiology*, 81. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03765-y>
13. Domonkos, I., Kis, M., Gombos, Z., & Ughy, B. (2013). Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. *Progress in Lipid Research*, 52(4), 539–561. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.07.001>
 14. Fernandes, A. S., Petry, F. C., Mercadante, A. Z., Jacob-Lopes, E., & Zepka, L. Q. (2020). HPLC-PDA-MS/MS as a strategy to characterize and quantify natural pigments from microalgae. *Current Research in Food Science*, 3, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.03.009>
 15. Fox, J., & Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression* (3rd ed.). Sage.
 16. Freire Balseca, D. A., Castro Reyes, K. S., & Maldonado Rodríguez, M. E. (2024). Optimization of an alternative culture medium for phycocyanin production from *Arthrospira platensis*. *Microorganisms*, 12(2), 363. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020363>
 17. Gao, H., Wang, Y., Huang, Z., Yu, F., Hu, X., Ning, D., & Xu, X. (2024). Development of *Leptolyngbya* sp. BL0902 into a model organism for synthetic biological research in filamentous cyanobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1409771. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1409771>
 18. Griffiths, M. J., Garcin, C., van Hille, R. P., & Harrison, S. T. L. (2011). Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal of Microbiological Methods*, 85(2), 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.02.005>

19. Hartig, F. (2026). DHARMA: Residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models [R package]. <https://cran.r-project.org/package=DHARMA>
20. Hong, D. D., Hien, H. T. M., Thom, L. T., Ha, N. C., Huy, L. A., Thu, N. T. H., Cuong, N., Tang, D. Y. Y., & Show, P. L. (2023). Transcriptome analysis of *Spirulina platensis* sp. at different salinity and nutrient compositions for sustainable cultivation in Vietnam. *Sustainability*, 15(15), 11906. <https://doi.org/10.3390/su151511906>
21. Kenward, M. G., & Roger, J. H. (1997). Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. *Biometrics*, 53(3), 983–997. <https://doi.org/10.2307/2533558>
22. Kim, J. H., Choi, W., Jeon, S.-M., Kim, T., Park, A., Kim, J., Heo, S.-J., Oh, C., Shim, W. B., & Kang, D.-H. (2015). Isolation and characterization of *Leptolyngbya* sp. KIOST-1, a basophilic and euryhaline filamentous cyanobacterium from an open paddle-wheel raceway Arthrospira culture pond in Korea. *Journal of Applied Microbiology*, 119, 1597–1612. <https://doi.org/10.1111/jam.12961>
23. Kokabi, M., Yousefzadi, M., Soltani, M., & Arman, M. (2019). Effects of different UV radiation on photoprotective pigments and antioxidant activity of the hot-spring cyanobacterium *Leptolyngbya* cf. *fragilis*. *Phycological Research*, 67(3), 215–220. <https://doi.org/10.1111/pre.12374>
24. Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a

- polyphasic approach. *Preslia*, 86, 295–335.
<https://www.preslia.cz/P144Komarek.pdf>
25. Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: Tests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*, 82(13), 1–26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
 26. Lee, W.-K., Ryu, Y.-K., Kim, T., Park, A., Lee, Y.-J., Lee, Y., Kim, J. H., Oh, C., Kang, D.-H., & Choi, W.-Y. (2024). Optimization of industrial-scale cultivation conditions to enhance the nutritional composition of nontoxic cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. KIOST-1. *Applied Sciences*, 14(1), 282. <https://doi.org/10.3390/app14010282>
 27. Lehmann, M., Vamvaka, E., Torrado, A., Jahns, P., Dann, M., Rosenhammer, L., Aziba, A., Leister, D., & Rühle, T. (2021). Introduction of the carotenoid biosynthesis α -branch into *Synechocystis* sp. PCC 6803 for lutein production. *Frontiers in Plant Science*, 12, 699424. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.699424>
 28. Lenth, R. V. (2026). emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means [R package]. <https://doi.org/10.32614/CRAN.package.emmeans>
 29. Li, Z., Liu, Y., Zhou, T., Cao, L., Cai, Y., Wang, Y., Cui, X., Yan, H., Ruan, R., & Zhang, Q. (2022). Effects of culture conditions on the performance of *Arthrospira platensis* and its production of exopolysaccharides. *Foods*, 11(14), 2020. <https://doi.org/10.3390/foods11142020>
 30. Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy.

Current Protocols in Food Analytical Chemistry, F4.3.1–F4.3.8.
<https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>

31. Lopes, G., Clarinha, D., & Vasconcelos, V. (2020). Carotenoids from cyanobacteria: A biotechnological approach for the topical treatment of psoriasis. *Microorganisms*, 8(2), 302.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8020302>
32. Lourenço-Lopes, C., Fraga-Corral, M., García-Pérez, P., Carreira-Casais, A., Silva, A., Simal-Gándara, J., & Prieto, M. A. (2022). A HPLC-DAD method for identifying and estimating the content of fucoxanthin, β -carotene and chlorophyll a in brown algal extracts. *Food Chemistry Advances*, 1, 100095. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100095>
33. Lüdecke, D., Ben-Shachar, M. S., Patil, I., Waggoner, P., & Makowski, D. (2021). performance: An R package for assessment, comparison and testing of statistical models. *Journal of Open Source Software*, 6(60), 3139.
<https://doi.org/10.21105/joss.03139>
34. Ludwig, K., Rihko-Struckmann, L., Brinitzer, G., Unkelbach, G., & Sundmacher, K. (2021). β -Carotene extraction from *Dunaliella salina* by supercritical CO₂. *Journal of Applied Phycology*, 33, 1435–1445.
<https://doi.org/10.1007/s10811-021-02399-y>
35. Mareš, J. (2018). Multilocus and SSU rRNA gene phylogenetic analyses of available cyanobacterial genomes, and their relation to the current taxonomic system. *Hydrobiologia*, 811, 19–34.
<https://doi.org/10.1007/s10750-017-3373-2>

36. Mishra, A., Rajput, S., Gupta, P., Goyal, V., Singh, S., Sharma, S., Shukla, S., Singh, A., Shukla, K., & Varma, A. (2021). Role of cyanobacteria in rhizospheric nitrogen fixation. In *Microbiome stimulants for crops* (pp. 497–519). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-71206-8_25
37. Morales-Avendaño, E.-D., De La Cruz-Espinoza, K.-E., Romero-Saker, P.-J.-R., Navarrete-Álava, J.-M., & Rodríguez-Palacio, M.-C. (2025). Aislamiento, cultivo y análisis de toxicidad de la cianobacteria *Leptolyngbya* sp. *Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 23(1), 17–33. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v23.n1.2025.2322>
38. Mouga, T., Pereira, J., Moreira, V. S. F. D., & Afonso, C. (2024). Unveiling the cultivation of *Nostoc* sp. under controlled laboratory conditions. *Biology*, 13(5), 306. <https://doi.org/10.3390/biology13050306>
39. National Institute for Environmental Studies. (n.d.). SOT medium. Microbial Culture Collection. <https://mcc.nbrp.jp/medium/en/sot.pdf>
40. Novoveská, L., Nielsen, S. L., Eroldoğan, O., Haznedaroglu, B., Rinkevich, B., Fazi, S., Robbens, J., Vasquez, M., & Einarsson, H. (2023). Overview and challenges of large-scale cultivation of photosynthetic microalgae and cyanobacteria. *Marine Drugs*, 21(8), 445. <https://doi.org/10.3390/md21080445>
41. Obando Montoya, E. J., Portillo Cogollo, L., Flórez Leiva, L., Pulgarín Correa, J. C., Pérez Jaramillo, P. P., & Atehortúa Garcés, L. (2025). Effects of light and temperature on the growth of *Leptolyngbya* sp., an estuarine

- cyanobacterium from Colombia, under laboratory conditions. *Intropica*, 20(1), 9–25. <https://doi.org/10.21676/23897864.6069>
42. Ogawa, T., & Terui, G. (1970). Studies on the growth of *Spirulina platensis*. I. On the pure culture of *Spirulina platensis*. *Journal of Fermentation Technology*, 48, 361–367.
43. Oinam, A. S., Tiwari, O. N., Chungkham, S., Thingujam, I., Keithellakpam, O. S., Oinam, G., & Sharma, G. D. (2015). High nitrate, phosphate and alkaline pH enhances total carotenoids yield in *Leptolyngbya sp. BTA 287*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 6(2), 211–219. http://www.bipublication.com/files/IJABR-V6I2-2015-8_Avijeet%20Singh%20Oinam.pdf
44. Pagels, F., Vasconcelos, V., & Guedes, A. C. (2021). Carotenoids from cyanobacteria: Biotechnological potential and optimization strategies. *Biomolecules*, 11(5), 735. <https://doi.org/10.3390/biom11050735>
45. Pandey, S., Narayanan, I., Vinayagam, R., Selvaraj, R., Varadavenkatesan, T., & Pugazhendhi, A. (2023). A review on the effect of Blue Green 11 medium and its constituents on microalgal growth and lipid production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11, 109984. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109984>
46. Parthiban, J., & Jambulingam, R. (2023). Enhancing the biodiesel production potential of *Synechococcus elongatus* and *Anabaena* cyanobacterial strain isolated from saline water using different media

- composition and organic carbon sources. *Sustainability*, 15(1), 870.
<https://doi.org/10.3390/su15010870>
47. Poojary, M. M., Barba, F. J., Aliakbarian, B., Donsì, F., Pataro, G., Dias, D. A., & Juliano, P. (2016). Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Marine Drugs*, 14(11), 214.
<https://doi.org/10.3390/md14110214>
48. Proctor, M. S., Chidgey, J. W., Shukla, M. K., Jackson, P. J., Sobotka, R., Hunter, C. N., & Hitchcock, A. (2018). Plant and algal chlorophyll synthases function in *Synechocystis* and interact with the YidC/Alb3 membrane insertase. *FEBS Letters*, 592(18), 3062–3073.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.13222>
49. R Core Team. (2025). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
50. Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., & Stanier, R. Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 111(1), 1–61.
<https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1>
51. Ritchie, R. J. (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, 89(1), 27–41. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9065-9>

52. Rivera, S. M., & Canela-Garayoa, R. (2012). Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. *Journal of Chromatography A*, 1224, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.025>
53. Rochina Meza, F. L., Vélez Rodríguez, J. H., & Rodríguez Meza, W. A. (2026). Identificación molecular de cianobacterias aisladas del río Manglaralto, Santa Elena, Ecuador. *Multidisciplinary Collaborative Journal*, 4(1). <https://doi.org/10.70881/mcj/v4/n1/123>
54. Rowland, S. M., Van Wyche, S., & Laurens, L. M. L. (2022). *Identification and quantification of photosynthetic pigments in algae: Laboratory Analytical Procedure (LAP)* (NREL/TP-5100-84170). National Renewable Energy Laboratory. <https://doi.org/10.2172/1896813>
55. Ryu, J.-Y., Song, J. Y., Lee, J. M., Jeong, S. W., Chow, W. S., Choi, S.-B., Pogson, B. J., & Park, Y.-I. (2004). Glucose-induced expression of carotenoid biosynthesis genes in the dark is mediated by cytosolic pH in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Journal of Biological Chemistry*, 279(24), 25320–25325. <https://doi.org/10.1074/jbc.M402541200>
56. Saini, D. K., Chakdar, H., Pabbi, S., & Shukla, P. (2020). Enhancing production of microalgal biopigments through metabolic and genetic engineering. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60, 391–405. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1533518>
57. Salazar, V., Tschoeke, D., Swings, J., Cosenza, C., Mattoso, M., Thompson, C., & Thompson, F. (2020). A new genomic taxonomy system for the

- Synechococcus collective. Environmental Microbiology. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15173>
58. Saleem, A., Anwar, S., Saud, S., Kamal, T., Fahad, S., & Nawaz, T. (2025). Cyanobacteria diversity and ecological roles: Insights into cyanobacterial adaptations and environmental implications. Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences. <https://doi.org/10.1007/s43994-025-00261-2>
59. Sánchez-Baracaldo, P., & Cardona, T. (2020). On the origin of oxygenic photosynthesis and cyanobacteria. New Phytologist. <https://doi.org/10.1111/nph.16249>
60. Sandybayeva, S. K., Kossalbayev, B., Zayadan, B., Sadvakasova, A. K., Bolatkhan, K., Zadneprovskaya, E., Kakimov, A. B., Alwasel, S., Leong, Y. K., Allakhverdiev, S., & Chan, J.-S. (2022). Prospects of cyanobacterial pigment production: Biotechnological potential and optimization strategies. Biochemical Engineering Journal, 108640. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108640>
61. Saubenova, M., Rapoport, A., Venkatachalam, M., Dufossé, L., Yermekbay, Z., & Oleinikova, Y. (2024). Production of carotenoids by microorganisms. Fermentation, 10(10), 502. <https://doi.org/10.3390/fermentation10100502>
62. Schipper, K., Fortunati, F., Oostlander, P. C., Al Muraikhi, M., Al Jabri, H. M. S. J., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2021). Outdoor scale-up of *Leptolyngbya* sp.: Effect of light intensity and inoculum volume on

- photooxidation. *Biotechnology and Bioengineering*, 118(6), 2367–2379.
<https://doi.org/10.1002/bit.27750>
63. Schirrmeister, B. E., Gugger, M., & Donoghue, P. (2015). Cyanobacteria and the Great Oxidation Event: Evidence from genes and fossils. *Palaeontology*, 58, 769–785. <https://doi.org/10.1111/pala.12178>
64. Sciuto, K., & Moro, I. (2016). Detection of the new cosmopolitan genus *Thermoleptolyngbya* (Cyanobacteria, Leptolyngbyaceae) using the 16S rRNA gene and 16S–23S ITS region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 105, 15–35. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.08.010>
65. Sharma, A. K., Sahoo, P. K., Singhal, S., & Patel, A. (2016). Impact of various media and organic carbon sources on biofuel production potential from *Chlorella* spp. *3 Biotech*, 6, 116. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0434-6>
66. Singh, J. S., Kumar, A., Rai, A. N., & Singh, D. (2016). Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 7, 529. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00529>
67. Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Singh, V., & Prasad, S. (2017). Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: Current status and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, 8, 515. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00515>

68. Soule, T., & Garcia-Pichel, F. (2019). Cyanobacteria. In Reference module in life sciences. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20886-8>
69. Sozer, O., Komenda, J., Ughy, B., Domonkos, I., Laczkó-Dobos, H., Malec, P., Gombos, Z., & Kis, M. (2010). Involvement of carotenoids in the synthesis and assembly of protein subunits of photosynthetic reaction centers of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant and Cell Physiology*, 51(5), 823–835. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq031>
70. Strunecký, O., Ivanova, A. P., & Mareš, J. (2023). An updated classification of cyanobacterial orders and families based on phylogenomic and polyphasic analysis. *Journal of Phycology*, 59(1), 12–51. <https://doi.org/10.1111/jpy.13304>
71. Su, Y., Mennerich, A., & Urban, B. (2016). A comparison of feasible methods for microalgal biomass determinations during tertiary wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 94, 532–536. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.023>
72. Takaichi, S., & Mochimaru, M. (2007). Carotenoids and carotenogenesis in cyanobacteria: Unique ketocarotenoids and carotenoid glycosides. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(19–20), 2607–2619. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7190-z>
73. Tarko, T., Duda-Chodak, A., & Kobus, M. (2012). Influence of growth medium composition on synthesis of bioactive compounds and antioxidant

- properties of selected strains of *Arthrospira* cyanobacteria. *Czech Journal of Food Sciences*, 30, 258–267. <https://doi.org/10.17221/46/2011-CJFS>
74. Taton, A., Lis, E., Adin, D. M., Dong, G., Cookson, S., Kay, S. A., Golden, S. S., & Golden, J. W. (2012). Gene transfer in *Leptolyngbya* sp. strain BL0902, a cyanobacterium suitable for production of biomass and bioproducts. *PLOS ONE*, 7(1), e30901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030901>
75. Tóth, T. N., Chukhutsina, V., Domonkos, I., Knoppová, J., Komenda, J., Kis, M., Lénárt, Z., Garab, G., Kovács, L., Gombos, Z., & van Amerongen, H. (2015). Carotenoids are essential for the assembly of cyanobacterial photosynthetic complexes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1847(10), 1153–1165. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.05.020>
76. Trenkenshu, R. P. (2019). Calculation of the specific growth rate of microalgae. *Marine Biological Journal*, 4(1), 100–108. <https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.1.09>
77. Van Heukelem, L., & Thomas, C. S. (2001). Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *Journal of Chromatography A*, 910(1), 31–49. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00603-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00603-4)
78. Viera, I., Pérez-Gálvez, A., & Roca, M. (2019). Green natural colorants. *Molecules*, 24(1), 154. <https://doi.org/10.3390/molecules24010154>

79. Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer.
80. World Bank. (n.d.). Official exchange rate (LCU per US\$, period average)—India. Retrieved August 7, 2026, from <https://data.worldbank.org/indicator/PA.NUS.FCRF?locations=IN>
81. Xu, H., Vavilin, D., & Vermaas, W. (2001). Chlorophyll b can serve as the major pigment in functional photosystem II complexes of cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(24), 14168–14173. <https://doi.org/10.1073/pnas.251530298>
82. Zahra, Z., Choo, D., Lee, H., & Parveen, A. (2020). Cyanobacteria: Review of current potentials and applications. *Environments*, 7(2), 13. <https://doi.org/10.3390/environments7020013>
83. Zeileis, A. (2004). Econometric computing with HC and HAC covariance matrix estimators. *Journal of Statistical Software*, 11(10), 1–17. <https://doi.org/10.18637/jss.v011.i10>
84. Zhu, C. J., & Lee, Y. K. (1997). Determination of biomass dry weight of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 9(2), 189–194. <https://doi.org/10.1023/A:1007914806640>

ANEXOS

Tabla 21

Comparaciones de medias marginales estimadas de la absorbancia a 720 nm entre BG11 y SOT por día de cultivo.

Día	Diferencia estimada (BG11 - SOT)	Error estándar	gl	t	p	Significancia
0	-0.028	0.060	93	-0.458	0.648	ns
2	-0.051	0.060	93	-0.848	0.398	ns
4	-0.139	0.060	93	-2.310	0.023	*
6	-0.203	0.060	93	-3.385	0.001	**
8	-0.263	0.060	93	-4.377	< 0.001	***
10	-0.277	0.060	93	-4.614	< 0.001	***
12	-0.285	0.060	93	-4.746	< 0.001	***
14	-0.344	0.060	93	-5.736	< 0.001	***
16	-0.322	0.060	93	-5.367	< 0.001	***

Nota. Las diferencias negativas indican valores superiores en SOT. ns = no significativo; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

Tabla 22

Comparaciones de medias marginales estimadas del peso seco entre BG11 y SOT por día de cultivo.

Día	Diferencia estimada (BG11 - SOT)	Error estándar	gl	t	p	Significancia
0	0.000	0.005	150	0.030	0.976	ns
2	-0.003	0.005	150	-0.684	0.495	ns
4	-0.015	0.005	150	-2.916	0.004	**
6	-0.014	0.005	150	-2.857	0.005	**
8	-0.021	0.005	150	-4.256	< 0.001	***
10	-0.022	0.005	150	-4.424	< 0.001	***
12	-0.017	0.005	150	-3.313	0.001	**
14	-0.021	0.005	150	-4.256	< 0.001	***
16	-0.015	0.005	150	-2.936	0.004	**

Nota. Las diferencias negativas indican mayor biomasa en SOT. ns = no significativo; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$

Tabla 23

Coefficientes del modelo lineal aditivo del contenido de carotenoides totales en función de la biomasa final y el medio de cultivo.

Variable	Estimación	Error estándar robusto HC3	t	p
Intercepto	-11.56	4.94	-2.34	0.044
Biomasa final	78.77	23.00	3.43	0.008
Medio SOT	2.19	0.53	4.13	0.003

Nota. ($R^2 = 0.827$). La interacción biomasa $\times$ medio no fue significativa ($p = 0.223$), por lo que se reportó el modelo aditivo. Debido a la presencia de heterocedasticidad, la significancia de los coeficientes se estimó mediante errores estándar robustos HC3.

Tabla 24

*Modelos lineales entre la biomasa final y el contenido de pigmentos en *Leptolyngbya* spp. cultivada en BG11 y SOT.*

Pigmento	Modelo final	R^2	R^2 ajustado	p interacción biomasa $\times$ medio	p biomasa	p medio	Inferencia
Carotenoides totales	Aditivo	0.827	0.789	0.223	0.008	0.003	HC3
β -caroteno	Aditivo	0.320	0.169	0.889	0.108	0.666	HC3
Luteína	Aditivo	0.174	-0.009	0.673	0.390	0.770	Clásica
Clorofila a	Aditivo	0.368	0.227	0.747	0.602	0.092	HC3

Nota. En los modelos donde se detectó heterocedasticidad se emplearon errores estándar robustos HC3. Los valores de p corresponden a los efectos de biomasa final y medio dentro de cada modelo. La clorofila b no se incluyó porque no fue detectada.

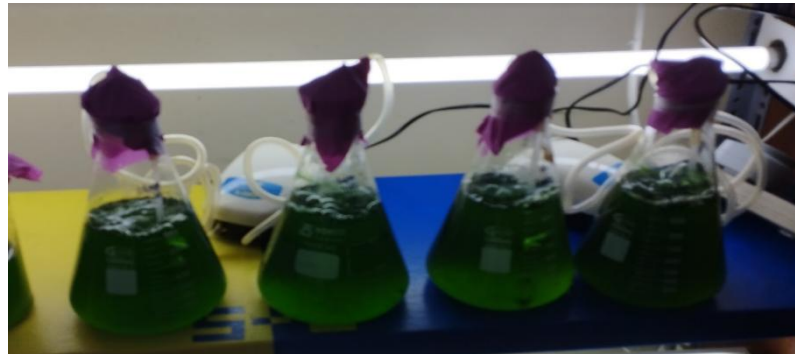
ANEXO 1. Elaboración de extractos y análisis en HPLC



ANEXO 4 Cultivos de *Leptolyngbya* spp. en sus diferentes fases.



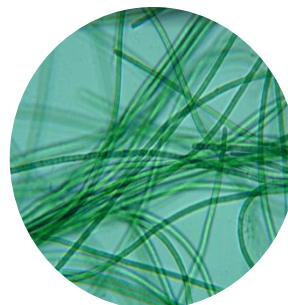
ANEXO 5. Cultivo madre con la misma densidad celular de *Leptolyngbya* spp. en SOT (dos matraces de la izquierda) y BG11 (dos matraces de la derecha)



ANEXO 6. Comparación de BG11 (derecha) con presencia de biofilm y SOT (izquierda) al finalizar el ciclo experimental.



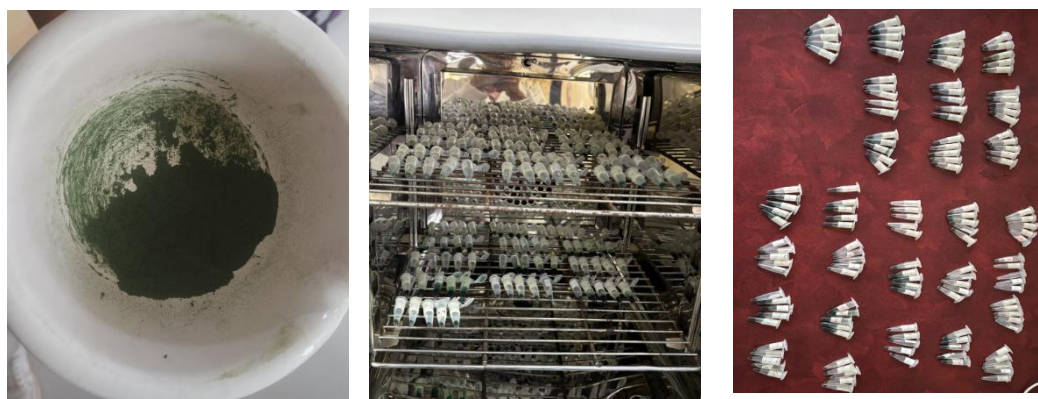
ANEXO 7. Observación microscópica de crecimiento en tubos



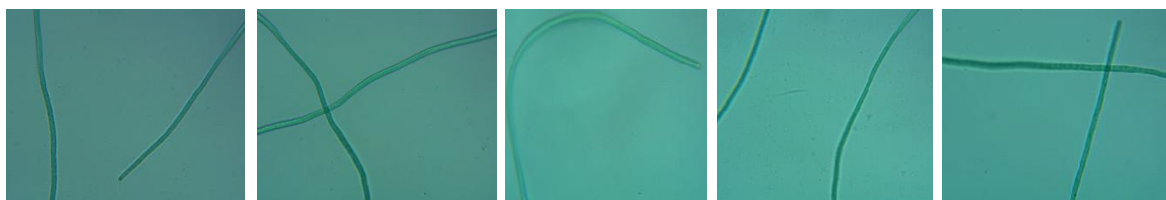
ANEXO 8. Toma de pH del medio y control de fotoperíodo



ANEXO 9. Muestras analizadas para biomasa seca



ANEXO 10. Observaciones microscópicas de 5 cultivos de *Leptolyngbya* spp. 40x en BG11



ANEXO 11. Observaciones microscópicas de 5 cultivos de *Leptolyngbya* spp. 40x en SOT.



ANEXO 12. Matriz de crecimiento empleada para análisis en R Studio.

Ocasion	Medio	Cultivo	Dia	OD647	OD720	OD540	Peso_seco
1	BG11	BG11_1	0	0.201	0.185	0.207	0.0058
1	BG11	BG11_2	0	0.201	0.185	0.207	0.0057
1	BG11	BG11_3	0	0.201	0.185	0.207	0.0056
1	BG11	BG11_4	0	0.201	0.185	0.207	0.0059
1	BG11	BG11_5	0	0.201	0.185	0.207	0.0055
1	SOT	SOT_1	0	0.269	0.242	0.254	0.0059
1	SOT	SOT_2	0	0.269	0.242	0.254	0.0058
1	SOT	SOT_3	0	0.269	0.242	0.254	0.0056
1	SOT	SOT_4	0	0.269	0.242	0.254	0.0055
1	SOT	SOT_5	0	0.269	0.242	0.254	0.0057
1	BG11	BG11_1	2	0.336	0.304	0.331	0.0380
1	BG11	BG11_2	2	0.409	0.375	0.435	0.0390
1	BG11	BG11_3	2	0.300	0.274	0.294	0.0370
1	BG11	BG11_4	2	0.409	0.369	0.423	0.0380
1	BG11	BG11_5	2	0.37	0.329	0.335	0.0360
1	SOT	SOT_1	2	0.456	0.41	0.431	0.0400
1	SOT	SOT_2	2	0.426	0.391	0.408	0.0390
1	SOT	SOT_3	2	0.464	0.415	0.455	0.0370
1	SOT	SOT_4	2	0.518	0.461	0.522	0.0380
1	SOT	SOT_5	2	0.51	0.45	0.48	0.0410
1	BG11	BG11_1	4	0.447	0.411	0.464	0.1000
1	BG11	BG11_2	4	0.631	0.547	0.589	0.0990
1	BG11	BG11_3	4	0.527	0.461	0.49	0.0980
1	BG11	BG11_4	4	0.622	0.545	0.629	0.0970
1	BG11	BG11_5	4	0.525	0.475	0.51	0.0990
1	SOT	SOT_1	4	0.706	0.611	0.649	0.1020
1	SOT	SOT_2	4	0.709	0.632	0.672	0.1000
1	SOT	SOT_3	4	0.649	0.571	0.608	0.0980

1	SOT	SOT_4	4	0.767	0.672	0.743	0.0970
1	SOT	SOT_5	4	0.79	0.694	0.725	0.1010
1	BG11	BG11_1	6	0.686	0.605	0.651	0.1130
1	BG11	BG11_2	6	0.825	0.708	0.772	0.1140
1	BG11	BG11_3	6	0.71	0.621	0.668	0.1150
1	BG11	BG11_4	6	0.808	0.709	0.813	0.1120
1	BG11	BG11_5	6	0.661	0.602	0.656	0.1120
1	SOT	SOT_1	6	0.978	0.818	0.876	0.1180
1	SOT	SOT_2	6	0.991	0.847	0.907	0.1150
1	SOT	SOT_3	6	0.896	0.768	0.794	0.1120
1	SOT	SOT_4	6	1.072	0.905	0.997	0.1140
1	SOT	SOT_5	6	1.059	0.88	0.934	0.1160
1	BG11	BG11_1	8	0.431	0.323	0.373	0.1630
1	BG11	BG11_2	8	0.636	0.465	0.552	0.1640
1	BG11	BG11_3	8	0.608	0.479	0.485	0.1620
1	BG11	BG11_4	8	0.663	0.532	0.682	0.1600
1	BG11	BG11_5	8	0.413	0.309	0.345	0.1620
1	SOT	SOT_1	8	0.9	0.678	0.743	0.1680
1	SOT	SOT_2	8	0.881	0.672	0.745	0.1650
1	SOT	SOT_3	8	0.762	0.573	0.621	0.1610
1	SOT	SOT_4	8	0.974	0.724	0.826	0.1620
1	SOT	SOT_5	8	0.963	0.713	0.78	0.1660
1	BG11	BG11_1	10	0.701	0.601	0.654	0.1800
1	BG11	BG11_2	10	1.142	0.933	1.032	0.1790
1	BG11	BG11_3	10	1.085	0.869	0.942	0.1770
1	BG11	BG11_4	10	1.299	1.055	1.265	0.1790
1	BG11	BG11_5	10	1.334	1.058	1.143	0.1790
1	SOT	SOT_1	10	1.473	1.19	1.291	0.1840
1	SOT	SOT_2	10	1.39	1.148	1.232	0.1820
1	SOT	SOT_3	10	1.276	1.05	1.104	0.1780
1	SOT	SOT_4	10	1.491	1.202	1.319	0.1790
1	SOT	SOT_5	10	1.52	1.21	1.307	0.1810
1	BG11	BG11_1	12	1.11	0.897	0.992	0.2010
1	BG11	BG11_2	12	1.252	1.028	1.149	0.2000
1	BG11	BG11_3	12	1.193	0.985	1.092	0.1980
1	BG11	BG11_4	12	1.532	1.244	1.476	0.1990
1	BG11	BG11_5	12	1.222	0.983	1.063	0.1990
1	SOT	SOT_1	12	1.651	1.299	1.435	0.2060
1	SOT	SOT_2	12	1.554	1.223	1.316	0.2040
1	SOT	SOT_3	12	1.554	1.285	1.38	0.2020
1	SOT	SOT_4	12	1.658	1.307	1.444	0.2010
1	SOT	SOT_5	12	1.815	1.41	1.552	0.1990

1	BG11	BG11_1	14	1.279	1.047	1.157	0.2190
1	BG11	BG11_2	14	1.42	1.156	1.308	0.2160
1	BG11	BG11_3	14	1.269	1.035	1.169	0.2170
1	BG11	BG11_4	14	1.707	1.369	1.633	0.2170
1	BG11	BG11_5	14	1.29	1.05	1.156	0.2170
1	SOT	SOT_1	14	1.784	1.379	1.544	0.2240
1	SOT	SOT_2	14	1.497	1.226	1.338	0.2210
1	SOT	SOT_3	14	1.829	1.395	1.562	0.2200
1	SOT	SOT_4	14	1.86	1.462	1.65	0.2180
1	SOT	SOT_5	14	1.98	1.524	1.714	0.2170
1	BG11	BG11_1	16	1.358	1.071	1.168	0.2270
1	BG11	BG11_2	16	1.549	1.248	1.415	0.2250
1	BG11	BG11_3	16	1.221	0.993	1.119	0.2250
1	BG11	BG11_4	16	1.855	1.511	1.748	0.2260
1	BG11	BG11_5	16	1.45	1.157	1.267	0.2260
1	SOT	SOT_1	16	1.894	1.471	1.626	0.2340
1	SOT	SOT_2	16	1.827	1.461	1.573	0.2310
1	SOT	SOT_3	16	1.905	1.48	1.631	0.2290
1	SOT	SOT_4	16	1.903	1.487	1.642	0.2270
1	SOT	SOT_5	16	1.945	1.503	1.654	0.2260
2	BG11	BG11_1	0	0.069	0.052	0.082	0.0056
2	BG11	BG11_2	0	0.036	0.03	0.04	0.0058
2	BG11	BG11_3	0	0.052	0.041	0.062	0.0060
2	BG11	BG11_4	0	0.048	0.039	0.057	0.0062
2	BG11	BG11_5	0	0.048	0.038	0.059	0.0064
2	SOT	SOT_1	0	0.106	0.091	0.116	0.0053
2	SOT	SOT_2	0	0.02	0.015	0.007	0.0055
2	SOT	SOT_3	0	0.037	0.028	0.028	0.0057
2	SOT	SOT_4	0	0.037	0.028	0.028	0.0059
2	SOT	SOT_5	0	0.024	0.028	0.022	0.0061
2	BG11	BG11_1	2	0.203	0.179	0.236	0.0318
2	BG11	BG11_2	2	0.182	0.126	0.174	0.0323
2	BG11	BG11_3	2	0.216	0.172	0.228	0.0328
2	BG11	BG11_4	2	0.19	0.154	0.239	0.0333
2	BG11	BG11_5	2	0.434	0.416	0.445	0.0338
2	SOT	SOT_1	2	0.174	0.146	0.174	0.0363
2	SOT	SOT_2	2	0.334	0.271	0.334	0.0373
2	SOT	SOT_3	2	0.261	0.223	0.273	0.0383
2	SOT	SOT_4	2	0.258	0.232	0.277	0.0393
2	SOT	SOT_5	2	0.241	0.208	0.239	0.0403
2	BG11	BG11_1	4	0.555	0.47	0.654	0.0687
2	BG11	BG11_2	4	0.365	0.333	0.388	0.0697

2	BG11	BG11_3	4	0.49	0.44	0.554	0.0707
2	BG11	BG11_4	4	0.542	0.46	0.626	0.0717
2	BG11	BG11_5	4	0.295	0.268	0.34	0.0727
2	SOT	SOT_1	4	0.437	0.387	0.446	0.0951
2	SOT	SOT_2	4	0.637	0.568	0.655	0.0971
2	SOT	SOT_3	4	0.639	0.551	0.625	0.0991
2	SOT	SOT_4	4	0.631	0.542	0.624	0.1011
2	SOT	SOT_5	4	0.652	0.568	0.676	0.1031
2	BG11	BG11_1	6	0.366	0.318	0.368	0.0851
2	BG11	BG11_2	6	0.645	0.526	0.671	0.0861
2	BG11	BG11_3	6	0.615	0.503	0.604	0.0871
2	BG11	BG11_4	6	0.427	0.371	0.436	0.0881
2	BG11	BG11_5	6	0.694	0.579	0.758	0.0891
2	SOT	SOT_1	6	0.485	0.422	0.443	0.1101
2	SOT	SOT_2	6	0.902	0.764	0.838	0.1121
2	SOT	SOT_3	6	0.911	0.771	0.832	0.1141
2	SOT	SOT_4	6	0.795	0.656	0.698	0.1161
2	SOT	SOT_5	6	0.861	0.742	0.81	0.1181
2	BG11	BG11_1	8	0.997	0.824	1.056	0.1186
2	BG11	BG11_2	8	0.621	0.528	0.648	0.1206
2	BG11	BG11_3	8	0.799	0.674	0.818	0.1226
2	BG11	BG11_4	8	0.919	0.772	0.958	0.1246
2	BG11	BG11_5	8	0.588	0.491	0.596	0.1266
2	SOT	SOT_1	8	1	0.85	0.978	0.1573
2	SOT	SOT_2	8	1.202	0.951	1.062	0.1603
2	SOT	SOT_3	8	1.184	0.961	1.055	0.1633
2	SOT	SOT_4	8	1.09	0.911	0.972	0.1663
2	SOT	SOT_5	8	1.178	0.99	1.074	0.1693
2	BG11	BG11_1	10	1.178	0.95	1.168	0.1332
2	BG11	BG11_2	10	0.796	0.668	0.765	0.1352
2	BG11	BG11_3	10	0.896	0.749	0.857	0.1372
2	BG11	BG11_4	10	1.008	0.837	1.016	0.1392
2	BG11	BG11_5	10	0.604	0.503	0.57	0.1412
2	SOT	SOT_1	10	1.036	0.933	0.986	0.1738
2	SOT	SOT_2	10	1.344	1.095	1.159	0.1768
2	SOT	SOT_3	10	1.319	1.067	1.132	0.1798
2	SOT	SOT_4	10	1.259	1.024	1.071	0.1828
2	SOT	SOT_5	10	1.333	1.072	1.149	0.1858
2	BG11	BG11_1	12	1.491	1.213	1.496	0.1645
2	BG11	BG11_2	12	1.043	0.872	1.035	0.1675
2	BG11	BG11_3	12	1.193	0.993	1.18	0.1705
2	BG11	BG11_4	12	1.314	1.065	1.33	0.1735

2	BG11	BG11_5	12	0.785	0.658	0.792	0.1765
2	SOT	SOT_1	12	1.413	1.139	1.284	0.1949
2	SOT	SOT_2	12	1.675	1.298	1.434	0.1979
2	SOT	SOT_3	12	1.677	1.336	1.47	0.2009
2	SOT	SOT_4	12	1.599	1.25	1.379	0.2039
2	SOT	SOT_5	12	1.54	1.238	1.351	0.2069
2	BG11	BG11_1	14	1.582	1.312	1.539	0.1725
2	BG11	BG11_2	14	1.077	0.874	1.015	0.1755
2	BG11	BG11_3	14	1.1	0.91	1.058	0.1785
2	BG11	BG11_4	14	1.284	1.047	1.277	0.1815
2	BG11	BG11_5	14	0.702	0.592	0.702	0.1845
2	SOT	SOT_1	14	1.565	1.268	1.389	0.2126
2	SOT	SOT_2	14	1.811	1.399	1.534	0.2156
2	SOT	SOT_3	14	1.753	1.357	1.477	0.2186
2	SOT	SOT_4	14	1.658	1.285	1.377	0.2216
2	SOT	SOT_5	14	1.964	1.538	1.726	0.2246
2	BG11	BG11_1	16	1.834	1.457	1.782	0.1936
2	BG11	BG11_2	16	1.302	1.057	1.247	0.1976
2	BG11	BG11_3	16	1.252	1.033	1.24	0.2016
2	BG11	BG11_4	16	1.526	1.235	1.527	0.2056
2	BG11	BG11_5	16	1.03	0.86	1.01	0.2096
2	SOT	SOT_1	16	1.783	1.45	1.623	0.2196
2	SOT	SOT_2	16	2.054	1.531	1.725	0.2236
2	SOT	SOT_3	16	1.965	1.491	1.67	0.2276
2	SOT	SOT_4	16	1.855	1.434	1.597	0.2316
2	SOT	SOT_5	16	2.048	1.534	1.725	0.2356

ANEXO 13. Matriz de carotenoides totales empleada para análisis en R Studio.

Ocasion	Medio	Muestra	Dup1	Dup2	Promedio (mg/g)
1	SOT	SOT_2	9.4490	9.3526	9.4008
1	SOT	SOT_3	9.5129	9.3640	9.4384
1	SOT	SOT_5	9.7654	9.9117	9.8386
1	BG11	BG11_1	6.1315	6.2633	6.1974
1	BG11	BG11_2	6.6031	6.5563	6.5797
1	BG11	BG11_4	6.7589	6.6753	6.7171
2	SOT	SOT_1	7.8677	7.9105	7.8891
2	SOT	SOT_3	7.6554	7.5442	7.5998
2	SOT	SOT_5	7.3881	7.4992	7.4437
2	BG11	BG11_5	4.6647	4.6090	4.6369
2	BG11	BG11_2	4.1620	4.0451	4.1035
2	BG11	BG11_4	4.0802	4.1299	4.1051

ANEXO 14. Informe de ensayos N.º 789: análisis cromatográfico por HPLC-DAD

	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	Código	IR-ACRTHPLC
		Lagunasto 8, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Versión	1
		INFORME DE RESULTADOS	Año	2026
			Página	Página 1 de 13

INFORME DE ENSAYOS N° 789

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante:	Samantha Pesantez				
Proyecto:	Dietas funcionales basadas en carotenoides derivados de dos especies de microalgas para mejorar la productividad y salud de peces (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) en etapas iniciales. - Código I+D+I-XVII-2023-4-CEDIA.				
Muestra:	Leptolyngbya				
Código asignado UEB:	INV 1097, INV 1098, INV 1099, INV 1100, INV 1101, INV 1102, INV 1103, INV 1104, INV 1105, INV 1106, INV 1107, INV 1108, INV 1109, INV 1110.				
Estado de la muestra:	Sólido				
Envase de recepción:	Funda de papel con aprox. 1.0 g de contenido de muestra.				
Análisis requerido(s):	Cuantificación de beta – caroteno, luteína, clorofila – a y clorofila - b por cromatografía líquida				
Fecha de recepción:	08 de junio de 2026				
Fecha de análisis:	09 al 17 de junio de 2026				
Fecha de informe:	19 al 29 de junio de 2026				
Técnico (s) asignado:	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 1097	Leptolyngbya b2c2	Cuantificación de beta-caroteno	Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)	mg Beta-caroteno/ g muestra	3,57
INV 1098	Leptolyngbya b4c2				4,99
INV 1099	Leptolyngbya b5c2				3,22
INV 1100	Leptolyngbya s5c2				4,09
INV 1101	Leptolyngbya s3c2				6,17
INV 1102	Leptolyngbya s2c2				4,79
INV 1103	Leptolyngbya n1				6,94
INV 1104	Leptolyngbya nc				N.D
INV 1105	Leptolyngbya b2c1				5,39
INV 1106	Leptolyngbya b1c1				6,73
INV 1107	Leptolyngbya b5c1				8,45
INV 1108	Leptolyngbya s2c1				12,70
INV 1109	Leptolyngbya s3c1				9,26
INV 1110	Leptolyngbya s4c1				8,57

	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	Código	IR-ACRTHPLC
		Lagunasto 8, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Versión	1
		INFORME DE RESULTADOS	Año	2026
			Página	Página 3 de 13

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 1109	Leptolyngbya s3c1	Cuantificación de Clorofila - a	Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)	mg Clorofila - a/ g muestra	23,98
INV 1110	Leptolyngbya s4c1				19,92
INV 1097	Leptolyngbya b2c2	Cuantificación de Clorofila - b	Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)	mg Clorofila - b/ g muestra	N.D
INV 1098	Leptolyngbya b4c2				N.D
INV 1099	Leptolyngbya b5c2				N.D
INV 1100	Leptolyngbya s5c2				N.D
INV 1101	Leptolyngbya s3c2				N.D
INV 1102	Leptolyngbya s2c2				N.D
INV 1103	Leptolyngbya n1				13,16
INV 1104	Leptolyngbya nc				13,18
INV 1105	Leptolyngbya b2c1				N.D
INV 1106	Leptolyngbya b1c1				N.D
INV 1107	Leptolyngbya b5c1				N.D
INV 1108	Leptolyngbya s2c1				N.D
INV 1109	Leptolyngbya s3c1				N.D
INV 1110	Leptolyngbya s4c1				N.D

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.
Valor No Determinado: N.D

Ing. María Fernanda Quinteros
TÉCNICA DE LABORATORIO DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas Ph.D.
DIRECTOR DIVIUEB
REVISADO

	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	Código	IR-ACRTHPLC
		Lagunasto 8, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Versión	1
		INFORME DE RESULTADOS	Año	2026
			Página	Página 2 de 13

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 1097	Leptolyngbya b2c2	Cuantificación de Luteína	Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)	mg Luteína/ g muestra	0,90
INV 1098	Leptolyngbya b4c2				1,17
INV 1099	Leptolyngbya b5c2				0,81
INV 1100	Leptolyngbya s5c2				N.D
INV 1101	Leptolyngbya s3c2				1,19
INV 1102	Leptolyngbya s2c2				N.D
INV 1103	Leptolyngbya n1				9,41
INV 1104	Leptolyngbya nc				10,05
INV 1105	Leptolyngbya b2c1				N.D
INV 1106	Leptolyngbya b1c1				0,71
INV 1107	Leptolyngbya b5c1				0,74
INV 1108	Leptolyngbya s2c1				N.D
INV 1109	Leptolyngbya s3c1				1,23
INV 1110	Leptolyngbya s4c1				N.D
INV 1097	Leptolyngbya b2c2	Cuantificación de Clorofila - a	Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)	mg Clorofila - a/ g muestra	8,23
INV 1098	Leptolyngbya b4c2				9,95
INV 1099	Leptolyngbya b5c2				6,81
INV 1100	Leptolyngbya s5c2				7,96
INV 1101	Leptolyngbya s3c2				13,69
INV 1102	Leptolyngbya s2c2				9,27
INV 1103	Leptolyngbya n1				7,34
INV 1104	Leptolyngbya nc				N.D
INV 1105	Leptolyngbya b2c1				10,04
INV 1106	Leptolyngbya b1c1				10,66
INV 1107	Leptolyngbya b5c1				8,44
INV 1108	Leptolyngbya s2c1				29,80

ANEXOS

Tabla 1. Parámetros de cuantificación de luteína, beta-caroteno, clorofila-a y clorofila-b por HPLC-DAD.

Equipo:	HPLC 1260 Infinity, Agilent Technologies
Detector:	DAD 400 – 550 nm
Columna:	Kinetex 5 µm EVO C18 100 Å 150 x 4.6 mm
Fase móvil:	80 % Metanol: 20 % Acetato de Etilo
Flujo:	1.0 mL/min
Temperatura columna:	25 °C
Volumen de inyección:	8 µL
Tiempo de corrida:	10 min

Tabla 2. Tiempo de retención de los estándares analizados por HPLC-DAD.

Estándar	TR (min)
Luteína	1.64
Clorofila-b	2.22
Clorofila-a	2.66
Beta - caroteno	4.96

	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN		Código	R-ACRTHPLC
		Laguaco II, Km. 11.2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Versión	1
		INFORME DE RESULTADOS		Año	2026
				Página	Página 5 de 13

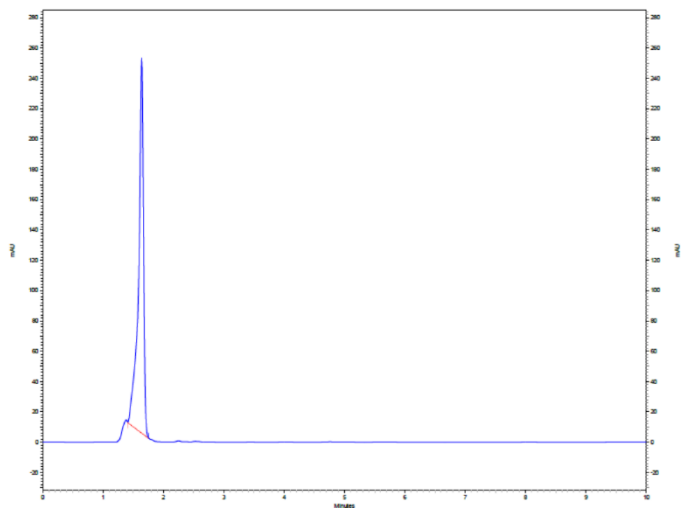


Figura 1. Cromatograma de estándar de Luteína a una concentración de 10 mg/L (R1) obtenido por HPLC.

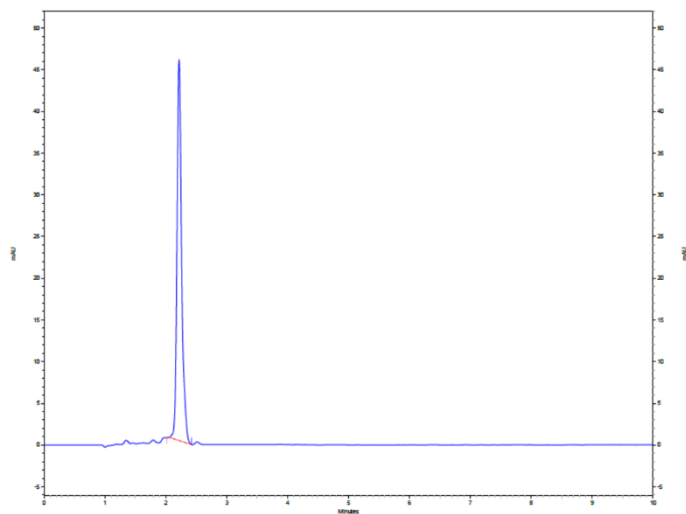


Figura 2. Cromatograma de estándar de Clorofila - b a una concentración de 10.0 mg/L (R1) obtenido por HPLC.

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Lagunillas II, Km 1 1/2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Código	R-ACRTHPLC
		INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
				Año	2026
				Página	Página 6 de 13

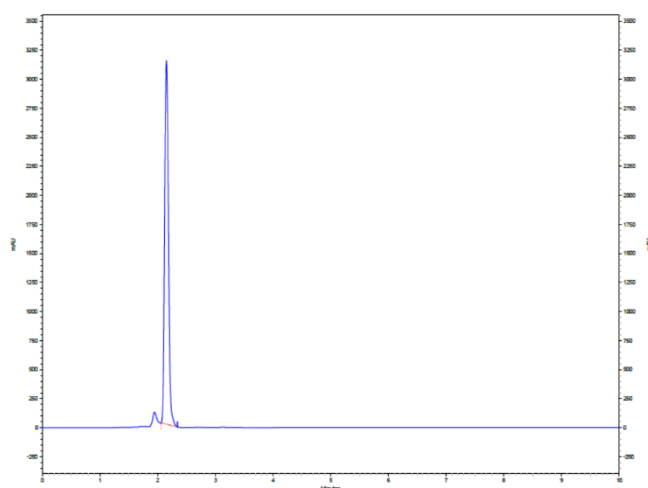


Figura 3. Cromatograma de estándar de Clorofila -a a una concentración de 10.0 mg/L (R1) obtenido por HPLC

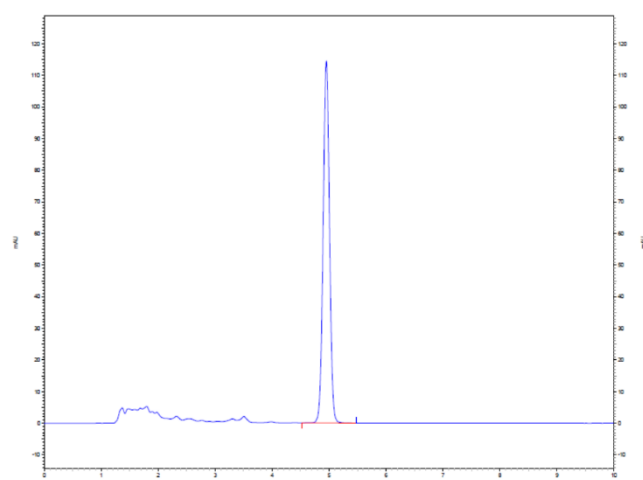


Figura 4. Cromatograma de estándar de Beta-Caroteno a una concentración de 10.0 mg/L (R1) obtenido por HPLC.

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Lagunado II, Km 1 1/2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Código	R-ACRTHPLC
		INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
				Año	2026
				Página	Página 7 de 13

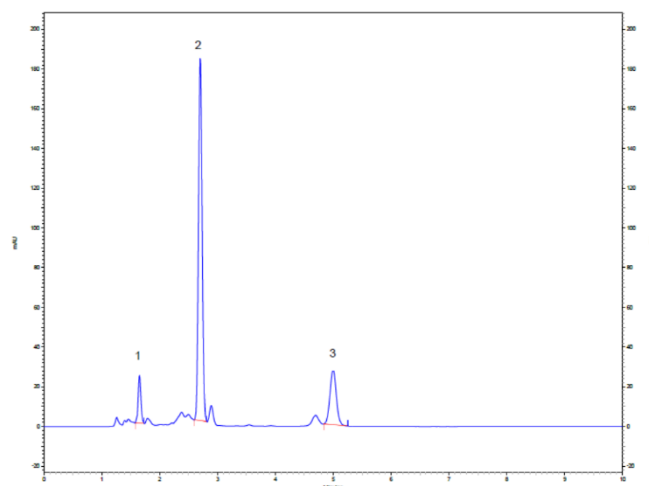


Figura 5. Cromatograma de la muestra 1097 obtenido por HPLC: Luteína (1), Crocifila - a (2) y Beta-caroteno (3).

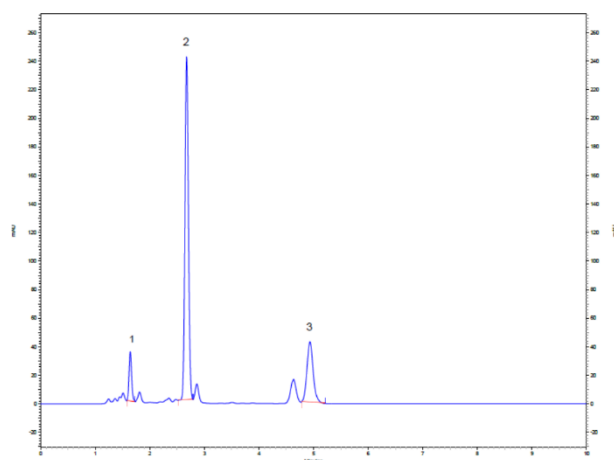


Figura 6. Cromatograma de la muestra 1098 obtenido por HPLC: Luteína (1), Crocifila - a (2) y Beta - caroteno (3)

 DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 11 1/2, vía a San Sebastián, Cantón Guatanda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Código	R-ACRTHPLC
	INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
			Año	2026
			Página	Página 8 de 13

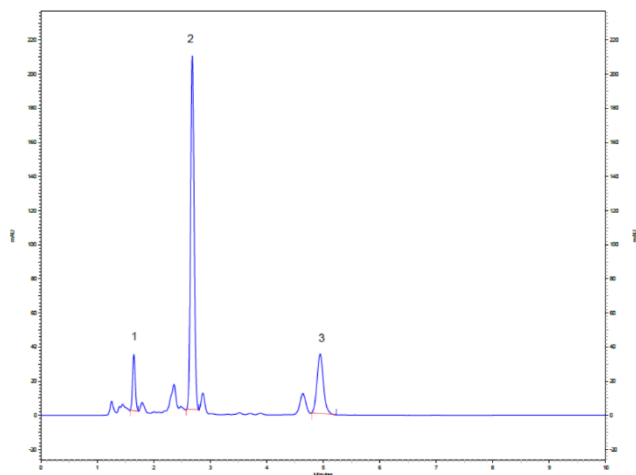


Figura 7. Cromatograma de la muestra 1099 obtenido por HPLC : Luteína (1), Crofina – a (2) y Beta – croteno (3).

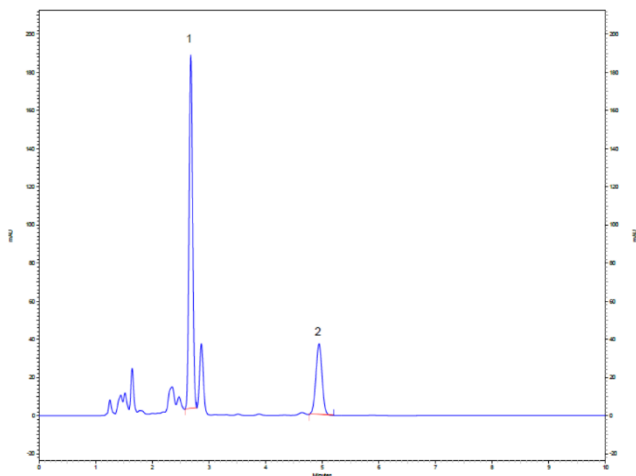


Figura 8. Cromatograma de la muestra 1100 obtenido por HPLC : Crofina – a (1) y Beta-Caroteno (2).

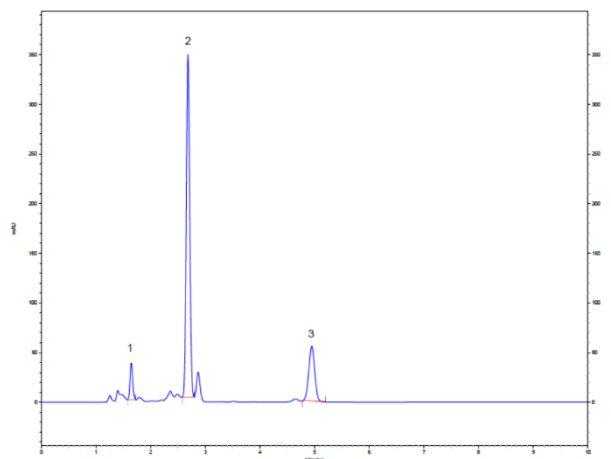


Figura 9. Cromatogram de la muestra 1101 obtenido por HPLC : Luteína (1), Crofina – a (2) y Beta-Caroteno (3).

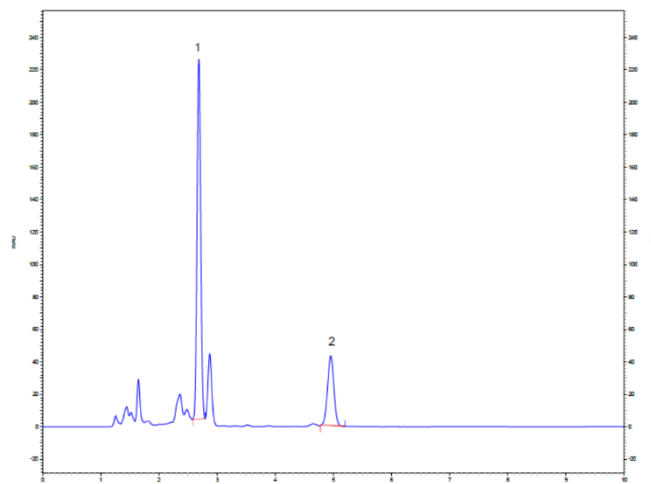


Figura 10. Cromatogram de la muestra 1102 obtenido por HPLC : Crofina – a (1) y Beta-Caroteno (2).

 DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km. 1 1/2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Código	RA-CRTHPLC
	INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
			Año	2026
			Página	Página 10 de 13

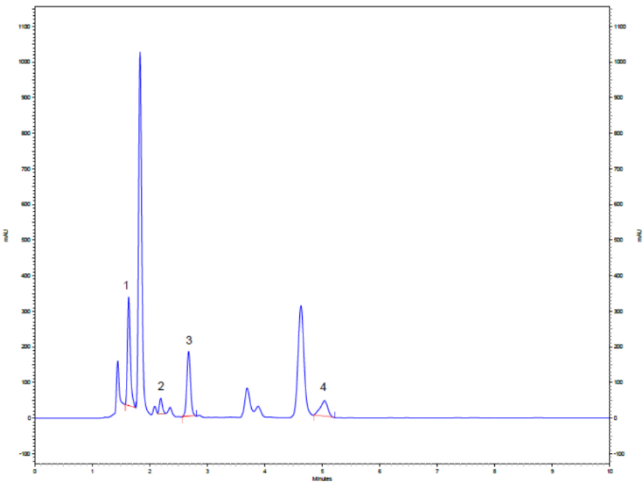


Figura 11. Cromatograma de la muestra 1103 obtenido por HPLC: Luteína (1), Criptocromo – b (2), Criptocromo – a (3) y Beta-Caroteno (4).

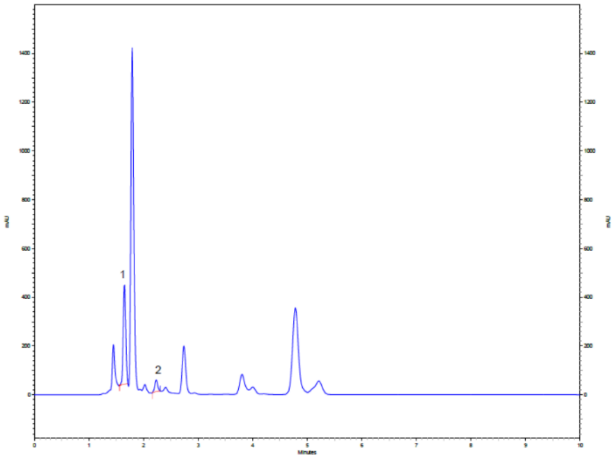


Figura 12. Cromatograma de la muestra 1104 obtenido por HPLC: Luteína (1) y Criptocromo – b (2).

 DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km. 11.2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	R-ACRTHPLC
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2026
		Página	Página 11 de 13

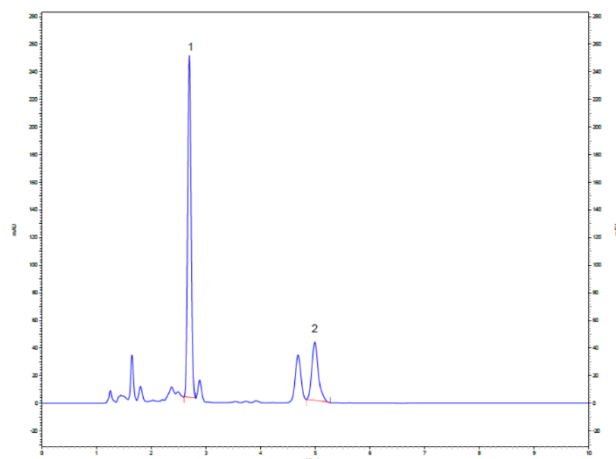


Figura 13. Cromatograma de la muestra 1105 obtenido por HPLC :C brofilá –a (1) y Beta-Caroteno (2).

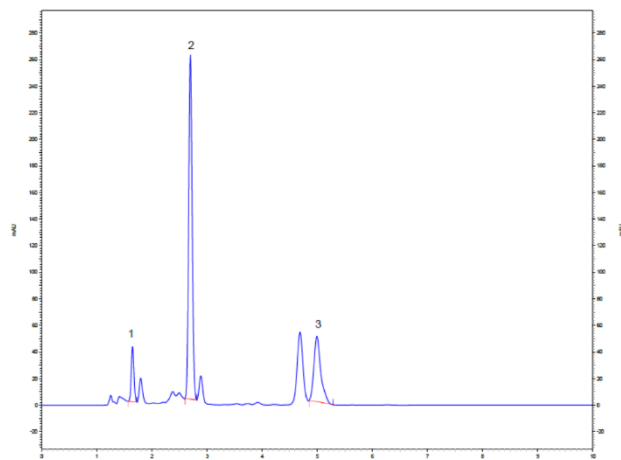


Figura 14. Cromatograma de la muestra 1106 obtenido por HPLC :Luteína (1),C brofilá –a (2) y Beta-Caroteno (3).

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Lagunado II, Km 11.2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Código	R-ACRTHPLC
	INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
			Año	2026
			Página	Página 12 de 13

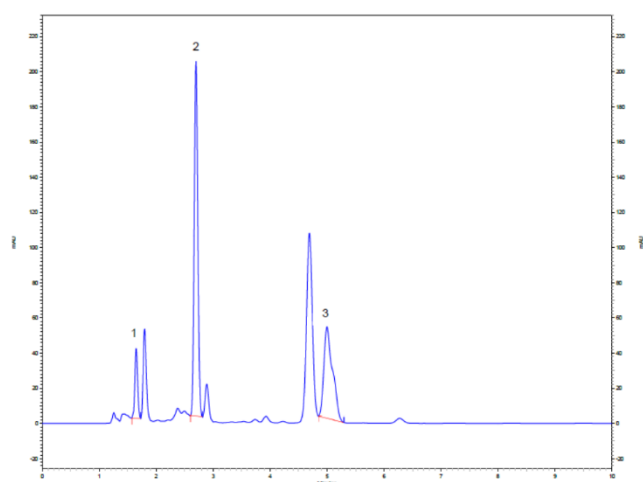


Figura 15. Cromatograma de la muestra 1107 obtenido por HPLC: Luteína (1), Crofina-a (2) y Beta-Caroteno (3).

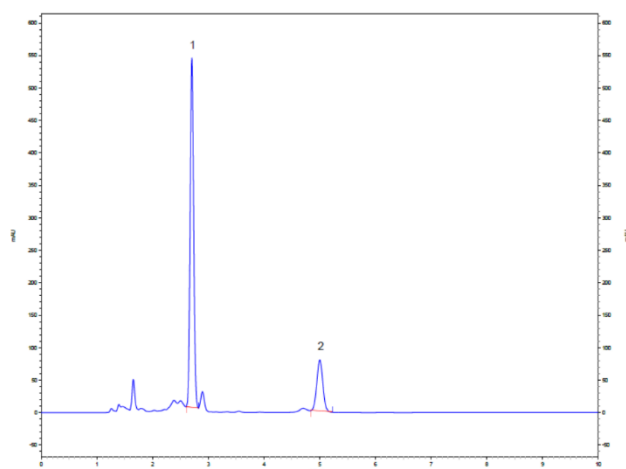


Figura 16. Cromatograma de la muestra 1108 obtenido por HPLC: Crofina-a (1) y Beta-Caroteno (2).

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 11.2, vía a San Sebastián, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	R-ACRTHPLC
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2026
		Página	Página 13 de 13

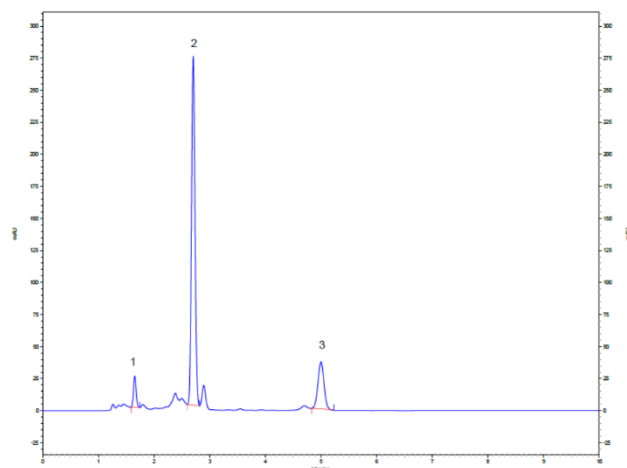


Figura 17. Cromatograma de la muestra 1109 obtenido por HPLC: Luteína (1), Crofina – a (2) y Beta-Caroteno (3).

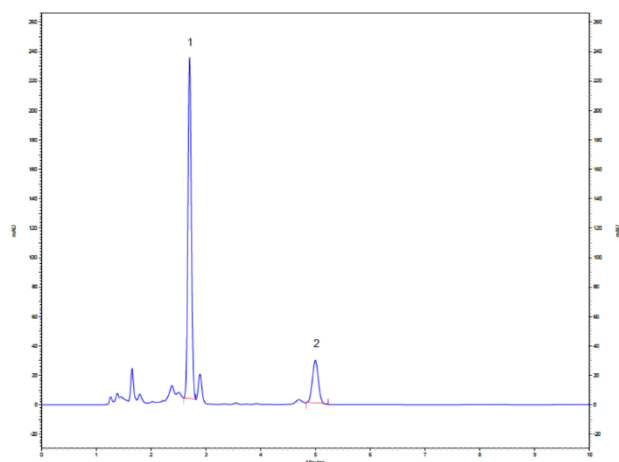


Figura 18. Cromatograma de la muestra 1110 obtenido por HPLC: Crofina – a (1) y Beta-Caroteno (2).