



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

**“ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE  
*Nitzschia sp.* PRODUCIDA EN DOS MEDIOS DE  
CULTIVO.”**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO**

**AUTOR:**

JULISSA CARELY POZO ORRALA.

**TUTOR:**

Blga. JANETH GALARZA TIPÀN, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2024

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

**“ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE  
*Nitzschia sp.* PRODUCIDA EN DOS MEDIOS DE  
CULTIVO.”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR  
Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGO**

**AUTOR:**

JULISSA CARELY POZO ORRALA.

**TUTOR:**

Blga. JANETH GALARZA TIPÁN, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2024

# DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**Análisis de la composición bioquímica de *Nitzschia sp*, producida en dos medios de cultivo.**”, elaborado por Pozo Orrala Julissa Carely, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad 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.

La Libertad, 8 de julio de 2024

Atentamente



---

**Blga. Janeth Galarza**

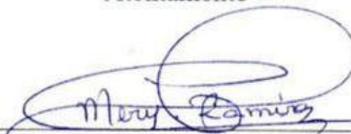
**Tipán Ph.D. DOCENTE**

**TUTOR C.I.0201234044**

## DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE *Nitzschia sp*, PRODUCIDA EN DOS MEDIOS DE CULTIVO”, elaborado por POZO ORRALA JULISSA CARELY, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Q.F. Mery Ramírez Muñoz, Ph.D.  
**DOCENTE DE ÁREA**  
**C.I. 0907694186**

# DEDICATORIA

A Dios por concederme el don de la vida y permitir ser fuente de sabiduría y fortalecimiento en mi trayectoria académica.

A mis queridos padres, Aura Orrala y Remigio Pozo, su afecto y protección incondicional, me guiaron por la constancia y determinación para alcanzar cada meta planteada, su confianza en mí y los valores inculcados, me demostraron que no existe obstáculos, cuando lo que realizas, prevalece el amor y dedicación, en realidad ustedes son mi fuente de inspiración y mi pilar fundamental en la vida.

Cuando el cielo te bendice con los seres indicados te otorga hermanos. A mis confidentes Gabriela Pozo y Genesis Pozo, ustedes son las cómplices de mis locuras remotas y a su vez quienes siempre han estado conmigo en momentos de fragilidad, su empatía y cariño me ha reconfortado en las circunstancias difíciles a lo largo de este tiempo. A mi apreciado hermano Leonel Pozo, por siempre cuidarme y motivarme a cumplir cada objetivo, brindándome seguridad. A pesar de las adversidades son mi lazo inquebrantable para continuar.

# AGRADECIMIENTO

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por disposición y colaboración en la realización de este trabajo de investigación.

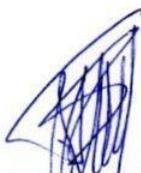
Un agradecimiento fraterno a la Doctora Janeth Galarza, mi tutora de la presente investigación, por la paciencia y guiarme constantemente con múltiples sugerencias en el transcurso del trabajo y a su vez impartirme su amplio conocimiento profesional, lo cual, me permitió eficazmente desarrollar cada proceso del trabajo.

A mis amigos del CIBPA, Catherin Herrera, Byron García, Nathaly Ayo que me ayudaron en el laboratorio, además a la Blga, Sara Ríos, la cual, con su experticia técnica, me transmitió conocimientos en el proyecto realizado, y a mis colegas Nicole Machare, Sebastián Pozo, Miguel Rey, Heydi Quezada.

# TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Pozo Orrala Julissa Carely** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 15 de julio 2024



---

Ing. Jimmy Villón Moreno,  
MSc  
**DIRECTOR/A DE  
CARRERA PRESIDENTE  
DEL TRIBUNAL**



---

Q.F. Mery Ramírez Muñoz, Ph.D.  
**PROFESOR DE ÁREA  
MIEMBRO DEL  
TRIBUNAL**



---

Blga. Janeth Galarza Tipán Ph.D.  
**DOCENTE TUTOR  
MIEMBRO DEL  
TRIBUNAL**



---

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

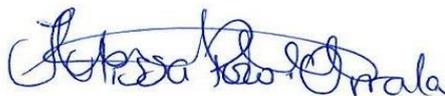


---

Lic. Pascual Roca Silvestre, MSc.  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

# DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, JULISSA CARELY POZO ORRALA, declaro bajo juramento que la responsabilidad por las ideas, contenido y análisis de los resultados expuestos en este trabajo de integración curricular pertenece exclusivamente a los autores, y el patrimonio intelectual de los mismos, a la Universidad Península de Santa Elena (UPSE).



Julissa Carely Pozo Orrala

**Estudiante**

**C.I. 2450861816**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>XXI</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>5</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>7</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>9</b>
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b> .....	<b>9</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>9</b>
Hipótesis nula (H0).....	9
Hipótesis alternativa (H1).....	9
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>10</b>
<b>Importancia de las diatomeas en ecosistemas acuáticos</b> .....	<b>10</b>
Papel ecológico de las diatomeas como productores primarios .....	10
Contribución de <i>Nitzschia sp.</i> a la dinámica de nutrientes y la cadena alimentaria	10
<b>Metabolismo y composición bioquímica de las microalgas</b> .....	<b>11</b>
Rutas metabólicas y síntesis de macromoléculas.....	11
<b>Factores ambientales que influyen en la composición bioquímica</b> .....	<b>12</b>
<b>Importancia de la caracterización bioquímica en el cultivo y aplicaciones de</b> <b>microalgas</b> .....	<b>14</b>
<b>Técnicas espectrofotométricas en el análisis de microalgas</b> .....	<b>15</b>
Principios y fundamentos de la espectrofotometría .....	15
Métodos espectrofotométricos para la cuantificación de biomoléculas.....	15

<b>Medios de cultivo para microalgas .....</b>	<b>16</b>
Medio Guillard F/2 .....	16
Medio Conway .....	17
<b>Importancia de la selección del medio de cultivo en el crecimiento y composición de <i>Nitzschia sp</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>Factores a considerar en la elección del medio de cultivo .....</b>	<b>18</b>
<b>Aplicaciones biotecnológicas de <i>Nitzschia sp</i> .....</b>	<b>19</b>
Potencial de <i>Nitzschia sp.</i> en la producción de compuestos de valor agregado (lípidos, pigmentos, antioxidantes, etc.) .....	19
<b><i>METODOLOGÍA</i> .....</b>	<b>23</b>
<b>FASE DE LABORATORIO .....</b>	<b>23</b>
CONDICIONES DE CULTIVO .....	23
PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO .....	24
<b>FASE DE ANÁLISIS .....</b>	<b>27</b>
Establecer la curva de crecimiento .....	27
<i>Densidad óptica</i> .....	27
<i>Estimación de densidad celular</i> .....	28
Determinación de parámetros de crecimiento .....	28
<i>Tasa de crecimiento específico</i> .....	28
<i>Productividad de la biomasa</i> .....	29
Análisis de composición bioquímica de la biomasa .....	30
Cuantificación de proteínas .....	30
Cuantificación de carbohidratos .....	30
Cuantificación de grasas .....	31

Cuantificación de cenizas .....	32
Análisis estadístico .....	32
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
<b>Evaluación de medio de cultivo .....</b>	<b>32</b>
<b>Tasa de crecimiento específico .....</b>	<b>34</b>
<b>Producción de biomasa de <i>Nitzschia sp</i>.....</b>	<b>35</b>
<b>Composición bioquímica de <i>Nitzschia sp</i> .....</b>	<b>36</b>
<input type="checkbox"/> Proteínas .....	36
<input type="checkbox"/> Carbohidratos .....	37
<input type="checkbox"/> Grasas .....	38
<input type="checkbox"/> Cenizas .....	39
<b>CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE <i>Nitzschia</i></b>	
<b><i>sp.</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>44</b>
<b>Análisis del crecimiento de la diatomea <i>Nitzschia sp</i>, frente a dos medios de</b>	
<b>cultivo .....</b>	<b>43</b>
<b>Composición bioquímica de la biomasa en <i>Nitzschia sp</i> .....</b>	<b>44</b>
<b>Análisis del potencial biotecnológico de <i>Nitzschia sp</i> .....</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>50</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>69</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICO

<b>Figura 1.</b> Representa la cepa PM020 <i>Nitzschia</i> . Obtenida del microscopio óptico (objetivo 10x) .....	23
<b>Figura 2</b> Comparación de curva de crecimiento de <i>Nitzschia sp</i> , en dos medios de cultivo, Guillard F/2 y Conway durante 20 días .....	33
<b>Figura 3</b> Tasa de crecimiento específico de <i>Nitzschia sp</i> , en función del cultivo Conway y Guillard F/2.....	34
<b>Figura 4</b> Productividad de biomasa de <i>Nitzschia sp</i> , según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.....	35
<b>Figura 5</b> Porcentaje del perfil bioquímico de <i>Nitzschia sp</i> , desarrollada en dos medios de cultivo, Conway y Guillard F/2.....	36
<b>Figura 6</b> Análisis de concentración de proteínas(mg/g), en <i>Nitzschia sp</i> , según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.....	37
<b>Figura 7</b> Análisis de concentración de carbohidratos(mg/g), en <i>Nitzschia sp</i> , según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.....	38
<b>Figura 8</b> Análisis de concentración de grasas(mg/g), en <i>Nitzschia sp</i> , según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.....	39
<b>Figura 9</b> Análisis de concentración de cenizas, en <i>Nitzschia sp</i> , según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.....	40

## ÍNDICE DE CUADRO

<b>Tabla 1.</b> Medio Guillard F/2 presenta los nutrientes con sus respectivas concentraciones.	25
<b>Tabla 2</b> Medio Conway presenta los nutrientes con sus respectivas concentraciones.....	26
<b>Tabla 3</b> Representación de la tasa de crecimiento de <i>Nitzschia sp</i> , en dos medios de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2. R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.....	34
<b>Tabla 4</b> Productividad de biomasa en <i>Nitzschia sp</i> , según los medios de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2. R1= Réplica 1. R=2. Réplica 2. R=3 Réplica 3. SD=Desviación estándar.....	35
<b>Tabla 5</b> Concentración de proteínas (mg/g) R1= Réplica 1. R2=Réplica 2. R3= Réplica 3. SD=Desviación estándar.....	37
<b>Tabla 6</b> Concentración de carbohidratos (mg/g), R1=Réplica 1. R2=Réplica 2 R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar .....	38
<b>Tabla 7</b> Concentración grasa(mg/g), R1=Replica 1.R2=Réplica 2.R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.....	39
<b>Tabla 8.</b> Concentración de cenizas (mg/g). R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.....	40
<b>Tabla 9.</b> Descripción de compuestos bioquímicos en <i>Nitzschia sp</i> . y sus aplicaciones biotecnológicas.....	41

## ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> <i>Curva patrón de proteínas con el método de Bradford. En relación de concentración mg/mL y absorbancias.....</i>	<b>69</b>
<b>Anexo 2.</b> <i>Curva patrón de carbohidratos con el método de Dubois. En relación de concentración µg/mL y absorbancia.....</i>	<b>69</b>
<b>Anexo 3.</b> <i>Prueba t-Student aplicada en la tasa de crecimiento de Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2.....</i>	<b>70</b>
<b>Anexo 4.</b> <i>Prueba t-Student aplicada en la productividad de biomasa de Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2.....</i>	<b>70</b>
<b>Anexo 5.</b> <i>Prueba t-Student aplicada a la concentración de proteínas en Nitzschia sp en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2.....</i>	<b>71</b>
<b>Anexo 6.</b> <i>Prueba t-Student aplicada a la concentración de carbohidratos en Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2 .....</i>	<b>71</b>
<b>Anexo 7</b> <i>Prueba t-Student aplicada a la concentración de grasas en Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2.....</i>	<b>72</b>
<b>Anexo 8</b> <i>Prueba t-Student aplicada a la concentración de cenizas en Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2 .....</i>	<b>72</b>
<b>Anexo 9.</b> <i>Fertilización de cultivos en Nitzschia sp.....</i>	<b>73</b>
<b>Anexo 10.</b> <i>Colocaciòn de acetona en mètodo de Soxhlet.....</i>	<b>73</b>
<b>Anexo 11.</b> <i>Representaciòn del mètodo Soxhlet.....</i>	<b>73</b>
<b>Anexo 12.</b> <i>Uso de filtros para separar muestras en Nitzschia sp .....</i>	<b>73</b>
<b>Anexo 13.</b> <i>Utilizaciòn de espectrofotòmetro .....</i>	<b>74</b>

<b>Anexo 14.</b> <i>Muestras de carbohidratos por el método de Dubois</i> .....	<b>74</b>
<b>Anexo 15</b> <i>Trituración de biomasa en Nitzschia sp</i> .....	<b>74</b>
<b>Anexo 16.</b> <i>Proceso realizado por el método de Bradford</i> .....	<b>74</b>
<b>Anexo 17.</b> <i>Estimación de peso seco</i> .....	<b>75</b>
<b>Anexo 18.</b> <i>Ruptura celular térmica</i> .....	<b>75</b>
<b>Anexo 19.</b> <i>Cosecha de Nitzschia sp</i> .....	<b>75</b>
<b>Anexo 20.</b> <i>Preparación de reactivos en cámara de extracción de gases</i> .....	<b>75</b>
<b>Anexo 21.</b> <i>Descripción de compuestos bioquímicos en Nitzschia sp y sus aplicaciones biotecnológicas</i> .....	<b>76</b>

## GLOSARIO

**Motilidad:** Concepto en biología que se refiere a la capacidad de un organismo para moverse por sí mismo de manera autónoma y espontánea.

**Biopelículas:** Es una capa o comunidad de bacterias y otros microorganismos que se desarrollan y se adhieren a una superficie.

**Fototróficas:** Se trata de un grupo de microorganismos que pueden sobrevivir y prosperar de forma independiente, utilizando fuentes de energía naturales para producir sustancias beneficiosas.

**Polifenoles:** Son sustancias vegetales que poseen propiedades antioxidantes que pueden prevenir o reducir el riesgo de ciertas enfermedades crónicas.

**Ficobilinas:** Son compuestos tetrapirrólicos de cadena abierta que actúan como cromóforos y absorben la luz en las ficobiliproteínas.

**Porfirina:** Son compuestos heterocíclicos macrocíclicos formados por cuatro anillos de pirrol unidos por puentes de metileno. Forman la estructura básica de varios pigmentos biológicos importantes como la clorofila, hemoglobina y citocromos.

**Hidrófoba:** Una sustancia hidrófoba es aquella que tiene aversión o rechazo al agua. Tienden a agregarse y minimizar su contacto con el agua.

**Fitol:** El fitol es un alcohol diterpénico de cadena alifática larga que forma parte de la estructura de la clorofila. Es una molécula hidrófoba que ayuda a anclar la clorofila a las membranas tilacoidales.

**Isoprenoides:** Los isoprenoides son una amplia clase de compuestos orgánicos derivados de la unión de múltiples unidades de isopreno (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). Incluyen carotenoides, esteroides, vitaminas liposolubles y hormonas.

**Fucoxantina:** Es un carotenoide marrón-verdoso presente en las algas pardas (feofitas) y algunas diatomeas. Actúa como pigmento accesorio en la fotosíntesis, complementando la absorción de luz de la clorofila.

**Diadinoxantina:** Es un carotenoide presente en algunas algas, como las diatomeas. Participa en mecanismos de disipación de exceso de energía lumínica, protegiendo a la célula del estrés oxidativo.

**Fosfolípidos:** Los fosfolípidos son lípidos que contienen un grupo fosfato. Son los principales componentes de las membranas biológicas, formando una bicapa lipídica.

**Esfingolípidos 7:** Los esfingolípidos son una clase de lípidos que contienen un esqueleto de esfingosina, en lugar de glicerol como en los fosfolípidos.

**Omega-3:** Los ácidos grasos omega-3 son un grupo de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

**Omega-6:** Los ácidos grasos omega-6 son otro grupo de ácidos grasos poliinsaturados. El principal omega-6 es el ácido linoleico.

**Omega-9:** Los ácidos grasos omega-9 son monoinsaturados y el principal es el ácido oleico.

**Aldehído:** Es un compuesto orgánico que contiene un grupo funcional carbonilo (C=O) unido a un átomo de hidrógeno y a un radical alquilo o arilo.

**Glicolípidos:** Son lípidos que tienen uno o más azúcares (glúcidos) unidos covalentemente. Forman parte de las membranas celulares, especialmente en células nerviosas.

**Hidroximetilfurfural:** El HMF es un compuesto orgánico heterocíclico que se forma por deshidratación de azúcares como la fructosa. Se usa como indicador de calidad en alimentos.

**Monosacáridos:** Son los azúcares más simples, como la glucosa y fructosa.

**Oligosacáridos:** Son cadenas cortas de monosacáridos unidos por enlaces

glucosídicos. **Peptídica:** Se refiere a los enlaces covalentes que unen los aminoácidos

para formar péptidos y proteínas.

**Ácido  $\gamma$ -linolénico:** Es un ácido graso omega-6 poliinsaturado. Tiene propiedades antiinflamatorias y se ha estudiado por sus posibles beneficios en salud.

**Ácidos mirísticos:** Es un ácido graso saturado de 14 átomos de carbono. se encuentra presente en la mayoría de las grasas de origen animal y vegetal.

**ácidos palmíticos:** Es un ácido graso saturado de 16 átomos de carbono. Es uno de los ácidos grasos saturados más comunes y abundantes en animales, plantas y microorganismos.

**Ácidos palmitoleicos:** Es un ácido graso monoinsaturado de 16 átomos de carbono, se encuentran en grasas y aceites.

**Crisolaminarina:** Es un polisacárido de reserva encontrado en algas heterocontas (cromistas) como las diatomeas y algunas haptofitas.

**$\beta$ -glucanos:** Son polisacáridos formados por unidades de glucosa unidas por enlaces  $\beta$ - glicosídicos.

**Paramilón:** Es un polisacárido de reserva encontrado en algunas especies de euglenoides (protistas fotosintéticos).

**Euglenoides:** Son un grupo de protistas flagelados que contienen clorofila y otros pigmentos fotosintéticos.

## ABREVIATURAS

**°C:** Grados centígrados

**Cél:** Células

**mL:** Mililitro

**μmol:** Micromoles

**L:** litros

**G:** gramos

**NaNO<sub>3</sub>:** Nitrato de sodio

**Si:** Silicio

**N:** Nitrógeno

**P:** Fósforo

**K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:** Fosfato dipotásico

**mM:** Milimolar

**BSA:** Albúmina sérica bovina

**SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>:** Sulfato

**nm:** nanómetros

**AGPI:** También llamados PUFA que significa ácidos grasos poliinsaturados.

**EPA:** Ácido eicosapentaenoico

**DHA:** Ácido docosahexaenoico

**ARA:**Ácido araquidónico

**SPV:** Sulfo-fosfo ainillina

**BCA:** Ácido icinconínico

**TAG:** Triacilgliceroles

**Cu<sup>2+</sup>:** Cobre

**PBS:** Solución salina tamponada con fosfato

**mm:** Milímetros

**NaOH:** Hidróxido de sodio

**µg:** Microgramo

**mg:** Miligramo

**uv- vis:** Ultravioleta y visible

## RESUMEN

La diatomea bentónica *Nitzschia sp*, unicelular pertenece a la clase Bacillariophyceae, se caracteriza por la forma alargada y simétrica, la cual, se encuentra en aguas dulces, salobres y marinas, en el ámbito biotecnológico se ha destacado por compuestos bioquímicos que pueden llegar a tener en su fisiología. El trabajo fue desarrollado en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas y Prácticas Académicas - CIBPA, perteneciente a la Facultad Ciencias del Mar, Universidad Estatal Península de Santa Elena. El objetivo del presente estudio, es realizar el análisis de la composición bioquímica de *Nitzschia sp*, en términos de proteínas por el método de Bradford, carbohidratos en la técnica de Dubois, grasas mediante el método de Soxhlet y cenizas a través de gravimetría, utilizando la biomasa con el medio de cultivo Guillard F/2 y Conway, los cuales, estuvieron en condiciones de temperatura 20 °C, iluminación de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y, aireación manual diaria en volúmenes menores (200mL), transferidos a volúmenes mayores (1 a 2 L) que se mantuvieron con aireación constante. Evidenciando que los procesos de cada ensayo se realizaron por triplicado, indicando la cinética de crecimiento por espectrofotometría en la técnica de densidad óptica y conteo celular por la cámara sedgewick rafters, determinadas en un lapso de tiempo de 20 días, proveyendo en su fase logarítmica en el día 13, con una cantidad de 20.973.846 cél/mL en Guillard F/2 y Conway 17.912.224 cél/mL, atribuyendo al Guillard F/2 eficacia en la tasa de crecimiento de 1,40 y productividad de biomasa 0,08 g/L\*día valores distintivos comparados con Conway. No obstante, en los resultados de composición bioquímica reveló diferencias significativas, distinguiendo el medio Guillard F/2 óptimo en cuanto a carbohidratos y cenizas, en cambio Conway, demostró mayor concentración en proteínas y grasas. Concluyendo con la descripción de compuestos bioquímicos en *Nitzschia sp*, muestran gran relevancia científica,

puesto que está diatomea ha sido empleada, en los campos farmacéutico, nutracéutico, cosmético y agrícola, por ello, indiscutiblemente a ejercido una influencia decisiva en la industria y la sociedad.

**PALABRAS CLAVES:** *Nitzschia sp*, espectrofotometría, Guillard h, Conway, composición bioquímica.

## ABSTRACT

The benthic diatom *Nitzschia sp.*, unicellular, belongs to the class Bacillariophyceae, it is characterized by its elongated and symmetrical shape, which is found in fresh, brackish and marine waters. In the biotechnological field, it has stood out for its biochemical compounds that can have in its physiology. The work was developed at the Center for Biotechnology Research and Academic Practices – CIBPA, belonging to the Faculty of Marine Sciences, Peninsula State University of Santa Elena. The objective of the present study is to carry out the analysis of the biochemical composition of *Nitzschia sp.*, in terms of proteins by the Bradford method, carbohydrates by the Dubois technique, fats by the Soxhlet method and ashes by gravimetry, using the biomass with the Guillard F/2 and Conway culture medium, which were under conditions of temperature 20 °C, lighting of 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and, daily manual aeration in smaller volumes (200mL), transferred to volumes larger (1 to 2 L) that were maintained with constant aeration. Evidence that the processes of each test were carried out in triplicate, indicating the growth kinetics by spectrophotometry in the optical density technique and cell counting by the sedgewick rafters camera, determined in a time period of 20 days, providing in its logarithmic phase in on day 13, with an amount of 20,973,846 cells/mL in Guillard F/2 and Conway 17,912,224 cells/mL, attributing to Guillard F/2 an efficiency in the growth rate of 1.40 and biomass productivity of 0.08 g. /L\*day distinctive values compared to Conway. However, the biochemical composition results revealed significant differences, distinguishing the Guillard F/2 medium as optimal in terms of carbohydrates and ash, while Conway demonstrated a higher concentration in proteins and fats. Concluding with the description of biochemical compounds in *Nitzschia sp.*, they show great scientific relevance, since this diatom has been used in the pharmaceutical, nutraceutical, cosmetic and agricultural fields, therefore, it has undoubtedly exerted a decisive influence on

industry and society.

**KEYWORDS:** *Nitzschia sp*, spectrophotometry, Guillard h, Conway, biochemical composition.

## INTRODUCCIÓN

Las diatomeas son un grupo de microalgas que se destacan, por su capacidad natural para producir una amplia variedad de sustancias beneficiosas, desde compuestos que promueven la salud alimentaria hasta agentes farmacéuticamente activos. Estas diminutas formas de vida, son consideradas un recurso invaluable en la búsqueda de suplementos nutricionales y alternativas a sustancias sintéticas, ya que su versatilidad abarca, la elaboración de antibióticos, producción de combustibles renovables y biofertilizantes, además de sus aplicaciones industriales que incluye desde la detoxificación de desechos y generación de energía renovable, utilizando residuos biológicos como sustrato. Estas microalgas son reconocidas como una opción sostenible, para la generación de biocombustibles, debido a su capacidad de acumular una cantidad significativa de perfiles de triacilgliceroles (TAG). Algunas especies de diatomeas como *P. tricornutum* y *T. pseudonana* han sido utilizadas ampliamente con fines investigativos para comprender el metabolismo de los lípidos (Bozarth, Maier & Zauner, 2009). También generan compuestos de almacenamiento a través de hidratos de carbono, ya que esto facilita la motilidad celular y desempeña biopelículas fototróficas. Asimismo, se les reconoce que están compuestos de polifenoles, pigmentos, proteínas e hidratos de carbono, aunque en menor proporción (Kuppusamy et al., 2017). En consecuencia, gracias a sus vías biosintéticas altamente complejas, se les atribuye el repertorio de muchos componentes exclusivos de alto valor (Gruber & Kroth, 2017).

En años recientes, se han llevado a cabo diversos estudios sobre microalgas, centrándose en su composición bioquímica y en la optimización de los medios de cultivo para mejorar la producción de biomasa. Por ejemplo, Grubišić et al. (2024) realizaron una investigación con el objetivo de mejorar la producción de biomasa de la diatomea

*Nitzschia sp.* Los resultados obtenidos indicaron que una concentración de 1 mM de silicio en el medio de cultivo fue la más adecuada, lo que resultó en un aumento significativo en la concentración de biomasa, alcanzando  $0,49 \text{ g L}^{-1}$ . Además, se encontró que una relación molar Si:N:P de 7:23:1 mol:mol:mol fue la más efectiva, logrando una concentración de biomasa de  $0,73 \text{ g L}^{-1}$ , lo cual representó un incremento de 2,64 veces en comparación con el medio de control Guillard F/2. Estos hallazgos resaltan la importancia de entender y optimizar los medios de cultivo para maximizar la producción de biomasa en microalgas como *Nitzschia sp.*

Un estudio realizado por Yalçın (2019) reveló que mediante la aplicación del medio de cultivo Allen compuesto por nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ), fosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), y una solución metálica P-IV que proporciona sales de magnesio, calcio y silicato de sodio, después del período de incubación de 168 horas, obtuvo una biomasa seca de  $2.0 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^5 \text{ cél/mL}$  y  $0.212 \pm 0.041 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente. La tasa de crecimiento de la microalga de  $0.010 \text{ h}^{-1}$  a las 96 horas, con un tiempo de duplicación calculado de 68 horas. Además, se determinó que la composición bioquímica de *N. palea* incluía un contenido de proteínas del 41.21%, carbohidratos del 21.74%, lípidos del 16.84% y cenizas del 19.88%. Estos hallazgos sugieren el potencial de *N. palea* en diversas industrias, especialmente en la producción de biodiésel.

Para estudiar la evaluación del perfil bioquímico que presenta la *Nitzschia sp.*, se consideró cuatro análisis, el protocolo de Bradford, uno de los métodos empleado en la cuantificación proteica de microalgas, adaptado para comparar la absorbancia de muestras, con una curva analítica que se crea, utilizando concentraciones de una proteína de referencia (albúmina sérica bovina) (Amorin et al., 2020). Para estimar la concentración de carbohidratos, se utilizó el método de ácido sulfúrico, técnica ampliamente utilizada, debido a que el anión liberado ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) durante el proceso de

pretratamiento interviene como un nutriente para la fermentación de la levadura (Phwan et al., 2019). El análisis de grasas se utilizó el método de Soxhlet, manipulado cuando la solubilidad en disolvente es baja y las impurezas no se mezclan con el disolvente (Aravind et al., 2021). En relación a la evaluación del contenido de cenizas, se aplicó el método de gravimetría, proceso denominado también oxidación seca (Liu, 2019).

La investigación enfrenta un desafío significativo debido a las diferencias en la producción de componentes bioquímicos, influenciadas por una variedad de factores intrincados. A pesar de su potencial biotecnológico, la complejidad de la estructura celular de las diatomeas ha limitado la realización de estudios exhaustivos y actualizados sobre este tema. La falta de información actualizada y detallada obstaculiza la exploración de su potencial biotecnológico y la obtención de productos relevantes derivados de estas microalgas. Esta brecha en el conocimiento subraya la necesidad urgente de investigaciones más profundas y específicas que aborden los desafíos inherentes a la comprensión de las diatomeas y su aplicación en la industria biotecnológica.

El presente estudio, busca examinar los cultivos utilizados en estas microalgas en entornos controlados con niveles específicos de luz ( $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y temperatura ( $20^\circ\text{C}$ ). En el que se busca evaluar dos medios de cultivo, Guillard F/2 y Conway, que proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento y la producción de compuestos bioquímicos en estas microalgas. Sin embargo, a pesar de las condiciones controladas y la disponibilidad de medios de cultivo adecuados, aún persisten interrogantes sobre la eficacia y el impacto de estos medios en la producción de biomasa y compuestos bioquímicos específicos en diatomeas. Esta investigación pretende abordar esta laguna de conocimiento y explorar el potencial de los medios de cultivo Guillard F/2 y Conway en el contexto del cultivo de diatomeas para aplicaciones biotecnológicas.

Con base a lo anteriormente mencionado en la siguiente investigación se pretende

determinar la composición bioquímica de *Nitzschia sp.* mediante la técnica espectrofotométría comparando su viabilidad en dos medios de cultivo.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las diatomeas presentan diferencias significativas en la producción de ciertos componentes bioquímicos, dependiendo de factores como: intensidad lumínica, disponibilidad de nutrientes, temperatura, ubicación geográfica o interacción con otros organismos, todos lo cual, influye en su desarrollo, obligándolas a adaptarse al medio, produciendo cepas con diferentes características fisiológicas, crecimiento y producción metabólica.

Habitualmente no se realizan muchos estudios, debido a su estructura celular única y compleja, puesto que tienen una pared celular rígida y silíceo denominada frústula, que consta de dos capas de sílice, lo cual, dificulta totalmente el acceso a moléculas presentes dentro de la célula, además durante los procedimientos de la ruptura celular, se expone a algún tipo de contaminantes en el medio o en la frústula, dado que la presencia de compuestos silíceos tiende a estar en la separación y purificación de componentes no deseados, efectuándola así, como la principal característica que obstaculiza la extracción de los compuestos bioquímicos, ya que evidentemente, interferiría en la cuantificación correcta de la microalga, trayendo consigo datos erróneos en el resultado final de cada protocolo establecido.

En la Provincia de Santa Elena, se ha registrado una investigación que señala que las diatomeas de origen natural crecen en el medio Guillard F/2. Sin embargo, no se ha realizado una evaluación minuciosa en relación con el crecimiento adecuado en medios de cultivo estandarizados que influyan en su desarrollo.

Si bien es cierto, los análisis y las metodologías utilizadas para realizar la composición, a menudo implican el uso de equipos costosos, por tal motivo en los repositorios del Ecuador, solamente hay un estudio acerca de la composición bioquímica

de diatomeas, específicamente en la Escuela Superior Politécnica del Litoral, sin embargo, la información no está actualizada y la cepa no es de origen natural, de tal modo que, obstruye la búsqueda de alternativas para obtener productos, que permitan recurso para posibles aplicaciones biotecnológicas, por lo que, no se logra apreciar el valor potencial que estas microalgas podrían aportar.

## JUSTIFICACIÓN

En relación a las diatomeas, se pueden cultivar y manipular su crecimiento en condiciones controladas, por lo que la intensidad lumínica está presente en  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y la temperatura a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Por ello, es relevante mencionar que estudios demuestran que su composición se debe a valores nutritivos como el nitrógeno, fósforo y sílice, elementos sumamente esenciales para el desarrollo y a su vez optimizar una alta concentración de biomasa, favoreciendo al mejoramiento de su composición como la generación de proteínas, carbohidratos, ceniza y grasas.

De acuerdo con la evidencia científica, hay diversas metodologías para lograr descomponer la sílice, los cuales requieren de aspectos de seguridad y manejo apropiado de materiales, tales como: ultrasonidos, digestión enzimática, trituración (mecánica, térmica, y química), en consecuencia, todas estas técnicas, permiten la obtención directa de sus componentes internos, resultando beneficioso llevar a cabo análisis con resultados confiables, en el estudio de diatomeas.

Existe gran variedad de medios de cultivos para diatomeas, que a medida que ha transcurrido el tiempo han sido modificadas, para que sean idóneas en la obtención de una buena concentración celular, entre ellas se puede mencionar: Guillard F/2, Erdscheiber's, agua de mar enriquecida, agua de mar suplementada, Conway, L1 (Utex). Por ello, el presente estudio se aplicó dos medios de cultivos, el Guillard F/2 y Conway para evaluar su crecimiento, investigaciones indican que el Guillard F/2 proporciona una gama de nutrientes (nitrato, fosfato, silicato, hierro, manganeso, zinc, cobalto y vitaminas), necesarios para el crecimiento de microalgas, considerando que éstos, son importantes para la fotosíntesis, el metabolismo y la síntesis de compuestos bioquímicos.

Hay técnicas tradicionales y modernas, que se aplican para conocer el perfil

nutricional, no solo en diatomeas sino a todas las microalgas, no obstante, éstas juegan un papel importante en la efectividad y costo, por ese motivo, el estudio demuestra que no se necesita de laboratorios altamente sofisticados, para obtener una línea base de estudios bioquímicos, como es la espectrofotometría convencional, que generalmente se encuentra de forma accesible y facilita a las diversas investigaciones en la comunidad científica.

De manera notoria, no es sorprendente que conforme al incremento de la población a nivel mundial , surge escases de diversos índoles, por lo que se necesita explorar recursos biotecnológicos que puedan generar alternativas para el bien común y del ambiente, por esta razón, el presente estudio se realizó con la finalidad de atender y contribuir con el Ministerio del Ambiente Ecuatoriano, en busca de opciones para la seguridad alimentaria e industria y comprender los beneficios que esta microalga pueda proporcionar.

## TEMA:

Análisis de la composición bioquímica de *Nitzschia sp.*, producida en dos medios de cultivo.

## OBJETIVO GENERAL

- Determinar la composición bioquímica de *Nitzschia sp.* mediante la técnica espectrofotometría comparando su viabilidad en dos medios de cultivo.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la cinética de crecimiento de *Nitzschia sp.* empleando dos medios de cultivo a fin de adquirir su concentración celular.
- Analizar la composición bioquímica de *Nitzschia sp.* para comparar el medio de cultivo óptimo para su desarrollo.
- Caracterizar la aplicación de los compuestos bioquímicos obtenidos como fuente de recurso biotecnológico.

## HIPÓTESIS

**Hipótesis nula (H0):** Los medios de cultivos ricos en fósforo, nitrógeno, silicio no favorecen la concentración de la composición bioquímica de *Nitzschia sp.*

**Hipótesis alternativa (H1):** Los medios de cultivos ricos en fósforo, nitrógeno, silicio favorecen la concentración de la composición bioquímica de *Nitzschia sp.*

## MARCO TEÓRICO

### **Importancia de las diatomeas en ecosistemas acuáticos**

#### **Papel ecológico de las diatomeas como productores primarios**

Las diatomeas son microorganismos, unicelulares, eucariontes, fotosintéticos cuya función en la fijación de carbono y otros elementos durante los procesos biogeoquímicos es muy importante para los ecosistemas acuáticos (Fu et al., 2022). Es el grupo más rico en especies, abarcando poco más del 40% de las especies registradas del fitoplancton. A nivel mundial se estima que este grupo abastece entre el 25% de oxígeno y que se encarga de fijar el nitrógeno, y el 40% del carbono orgánico anual, por encima de los bosques tropicales (Fisher et al., 2020 ).

A nivel estructural se caracteriza por presentar una pared celular compuesta de sílice polimerizado, también llamada “frústulo”, el mismo que está conformado por dos valvas que se encajan entre sí, pero que difieren en tamaño y edad; la hipovalva y epivalva. Para su identificación taxonómica es necesario percatarse del interior del frústulo, disposición de estrías, rafe, forma del área central y axial (área entre el rafe y estrías), forma valvar, entre otros (Blanco Lanza et al., 2011, Smith et al., 2019).

Con relación a su importancia ecológica, las diatomeas han sido comúnmente empleadas en varios países para detectar alteraciones en la pureza del agua en cursos fluviales. Son especialmente sensibles a diversos factores ambientales como la adaptabilidad a la salinidad y temperatura, la tolerancia al pH, y los patrones de hábitat y profundidad (Taboada et al., 2018).

#### **Contribución de *Nitzschia sp.* a la dinámica de nutrientes y la cadena alimentaria**

Las variaciones espacio temporales de las diatomeas en medios acuáticas es tan importante, que, en países grandes de Latinoamérica como Brasil, incluye en sus

normas de control de calidad de agua, el análisis de diatomeas en los cuerpos de agua como bioindicadores. Tal es el caso que la Directiva Marco del Agua incluida en la Unión Europea en el año 2000 propone a este grupo algal como organismos predilectos para la detección de calidad ambiental en espejos de agua dulceacuícolas (Lobo et al., 2016; Castro, P., 2024).

En Ecuador no se emplea con frecuencia a nivel de estado este tipo de análisis, pero si para valorar el estado de la salud de un cuerpo de agua a nivel investigativo y la academia.

## **Metabolismo y composición bioquímica de las microalgas**

### **Rutas metabólicas y síntesis de macromoléculas**

Estas células fotosintéticas comprenden una curva de crecimiento básica, donde se observan las tres fases: **Fase de latencia (lag)** es el tiempo transcurrido entre la inoculación de células algales en un medio fresco y el comienzo del crecimiento, esta fase puede ser breve o un poco más extendida de acuerdo a las condiciones del medio y la célula inoculada. Seguida de la **fase exponencial o logarítmica (log)**, que se caracteriza por un crecimiento acelerado, las células se encuentran saludables y activas, en este punto los investigadores prefieren tomar muestras para estudios bromatológicos, enzimáticos y demás componentes celulares. La **Fase estacionaria** ocurre una vez se ha cesado el crecimiento global del cultivo, ya sea por el envejecimiento de las células, escasez de nutrientes y otros factores limitantes (Madigan et al. 2015).

El éxito de la mayoría de las investigaciones en microalgas se basa en buscar un potencial en sus células, tales como fuente de proteínas, lípidos y carbohidratos, tanto en clorófitas, cianobacterias, y crisofitas. De manera general los principales componentes bioquímicos de las microalgas son las proteínas, lípidos y carbohidratos que constituyen

aproximadamente el 70% del peso seco total y en menor medida los ácidos nucleicos, vitaminas y cenizas, sin embargo, su contenido puede variar debido a factores ambientales y la especie en cuestión (Bi, R., et al, 2021).

### **Factores ambientales que influyen en la composición bioquímica.**

Las proteínas son macromoléculas asociada por cadenas de aminoácidos y pueden constituirse a través de 20 aminoácidos distintos, estas moléculas son importantes para la célula, ya que conforman gran parte de la maquinaria y estructura celular (McKee y McKee, 2014). Se definen por poseer contenidos altos de proteínas como el 50% del peso seco total, motivo, por lo que se usa en la nutrición animal y humana. El valor de proteínas en el campo nutricionista está establecido por la composición de aminoácidos, ya que varios aminoácidos muchas veces no pueden ser digeridos y absorbidos por los especímenes que las consumen (Abalde et al., 1995). Los carbohidratos son moléculas orgánicas desarrolladas especialmente de carbono, hidrógeno y oxígeno que se originan mediante el proceso de la fotosíntesis, sirviendo de reserva de energía, además de componentes estructurales y antecesores de otras moléculas para la célula (McKee y McKee, 2014). En microalgas los carbohidratos, tienen un contenido importante, hasta el 23%. Los polisacáridos tienen una composición inconstante donde la glucosa es ordinariamente el componente más abundante de 21 hasta 87%, desencadenándose como reserva energética la más habitual de ellas, en diatomeas es la crisolaminarina (Brown et al., 1989; Abalde et al., 1995; Brown et al., 1997). Los principales pigmentos son las clorofilas, los carotenoides y las ficobilinas, no obstante, la tipología de pigmento puede desarrollarse dependientemente del grupo de microalga (Brown et al., 1989). Por su parte, la clorofila contiene un pigmento de color verde asociado por un anillo de porfirina y una cadena hidrófoba de fitol, éstas son moléculas especializadas en la absorción de la luz que

inducen a reacciones fotoquímicas. En el caso de diatomeas están presentes la clorofila a, proporcional a dos picos de absorción del espectro electromagnético de la onda 400 al 500 nm y del 600 al 700 nm, por otro lado, la clorofila c que es un pigmento agregado para la captación de la luz. Además, los carotenoides son moléculas isoprenoides de color anaranjado que se aprovechan como accesorios en la captación de luz y salvaguarda el aparato fotosintético del exceso de luz y posee un pico de absorción del espectro visible en 400 a 540 nm. En diatomeas, los carotenoides más frecuentes son el  $\beta$ -caroteno, el cual, se manifiesta siempre en organismos fotosintéticos y demás complejos como la fucoxantina y diadinoxantina (Abalde et al. 1995; Taiz y Zeiger, 2002). Los lípidos son biomoléculas solubles en solventes apolares, pero no en agua. Se abordan en triacilgliceroles, ácidos grasos y sus derivados, ceras, fosfolípidos, esfingolípidos y isoprenoides. Al pertenecer a un grupo heterogéneo de moléculas orgánicas, posee varias funciones y se desempeñan en reserva de energía, mecanismos estructurales celulares, señalizadores químicos, y tipos de lípidos intervienen como parte estructural de vitaminas y pigmentos (Mckee y Mckee, 2014). Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), denominados PUFA (Polyunsaturated fatty acids), son aquellos que muestran al menos dos enlaces dobles en sus átomos de carbono, a desacuerdo de los ácidos grasos saturados que no contienen dobles enlaces y los monoinsaturados que exhiben solo un doble enlace en su estructura química (Wiktorowska-Owczarek et al., 2015). Los AGPI se clasifican en Omega-3, Omega-6 y Omega-9, referente al sitio donde se localiza el primer doble enlace en la cadena de carbonos desde el extremo metilo (Sahena et al., 2009). Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga son importantes en la alimentación de peces y otros organismos en cultivo, y muchos de ellos están estrechamente relacionados con la salud humana, formando la membrana celular, y forman parte de los sistemas de señalización en las células (Hinzpeter et al., 2006). Los AGPI de más importancia biológica se sitúan

en grupos omega-3, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) y omega-6, correspondiente el ácido araquidónico (ARA) (Sahena et al., 2009).

### **Importancia de la caracterización bioquímica en el cultivo y aplicaciones de microalgas**

La identificación de especies de diatomeas se basa en las características morfológicas de su pared celular de sílice, conocida como frústulo. Este consta de dos valvas cuyo tamaño y morfología pueden ser iguales (epivalva) o distintas (hipovalva) (Harwood & Nikolaev, 1995). Estas valvas se encuentran unidas por el cingulo. Además, la forma de la valva, ápices, la disposición y número de estrías, aréolas, fíbulas o costillas, así como las terminaciones proximales y distales del rafe, son claves en la taxonomía de las diatomeas (Bueno et al., 2017; Harwood & Nikolaev, 1995).

Las diatomeas marinas son organismos fotoautótrofos que componen los productores primarios fundamentales en los ecosistemas acuáticos, desempeñando como primer eslabón de la cadena alimenticia, la extensa distribución y capacidad de adaptación de las diatomeas marinas a múltiples ambientes acuáticos se ha visto facilitada por su notable diversidad metabólica, la cual les permite responder a distintos escenarios ambientales. Las diatomeas se han utilizado ampliamente en acuicultura, especialmente como alimento vivo para moluscos y peces. Diatomeas marinas como *Chaetoceros muerelli* y *Skeletonema costatum* son agentes nutricionales importantes, aportando aproximadamente 45% de proteínas, 14% de lípidos y 18% de carbohidratos en peso seco. Esto demuestra la relevancia económica de las diatomeas en la alimentación acuícola (Cervantes, 2020).

## **Técnicas espectrofotométricas en el análisis de microalgas**

### **Principios y fundamentos de la espectrofotometría.**

La espectrofotometría UV-Vis es una técnica analítica que se fundamenta en la interacción de la radiación electromagnética próxima al ultravioleta (190 - 380 nm) y de luz visible (380 - 780) nm) aplicado al espectrofotómetro con un compuesto. En específico, el procedimiento parte de la absorción de rayos ultravioletas o también conocido como luz visible determinada, el cual, genera la transición de electrones, es decir, la transferencia de éstos a un nivel de energía mínimo al nivel de energía elevado (Rinawati M. Sari & Pursetyo, 2020).

### **Métodos espectrofotométricos para la cuantificación de biomoléculas.**

Los métodos colorimétricos están asociados a técnicas espectrofotométricas. Un ejemplo es la reacción del lípido ensayado con otro compuesto lo que produce un cambio de color que puede medirse mediante la absorbancia, el método es rápido y sencillo permitiendo el análisis desde microalgas frescas o liofilizadas, por ello, uno de los reactivos más utilizados para la determinación total de lípidos es la sulfo-fosfo vainillina (SPV), el cual consiste, en que los lípidos insaturados reaccionan con ácido sulfúrico concentrado a temperaturas que van de 90 a 100°C, formando iones de carbono, consecutivamente, en presencia de fosfovavilina, se origina un compuesto cromóforo rosa, por lo que la cuantificación se efectúa midiendo la absorbancia a 530 nm y comparando el resultado con una curva estándar, lo que permite determinar la concentración de lípidos (Pavón et al., 2021). Además, existe otro método conocido como técnica de Vainillina, aquí interviene la reacción de un aldehído aromático, éste se crea con un anillo de A de los flavan-3-ol provocando una colorimetría de tonalidad roja (Agudelo, 2015).

Para los carbohidratos se suscita el método antrona, utilizado para estimar los azúcares solubles y establecer glicolípidos en diferentes muestras. Se fundamenta mediante la reacción del derivado hidroximetilfurfural, en conjunto con la antrona, para dar origen a un color verde con una absorbancia de 630 nm (Rodríguez et al., 2013). Por otra parte, el fenol-ácido sulfúrico, sirve para cuantificar otras azúcares como monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, éste produce un complejo de color amarillo-anaranjado que se mide a 485 nm (López et al., 2017). Con respecto a proteínas existen varios métodos, tal es el caso, del método de Bradford, el cual, se emplea el colorante Coomassie Brilliant Blue G-250 que se une a las proteínas, ocasionando un color azul que se puede medir a 595 nm (Cerna et al., 2010). La técnica de Lowry está implica la reacción de las proteínas con el reactivo de Folin-Ciocalteu, generando un color azul que se mide a 650 nm (Flores R. & Ruiz S., 2017). El método del ácido bicinonínico (BCA), denominado como ensayo de cobre, forma un complejo púrpura, surgiendo a partir del ácido bicinonínico y el ion  $\text{Cu}^{2+}$  para formar un complejo púrpura con las proteínas, que se mide a 562 nm (Basantez et al., 2020). La prueba de Biuret, es específicamente para polipéptidos y proteínas, forma un complejo de coloración violeta, esto se debe al juntarse con cationes cúpricos a través del medio alcalino en la unión peptídica (Vázquez et al., 2014).

## **Medios de cultivo para microalgas**

### **Medio Guillard F/2**

Según Stiawan (2022) indica que las soluciones nutritivas del medio Guillard F/2 es un medio de cultivo de uso habitual para las microalgas, inclusive de diatomeas (adicionando el complemento de metasilicato de sodio). Este medio es apropiado para ser utilizado en la etapa inicial del cultivo celular primario de diatomeas recién recolectadas,

como la especie *Chaetoceros debilis*.

Las microalgas, como organismos acuáticos, requieren ciertos elementos esenciales para su crecimiento y desarrollo. Macronutrientes como el nitrógeno, fósforo y el silicio, que son nutrientes clave en cantidades relativamente altas. Micronutrientes (magnesio, el azufre, el hierro, entre otros) y vitaminas, que, si bien es cierto, se necesitan en menores cantidades, no obstante, también son esenciales (Ashour M., & K A., 2017).

### **Medio Conway**

El medio de cultivo Conway es ampliamente utilizado a nivel global, y comercial, debido a que se ha demostrado resultados satisfactorios en tanques realizados en Brasil de microalgas, lo que lo hace óptimo en el crecimiento de diatomeas en la concentración de nitrógeno y fósforo. Además de Silicio, en forma de metasilicato de sodio, es fundamental para el crecimiento de diatomeas, vitaminas (tiamina, cianocobalamina y biotina), finalmente oligoelementos: como hierro, manganeso, zinc, cobre, cobalto y molibdeno, está combinación equilibrada de macro y micronutrientes hace del medio Conway un sustrato altamente eficaz para el cultivo de una extensa variedad de microalgas marinas (Lourenco et al., 1997).

### **Importancia de la selección del medio de cultivo en el crecimiento y composición de *Nitzschia sp.***

El estudio de microalgas marinas en condiciones de laboratorio y el desarrollo de sistemas de cultivo son primordiales para comprender la fisiología de estas especies. Esto permite identificar las condiciones óptimas de crecimiento y producción de microalgas nativas. Tres especies en particular, *T. mobiliensis*, *B. alternans* y *E. turris*, se destacan por su amplia distribución en regiones subtropicales, tropicales, neríticas y oceánicas,

debido a su gran adaptabilidad metabólica, esta capacidad adaptativa facilita el cultivo de estas microalgas bajo diversos regímenes, lo cual a su vez permite aprovecharlas desde una perspectiva biotecnológica y económica. Pueden ser una fuente de recursos naturales sustentables, ya sea para la obtención de compuestos primarios esenciales o subproductos, así como alimento vivo en la acuicultura local (Cervantes et al., 2020).

### **Factores a considerar en la elección del medio de cultivo**

*Nannochloropsis* es una de las principales especies de microalgas cultivadas en criaderos marinos, desempeñando un papel clave en el desarrollo de la acuicultura. Es importante señalar, que cuando se trata de la producción a escala industrial, es de crucial importancia optimizar un medio de cultivo de nutrientes, apropiado para el crecimiento de microalgas. Por tal razón, los medios nutritivos utilizados para el cultivo, deben cumplir con ciertos requisitos: facilidad de preparación, rentabilidad económica, puesto que el medio debe garantizar que la microalga cultivada cumpla con los estándares de calidad requeridos, tanto en términos de composición como de cantidad producida. Cabe destacar, que la disponibilidad de nitrógeno y fósforo tiene un fuerte impacto en el metabolismo de lípidos en diversas especies de microalgas, lo que es relevante para su potencial aplicación en la producción de biocombustibles, además estos nutrientes que sirven para el crecimiento y generación de compuestos valiosos, llegan a aportar entre el 30 a 60% de peso seco (Ashour et al., 2017).

El estudio de Cervantes et al., (2020) explican que la composición proximal de la microalga *Nitzschia thermalis f. curta*, en proteínas, carbohidratos y lípidos, se ve influenciada por la disponibilidad de luz, por lo que cuando se proporcionó una irradiancia de 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , se observó un aumento del contenido de proteínas en la fase

estacionaria. En contraste, de los carbohidratos que aumentaron más en la fase exponencial del crecimiento y a nivel de lípidos se incrementó en medida de la irradiancia, pero disminuyó en la fase estacionaria.

La composición bioquímica del grupo de diatomeas, de igual manera que de otras especies de microalgas, cambia de acuerdo a las condiciones del cultivo y de accesibilidad de nutrientes. Se ha revelado que en factores de estrés abiótico y de escasez de nutrientes, una de las respuestas determinantes de la microalga surge en la acumulación de compuestos de reserva, como son los lípidos que se encuentran en forma de triacilgliceroles (TAG), lo que ha captado la atención, puesto que pueden tener utilidad en aplicaciones, como en la producción de biodiésel (Paliwal et al., 2017). Las diatomeas son notables acumuladores de compuestos lipídicos y tienden a guardarse en el interior celular en orgánulos conocidos como gotas lipídicas, las cuales constituyen una acumulación energética, durante etapas de desequilibrio en el transporte de electrones o ante condiciones de escasez de nutrientes, por otra parte, tienen un rol importante en lo que corresponde la homeostasis redox celular (Murphy, 2011). Hasta ahora, se desconoce la comprensión del impacto de diversos factores abióticos y el requerimiento de nutrientes para diatomeas, pues la información es relativamente escasa comparado con demás microalgas como clorófitas y cianobacterias (Maeda et al., 2017).

### **Aplicaciones biotecnológicas de *Nitzschia sp.***

#### **Potencial de *Nitzschia sp.* en la producción de compuestos de valor agregado (lípidos, pigmentos, antioxidantes, etc.).**

Muchas microalgas se han implementado su uso en el alimento vivo de organismos acuáticos y ganado, destacándose los géneros como *Chlorella*, *Tetraselmis*,

*Spirulina*, *Nannochloropsis*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Chaetoceros*, *Scenedesmus*, *Haematococcus* y *Cryptocodinium*. Mientras que *Chlorella spp* y *Dunaliella salina*, se están usando para el consumo humano, ya que han sido categorizadas por la Administración de Medicamentos y Alimentos de EE. UU como recursos seguros para la salud. Igualmente, a partir de 2002 la diatomea marina *Odontella aurita*, autorizado por la FDA como nuevo alimento.

Últimamente, las microalgas han ganado protagonismo como una fuente interesante de compuestos biológicos con diversas finalidades en el campo de la biotecnología. Por ello, dentro de sus compuestos orgánicos, se conoce que los ácidos grasos, principalmente los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de considerable cadena larga como el ácido  $\gamma$ -linolénico, el ácido araquidónico, el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), cumplen un rol fundamental en los sectores de la acuicultura y las ciencias biomédicas (Borowitzka M.A., 2013) (Griffiths et al., 2012). Se ha encontrado que ciertos aceites de microalgas poseen una mayor efectividad antioxidante que el aceite de pescado, gracias a su contenido de carotenoides y polifenoles, lo que define a las fuentes de microalgas como una alternativa de gran interés. De hecho, sus propiedades lipídicas, han permitido identificar fuentes alternativas de energía ecológica, sustentable, de excelencia y económicamente accesibles para obtener biodiésel. El principal beneficio de este uso se encuentra en la viabilidad de alcanzar una biomasa abundante en un período de tiempo breve, dado que estas microalgas se podrían producir sin dificultad utilizando tanto fuentes orgánicas como inorgánicas de nitratos (Gao et al., 2013) (Bertozzini et al., 2013) (Siaut et al., 2007). Las microalgas representan la categoría más prometedora que se está analizando para la obtención de biodiesel, por ello, las diatomeas se caracterizan por su notable contenido de triglicéridos (Bertozzini et al., 2013). No obstante, el desempeño de los

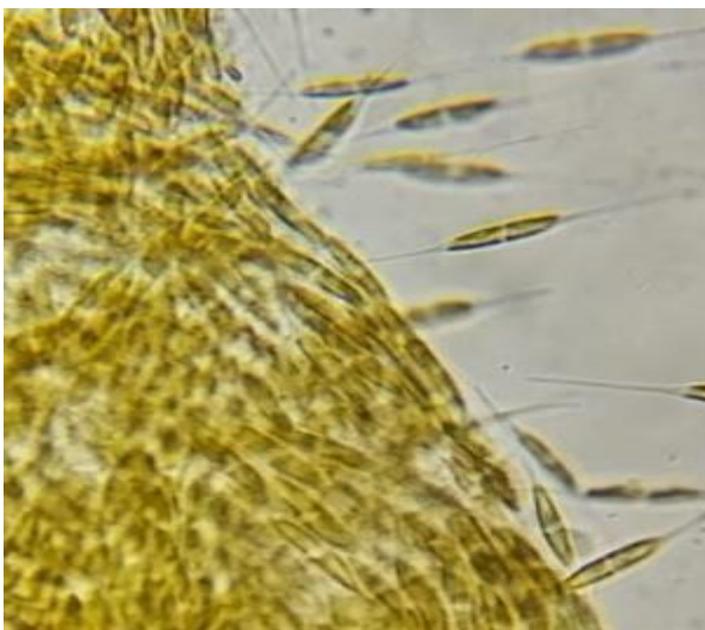
biocombustibles provenientes de microalgas es por el momento demasiado reducido para representar un reemplazo económicamente viable de los combustibles de origen fósil, la falta de información sobre las funciones genéticas y las vías regulatorias implicadas en la acumulación de triacilglicerol (TAG) representa un reto fundamental que limita el aprovechamiento de estos organismos.

La *Nitzschia* por su parte se ha empleado en diversas aplicaciones biotecnológicas en: complementos alimenticios, generación de biocombustibles, especialidades farmacéuticas, nutracéuticos y en cosmetología, ya que se han declarado que como parte de su composición bioquímica existen compuestos y metabolitos secundarios de relevancia, asimismo presentan características provechosas a diferencia de los cultivos terrestres que no poseen, como el crecimiento acelerado, medios de cultivos económicos para lograr su producción, tampoco requieren campos cultivables, ni dependen de la época del año y pueden usarse para tratamiento en lo que respecta aguas residuales (Khan et al., 2018). A nivel de composición bioquímica en diatomeas, el silicio, es un elemento crucial para la pared celular, del mismo modo, ricas en compuestos de almacenamiento, entre aquellos carbohidratos, interviniendo la crisolaminarina, y en lípidos se encuentran los ácidos grasos, en los que predominan ácidos mirístico, palmítico, palmitoleico y eicosapentaenoico (Jónasdóttir, 2019). Inclusive, varias microalgas alteran sus rutas metabólicas en la síntesis lipídica frente al estrés ambiental, almacenando lípidos en su estructura celular, únicamente triglicéridos, consiguiendo sobrevivir a factores estresantes (Sharma et al., 2012). Por lo que es importante resaltar, que los lípidos funcionan como una barrera protectora del fotosistema impidiendo el estrés fotooxidativo, que se desarrolla a partir del surgimiento de especies reactivas del oxígeno (De Jaeger et al., 2014). Teniendo en cuenta estos aspectos, las microalgas inducen a producir cantidades considerables de AGPI que van desde el 20% hasta el 50%

del peso seco, propiamente de EPA y DHA, convirtiéndolo en una alternativa viable a la producción de ácidos grasos, de la tipología de los omega-3 y demás ácidos grasos esenciales (Hinzpeter., et al 2006). Los ácidos grasos y pigmentos fotosintéticos son reconocidos como compuestos bioactivos con gran potencial antibacteriano, tal es el ejemplo de los dinoflagelados y diatomeas, los cuales, producen variedad de pigmentos y actúan como productores de ácidos grasos que va entre 15 a 25%. Lo que fue evidenciado el potencial uso de pigmentos y lípidos extraídos desde dinoflagelados y diatomeas en estudios de (Nájera et al., 2018), los extractos de pigmentos de *G. catenatum* inhibieron hasta un 60% el crecimiento de *E. coli*, y los extractos lipídicos de *A. margalefii* y *G. catenatum* inhibieron hasta un 87-89% el crecimiento de *S. aureus*. Además, los extractos lipídicos de las diatomeas inhibieron hasta un 50-65% el crecimiento de *E. coli*, y los de *A. margalefii* inhibieron en un 33.6% a *V. parahaemolyticus*. En conclusión, los extractos de estas microalgas mostraron una mayor eficacia antibacteriana contra las bacterias Gram positivas, posiblemente debido a diferencias en la estructura de sus paredes celulares.

## METODOLOGÍA

Este trabajo fue desarrollado en el Centro de Investigaciones Biológicas y Prácticas Académicas - CIBPA perteneciente a la Facultad Ciencias del Mar, la Universidad Estatal Península de Santa Elena. La cepa PM020 *Nitzschia* sp, está asociado a el proyecto con el código CUP: 91870000.0000.384095 con el permiso del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica: MAATE-DBI-CM-2022-0264.



**Figura 1.**

*Representa la cepa PM020 Nitzschia sp. Obtenida del microscopio óptico (objetivo 10x).*

## FASE DE LABORATORIO

### CONDICIONES DE CULTIVO

Los cultivos a nivel de laboratorio fueron las siguientes: una temperatura de 20 °C, iluminación de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y, aireación manual diaria en volúmenes menores (200mL), mientras en volúmenes mayores (1 a 2 L), se mantuvieron con aireación constante. Los ensayos se instalaron por triplicado y estuvieron rotulados con la siguiente información: tipo de microalga, fecha y medio de cultivo. Las pruebas que

se realizaron fueron la cinética de crecimiento y concentración bioquímica de la diatomea *Nitzschia* sp.

## **PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO**

En el desarrollo del trabajo fue importante mantener buenas prácticas de laboratorio. Esto incluyó utilizar equipo de protección personal como guantes y bata, desinfectar el área de trabajo, asimismo esterilizar los materiales y agua de mar, antes de su uso.

### **MEDIO GUILLARD F/2**

Según Guillard (1975) indica que hay variedad de métodos sencillos y confiables para el crecimiento de fitoplancton marino, por esto, el medio Guillard F/2 es ideal, ya que su formulación incluye macro y micronutrientes requeridos para promover un desarrollo óptimo en los cultivos de microalgas, clasificándose en dos grupos: macro y micronutrientes, pudiéndose definir los macronutrientes formado por carbono, hidrogeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, azufre, potasio y magnesio, estos favorecen en la conformación y mantenimiento de las células y a su vez micronutrientes que se utilizan en menor concentración pero son capaces de catalizar funciones reguladoras, osmóticas presentadas por hierro manganeso, zinc, molibdeno, vanadio, bario, cloro, cobalto, calcio, sílice y sodio (Tabla 1).

Es importante señalar, que las diatomeas se requiere añadir silicatos ya que el nutriente es imprescindible para la constitución de la pared celular (Malakootian et al., 2015; Mooij et al., 2016; Faé et al., 2018).

**Tabla 1.**

*Medio Guillard F/2 presenta los nutrientes con sus respectivas concentraciones.*

<b>MEDIO GUILLARD F/2</b>	
<b>Solución 1:</b>	<b>(g/100 mL)</b>
Nitrato de sodio	7,5
Fosfato monobásico de sodio monohidratado	0,5
<b>Solución 2:</b>	<b>g/100 mL)</b>
Metasilicato de sodio nonahidratado	3
<b>Solución 3:</b>	<b>g/100 mL)</b>
Cloruro de hierro (III) hexahidratado	0,32
EDTA disódico	0,44
<b>Metales traza</b>	<b>0,10 mL</b>
Sulfato de cobre (II) pentahidratado	0,49
Sulfato de zinc heptahidratado	1,1
Cloruro de zinc	0,53
Cloruro de cobalto (III) hexahidratado	0,5
Cloruro de manganeso (III) tetrahidratado	9
Molibdato de sodio dihidratado	0,32
<b>Solución 4 vitaminas:</b>	<b>(mg)</b>
Cianocobalamina (B12)	0,5
Tiamina HCL (B1)	0,1
Biotina (vit. H)	1

El medio de cultivo Conway proporciona nutrientes esenciales y cofactores requeridos para los procesos fisiológicos y metabólicos que permiten el crecimiento óptimo del cultivo de microalgas (tabla 2), macronutrientes tales como: nitrato de potasio, fosfato de sodio, en los micronutrientes, también están presentes diversos compuestos de metales traza como EDTA, hierro, zinc, manganeso, cobalto, cobre y molibdeno, vitaminas tales como: tiamina, biotina y cianocobalamina, y silicato indispensable para la composición de la frústula (Khatoon et al., 2016).

**Tabla 2.**

*Medio Conway presenta los nutrientes con sus respectivas concentraciones.*

<b>MEDIO CONWAY</b>	
<b>Solución 1:</b>	<b>(g/100 mL)</b>
EDTA-disódico	4,5 g
Ácido bórico	3,36 g
Nitrato de sodio	10 g
Fosfato disódico	2 g
Cloruro de manganeso (II) Tetrahidratado	0,36 g
Cloruro de hierro (III) hexahidratado	0,13 g
Nitrato de potasio	11,6 g
<b>Solución 2:</b>	<b>(g/100 mL)</b>
Cloruro de zinc	0,21 g
Cloruro de cobalto (II) hexahidratado	0,2 g
Molibdato de amonio tetrahidratado	0,09g

Sulfato de cobre (II) pentahidratado	0,2 g
<b>Solución 3:</b>	<b>(g/100 mL)</b>
Metasilicato de sodio nonahidratado	2g
<b>Solución 4:</b>	<b>(g/100 mL)</b>
Tiamina	0,2 g
Cianocobalamina	0,02 g
Biotina h	0,02g

## FASE DE ANÁLISIS

### Establecer la curva de crecimiento

#### Densidad óptica

Esta técnica permitió obtener una estimación indirecta de la concentración celular, mediante el uso de la densidad óptica de un cultivo, especialmente si se dispone de una curva de calibración que relacione la concentración celular de una especie específica. Uno de los inconvenientes que presenta es por la contaminación bacteriana u otros tipos de contaminantes, como basura o residuos, pudiendo dar lecturas incorrectas, por lo que se tiende a evitar su uso. Sin embargo, todavía se utiliza en laboratorios como una forma rápida de reconocer las fases de crecimiento. Haciéndola eficaz para generar decisiones inmediatas sobre los tiempos de cosecha o dilución de cultivos (Arredondo et al., 2017). Se llevó un registro diario del crecimiento durante 20 días, por el método de densidad óptica, se homogenizó el cultivo para luego adquirir la muestra, midiendo la absorbancia en el espectrofotómetro, usando la onda 680 nm para *Nitzschia* sp, el equipo se calibró con agua de mar y medio cultivo (Mercado et al., 2004).

## Estimación de densidad celular

El conteo celular se realizó en una cámara de Sedgewick Rafter, diseñada de un portaobjetos con un marco rectangular de 50 x 20 mm y 1 mm de profundidad. Facilita el recuento celular, para *Nitzschia* sp, como el cultivo es muy concentrado se realizó una dilución de 1:100 y posteriormente se contó toda la cámara. Arredondo et al. (2017) plantean la siguiente ecuación para determinar la concentración celular (cél/mL):

$$C = N \times dil$$

Donde:

**C** = células/mL

**N** = células contadas en toda la cámara

**dil** = factor de dilución

## Determinación de parámetros de crecimiento

### Tasa de crecimiento específico

Utilizando la estimación diaria de la densidad celular como base, se calculó la tasa de crecimiento específico utilizando la fórmula propuesta por Arredondo et al.

(2017):

Donde:

$$\mu = \frac{\ln(N2 - N1)}{t2 - t1}$$

- N1 y N2 Indican la concentración celular en los tiempos t1 y t2

## Productividad de la biomasa

Para determinar el peso seco total de la biomasa de *Nitzschia* sp, se colocaron muestras líquidas en una estufa a 37°C por 24 h, con un mortero y pistilo se trituró el espécimen, consecutivamente se empleó la balanza analítica para anotar los pesos. El cálculo del peso seco total se realizó siguiendo la ecuación:

$$PS = (Pf - Po) / Vf$$

Donde:

- **PS:** Es el peso seco de la biomasa en g L<sup>-1</sup>
- **Pf:** El peso final de los filtros con la biomasa seca,
- **Po:** El peso inicial del filtro seco
- **Vf:** El volumen de muestra filtrada (0,005 L)

Con base en la estimación diaria del peso seco, se calculó la Productividad de la biomasa utilizando la siguiente ecuación (Mohd Apani et al., 2021):

$$Pb = \frac{X2 - X1}{t2 - t1}$$

Donde:

- **Pb:** Corresponde a la productividad (g L<sup>-1</sup>)
- **X1 y X2:** Representa la concentración de biomasa (g L<sup>-1</sup>) en el lapso del tiempo (inicio del ciclo) y al (final del ciclo).

## **Análisis de composición bioquímica de la biomasa**

Para determinar la composición bioquímica de la biomasa obtenida, se cuantifico el porcentaje de proteínas, carbohidratos, grasas y cenizas.

### **Cuantificación de proteínas**

En relación a conocer la cantidad de proteínas se utilizó el método de Bradford, se centrifugaron 500 µl de biomasa húmeda concentrada, posteriormente, se realizó 3 lavados, cada uno de ellos, se centrifugaron a 3500 rpm durante 3 minutos, del cual, dos veces, se agregó 1mL de suero fisiológico y en la última 1mL PBS buffer 1X (Phosphate-Buffered Saline), consecutivamente, se quitó el sobrenadante y se calentó la muestra durante 15 minutos a temperatura de 45 °C , después se añadió a la muestra lisis 300 µl adicionando 10 perlas plateadas de 1,3 mm y 14 perlas blancas de 0,5 mm, y se procedió a realizar vortex durante 10 minutos para la ruptura celular, a continuación, las muestras se colocaron a nuevos tubos para lograr filtrar la biomasa, dejándolo en el congelador 8 minutos, seguidamente se centrifugó a 8000 rpm 5 minutos. Para la lectura en el espectrofotómetro se consideró 680 nm, el blanco poseía 2300 µl de agua destilada, y para conocer las absorbancias se colocó 300 µl de muestra y 2mL del reactivo de bradford. Con el propósito de establecer la concentración de proteínas, se generó una curva estándar utilizando BSA (albúmina de suero bovino) y agua destilada en un rango de 0-60 µg mL<sup>-1</sup> (Anexo 1), calculando los valores de absorbancia por espectrofotometría a 595 nm en la ecuación de la regresión lineal de la curva (Marion M. Bradford., 1976).

### **Cuantificación de carbohidratos**

Con respecto a el contenido de carbohidratos se empleó la metodología del Fenol-

Ácido sulfúrico de Dubois et al. (1956). Se obtuvo 10 mg de biomasa seca agregando 1mL de NaOH 1N, para calentarlo a 50 °C durante 15 minutos, posteriormente se añadieron 10 perlas plateadas de 1,3 mm y 14 perlas blancas de 0,5 mm, este proceso se agitó con vortex durante 15 minutos y luego se centrifugó a 4500 rpm durante 7 minutos. En tubos de ensayos se adquirió 100 µl de solvente de cada muestra por triplicado, añadiendo 25 µl de fenol al 80% y 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agitó manualmente y se dejó enfriar 30 min a temperatura ambiente. Como referencia en el espectrofotómetro el blanco tuvo 2,5 mL de NaOH a 485 nm. A fin de obtener la concentración de carbohidratos se realizó una curva patrón empleando glucosa anhidra e hidróxido de sodio en el rango de 0-60 µg mL<sup>-1</sup> a 485 nm (Anexo 2).

### **Cuantificación de grasas**

Referente a determinar el contenido de grasas se procedió a pesar el balón de destilación con esferas de vidrio dentro, luego se pesó 3 gramos de biomasa para después introducirla en un dedal de papel filtro colocándolo dentro del sifón del aparato de Soxhlet con el fin de ensamblar el sistema, posteriormente se agregó 30mL de solvente de acetona al sifón hasta que caiga al balón y luego se vertió 30 mL de solvente. Se revisan las conexiones, y constantemente el agua se dejó fluir en función del refrigerante, y se ajustó la temperatura del plato calentador a 250 °C, se realizaron 4 sifonadas, una vez terminado aquello se cortó el fluido de agua y se procedió a retirar el dedal con la muestra, el balón debió seguir en el plato calentador hasta que se haya evaporado todo el solvente, posteriormente se apagó el calentador y se dejó enfriar a 45°C, puesto que el residual contenido en el balón debió contener la grasa extraída de la muestra, luego se colocó dentro de la estufa a 80°C, durante 24 horas con el objetivo de evaporar el residual de acetona. Una vez cumplido el periodo, se procedió a pesar el balón con la muestra en

conjunto con las perlas (Subía & Rubio, 2018).

Se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%G = (B2 - B1) / m \times 100$$

Donde:

- **B1:** Peso del balón inicial del balón
- **B2:** Peso del balón como muestra final
- **m:** Masa de la muestra en gramos

### **Cuantificación de cenizas**

El contenido de ceniza se calculó con el peso inicial de capsulas de porcelana, más 3 gramos de muestra, luego se procedió a calentar para eliminar el exceso de humedad dentro de la cámara de extracción de gases por 45 min. A continuación, se colocó la muestra en una mufla durante 4 horas a 600 °C. Finalmente a través de una diferencia de peso final e inicial, se halló el porcentaje de ceniza (Kirk et al., 1996).

### **Análisis estadístico**

Para evaluar la comparación de los medios de cultivo, se realizó un análisis de T-student con un nivel de significancia del 95% ( $p \leq 0.05$ ). Los cálculos estadísticos y gráficos se efectuaron en el programa InfoStat.

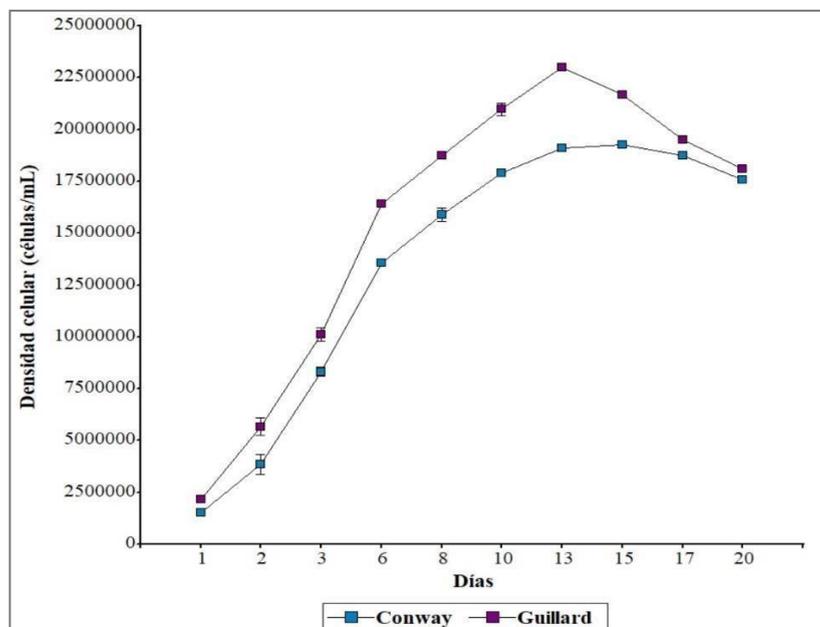
## **RESULTADOS**

### **Evaluación de medio de cultivo**

Se llevó a cabo un análisis entre los medios de cultivo Conway y Guillard F/2. El

tiempo de duración de los ensayos fue de 20 días (Figura 2). Los ensayos fueron instalados por triplicado. Se inoculo  $1 \times 10^{-6}$  cél/mL, de cultivo para sembrar el primer día de cultivo, por consiguiente, en los días continuos se determinó la concentración celular mediante espectrofotometría y la técnica de Sedgewick Rafter. Los resultados demostraron que la densidad poblacional expuesta en el medio Conway (Media=13.573.159; SD=6.299.042) fue menor que en el medio Guillard F/2 (Media=15.633.711; SD=6.789.636).

La figura 2 demuestra las diferentes fases de las microalgas expuestas en los medios de cultivo de interés. La fase de latencia o lag no se determina en la curva de crecimiento. En cambio, la fase exponencial se observa desde el día 1 a 10 ambos cultivos, logrando el medio Conway 17.912.224 cél/mL y el medio Guillard F/2 20.973.846 cél/mL. Por consiguiente, la fase estacionaria se presenta en entre los días 13-15 abordando que Conway alcanzó 19.271.475 cél/mL, mientras Guillard F/2 alcanzó un valor superior de 21.669.776 cél/mL. Posterior a ello, se lleva a cabo la muerte celular de las microalgas entre los días 16-20.



**Figura 2.** Comparación de curva de crecimiento de *Nitzschia sp.*, en dos medios de cultivo, Guillard F/2 y Conway durante 20 días.

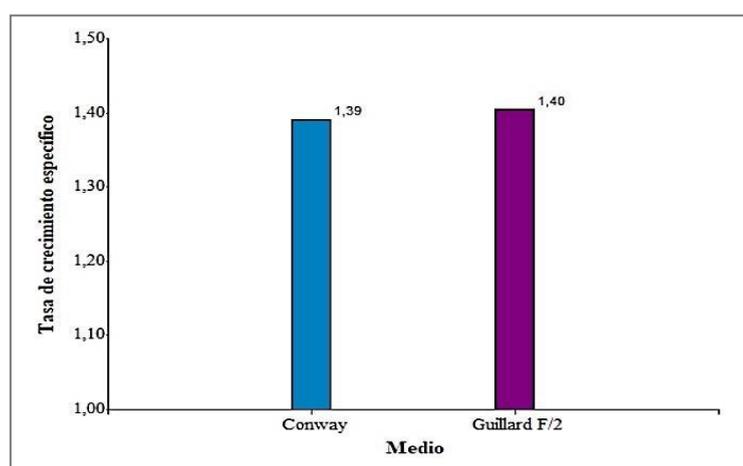
### Tasa de crecimiento específico

La tasa de crecimiento se estimó empleando la concentración celular alcanzada el día 13, constituyéndose inferiormente acelerado el medio Conway con 1.39 cél/día, mientras que Guillard F/2 adquirió 1.40 cél/día (Figura 3), asimismo se reflejó la desviación estándar, Conway obtuvo 0,000474 y Guillard F/2 con 0,001123, lo cual, indica que los datos son extremadamente dispersos (Tabla 3). No obstante, a pesar de que las medias de cada población son similares, la prueba t-Student ( $p= 0,0001$ ) muestra que existe diferencia significativa entre el crecimiento de las microalgas en los dos cultivos (Anexo 3).

**Tabla 3.**

*Representación de la tasa de crecimiento de Nitzschia sp, en dos medios de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2. R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.*

	Tasa de crecimiento				
	R1	R2	R3	Promedio	SD
<b>Conway</b>	1,3898	1,3898	1,3908	1,39	0,000474
<b>Guillard F/2</b>	1,4053	1,4027	1,4047	1,40	0,001123



**Figura 3.**

*Tasa de crecimiento específico de Nitzschia sp, en función del cultivo Conway y Guillard F/2.*

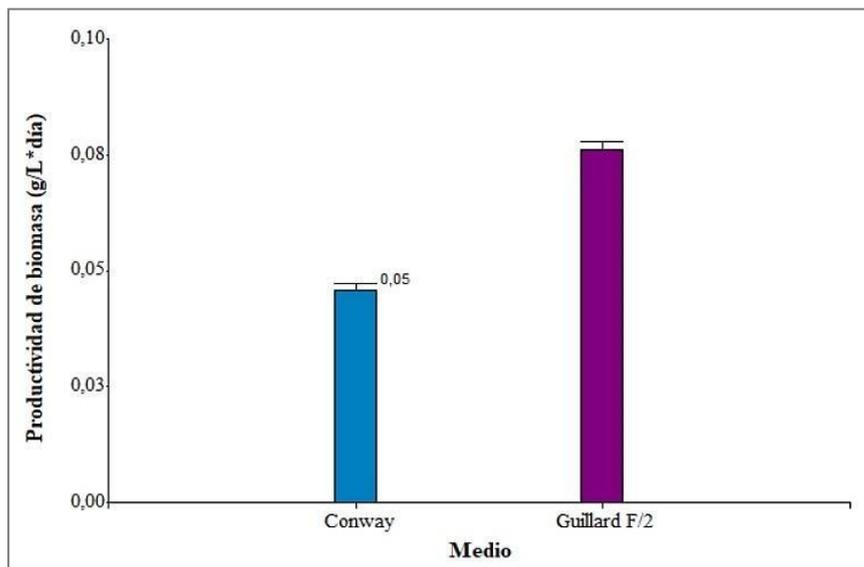
### Producción de biomasa de *Nitzschia sp.*

Con respecto a la productividad de biomasa en los medios, la figura 4 indica que la concentración mínima fue de Conway 0.05 g/L\*día, en cambio Guillard F/2 llegó a 0.08 g/L\*día resultando más eficiente dentro del lapso de 13 días (Figura 4). También se determinó la desviación estándar 0,00103935 g/L\*día, denotando un valor reducido al Guillard F/2 con 0,00117851 g/L\*día (Tabla 4). Por ello, la ( $p = <0,0001$ ) revela que existe diferencia significativa entre los medios (Anexo 4).

**Tabla 4.**

*Productividad de biomasa en Nitzschia sp, según los medios de cultivos evaluados, Conway y Guillard F/2. R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.*

Productividad de biomasa (g/L*día)					
	R1	R2	R3	Promedio	SD
<b>Conway</b>	0,047	0,046	0,044	0,05	0,00103935
<b>Guillard F/2</b>	0,077	0,074	0,077	0,08	0,00117851

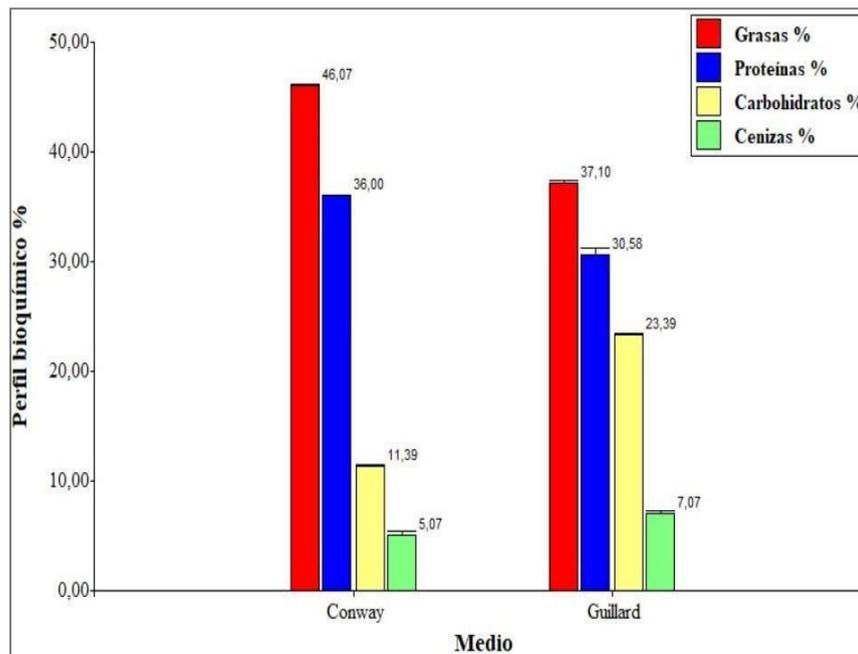


**Figura 4.**

*Productividad de biomasa de Nitzschia sp, según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.*

## Composición bioquímica de *Nitzschia* sp.

La composición bioquímica de *Nitzschia* sp destaca a las proteínas, carbohidratos, cenizas y grasa. Se aborda que el medio Conway incrementó la concentración de proteínas y grasas en la microalga, mientras que el medio Guillard F/2 favoreció los niveles de ceniza y carbohidratos (Figura 5).



**Figura 5.**

*Porcentaje del perfil bioquímico de Nitzschia sp, desarrollada en dos medios de cultivo, Conway y Guillard F/2.*

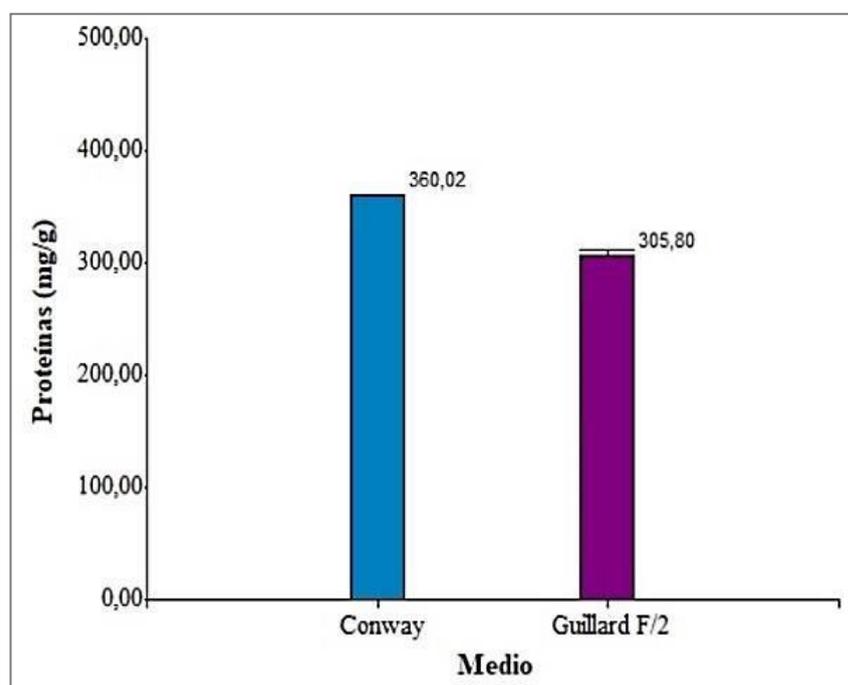
- **Proteínas**

Se determinó que la media de la concentración de proteínas Conway fue superior, con un valor de 360.02 mg/g, mientras que el medio Guillard F/2 fue de 305.80 mg/g (Figura 6). Sin embargo, al calcular la desviación estándar, se evidenció que Conway ostentó 0,34695262 mg/g, lo que indica una dispersión relativamente baja comparado con el Guillard F/2 que tuvo 4,9189023 mg/g (tabla 5). La prueba t- student ( $p=0,0041$ ) señaló notable distinción de significancia en ambos medios (Anexo 5).

**Tabla 5.**

*Concentración de proteínas (mg/g). R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.*

Concentración de proteínas (mg/g)					
	R1	R2	R3	Promedio	SD
Conway	360,26	359,53	360,26	360,02	0,3469526
Guillard F/2	307,27	310,95	299,18	305,8	4,9189023



**Figura 6.**

*Análisis de concentración de proteínas(mg/g), en Nitzschia sp, según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.*

- **Carbohidratos**

Considerando la media del medio de cultivo Guillard F/2 demuestra que produce mayor concentración de carbohidratos en *Nitzschia sp.* con 233.98 mg/g, en cambio, el promedio del medio Conway fue relativamente reducido con 113.87 mg/g (Figura 7).

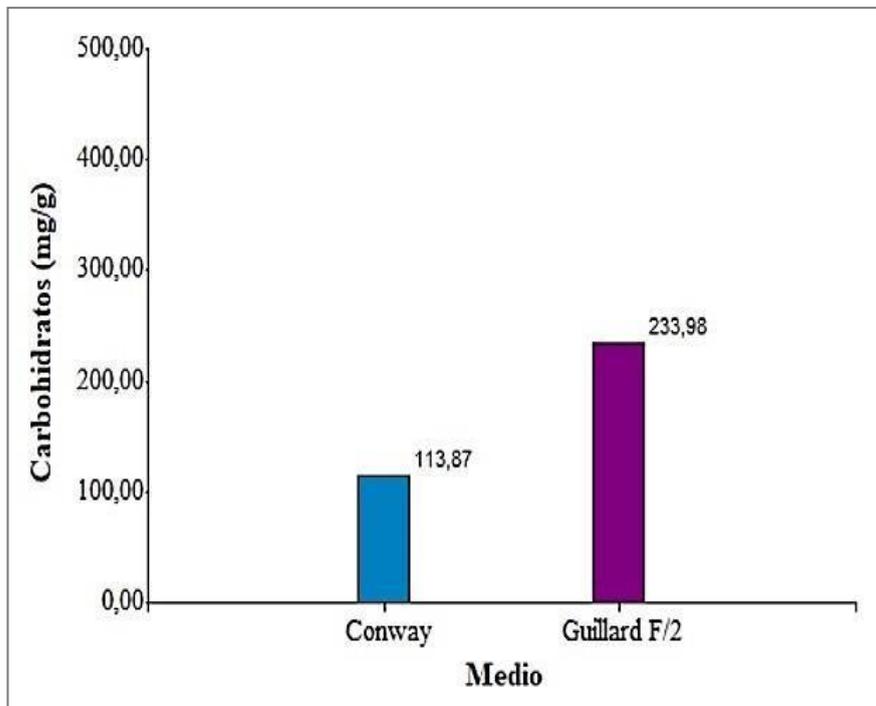
Por otro lado, la desviación estándar del medio Conway corresponde a 0,42697592

mg/mL, señalando un valor menor al Guillard F/2, el cual, contiene 0,57381722 mg/g (Tabla 6). En consecuencia, la prueba de t-Student indica ( $p < 0,0001$ ) que los medios denotan diferentes variaciones (Anexo 6).

**Tabla 6.**

*Concentración de carbohidratos (mg/g). R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.*

<b>Concentración de Carbohidratos (mg/g)</b>					
	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>Promedio</b>	<b>SD</b>
<b>Conway</b>	113,89	114,38	113,33	113,86	0,4269759
<b>Guillard F/2</b>	233,38	234,68	233,56	233,88	0,5738172



**Figura 7.**

*Análisis de concentración de carbohidratos(mg/g), en Nitzschia sp, según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.*

- **Grasas**

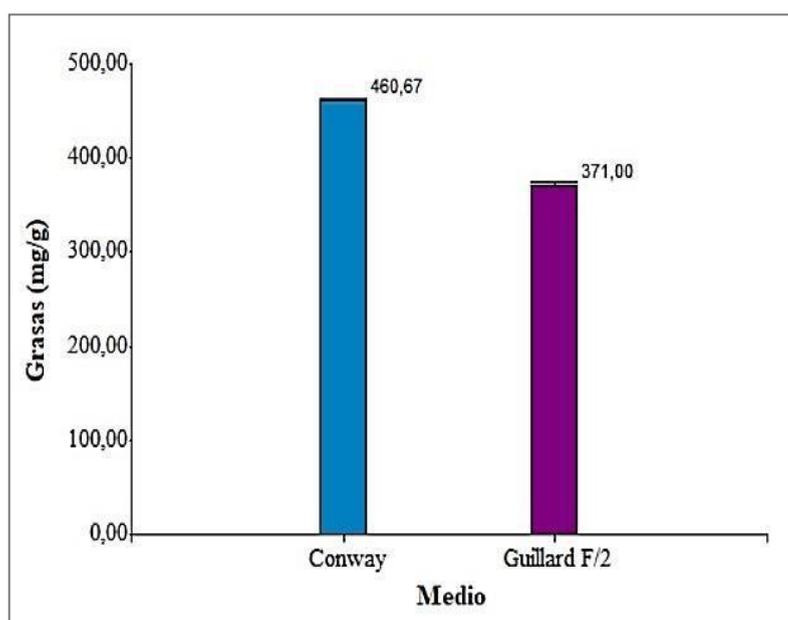
De manera notoria se pudo apreciar que el medio Conway constato un incrementó de nivel en grasas alcanzando 460.67 mg/g, frente al cultivo Guillard F/2 adquiriendo un

promedio de 371 mg/g (Figura 8), aun así, en la desviación estándar revela un valor mínimo en Conway 1,24721913 en relación al Guillard F/2 con 2,1602469 (Tabla 7). La prueba estadística ( $p < 0,0001$ ) aborda significación proporcional entre los medios de cultivo (Anexo 7).

**Tabla 7.**

*Concentración grasa (mg/g). R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3.  
SD=Desviación estándar.*

Concentración de Grasas (mg/g)					
	R1	R2	R3	Promedio	SD
<b>Conway</b>	459	461	462	460,67	1,2472191
<b>Guillard F/2</b>	372	368	373	371	2,1602469



**Figura 8.**

*Análisis de concentración de grasas(mg/g), en Nitzschia sp, según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.*

- **Cenizas**

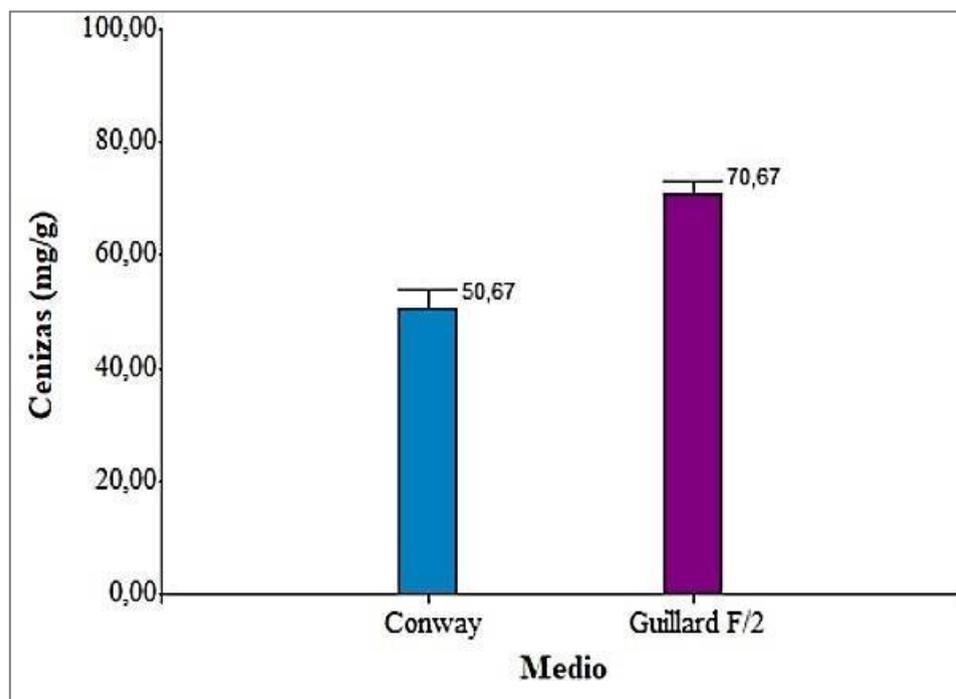
Se determinó que *Nitzschia sp.* presentó en el medio Conway reducido contenido

de cenizas (Media = 50.67 mg/g), en contraste con Guillard F/2 (Media = 70,67mg/g) (Figura 9). Sin embargo, en la desviación estándar Conway predomina con un valor de 2,625 a diferencia de Guillard F/2, el cual evidenció 2,055 (Tabla 8). En este sentido, la prueba t-Student ( $p=0,0011$ ) mostró que existen diferencias significativas entre la concentración de cenizas en cada medio de cultivo (Anexo 8).

**Tabla 8.**

*Concentración de cenizas (mg/g). R1=Réplica 1. R2=Réplica 2. R3=Réplica 3. SD=Desviación estándar.*

Concentración de Cenizas (mg/g)					
	R1	R2	R3	Promedio	SD
Conway	52	53	47	50,67	2,625
Guillard F/2	73	68	71	70,67	2,055



**Figura 9**

*Análisis de concentración de cenizas, en Nitzschia sp, según los tipos de cultivo evaluados, Conway y Guillard F/2.*

## CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE *Nitzschia sp.*

A continuación, se realizó un análisis de la importancia biotecnológica de la diatomea *Nitzschia sp.*, con base en sus compuestos bioquímicos y que han sido reportados en artículos científicos actualizados (Tabla 9) y un detalle de su potencial se describe en el Anexo 21.

**Tabla 9.**

*Descripción de compuestos bioquímicos en Nitzschia sp y sus aplicaciones biotecnológicas.*

Compuesto químico	Aplicaciones biotecnológicas	Evidencia científica	Bibliografía
Proteínas y polisacáridos	Potencial terapéutico, nanotecnología	Nanotransportadores a partir de <i>Nitzschia</i> con antibióticos.	(Rabiee et al., 2021)
Proteínas	Reparación de tejidos	<i>Nitzschia navisvaringica</i> promueve el crecimiento celular.	(Ayaz et al., 2018)
Proteínas	Potencial terapéutico	<i>Nitzschia</i> exhibe actividad antibacteriana y antiviral, pero sin propiedades anticancerígenas.	(Hernández et al., 2024).
Proteínas	Potencial terapéutico	<i>Nitzschia</i> produce proteínas, que son inhibitorias contra bacterias patógenas.	(Fadillah et al., 2022)
Proteínas	Potencial terapéutico	<i>Nitzschia</i> presentó actividad antimicrobiana contra la bacteria Grampositiva, <i>S. aureus</i> .	(Montalvão et al., 2016)
Proteínas y lípidos	Potencial terapéutico y biofertilizante	<i>Nitzschia</i> utilizado como biofertilizante mejora el crecimiento vegetal.	(Singh et al., 2023).
Carbohidratos	Potencial terapéutico	<i>Nitzschia palea</i> produce exopolisacárido anticancerígeno.	(Sanniyasi et al., 2022)

Lípidos	Potencial terapéutico	Extracto de <i>Nitzschia palea</i> mostró gran potencial como fuente de compuestos antibacterianos contra bacterias Gram-positivas.	(Harith, 2009).
Compuestos volátiles	Potencial terapéutico y nutracéutico	Extracto de hexano en <i>Nitzschia palea</i> actúa como antioxidantes, prevención de daños por ADN y proteínas, propiedades antihemolíticas.	(Lakshmegowda et al., 2020)
Lípidos	Suplemento nutracéutico	<i>Nitzschia</i> rica en EPA, potencial industrial.	(Barsanti et al., 2022)
Lípidos	Nutraceutica	<i>Nitzschia sp</i> demostró alto contenido lipídico.	(Cointet et al., 2019)
Proteínas	Potencial terapéutico y dermocosmético	Extracto de célula entera en <i>Nitzschia navis-varingica</i> con capacidad antiinflamatoria, viabilidad en el uso alimentario.	(Ayaz, 2019)
Lípidos	Potencial terapéutico	Extracto etanólico de <i>Nitzschia sp</i> , tiene un mayor potencial antibacteriano, en bacterias Gram-negativas.	(Munir et al., 2018)
Lípidos	Producción de biocombustible	Alto contenido de lípidos.	(Kholssi et al., 2023)
Lípidos	Nutraceutico	Cepa <i>Nitzschia sp.</i> FZU62, excelente para fucoxantina y EPA.	(Ma et al., 2023)
Lípidos	Metabolómica	La adición de silicato en <i>Nitzschia laevis</i> , promueve	(Mao et al., 2020)

		mayor productividad de biomasa y fucoxantina.	
Proteínas y lípidos	Potencial terapéutico y nanotecnología	Nanopartículas de plata sintetizadas con <i>Nitzschia palea</i> inhibe biopelículas de <i>E. coli</i> .	(Shafreen et al., 2017)
Ácidos nucleicos	Potencial terapéutico	<i>Nitzschia</i> produce compuestos anticancerígenos y antitrombóticos.	(Prestegard et al., 2009)
Carbohidratos	Potencial terapéutico	Extracto crudo de hexano en <i>Nitzschia palea</i> limita el crecimiento de tuberculosis.	(Ruiz et al., 2019)
Lípidos	Potencial terapéutico	Extracto de <i>Nitzschia laevis</i> reduce esteatosis hepática.	(Guo et al., 2021)

Los resultados obtenidos indican que los nutrientes, en específico fósforo, nitrógeno y silicio benefician los niveles de concentración en la composición bioquímica en términos de proteínas, carbohidratos, grasas y cenizas en la diatomea *Nitzschia sp*, de manera que se acepta la hipótesis alterna.

## DISCUSIÓN

### Análisis del crecimiento de la diatomea *Nitzschia sp*, frente a dos medios de cultivo

El cultivo de la diatomea *Nitzschia sp*, se llevó a cabo utilizando dos medios de cultivo, Conway y Guillard F/2, los resultados obtenidos indican variaciones significativas en términos de densidad celular, producción de biomasa, tasa de crecimiento. El medio Guillard F/2, permitió alcanzar una densidad celular máxima

mayor en comparación con el medio Conway. Además, la tasa de crecimiento específico fue ligeramente superior en el medio Guillard F/2 (aproximadamente un 1% más alta). La composición del medio Guillard F/2, rica en metales traza y vitaminas en concentraciones específicas, parece proporcionar un ambiente más nutritivo y favorable para el incremento de la densidad celular de *Nitzschia*. Así lo demuestran Grubišić et al. (2024) al analizar el crecimiento de *Nitzschia sp. S5* con diferentes concentraciones del medio Guillard F/2, optando que los mejores resultados en cuanto a productividad de biomasa se desarrolló colocando cantidades de 0,02809 g/L en silicio en forma de metasilicato de sodio, 0,0044 g/L de nitrógeno y 0,0461 g/L de fósforo, concluyendo que la modificación de estos tres nutrientes incrementan 0,73 g/L en concentración de biomasa, quienes también afirmaron que en aquella proporción los nutrientes anteriormente mencionados se tiende a aumentar la abundancia de células por mililitro, estos resultados revelan que el medio Guillard F/2 no solo favorece la densidad celular, sino también una acumulación más eficiente de biomasa, ligado a la producción celular. Mientras que Jiang et al. (2015b), examinaron el crecimiento de diferentes diatomeas incluyendo *Nitzschia perspicua* bajo la concentración de silicio con 0.118178 g/L, donde evidenciaron que la tasa de crecimiento oscila entre 0,2 y 0,3 día<sup>-1</sup>, siendo menor a lo obtenido en el presente estudio con los dos medios evaluados. No obstante, Coulson et al. (2022) aseguran que el Conway gracias al suplemento de metasilicato de sodio favorece la tasa de crecimiento poblacional de la especie *Nitzschia palea* abarcando un valor de 0,89, constatándose próximo al resultado de la presente investigación.

### **Composición bioquímica de la biomasa en *Nitzschia sp***

Según Encinas-Arzate et al. (2020), quienes afirman que la reducción o

limitación de nutrientes esenciales en cultivos de diatomeas influye de forma marcada en concentración de compuestos proteicos, por lo que aplican 12,33 g/L de nitrógeno y 30,75 g/L de silicato, concentraciones que favorecen a alcanzar un nivel de 38,72% de proteína, además manifiestan que la concentración de nitrógeno favoreció las grasas con 27.09%, por tanto, en el estudio *Nitzschia* posee niveles proteicos similares, es decir, en el medio Conway refleja 36% frente a Guillard con 31%, también incurre datos inferiores con grasas, Conway demuestra 46, 07% y Guillard F/2 con 37,10% esta diferencia podría deberse a que el medio Conway presenta un equilibrio disímil de nutrientes que receptan la síntesis de proteínas, particularmente por mayor concentración de nitrógeno y fósforo. En contraste, Maltsev, Kulikovskiy & Maltseva (2023), exponen que en la mayoría de taxones de microalgas, la deficiencia o estrés de nitrógeno y fósforo tiende a incrementar la fracción lipídica, este hecho depende únicamente del metabolismo de la cepa empleada. Por otra parte, Núñez-Zarco & Sánchez-Saavedra (2011) identifican que los valores promedios de carbohidratos en *Nitzschia laevis* y *Nitzschia thermalis* var. *minor* se encuentran en un rango de 10 y 58%, utilizando una concentración de silicato de 13,08 g/L, en consecuencia, el estudio corrobora con los valores estipulados del Guillard F/2 con 23,39% y Conway 11,39% lo que señala que el nutriente silicato empleado tiene una relevante variabilidad del perfil bioquímico. Finalmente (Cervantes et al., 2020) realizaron un análisis de tres diatomeas (*Eupyxidicula turris*, *Trieres mobiliensis*, *Biddulphia alternans*) deduciendo que éstas se encontraron en un porcentaje de cenizas de 12 al 70%, cabe mencionar que la investigación suministra datos del medio Conway en 5,07% y Guillard F/2 con 7,07 esto se debe a que el medio Guillard F/2 provee concentraciones de metales trazas mayores que el medio Conway.

### **Análisis del potencial biotecnológico de *Nitzschia sp.***

Para la selección de artículos científicos, se consideró varios criterios de búsqueda, como palabras claves: *Nitzschia*, biotechnology, bioproducts, bioactive compounds, además de años de publicación que sean de relevancia de los últimos 7 años, de preferencia en el idioma inglés, se realizó una búsqueda de revistas de alto impacto como: SCOPUS, Web of science y latindex.

Los resultados de la composición bioquímica de *Nitzschia*, tuvieron resultados exhaustivos de (36 a 37,10%) en proteínas, carbohidratos (11,39 a 23,39 %), grasas (37,10 a 46,07 % y cenizas (5,07 a 7,07%). Según Rizwan et al. (2018) ostentan que el alto contenido de proteínas y lípidos de microalgas es una gran fuente potencial para la nutrición humana y animal, además el contenido de lípidos usualmente lo utilizan para biocombustibles. Por su parte (Wang et al., 2024) indican que las proteínas de *Nitzschia palea* desempeña la facilitación de producción de acetites o lípidos, garantizándola en unas alternativas energéticas de origen natural y de bajo impacto ambiental. Adicionalmente, Espinoza et al. (2017) revelan que en grupos de carbohidratos se presenta  $\beta$ -glucanos, los más reconocidos es el paramilón, el cual se encuentra en euglenoides y la crisolaminarina, localizada en diatomeas, lo que representa interés en producción de nutraceuticos. Por consiguiente, (Hernández & Labbé., 2014) manifiestan que las cenizas de microalgas también se consideran como tierra de diatomeas, de hecho, tiene varios usos como medio de filtración en la industria química, inclusive se utiliza en filtros y acuarios para descartar partículas y microorganismos del agua, formando parte de un insecticida de origen natural.

Los compuestos que se analizó en *Nitzschia sp.*, resalta el potencial que tiene como una fuente valiosa de proteínas, carbohidratos, lípidos y otros componentes

bioactivos con aplicaciones que van desde la terapéutica hasta la producción de biocombustibles y nanotecnología. En Ecuador, debido a que es conocido como uno de los principales productores y exportadores de camarón a nivel mundial, la microalga *Nitzschia sp* por su alto nivel proteico, podría incorporarse como alimento en estos ejemplares, beneficiando al sector acuícola. Además, en producción de biodiesel, estableciéndose como una aplicación relevante. En industrias Cosmética y farmacéutica, podría ser de suma importancia por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y reguladoras del sistema inmune, fortaleciendo la salud humana en el país. Y para finalizar, *Nitzschia sp* es una oportunidad de implementación en procesos de biorremediación y tratamiento de agua, debido a su capacidad de absorber nutrientes y contaminantes.

## CONCLUSIONES

- En síntesis, en el estudio se utilizó la cepa la cepa PM020 de la diatomea *Nitzschia sp* para establecer la comparación de ensayos por triplicado empleando el medio Guillard F/2 y Conway. En relación a la cinética de crecimiento se utilizaron dos métodos: Densidad óptica y conteo celular por Sedgewick Rafter, a través de los resultados se reflejó una mayor densidad celular en Guillard F/2 en su fase logarítmica alcanzando 20.973.846 cél/mL, mientras que Conway demostró 17.912.224 cél/mL, a su vez la tasa de crecimiento también favoreció al medio Guillard F/2 con 1,40 frente al Conway 1,39, adicionalmente la productividad de biomasa se obtuvo valores inferiores en Guillard F/2 con 0,08 g/L\*día en contraste con Conway 0,05 g/L\*día, en definitiva, el medio Guillard F/2 está elaborado para generar mayores niveles de densidad y productividad.
- En términos de composición bioquímica, se observaron diferencias notables entre los dos medios. Por tal razón, el medio Conway promovió mayor concentración de proteínas y grasas, esto se debe a que esté medio contiene en su receta cantidades más elevadas en nitrógeno, fósforo y silicato, sin embargo, el medio Guillard F/2 benefició las concentraciones de cenizas y carbohidratos debido a su composición rica en metales traza.
- Es imprescindible, reconocer que los compuestos que tiene *Nitzschia sp*, han destacado atención en la comunidad científica, por su amplia variedad en la aplicación biotecnológica. Puesto que han revelado, ser importantes nanotransportadores en el suministro de sustancia terapéuticas proyectando

efectos beneficiosos en la reparación de tejidos. De forma, complementaria también exponen que funciona como una potente actividad antibacteriana y antiviral. En última instancia, es una microalga que posee rasgos sumamente distintivos en el ámbito farmacéutico, nutracéutico, cosmético y agrícola aportando gran significancia en la industria y sociedad.

## RECOMENDACIONES

- Considerar la aplicación de técnicas analíticas más avanzadas, como espectrometría de masas, cromatografía de gases-masas o cromatografía líquida de alta resolución, para profundizar en la identificación y cuantificación de compuestos bioquímicos específicos.
- Explorar las posibles actividades biológicas, farmacológicas o nutracéuticas de los compuestos bioquímicos presentes en *Nitzschia sp* cultivada en los diferentes medios, a través de ensayos in vitro o in vivo, según corresponda.
- Realizar estudios de mercado y análisis de viabilidad para determinar la demanda potencial y las oportunidades comerciales de los compuestos bioquímicos o productos derivados de *Nitzschia sp* cultivada en los diferentes medios.

## BIBLIOGRAFÍA

Abalde, J., Cid, A., Fidalgo Paredes, P., Torres, E., Herrero, C. (1995).

Microalgas: cultivo y aplicaciones. A Coruña: Universidade, Servizo de Publicacións. ISBN: 978-84-97497-69-5. DOI:  
<https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>

Agudelo I. (2015). Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. ResearchGate, 161-174. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/288180597\\_Metodos\\_empleados\\_en\\_el\\_analisis\\_de\\_los\\_polifenoles\\_en\\_un\\_laboratorio\\_de\\_baja\\_complejidad](https://www.researchgate.net/publication/288180597_Metodos_empleados_en_el_analisis_de_los_polifenoles_en_un_laboratorio_de_baja_complejidad)

Amorim, M. L., Soares, J., Coimbra, J. S. dos R., Leite, M. de O., Albino, L. F. T., & Martins, M. A. (2020). Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–27.  
doi:10.1080/10408398.2020.1768046

Antolinez A. & Axosta J. (2022). Estudio experimental de los requerimientos energéticos en la separación de biomásas de la microalga utilizadas en el tratamiento de aguas residuales por método de centrifugación. Universidad Autónoma de Budaramanga, 18. Obtenido de [https://repository.unab.edu.co/bitstream/handle/20.500.12749/16879/2022\\_Tesis\\_Antonio\\_Antolinez.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.unab.edu.co/bitstream/handle/20.500.12749/16879/2022_Tesis_Antonio_Antolinez.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Aravind, S., Barik, D., Ragupathi, P., & Vignesh, G. (2021). Investigation on algae oil extraction from algae *Spirogyra* by Soxhlet extraction method. *Materials Today: Proceedings*, 43, 308–313. doi: 10.1016/j.matpr.2020.11.668

- Arredondo, B., Voltolina, D., Zenteno, T., Arce, M., & Gómez, G. (2017). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal, 2° ed., La Paz, BCS, México: Centro de investigación biológicas del Noroeste.
- Ashour, Mohamed & K, Abd. (2017). Enhance Growth and Biochemical Composition of *Nannochloropsis oceanica*, Cultured under Nutrient Limitation, Using Commercial Agricultural Fertilizers. *Journal of Marine Science: Research & Development*. 07. 10.4172/2155-9910.1000233.
- Ayaz, F., Eker-Develi, E., & Sahin, M. (2018). First report of *Nitzschia navis-varingica* in the Mediterranean Sea and growth stimulatory effects of *Nitzschia navis-varingica*, *Chrysochromulina alifera* and *Heterocapsa pygmaea* on different mammalian cell types. *Molecular Biology Reports*, 45(4), 571-579. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4195-7>
- Ayaz, F. (2019). Immunostimulatory and Immunomodulatory Effects of *Nitzschia navis-varingica*, *Heterocapsa pygmaea* and *Chrysochromulina alifera* Whole Cell Extracts on Mammalian Macrophage Cells. *Natural And Engineering Sciences*, 4(3), 237-246. <https://doi.org/10.28978/nesciences.646206>
- Barsanti, L., Birindelli, L., & Gualtieri, P. (2022). Paramylon and Other Bioactive Molecules in Micro and Macroalgae. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(15), 8301. <https://doi.org/10.3390/ijms23158301>
- Basantez A., Bombón E., Castro J., & Oñate F. (2020). Determinación de Proteínas Por El Método de BCA. *SCRIBD*, 1-9. Obtenido de

<https://es.scribd.com/document/465859272/Determinacion-de-proteinas-por-el-metodo-de-BCA-1>

Bertozzini E., G. L. (2013). Neutral lipid content and biomass production in *Skeletonema marinoi* (Bacillariophyceae) culture in response to nitrate limitation. *Springer Link*, 1624-1636.

Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-013-0290-3>

Bertozzini, E., Galluzzi, L., Ricci, F., Penna, A., & Magnani, M. (2013). Neutral Lipid Content and Biomass Production in *Skeletonema marinoi* (Bacillariophyceae) Culture in Response to Nitrate Limitation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(7), 1624–1636. doi:10.1007/s12010-013-0290-3

Bi, R., Cao, Z., Ismar-Rebitz, S. M. H., Sommer, U., Zhang, H., Ding, Y., & Zhao, M. (2021). Responses of Marine Diatom-Dinoflagellate Competition to Multiple Environmental Drivers: Abundance, Elemental, and Biochemical Aspects. *Frontiers In Microbiology*, 12.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.731786>

Blanco Lanza, S., Álvarez Blanco, I., Cejudo Figueiras, C., Bécares Mantecón, E., Ector, L., García Asenjo, C., Seisedos Fidalgo, P., Hernández García, N., & Rodríguez Muñoz, I. (2011). Guía de las diatomeas de la Cuenca del Duero. <http://hdl.handle.net/10612/7009>

Borowitzka M.A. (2013). High-value products from microalgae—their development and commercialisation. *Springer Link*, 743-756.

Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-013->

9983-9

Bozarth, A., Maier, U.-G., & Zauner, S. (2008). Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(2), 195–201. doi:10.1007/s00253-008-1804-8

Brown, M.R, Jeffrey, S.W., Garland, C.D. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture, a literature review. CSIRO Marine Laboratories, Hobart. 49 pp.

Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Dunstan, G. A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1-4), 315-331

Bueno, G., Deniz, O., Pedraza, A., Ruiz-Santaquiteria, J., Salido, J., Cristóbal, G., Blanco, S. (2017). Automated Diatom Classification (Part A): Handcrafted Feature Approaches. *Applied Sciences*, 7(8), 753. doi:10.3390/app7080753

Castro, P. (2024). “Uso de diatomeas epífitas de la laguna Limoncocha, Provincia de Sucumbíos, Ecuador como Bioindicadores de Calidad de Agua”. Universidad Sek. Chrome extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/5235/1/Castro%20Erazo%20Paul%20Alexander%20.pdf

Cerna, Ernesto & Ochoa-Fuentes, Yisa & Mendoza, R & Badii, MH & Gallegos, G & Landeros, J. (2010). Evaluación de métodos de cuantificación de proteínas en

*Tetranychus urticae* para su uso potencial en la detección de resistencia a plaguicidas. 79. 147-152.

Cervantes-Urieta, Víctor A., Pérez-Castro, Donaciano, Galeana-Parra, María A.,  
Ramírez-Fuentes, Eustacio, & Trujillo-Tapia, Ma. Nieves. (2020).

Cultivo y composición bioquímica de diatomeas marinas

(Bacillariophyta) de la Bahía de Santa Lucía, Acapulco, México.

Gayana. Botánica, 77(1), 11-22. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432020000100011>

Coêlho et al. (2013). Growth of the microalgae *Tetraselmis tetraele* and nitrate depletion in culture medium Guillard f/2 and Conway. *Universidade Estadual de Maringá de Brasil*, 3. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1871/187126298004.pdf>

Cointet, E., Wielgosz-Collin, G., Méléder, V., & Gonçalves, O. (2019). Lipids in benthic diatoms: A new suitable screening procedure. *Algal Research*, 39, 101-125. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101425>

Coulson Reinel, J. P., Torres Virviescas, M. J. Henao Castro, A. y Díaz Páramo, G. X. Mutis. (2022). Evaluación del potencial de cultivo de cuatro especies microalgales nativas del departamento de Bolívar, Colombia <https://doi.org/10.21789/22561498>. 1821

De Jaeger, L., Verbeek, R. E., Draaisma, R. B., Martens, D. E., Springer, J., Eggink, G., & Wijffels, R. H. (2014). Superior triacylglycerol (TAG) accumulation instarchless mutants of *Scenedesmus obliquus*: (I) mutant generation and characterization. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 69. doi:10.1186/1754-6834-

- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956).  
Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances.  
*Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. doi:10.1021/ac60111a017
- Encinas-Arzate, J. J., Marquez-Ríos, E., López-Elías, J. A., Torres-Areola, W.,  
Huerta-Ocampo, J. Á., & Ramírez-Suárez, J. C. (2020). Effect of the  
deficiency of nitrate and silicate on the growth and composition of the  
benthic diatom *Navicula incerta*. *Latin american journal of aquatic  
research*, 48(2), 280-286.
- Espinoza-Gallardo, D., Contreras-Porcía, L., & Ehrenfeld, N. (2017).  $\beta$ -glucanos,  
su producción y propiedades en microalgas con énfasis en el género  
*Nannochloropsis* (Ochrophyta, Eustigmatales). *Revista de Biología  
Marina y Oceanografía*, 52(1), 33-49. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572017000100003>
- Fadillah, S. N., Natsir, H., Ahmad, A., Karim, A., Taba, P., & Fadillah, S. N. (2022).  
Extraction and Fractionation of Active Protein from Microalgae *Nitzschia* sp. as  
Antimicrobial Agent. *Egyptian Journal Of Chemistry*, 6(6), 95-100.  
<https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.151334.6557>
- Faé et al. (2018). Carotenoid production by the marine microalgae  
*Nannochloropsis oculata* in different low-cost culture media. *Aquaculture  
Research*, 2527–2535. Obtenido de  
[https://www.researchgate.net/publication/325174557\\_Carotenoid\\_production\\_by\\_the\\_marine\\_microalgae\\_Nannochloropsis\\_oculata\\_in\\_different\\_low-cost\\_culture\\_media](https://www.researchgate.net/publication/325174557_Carotenoid_production_by_the_marine_microalgae_Nannochloropsis_oculata_in_different_low-cost_culture_media)

- Fisher, NL, Campbell, DA, Hughes, DJ, Kuzhiumparambil, U., Halsey, KH, Ralph, PJ, et al. (2020). Divergencia de estrategias fotosintéticas entre diatomeas marinas. *Más uno* 15: e0244252. doi: 10.1371/journal.pone.0244252
- Flores R. & Ruiz S. (2017). Implementación de una metodología analítica para la cuantificación de proteínas en la microalga *Arthrospira platensis*. *Scielo Perú*, 371-380. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n4/a02v83n4.pdf>
- Fu, H. Xic, S. Ma, X. Zhu, G. Fan y S. Pan (2022). Ebaluation of antioxidant activities of principal carotenoids available in wáter spinach (*Ipomoca aquativa*). *Jurnal of Food Composition and Analysis* 24(2): 288-297, doi: 10.1016/j.jfca.2010.08.007.
- Gao, Y., Yang, M., & Wang, C. (2013). Nutrient deprivation enhances lipid content in marine microalgae. *Bioresource Technology*, 147, 484–491. doi:10.1016/j.biortech.2013.08.06
- Griffiths, M.J., van Hille, R.P. & Harrison, S.T.L. Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. *J Appl Phycol* 24, 989–1001 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9723-y>
- Gruber, A., & Kroth, P. G. (2017). Intracellular metabolic pathway distribution in diatoms and tools for genome-enabled experimental diatom research. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1728), 20160402.

doi:10.1098/rstb.2016.0402

Grubišić, M., Šantek, B., Kuzmić, M., Čož-Rakovac, R., & Šantek, M. I.

(2024). Enhancement of Biomass Production of Diatom *Nitzschia* sp. S5 through Optimisation of Growth Medium Composition and Fed-Batch Cultivation. *Marine Drugs*, 22(1), 46.

<https://doi.org/10.3390/md22010046>

Guerra et al. (2012). Alternativa de biofertilizante como medio de cultivo para el crecimiento poblacional de dos microalgas marinas empleadas en la camaronicultura. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 4. Obtenido de

<https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/5708/Missael.pdf?sequence=1&isAlowed=y>

Guillard, R. R. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates.

*Biology Department, Woods Hole Oceanographic Institution*, 21-22.

doi:10.1007/978-1-4615-8714-9\_3

Guo, B., Zhou, Y., Liu, B., He, Y., Chen, F., & Cheng, K. (2021). Lipid-

Lowering Bioactivity of Microalga *Nitzschia laevis* Extract Containing Fucoxanthin in Murine Model and Carcinomic Hepatocytes.

*Pharmaceuticals*, 14(10), 1004. <https://doi.org/10.3390/ph14101004>

Harith, K. (2009). Antibacterial activity of diatom *Nitzschia palea* (Kuetz.) W.

Sm extract. *Iraqi Journal of Biotechnology*, 8(2), 562-566

Harwood, D. M., & Nikolaev, V. A. (1995). Cretaceous Diatoms:

Morphology, Taxonomy, Biostratigraphy. *Short Courses in*

Paleontology, 8, 81–106. doi:10.1017/s2475263000001434

Hernández-Pérez, Alexis, & Labbé, José I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios.

Revista de biología marina y oceanografía, 49(2), 157-173.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>

Hernández-Urcera, J., Romero, A., Cruz, P., Vasconcelos, V., Figueras, A.,

Novoa, B., & Rodríguez, F. (2024). Screening of Microalgae for

Bioactivity with Antiviral, Antibacterial, Anti-Inflammatory and Anti-

Cancer Assays. Biology, 13(4), 255.

<https://doi.org/10.3390/biology13040255>

Hinzpeter, I., Masson, L., & Shene, C (2006). Alternativas biotecnológicas

para la producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Grasas y

Aceites. Dialnet, 336-342. Obtenido de

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2147961#:~:text=Fuentes>

%20 alternativas%20para%20la%20producci%C3%B3n,

cepas%20y%20condiciones %20de%20fermentaci%C3%B3n.

Invemar. (2017). Evaluación de organismos marinos con potencial bioactivo.

*Informe Técnico Final BPIN-2017*, 4-5. Obtenido de

[http://cinto.invemar.org.co/alfresco/d/d/workspace/SpacesStore/d6f5a11b-](http://cinto.invemar.org.co/alfresco/d/d/workspace/SpacesStore/d6f5a11b-8c40-4154-80b7-c1476de1240c/Algas0-11%20(Copia%20de%20trabajo).pdf?ticket=TICKET_d952b0faa548708ab5c3d994c198e8a1edfcd526)

8c40- 4154-80b7-c1476de1240c/Algas0-

11%20(Copia%20de%20trabajo).pdf?ticket=TICKET\_d952b0faa548708ab

5c3d994c198e8a1edfcd526

Jiang, Y., Laverty, K. S., Brown, J., Brown, L., Chagoya, J., Burow, M., &

Quigg, A. (2015b). Effect of silicate limitation on growth, cell

composition, and lipid production of three native diatoms to Southwest Texas desert. *Journal of Applied Phycology*, 27, 1433-1442.

Jónasdóttir, S.H. Fatty Acid Profiles and Production in Marine Phytoplankton.

*Mar. Drugs* 2019, 17, 151. <https://doi.org/10.3390/md17030151>

Khan, A. R., Pervez, M. T., Babar, M. E., Naveed, N., & Shoaib, M. (2018). A Comprehensive Study of De Novo Genome Assemblers: Current Challenges and Future Prospective. *Evolutionary Bioinformatics*, 14, 117693431875865. doi:10.1177/1176934318758650

Khatoon, H., Banerjee, S., Syakir Syahiran, M., Mat Noordin, N. B., Munafi Ambok Bolong, A., & Endut, A. (2016). Re-use of aquaculture wastewater in cultivating microalgae as live feed for aquaculture organisms. *Desalination and Water Treatment*, 57(60), 29295–29302. doi:10.1080/19443994.2016.1156030

Kirk et al. (1996). *Composición y análisis de alimentos de Pearson*. México: 2, reimpresión. ¿Obtenido de [https://books.google.com.ec/books/about/Composici%C3%B3n\\_y\\_an%C3%A1lisis\\_de\\_los\\_alimento.html?hl=es&id=HYTWPgAACAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Composici%C3%B3n_y_an%C3%A1lisis_de_los_alimento.html?hl=es&id=HYTWPgAACAAJ&redir_esc=y)

Kholssi, R., Riouchi, O., Douhri, H., & Debdoubi, A. (2023). Microalgae as a sustainable energy source: Growth and lipids production of *Nitzschia* sp., *Nannochloropsis* sp., and *Tetraselmis* sp. from Mediterranean seawater. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 50, 102720. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102720>

- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Venkateswarlu, K., Lee, Y. B., Naidu, R., & Megharaj, M. (2017). Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soils: Technological constraints, emerging trends and future directions. *Chemosphere*, 168, 944–968.  
doi:10.1016/j.chemosphere.2016.10
- Lakshmegowda, S. B., Rajesh, S. K., Kandikattu, H. K., Nallamuthu, I., & Khanum, F. (2020). In Vitro and In Vivo Studies on Hexane Fraction of *Nitzschia palea*, a Freshwater Diatom for Oxidative Damage Protective and Anti-inflammatory Response. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 30(2), 189-201. <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00008-6>
- Lema, M. A. (2017). Uso de microalgas endèmicas del ecuador (*Chlorella* sp, biotipo 3) en la biocumulaciòn de insecticidas a nivel del laboratorio. Universidad de las Fuerzas Armadas, 37. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/14471>
- Lobo, E. A., Heinrich, C. G., Schuch, M., Wetzel, C. E., & Ector, L. (2016). Diatoms as Bioindicators in Rivers. In *River Algae* (pp. 245–271). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31984-1\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31984-1_11)
- Liu, K. (2019). Effects of sample size, dry ashing temperature and duration on determination of ash content in algae and other biomass. *Algal Research*, 40, 101486. doi: 10.1016/j.algal.2019.101486
- López-Legarda, Xiomara & Taramuel-Gallardo, Andony & Arboleda-Echavarría, Carolina & Segura Sánchez, Freimar & Restrepo-Betancur, Luis. (2017). Comparison of methods using sulfuric acid for determination of total

sugars. 29. 180-198.

Lourenço, S. O., Marquez, U. M. L., Mancini-Filho, J., Barbarino, E., & Aida, E. (1997). Changes in biochemical profile of *Tetraselmis gracilis* I. Comparison of two culture media. *Aquaculture*, 148(2-3), 153–168. doi:10.1016/s0044- 8486(96)01416-0

Ma, R., You, Y., Liu, X., Ho, S., Xie, Y., & Chen, J. (2023). Highly efficient co-production of fucoxanthin and eicosapentaenoic acid by heterotrophic cultivation of a newly isolated microalga *Nitzschia* sp. FZU62. *Algal Research*, 71, 103046. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103046>

Madigan, M.T., J.M., (2015). Martinko, K.S. Bender, D.H., Buckley & D.A., STAHL.- Brock. *Biología de los Microorganismos* (14 Ed.). Pearson, Boston, USA. pp.1200.

Maeda, Y., Nojima, D., Yoshino, T., & Tanaka, T. (2017). Structure and properties of oil bodies in diatoms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1728), 20160408. doi:10.1098/rstb.2016.0408

Malakootian et al. (2015). Optimization of culture media for lipid production by *Nannochloropsis oculata* for Biodiesel production. *Environmental Health Engineering and Management Journal*, 141- 145. Obtenido de [https://applications.emro.who.int/imemrf/Environ\\_Health\\_Eng\\_Manag\\_J/Environ\\_Health\\_Eng\\_Manag\\_J\\_2015\\_2\\_3\\_141\\_147.pdf](https://applications.emro.who.int/imemrf/Environ_Health_Eng_Manag_J/Environ_Health_Eng_Manag_J_2015_2_3_141_147.pdf)

Maltsev, Y., Kulikovskiy, M., & Maltseva, S. (2023). Nitrogen and phosphorus stress as a tool to induce lipid production in microalgae. *Microbial Cell*

Factories, 22(1), 239.

Mao, X., Chen, S. H. Y., Lu, X., Yu, J., & Liu, B. (2020). High silicate concentration facilitates fucoxanthin and eicosapentaenoic acid (EPA) production under heterotrophic condition in the marine diatom *Nitzschia laevis*. *Algal Research*, 52, 102086.  
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102086>

Marion M. Bradford. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. University of Georgia, 2-3. Obtenido de  
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Mckee, T., Mckee, J. 2014. Bioquímica. Las bases moleculares de la vida (5ta ed). McGRAW-HILL, México DF. 773 pp.

Mercado et al. (2004). Blue light effect on growth, light absorption characteristics and photosynthesis of five benthic diatom strains. *Elsevier*, 4.  
doi:10.1016/j.aquabot.2003.11.004

Mohd Apandi, N., Muhamad, M. S., Radin Mohamed, R. M. S., Mohamed Sunar, N., Al-Gheethi, A., Gani, P., & A Rahman, F. (2021). Optimizing of microalgae *Scenedesmus* sp. biomass production in wet market wastewater using response surface methodology. *Sustainability*, 13(4), 2216.

Montalvão, S., Demirel, Z., Devi, P., Lombardi, V., Hongisto, V., Perälä, M., Hattara, J., Imamoglu, E., Tilvi, S. S., Turan, G., Dalay, M. C., & Tammela, P. (2016). Large-scale bioprospecting of cyanobacteria,

micro- and macroalgae from the Aegean Sea. *New Biotechnology*, 33(3), 399-406. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.02.002>

Mooij et al. (2016). Influence of silicate on enrichment of highly productive microalgae from a mixed culture. *Journal of Applied Phycology*, 1453–1457. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-015-0678-2>

Moreno, B. A. (2021). Efecto de la irradiancia en la composición bioquímica de las diatomeas *Amphora helenensis* y *Nitzschia thermalis* f. *curta*. *Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California*, 29. Obtenido de <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3616>

Munir, N., Rafique, M., Altaf, I., Sharif, N. & Naz, S. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from selected algal species. *Bangladesh J. Bot.* 47(1): 53-61

Murphy, D. J. (2011). The dynamic roles of intracellular lipid droplets: from archaea to mammals. *Protoplasma*, 249(3), 541–585. doi:10.1007/s00709-011-0329-7

Nájera-Arce, C., Álvarez-Fitz, P., Pérez-Castro, D., Toribio-Jiménez, J., & Castro-Alarcón, N. (2018). Actividad antibacteriana de diatomeas marinas aisladas de Acapulco, Guerrero, México. *Revista De Biología Marina Y Oceanografía*, 53(2), 195–207. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2018.53.2.1293>

Núñez-Zarco, E., & Sánchez-Saavedra, M. D. P. (2011). Cold storage of six marine benthic diatoms native to the Mexico Pacific Coast. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(4), 530-538.

- Paliwal, C., Mitra, M., Bhayani, K., Bharadwaj, S. V. V., Ghosh, T., Dubey, S., & Mishra, S. (2017). Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. *Bioresour. Technol.*, 244(Pt 2), 1216–1226. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.058>
- Pavón J., Agurto A., Pinto C., & Agurto C. (2021). Current analytical techniques for the characterization of lipophilic bioactive compounds from microalgae extracts. *ScienceDirect*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096195342100115X>
- Phwan, C. K., Chew, K. W., Sebayang, A. H., Ong, H. C., Ling, T. C., Malek, M. A., Ho, Y. C., & Show, P. L. (2019). Effects of acids pre-treatment on the microbial fermentation process for bioethanol production from microalgae. *Biotechnology for biofuels*, 12, 191. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1533-5>
- Prestegard, S. K., Oftedal, L., Coyne, R. T., Nygaard, G., Skjærven, K. H., Knutsen, G., Døskeland, S. O., & Herfindal, L. (2009). Marine Benthic Diatoms Contain Compounds Able to Induce Leukemia Cell Death and Modulate Blood Platelet Activity. *Marine Drugs*, 7(4), 605-623. <https://doi.org/10.3390/md7040605>
- Rabiee, N., Khatami, M., Jamalipour Soufi, G., Fatahi, Y., Iravani, S., & Varma, R. S. (2021). Diatoms with Invaluable Applications in Nanotechnology, Biotechnology, and Biomedicine: Recent Advances. *ACS. Biomaterials Science & Engineering*, 7(7), 3053–3068. doi:10.1021/acsbomaterials.1c0075
- Ricardo Moreno J. Dante Medina C. y Helena Alvarracín V. (2012). Aspectos ecológicos y metodológicos del muestreo, identificación y cuantificación

de cianobacterias y microalgas eucariotas. *Reduca (Biología)*, 10-11.

Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/158838199.pdf>

Rinawati M. Sari & Pursetyo. (2020). Chlorophyll and carotenoids analysis spectrophotometer using method on microalgae. *Earth and Environmental Science*. Obtenido de <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/441/1/012056/meta>

Rodríguez-Gámez, O., Vilasó-Cadre, J. E., Aguilera-Rodríguez, I., Pérez-Silva, R. M., & Ábalos-Rodríguez, A. (2013). Validación por verificación del método colorimétrico de la antrona para la cuantificación de ramnolípidos. *Revista Cubana de Química*, XXV(3), 287-294.

Ruiz-Güereca, D. A., Licea-Navarro, A. F., & Del Pilar Sánchez-Saavedra, M. (2019). Evaluation of antimycobacterial activity from marine and freshwater microalgae. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 54(1), 82-90. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.1.1544>

Sahena, F., Zaidul, I.S. M., Jinap, S., Saari, N., Jahurul, H. A., Abbas, K.A., Norulaini, N.A. 2009. PUFAs in fish: Extraction, fractionation, importance in health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 59–74.

Sanniyasi, E., Patrick, A. P. R., Rajagopalan, K., Gopal, R. K., & Damodharan, R. (2022). Characterization and in vitro anticancer potential of exopolysaccharide extracted from a freshwater diatom *Nitzschia palea* (Kütz.) W.Sm. 1856. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24662-z>

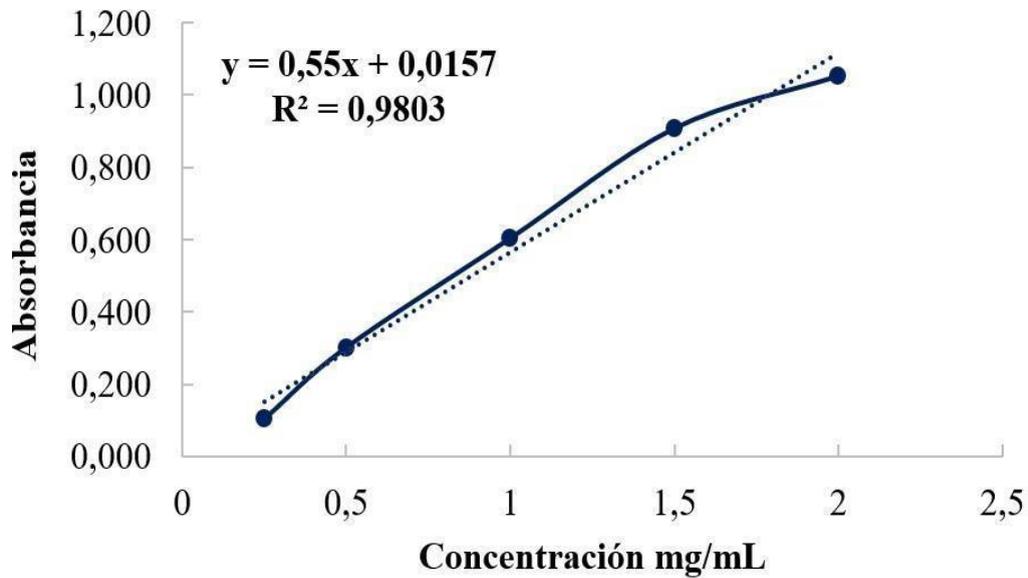
Shafreen, R.B., Seema, S., Ahamed, A.P. et al. (2017). Efecto inhibitorio de las nanopartículas de plata biosintetizadas de extracto de *Nitzschia palea* Contra el biofilm mediado por Curli de *Escherichia coli*. *Bioquímica Aplicada y*

- Biotecnología, 183, 1351-1361 Sharma, K.K.; Schuhmann, H.; Schenk, P.M.  
High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. *Energies* 2012,  
5, 1532-1553. <https://doi.org/10.3390/en5051532>
- Siaut, M., Heijde, M., Mangogna, M., Montsant, A., Coesel, S., Allen, A., Bowler, C.  
(2007). Molecular toolbox for studying diatom biology in *Phaeodactylum*  
*tricornutum*. *Gene*, 406(1-2), 23–35. doi:10.1016/j.gene.2007.05.022
- Singh, P. K., Saxena, A., Tyagi, R., Sindhu, R., Binod, P., & Tiwari, A. (2023).  
Biomass valorization of agriculture wastewater grown freshwater diatom  
*Nitzschia* sp. for metabolites, antibacterial activity, and biofertilizer.  
*Bioresource Technology*, 377.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128976>
- Smith, SR, Dupont, CL, McCarthy, JK, Broddrick, JT, Obornik, M., Horak, A., et  
al. (2019). Evolución y regulación del flujo de nitrógeno a través de redes  
metabólicas compartimentadas en una diatomea marina. *Nat.*  
*Comunitario*. 10:4552. doi: 10.1038/s41467-019-12407-
- Stiawan E. (2022). Evaluation of The Biochemical Contents in Guillard f/2 and  
Walne Growth Medium to Fulfill the Animal-Free Aspects of Microalgal  
Bioprocessing. *ORCID*, 20. Obtenido de  
<https://journal.solusiriset.com/index.php/ijcs/article/view/16>
- Subía S. & Rubio J. (2018). Evaluación de biomasa de microalgas de la laguna  
Limoncocha como materia prima para la obtención de biocombustibles.  
*Scielo*, 1. Obtenido de  
<http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?pid=S1390->

65422018000200106&script=sci\_arttext

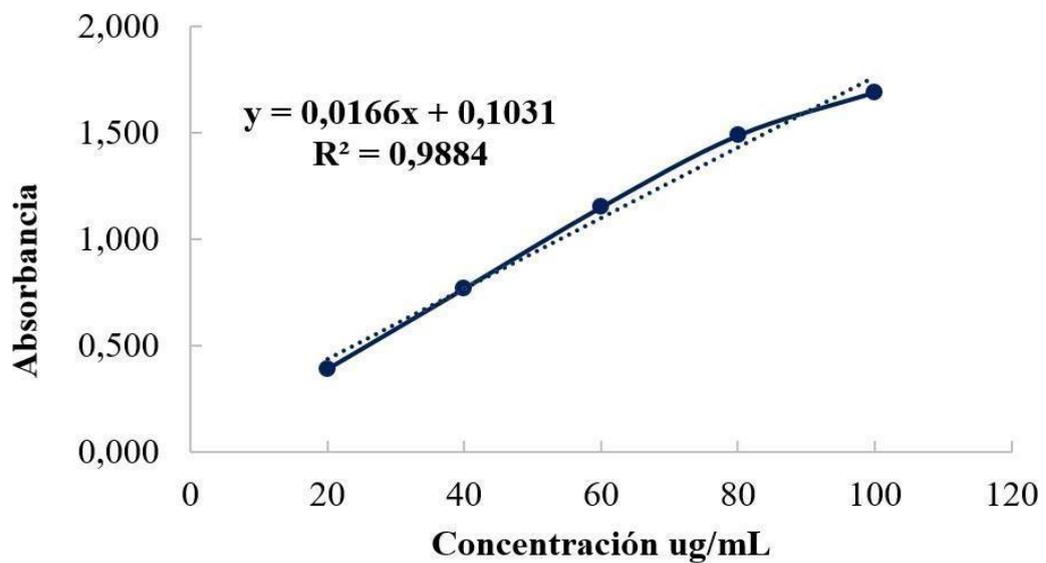
- Taboada, M. de los Á., Martínez De Marco, S. N., Bustos, M. S., & Tracanna, B. (2018). Nuevos registros de Bacillariophyceae en ecosistemas lóticos del Noroeste de Argentina II. *Lilloa*, 55(1), 81–97.  
<https://doi.org/10.30550/j.lil/2018.55.1/7>
- Taiz, L., Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*. (3rd ed). Sinauer Associates, Massachusetts. 690 pp.
- Vázquez-Jorge, Y. G., Guerra-Molina, L., Quintana-Tamayo, J. F., Ramírez-Arzuaga, J., Fernando-Ballesteros, R., & Vázquez-Jorge, Y. (2014). Caracterización físicoquímica y contenido de proteínas de extractos fluidos del ostión de mangle (*Crassostrea rizophorae*). *Revista Cubana de Química*, XXVI(1), 66-74.
- Wang, X., Meng, X., Dong, Y. et al. Differential protein analysis of saline-alkali promoting the oil accumulation in *Nitzschia palea*. *Biotechnol Biofuels* 17, 11 (2024). <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02451-8>
- Wiktorowska-Owczarek, A., Berezińska, M., Nowak, J.Z. 2015. PUFAs: Structures, metabolism and functions. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 24(6), 931–941.
- Yalçın Duygu D. 2019. Determination of Growth Kinetics and Biochemical Composition of *Nitzschia palea* (Kützing) W.Smith Isolated from Freshwater Sources in Turkey. *Trakya Univ J Nat Sci*, 20(1): 63-70, DOI: 10.23902/trkjnat.498426

## ANEXOS



### Anexo 1.

*Curva patrón de proteínas con el método de Bradford. En relación de concentración mg/mL y absorbancias*



### Anexo 2.

*Curva patrón de carbohidratos con el método de Dubois. En relación de concentración  $\mu\text{g/mL}$  y absorbancia*

### Prueba T para muestras Independientes

Variable:Tasa de crecimiento especifico - Clasific:Medio - prueba:Bilateral

	Grupo 1	Grupo 2
	Conway	Guillard F/2
n	3	3
Media	1,39	1,40
Varianza	3,3E-07	1,9E-06
Media (1)-Media (2)	-0,01	
LI (95)	-0,02	
LS (95)	-0,01	
pHomVar	0,3049	
T	-16,52	
gl	4	
p-valor	0,0001	

### Anexo 3.

*Prueba t-Student aplicada en la tasa de crecimiento de Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2*

### Prueba T para muestras Independientes

Variable:Productividad de biomasa g/L\*dia - Clasific:Medio - prueba:Bilateral

	Grupo 1	Grupo 2
	Conway	Guillard F/2
n	3	3
Media	0,05	0,08
Varianza	2,3E-06	3,0E-06
Media (1)-Media (2)	-0,03	
LI (95)	-0,03	
LS (95)	-0,03	
pHomVar	0,8750	
T	-22,75	
gl	4	
p-valor	<0,0001	

### Anexo 4.

*Prueba t-Student aplicada en la productividad de biomasa de Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2*

### Prueba T para muestras Independientes

Variable:Carbohidratos (mg/g) - Clasific:Medio - prueba:Bilateral

	Grupo 1	Grupo 2
	Conway	Guillard F/2
n	3	3
Media	113,87	233,98
Varianza	0,28	0,43
Media (1) -Media (2)	-120,11	
LI (95)	-121,46	
LS (95)	-118,77	
pHomVar	0,7819	
T	-247,59	
gl	4	
p-valor	<0,0001	

#### Anexo 5.

*Prueba t-Student aplicada a la concentración de proteínas en Nitzschia sp en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2*

### Prueba T para muestras Independientes

Variable:Proteínas (mg/g) - Clasific:Medio - prueba:Bilateral

	Grupo 1	Grupo 2
	Conway	Guillard F/2
n	3	3
Media	360,02	305,80
Varianza	0,18	36,25
Media (1) -Media (2)	54,22	
LI (95)	39,22	
LS (95)	69,21	
pHomVar	0,0098	
T	15,56	
p-valor	0,0041	

#### Anexo 6

*Prueba t-Student aplicada a la concentración de carbohidratos en Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2*

### Prueba T para muestras Independientes

Variable:Grasas (mg/g) - Clasific:Medio - prueba:Bilateral

	Grupo 1	Grupo 2
	Conway	Guillard F/2
n	3	3
Media	460,67	371,00
Varianza	2,33	7,00
Media (1) -Media (2)	89,67	
LI (95)	84,77	
LS (95)	94,56	
pHomVar	0,5000	
T	50,84	
gl	4	
p-valor	<0,0001	

#### Anexo 7.

*Prueba t-Student aplicada a la concentración de grasas en Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2*

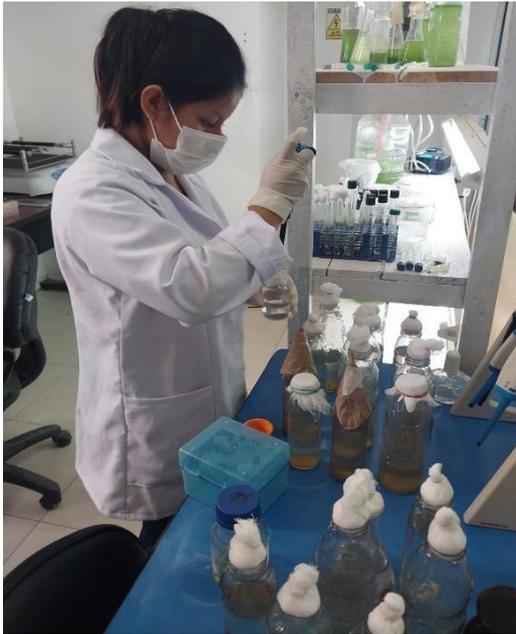
### Prueba T para muestras Independientes

Variable:Cenizas (mg/g) - Clasific:Medio - prueba:Bilateral

	Grupo 1	Grupo 2
	Conway	Guillard F/2
n	3	3
Media	50,67	70,67
Varianza	10,33	6,33
Media (1) -Media (2)	-20,00	
LI (95)	-26,54	
LS (95)	-13,46	
pHomVar	0,7600	
T	-8,49	
gl	4	
p-valor	0,0011	

#### Anexo 8.

*Prueba t-Student aplicada a la concentración de cenizas en Nitzschia sp. en dos medios de cultivo. Conway y Guillard F/2*



**Anexo 9.**  
*Fertilización de cultivos en Nitzschia sp.*



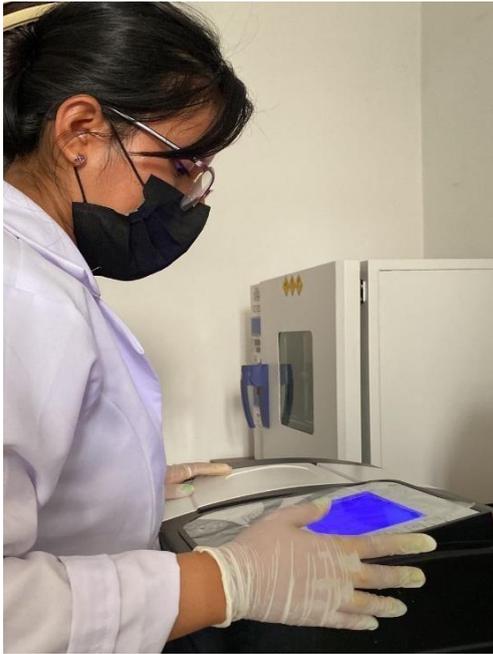
**Anexo 10.**  
*Colocación de acetona en método de Soxhlet.*



**Anexo 11.**  
*Representación del método Soxhlet.*

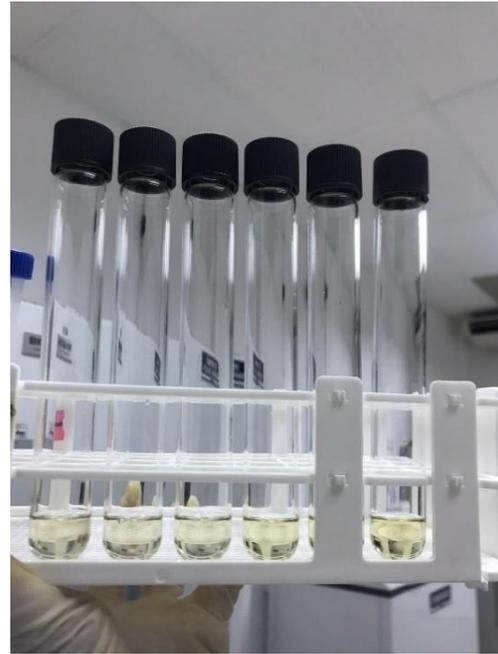


**Anexo 12.**  
*Uso de filtros para separar muestras en Nitzschia sp.*



**Anexo 13.**

*Utilización de espectrofotómetro.*



**Anexo 14.**

*Muestras de carbohidratos por el método de Dubois.*



**Anexo 15.**

*Trituración de biomasa en Nitzschia sp.*



**Anexo 16.**

*Proceso realizado por el método de Bradford.*



**Anexo 17.**  
*Estimación de peso seco.*



**Anexo 18.**  
*Ruptura celular térmica.*



**Anexo 19.**  
*Cosecha de Nitzshia sp.*



**Anexo 20.**  
*Preparación de reactivos en cámara de extracción de gases.*

**Anexo 21.**

*Descripción de compuestos bioquímicos en Nitzschia sp y sus aplicaciones biotecnológicas.*

<b>Compuesto químico</b>	<b>Aplicaciones biotecnológicas</b>	<b>Evidencia científica</b>	<b>Bibliografía</b>
Proteínas y polisacáridos	Potencial terapéutico, nanotecnología	Se estudió la actividad de nano transportadores (NPs) obtenidos a partir de la diatomea <i>Nitzschia sp</i> . Las proteínas y los polisacáridos de las diatomeas contribuyeron a la estabilización de los nano transportadores acopados con antibióticos (penicilina, estreptomicina) para la exhibición de potencial antibacteriano, reduciendo los iones de plata de los NPs, evitando posibles aglomeraciones o sedimentaciones.	(Rabiee et al., 2021)
Proteínas	Reparación de tejidos	Se estudió a la diatomea bentónica <i>Nitzschia navis-varingica</i> junto con el haptofito <i>Crisocromulina alifera</i> y el dinoflagelado <i>Heterocapsa pygmaea</i> aislados de la costa nororiental del mar Mediterráneo. Se investigaron sus actividades antitumorales	(Ayaz et al., 2018)

		contra el cáncer de mama y las líneas celulares de fibroblastos. Los extractos de algas no presentaron potencial citotóxico in vitro, pero estimularon el crecimiento en las células sin discriminación de tipo celular.	
Proteínas	Potencial terapéutico	Se estudiaron treinta y tres cepas cultivadas en idénticas condiciones. Se obtuvieron extractos que mostraron una actividad antiviral moderada contra rabdovirus (IP entre 90 y 50%) dinoflagelados y una diatomea del género <i>Nitzschia</i> . Además, los extractos de todas las diatomeas seleccionadas presentaron actividad solo contra el Gram (+). Los resultados negativos en todos estos ensayos evidenciaron la falta de actividad anticancerígena.	(Hernández et al., 2024).
Proteínas	Potencial terapéutico	Se aisló y fraccionó la proteína activa de las microalgas <i>Nitzschia sp</i> , para evaluar sus propiedades antibacterianas. <i>Nitzschia sp</i> . fue cultivado, luego centrifugado para separar su filtrado de la	(Fadillah et al., 2022)

		<p>biomasa. La composición de biomasa contiene 39.98% de proteína medida por el método Kjeldahl. Mediante el método de difusión en disco se obtuvo que varias fracciones de proteínas inhibieron el crecimiento de bacterias patógenas: <i>Salmonella typhi</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	
Proteínas	Potencial terapéutico	<p>Se analizó 98 muestras recolectadas del Mar Egeo. Extracto de etanol de diatomeas <i>Amphora cf capitellata</i>, mostró los resultados antimicrobianos más prometedores contra <i>Candida albicans</i> mientras que el extracto de diatomea <i>Nitzschia communis</i> mostró resultados efectivos contra la bacteria Grampositiva, <i>S. aureus</i>.</p>	(Montalvão et al., 2016)
Proteínas y lípidos	Potencial terapéutico y biofertilizante	<p>El cultivo de <i>Nitzschia sp.</i> exhibió densidad celular máxima (<math>12 \times 10^5</math> células <math>\text{ml}^{-1}</math>), contenido proteico (<math>10.0 \text{ mg g}^{-1}</math>), y lipídico contenido (14.96%). Tanto las bacterias gramnegativas como las grampositivas eran susceptibles a la actividad antibacteriana. Los efectos se evaluaron en el crecimiento de plantas de bígaro, mostró</p>	(Singh et al., 2023).

		mejoras significativas en el desarrollo de la hoja, ramificándose en una etapa temprana, floreciendo, y un marcado aumento en la longitud del disparo.	
Carbohidratos	Potencial terapéutico	Se aisló y caracterizó molecularmente la subunidad de ARNr 18S de <i>Nitzschia palea</i> y se envió a GenBank NCBI y el número de acceso recuperado como ON360983. El rendimiento total de exopolisacárido de <i>Nitzschia palea</i> se estimó en 1.56 mg en 100 ml de cultivo después de 7 días de incubación. Se obtuvo que el exopolisacárido posee actividad anticancerígena contra la línea celular de cáncer de pulmón del adenocarcinoma humano (IC <sub>50</sub> =62.64 µg/ml).	(Sanniyasi et al., 2022)
Lípidos	Potencial terapéutico	Se estudió la actividad del extracto de diatomea local <i>Nitzschia palea</i> contra bacterias. La diatomea se extrajo con acetón. Se registró una alta actividad de extracto crudo contra cepas grampositivas. Mientras que no se registró actividad contra	(Harith, 2009).

		gramnegativo, excepto las cepas estándar y patógenas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	
Compuestos volátiles	Potencial terapéutico y nutracéutico	En este estudio, el extracto de hexano de diatomeas de agua dulce, <i>Nitzschia palea</i> (Kützinger) W. Smith 1856 mostró prevención de daños por ADN y proteínas, y propiedades antihemolíticas que son comparables con los antioxidantes sintéticos estándar. Las propiedades antiinflamatorias mostraron la viabilidad celular de IC <sub>50</sub> 93.5 µg / ml con inhibición de citocinas inflamatorias como óxido nítrico, TNF-α, IL-6 y PGE2 en todas las dosis probadas.	(Lakshmegowda et al., 2020)
Lípidos	Suplemento nutracéutico	Se demostró potencial de producción de EPA en el género <i>Nitzschia</i> (especialmente <i>N. alba</i> y <i>N. laevis</i> ). Se informó que el contenido de aceite de <i>N. alba</i> era tan alto como el 50%, y la EPA comprendía el 4–5% del aceite. <i>N. laevis</i> podría utilizar glucosa o glutamato como un solo sustrato para el crecimiento heterotrófico, y el contenido celular de EPA del alga en	(Barsanti et al., 2022)

		condiciones heterotróficas también fue mayor que las condiciones fotoautotróficas, sugiriendo que esta diatomea es un buen productor heterotrófico de EPA.	
Lípidos	Nutracéutica	Se caracterizó la tasa total de lípidos dependía de especies y oscilaba entre 3.7% y 30.5% DW. Los resultados revelaron que cinco especies de diatomeas: <i>Ánfora sp.</i> NCC169, <i>Nitzschia sp.</i> NCC109, <i>Nitzschia alexandrina</i> NCC33, <i>Opéphora sp.</i> NCC366 y <i>Staurosira sp.</i> NCC182 presentó capacidades de crecimiento interesantes y debe investigarse más a fondo como fuentes potenciales para su tasa de lípidos original. NCC33, demostró potencial como fuente de lípidos.	(Cointet et al., 2019)
Proteínas	Potencial terapéutico y dermocosmético	Se observó un impacto antiinflamatorio significativo de los extractos celulares en el agua destilada. La capacidad de incluir estas especies en la dieta humana ofrece nuevas oportunidades en términos de aumentar la tolerancia a ciertos productos alimenticios	(Ayaz, 2019)

		alérgicos en pacientes con reacciones alérgicas, así como la enfermedad de inflamación intestinal. Además, estas especies se pueden usar en las cremas para las aplicaciones atópicas en la piel para prevenir alergias en la piel.	
Lípidos	Potencial terapéutico	Se evaluó el potencial antioxidante y antimicrobiano de los extractos de aceite de cuatro especies diferentes de algas ( <i>Oedogonium sp.</i> , <i>Nitzschia sp.</i> , <i>Stigeoclonium sp.</i> y <i>Ulothrix sp.</i> ). La actividad antibacteriana de todos los extractos etanólicos fue mayor contra las bacterias Gramnegativas en comparación con los extractos metanólicos.	(Munir et al., 2018)
Lípidos	Producción de biocombustible	Se investigó el crecimiento y el contenido de lípidos de comunes de microalgas <i>Nitzschia sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i> R.02 y <i>Tetraselmis sp.</i> Se observó que se obtuvo un máximo de contenido de lípidos para <i>Nannochloropsis sp.</i> (47.1 wt%) seguido de <i>Nitzschia sp.</i> (46.11 wt%),	(Kholssi et al., 2023)

		<i>Nannochloropsis sp.</i> R.02 (38.21 wt%) y <i>Tetraselmis sp.</i> (16.5 wt% ).	
Lípidos	Nutracéutico	Se estudio la microalga cepa <i>Nitzschia sp.</i> FZU62. El rendimiento heterotrófico se verificó en 5 L fermentador, lo que resulta en excelentes producciones de fucoxantina y EPA de 63.03 y 398.60 mg/L, y productividades de 3.41 y 22.52 mg/L/d, respectivamente. Los autores abordan que, especialmente la producción y productividad de la EPA son valores superiores a muchos informes de literatura.	(Ma et a., 2023)
Lípidos	Metabólica	Se investigaron los cambios fisiológicos y morfológicos de <i>Nitzschia laevis</i> bajo condición heterotrófica con diferentes concentraciones iniciales de silicato. El rendimiento de la EPA fue aproximadamente igual a ~ 70 mg/L. En respuesta al alto nivel de silicato, se observan cambios metabólicos extensos, entre el ciclo elevado de glucólisis y ácido tricarbóxico (TCA) que	(Mao et a., 2020)

		contribuirían la acumulación de fucoxantina y ácidos grasos al proporcionar precursores de carbono y energía adicionales.	
Proteínas y lípidos	Potencial terapéutico y nanotecnología	Se estudió la inhibición de la biopelícula formada por la producción de <i>Escherichia coli</i> utilizando nanopartículas de plata (AgNPs) sintetizadas con diatomeas de agua dulce ( <i>Nitzschia palea</i> ). En presencia de AgNP, la arquitectura de biopelícula se desintegró y el grosor se redujo significativamente. En general, el uso de AgNP es una alternativa para prevenir y controlar las infecciones del tracto urinario asociadas a biopelículas.	(Shafreen et al., 2017)
Ácidos nucleicos	Potencial terapéutico	Se estudiaron sustancias inductoras de muerte de células de mamíferos en diatomeas asociadas a biopelícula ( <i>Melosira</i> , <i>Ánfora</i> , <i>Feodactilo</i> y <i>Nitzschia</i> ). Se indicó que todos inducían la muerte celular de leucemia, con características apoptóticas o autofágicas clásicas. Diversos extractos también contenían inhibidores de la activación plaquetaria sanguínea inducida por	(Prestegard et al., 2009)

		trombina. Parte de esta actividad fue causada por un alto contenido de adenosina en las diatomeas.	
Carbohidratos	Potencial terapéutico	Se evaluó la actividad antimicobacteriana de extractos crudos en hexano de 6 microalgas, incluida <i>Nitzschia palea</i> . Todos los extractos hexánicos inhibieron al menos el 90% del crecimiento de <i>Mycobacterium tuberculosis H37Rv</i> a una concentración de 100 µg/ml. El extracto crudo hexánico de <i>I. galbana</i> presentó la mayor actividad antimicobacteriana, con un porcentaje de inhibición igual al del fármaco antituberculoso isoniazida y una concentración inhibitoria mínima de 50 µg/ml.	(Ruiz et al., 2019)
Lípidos	Potencial terapéutico	Se investigaron los efectos hipolipemiantes del extracto de <i>Nitzschia laevis</i> (NLE). Los resultados mostraron que NLE redujo significativamente la grasa inguinal y la esteatosis hepática atenuada en ratones C57BL/6J. NLE evitó la acumulación de lípidos en las células HepG2. Esto probablemente se debió a su	(Guo et al., 2021)

		capacidad para mejorar la función mitocondrial hepática, y reprimir la síntesis de ácidos grasos a través de la fosforilación de acetil-CoA carboxilasa.	
--	--	--	--