

Cultivo de cianobacterias

Aspectos prácticos



Diana Sofía Herazo-Cárdenas, Adriana Vallejo-Isaza, Daniela Vegliante-Arrieta, Yirlis Yadeth Pineda-Rodríguez, Alfredo Jarma-Orozco, Juan de Dios Jaraba-Navas, Antony Ricardo Ariza-González, Ana Isabel Pico-González.



Cultivo de cianobacterias: aspectos prácticos

CRÉDITOS

Jairo Torres Oviedo, Rector
Universidad de Córdoba

Oscar Arizmendi Martínez, Vicerrector
Vicerrectoría Académica

Davis Lujan, Vicerrector
Vicerrectoría de Investigación y Extensión

Elkin Lorenzo Rojas Mestra, Vicerrector
Vicerrectoría Administrativa

Nicolás A. Martínez Humanes, Decano
Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia

Isidro Elías Suarez Padrón, Decano
Facultad de Ciencias Agrícolas

Víctor Atencio García, Líder Gupo CINPIC
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Alfredo Jarma Orozco, Lider Grupo INVEPAR
Facultad de Ciencias Agrícola

Leonor Cristina Restrepo Arango
División de Bibliotecas y Recursos Educativos

ORGANIZÓ

Universidad de Córdoba
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Facultad de Ciencias Agrícolas



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial 4.0 Internacional.

CON EL APOYO DE

Patrimonio Autónomo Fondo Nacional
de Financiamiento para la Ciencia, la
Tecnología y la Innovación Francisco
José de Caldas

REVISIÓN DE ESTILO

Diana Sofía Herazo Cárdenas
Adriana Vallejo Isaza

FOTOGRAFÍAS

Diana Sofía Herazo Cárdenas
Adriana Vallejo Isaza
Daniela Vegliante Arrieta
Yirlis Yadeth Pineda Rodríguez
Anthony Ariza González
Ana Isabel Pico González

DISEÑO E IMPRESIÓN

Diana Sofía Herazo Cárdenas
Adriana Vallejo Isaza
Universidad de Córdoba

AUTORES

Herazo-Cárdenas Diana Sofía, Vallejo-
Isaza Adriana, Vegliante-Arrieta Daniela,
Pineda-Rodríguez Yirlis Yadeth, Jarma-
Orozco Alfredo, Jaraba-Navas Juan de
Dios, Ariza-González Antony Ricardo y
Pico-González Ana Isabel. 2023. 1ra
edición, Montería, Córdoba.

ISBN: 978-958-5104-72-3

CONSEJO EDITORIAL

Diana Sofía Herazo Cárdenas

Bióloga marina, Magister en Acuicultura y Ecología Acuática Tropical,
Universidad del Magdalena
Profesora Titular, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad
de Córdoba,
Investigadora Principal proyecto: Cultivo de *Arthrospira maxima* y *Nostoc
commune* a escala piloto. código: 71866

Adriana Vallejo Isaza

Bióloga, Magister en Biología marina, UN Colombia, Doctora en Sanidad
Acuícola, Universidad de Zaragoza
Profesora Titular Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad
de Córdoba,
Co-investigadora proyecto: Cultivo de *Arthrospira maxima* y *Nostoc commune*
a escala piloto. código: 71866

Daniela Vegliante Arrieta

Bióloga, cand. Magister, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de
Córdoba

Yirlis Yadeth Pineda Rodríguez

Bióloga, cand. Magister, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de
Córdoba

Los autores son los titulares de los derechos morales de sus capítulos y pueden archivar y divulgar citando la fuente.

La Universidad de Córdoba asume los derechos de reproducción.

Los artículos publicados en esta obra fueron remitidos a evaluación a través del sistema doble par ciego.

Las opiniones, comentarios, interpretaciones y conclusiones expresadas en los capítulos de este libro son de exclusiva responsabilidad de los autores y pueden no coincidir con las de la Universidad de Córdoba.

La Universidad de Córdoba autoriza la copia de textos con fines académicos, siempre que se cite la fuente. Para la reproducción total o parcial del libro con otros fines, se debe contar con la autorización explícita de la Universidad de Córdoba.

TABLA DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN	1
GLOSARIO	1
UNIDADES DE MAGNITUD Y NOMENCLATURA	2
INTRODUCCIÓN	3
1 CAPÍTULO 1: BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE LAS CIANOBACTERIAS	4
1.1 ¿QUÉ SON LAS CIANOBACTERIAS?.....	4
1.2 ¿DONDE HABITAN LAS CIANOBACTERIAS?	4
1.3 ¿CUÁL ES LA IMPORTANCIA ECOLÓGICA DE LAS CIANOBACTERIAS?.....	4
1.3.1 <i>Espirulina</i>	4
1.3.2 <i>Género Nostoc</i>	5
1.4 COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE LAS CIANOBACTERIAS	7
1.4.1 <i>Espirulina</i>	7
1.4.2 <i>Nostoc sp.</i>	8
2 CAPÍTULO 2: CULTIVO DE CIANOBACTERIAS	9
2.1 CEPARIO	9
2.2 MANTENIMIENTO DE LA CEPA	9
2.3 CONDICIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE CULTIVO EN LABORATORIO	10
2.4 MEDIOS DE CULTIVO.	12
2.5 ESCALAMIENTO DE CULTIVOS.	12
2.5.1 <i>Preparación de los medios de cultivo masivo: técnica y precauciones</i>	12
2.5.2 <i>Escalamiento del cultivo de espirulina</i>	13
2.5.3 <i>Escalamiento del cultivo de Nostoc</i>	15
2.6 MANTENIMIENTO DEL CULTIVO DE ESPIRULINA.	17
2.6.1 <i>Fertilización del cultivo de espirulina</i>	18
2.6.2 <i>Manejo del cultivo de espirulina</i>	18
2.6.3 <i>Monitoreo del cultivo de espirulina</i>	19
2.7 MANTENIMIENTO DEL CULTIVO DE <i>NOSTOC</i>	20
2.7.1 <i>Manejo del cultivo de Nostoc</i>	20
2.7.2 <i>Monitoreo del cultivo de Nostoc</i>	21
2.7.3 <i>Fertilización del cultivo de Nostoc</i>	22
3 CAPÍTULO 3. COSECHA, SECADO Y APROVECHAMIENTO DE CIANOBACTERIAS.	23
3.1 COSECHA Y SECADO DE ESPIRULINA	23
3.2 COSECHA DE <i>NOSTOC</i>	24
3.3 APROVECHAMIENTO.	25
3.4 COSTOS DE PRODUCCIÓN DE ESPIRULINA.	27
3.5 CALIDAD NUTRICIONAL DE ESPIRULINA.	27
BIBLIOGRAFÍA	28

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Contenido nutricional de espirulina.....	7
TABLA 2. Contenido nutricional de <i>Nostoc sp.</i>	8
TABLA 3. Nutrientes para el cultivo de cianobacterias: según Zarrouk y Jourdan para espirulina y BG11 para <i>Nostoc</i>	12
TABLA 4. Costos de producción mensual de harina de espirulina en raceways.....	27
TABLA 5. Valores nutricionales de polvo de espirulina <i>Arthrospira maxima</i> , cultivada en raceways.....	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Arthrospira maxima</i> . A) montaje en fresco a 40X; B) montaje en fresco a 100X (Foto original Herazo-Cárdenas).	5
Figura 2. <i>Nostoc commune</i> . A) Heterocitos en filamentos de (flechas) (fresco 40X); B) Acinetos (flecha) (fresco 100X) (Foto original Herazo-Cárdenas).....	6
Figura 3. A) Colonia de <i>Nostoc sp.</i> ; B) <i>N. commune</i> (Foto original Vegliante-Arrieta).	7
Figura 4. A) Cepario en tubos de ensayo debidamente rotulados y preservados en ambiente iluminado y temperatura constante. B) Mantenimiento de cepa en medio semisólido en platos de Petri). C) Método de purificación de las cepas. (Foto original Vegliante-Arrieta).....	9
Figura 5. Técnica de replicación de la cepa (esquema original de Vallejo-Isaza).	10
Figura 6. Diagrama de flujo de los pasos para e escalamiento de los cultivos de espirulina.....	13
Figura 7. Escalamiento a 8 metros cúbicos en sistema semicontinuo en raceways. A) Inóculo en 10 mL. B) Cultivo en laboratorio en 1000 mL. C) Transferencia a 3 litros y a 20 litros. D) siembra en 50 litros. E) Transferencia a 600 L. F) Inóculo para el cultivo masivo en raceways gemelos con volumen de 8 metros cúbicos (Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de agua; foto original Vallejo-Isaza).	14
Figura 8. Diagrama de flujo de los pasos para e escalamiento de los cultivos de <i>Nostoc</i>	15
Figura 9. Escalamiento de la cepa de <i>Nostoc</i> : A) Preparación del inóculo de la cepa a volúmenes menores de 1000 mL; B) Inoculación de la cepa. C) Transferencia a volúmenes de 3 L. D) Estanterías con luz a temperatura constante. E) Escalamiento en volúmenes de 50 litros. D) Detalle del biorreactor en volumen de 50 L (Foto original Vegliante-Arrieta; Vallejo-Isaza; Herazo-Cárdenas).	16
Figura 10. A) Tanques de copio de agua. B) Filtro de carbón activado y zeolita. C) Filtros millipore 25 μm , 5.0 μm y 1.0 μm ; D) Almacenamiento de agua purificada; E) Compresor de aire de 0,5 hp; F) Filtro ultravioleta (Foto original Vallejo-Isaza).	17
Figura 11. Foso desgacificador del sistema raceway (flechas) (Foto original Herazo-Cárdenas).....	18

Figura 12. Instrumental básico para monitoreo de las variables físicas y químicas. A) Termómetro digital. B) Disco Secchi (o espirulómetro); C) pHchímetro por colorimetría; D) Refractrómetro.....	19
Figura 13. A) Recolección de muestras. B) Medios de cultivo para evaluar inocuidad. C) Inspección bajo el microscopio. D) Estado de vitalidad de espirulina. E) Contaminación biológica del cultivo por rotíferos, protozoos y microalgas. F) Contaminación por microalgas (Foto original: Herazo-Cardenas, Vallejo-Isaza, Pineda-Rodríguez).....	20
Figura 14. A) Estructuras soporte para los biorreactores. B) Disposición de los biorreactores listos para ser inoculados. C) Crecimiento de <i>Nostoc commune</i> en 50 L (Foto original: Herazo-Cardenas, Vegliante-Arrieta).....	21
Figura 15. Contaminación del cultivo de <i>Nostoc commune</i> (flecha punteada) por <i>Chlamidomonas</i> (flecha continua) (gota húmeda 40X) (Foto original: Herazo-Cardenas, Vegliante-Arrieta).	22
Figura 16. A) Cosecha y extracción del exceso de humedad de la biomasa. B) Biomasa húmeda lista para secado. (Foto original Herazo-Cárdenas).....	23
Figura 17. A) Elaboración de “churros” para secado al sol o en hornos de secado. B) Biomasa seca lista para pulverizar. C) Molienda de espirulina. D) Espirulina en polvo (Foto original Herazo-Cárdenas).....	24
Figura 18. A) Cosecha de <i>Nostoc commune</i> en tamiz de 30 micras. B) Biomasa húmeda obtenida (Foto original Herazo-Cárdenas).....	25
Figura 19. Biomasa húmeda de <i>Nostoc commune</i> (Foto original Vegliante-Arrieta).	25
Figura 20. A) Obtención de bioproductos destinados a la agricultura. B) Utilización de espirulina para la obtención de biomoléculas destinadas a la nutrición, cosmética, medicina, etc.....	26
Figura 21. Prueba de antibiograma de bioproductos. Biofungicida A)Discos estériles; B) Hongo testigo; C) Hidrolizado en discos + hongo; D) Fungicida + hongo (Foto original Pico-González). B) Efecto del biofertilizante en fríjol caupí (Foto original Ariza-González).....	26

PRESENTACIÓN

Cultivo de cianobacterias: aspectos prácticos, es un libro que ha sido elaborado con fines educativos y sin ánimo de lucro, dirigido a todas las personas naturales y corporativas, la comunidad académica, científica, empresarial y agroindustrial, que permita replicar y aplicar los conocimientos y tecnologías propuestas, basado en las experiencias significativas obtenidas en el Programa Conectando Conocimientos: “Estrategias integrales para valorizar la biomasa microalgal en beneficio del sector agrícola colombiano”, a través del proyecto: Cultivo de *Arthrospira maxima* y *Nostoc commune* a escala piloto, financiado por el **Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas**.

Incluimos de manera muy especial a los maestros y estudiantes que inician procesos de extensión a las comunidades para que, al replicar y mejorar estas experiencias, favorezcan a la población en general, en la obtención de este superalimento.

Con este trabajo se pretende dar a conocer las técnicas utilizadas en el cultivo de las cianobacterias: *Arthrospira maxima* (espirulina) y *Nostoc commune*, dos cepas de cianobacterias fotosintéticas cultivadas a escala piloto en sistema Raceway y fotobiorreactores, para la producción de biomasa seca, como punto de partida para su utilización como una fuente real de metabolitos secundarios con diferentes usos biotecnológicos.

GLOSARIO

- Acineto: Estructura de la cianobacteria encargada de proporcionar resistencia a las condiciones ambientales desfavorables.
- *Arthrospira máxima*: Género de cianobacterias del orden Oscillatoriales. Actualmente ha sido revisado taxonómicamente el género como *Arthrospira* (especie *A. maxima*). Estas cianobacterias están constituidas por filamentos pluricelulares enrollados en hélice levógira, que flotan libremente en lagos tropicales y subtropicales alcalinos ricos en carbonato y bicarbonato.
- Bioproductos: Compuesto químico proveniente de organismos vivos.
- Cepa: Población de microorganismos de una sola especie descendientes de una única célula o que provienen de una determinada muestra en particular, la que usualmente es propagada por fisión binaria, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias.
- Cianobacterias: Organismos microscópicos, bacterias Gram-negativas que contienen clorofila, lo que les permite realizar fotosíntesis. Por ello históricamente se las ha identificado como algas verde-azules. Están presentes en aguas dulces, saladas, salobres y zonas de mezcla de estuarios.

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

- Cultivo: Es el crecimiento microbiano en un medio nutritivo sólido o líquido; el aumento del número de microorganismos facilita su identificación. El cultivo también facilita la realización de pruebas de sensibilidad a antimicrobianos.
- Escalamiento: Conjunto de reglas, criterios, métodos y modelos utilizados con la finalidad de llevar un proceso previamente desarrollado a una escala de orden inferior o superior.
- Espirulómetro: Disco Secchi adaptado a la medición de la transparencia asociada a la densidad celular en el sistema de cultivo abierto.
- Heterocito: Estructura de la cianobacteria encargada de fijar el nitrógeno
- *Nostoc commune*: especie que puede vivir en agua dulce y en tierra. Forma colonias esféricas, compuestas por filamentos de aspecto gelatinoso y color verde brillante. Las especies del género producen cadenas moniliformes en forma de sarta de perlas.
- Plato de Petri (caja de Petri): Es un recipiente de vidrio con tapa que se usa en microbiología para cultivo en medio semisólido (agar).
- Raceway: Sistemas de flujo continuo, se emplean en cultivos intensivos, ya que cuentan con un flujo rápido de agua, que permite mantener una biomasa elevada de organismos y un recambio de agua continuo.
- Tricoma (u ormogonio): Filamento rodeado por vaina mucilaginosa, presentes en algunas cianobacterias.

UNIDADES DE MAGNITUD Y NOMENCLATURA

Densidad óptica:	DO
Gramos por litro:	g.L^{-1}
Litro:	L
Longitud de onda:	Lambda (λ)
Microgramos por litro:	mg.L^{-1}
Micrómetros o micras:	mm
Micromoles por metro cuadrado por segundo:	$\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
Mililitros:	mL
Milímetros:	mm
Nanómetro:	nm
Partes por mil:	ppmil; ppt; ‰
Potencial hidrógeno	pH
Temperatura:	°C
Carbonato:	HCO_3^-
Fósforo:	P
Nitrógeno:	N
Potasio:	K
Sodio:	Na



INTRODUCCIÓN

La creciente demanda a nivel mundial de productos que promuevan el bienestar social y la sostenibilidad ambiental ha incentivado la exploración de organismos cuyas características puedan beneficiar a la humanidad. Las cianobacterias, en virtud de su composición química, suscitan un gran interés en diversas industrias, como la alimentaria, farmacéutica, agrícola y cosmética, entre otras. *Arthrospira máxima*, conocida globalmente como espirulina, es reconocida por la FAO como un superalimento debido a su elevado contenido de proteínas de alta calidad (43-70%).

Según el Banco Nacional de Alimentos, el departamento de Córdoba se encuentra entre los cinco departamentos de Colombia con el mayor número de muertes infantiles debido a la desnutrición. El informe publicado por esta entidad en 2022 revela que en la región Caribe, el 12,1% de los niños de 0 a 5 años padecen desnutrición aguda. Además, señala que el índice de inseguridad alimentaria en el Caribe superó significativamente el promedio nacional en el mismo año, alcanzando un 65%, en comparación con el 54% registrado en el resto del país. Es importante destacar que una adecuada nutrición influye directamente en el crecimiento, fortaleza del sistema inmunológico y mejora de la capacidad cognitiva de los niños durante sus primeros años de vida. Una nutrición adecuada propicia un mejor rendimiento académico durante la niñez y asegura que en la edad adulta se cuente con individuos activos, competentes y productivos.

Ante el grave problema de desnutrición en la región, una alternativa económica y eficaz podría ser la incorporación de espirulina y *Nostoc* como suplemento alimenticio, aprovechando las ventajas de estas cianobacterias como fuente natural de proteínas. La espirulina ha sido utilizada de manera tradicional en muchas comunidades alrededor del mundo. El propósito de los autores al elaborar este documento es proporcionar las herramientas necesarias para establecer cultivos de cianobacterias en las comunidades interesadas. Esto se plantea como una forma de contribuir a la disminución de las tasas de desnutrición en el departamento de Córdoba y en la región Caribe en general, y de fomentar el uso de estos microorganismos fotosintéticos en diversas actividades productivas, dada su amplia aplicabilidad en el ámbito biotecnológico y ambiental.

1 CAPÍTULO 1: BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE LAS CIANOBACTERIAS

1.1 ¿Qué son las cianobacterias?

Son microorganismos fotosintéticos procariotas, capaces de producir una gran variedad de compuestos como proteínas, lípidos, pigmentos, polisacáridos, vitaminas y muchos otros metabolitos. Además, debido a que se adaptan rápidamente a nuevas condiciones medioambientales, son capaces de producir una gran variedad de metabolitos secundarios con actividad biológica, que no son hallados en otros organismos (Gouveia et al., 2010). Las cianobacterias poseen variedad de pigmentos como clorofila a y ficobiliproteína que le dan una coloración verde-esmeralda y por eso también son conocidas como «algas verde-azules» (Encarnaçãõ et al., 2015, Panijar et al., 2017, López, 2023); sintetizan glucógeno como producto de almacenamiento, presentan paredes celulares provistas de azúcares y aminoácidos (Carr and Whitton, 1982; Levaseaur et al., 2020).

1.2 ¿Donde habitan las cianobacterias?

Las cianobacterias prosperan en el agua salada, salobre o agua dulce, frías y calientes. Un número de especies de agua dulce también son capaces de soportar concentraciones relativamente altas de salinidad. Son habitantes de aguas termales, arroyos de montaña, nieve y hielo (Castenholz, 1992).

Estos seres, además, se pueden encontrar en suelos húmedos, ambientes congelados, en el follaje de las plantas y en ecosistema terrestres. Las cianobacterias son adaptables en un amplio rango de habientes.

1.3 ¿Cuál es la importancia ecológica de las cianobacterias?

Son productores primarios y base de la cadena alimenticia acuática, fijan nitrógeno y lo asimilan como nutriente, además, contribuyen al bienestar del planeta, al absorber dióxido de carbono y liberar oxígeno.

Las cianobacterias son un componente natural de los ecosistemas acuáticos y son fuente de alimento para microorganismos herbívoros (zooplancton, invertebrados y peces), por lo tanto, ayudan a sustentar las redes alimenticias de los ecosistemas acuáticos.

1.3.1 Espirulina

La mayoría de las especies del género *Arthrospira*, conocida comúnmente como espirulina se han encontrado en cuerpos de agua alcalinos, con un pH alto (8,5 – 11,0) y a temperatura promedio de 25 a 35°C con alto nivel de radiación solar, principalmente en regiones tropicales o semitropicales, donde crecen de forma masiva y donde es difícil o imposible para otros microorganismos desarrollarse (Kebede & Ahlgren, 1996; Castenholz, 1989; Pedraza, 1989; FAO,



2011). Sin embargo, algunas especies se encuentran presentes en cuerpos de agua dulce como ríos, manantiales y estanques y, aunque no hay reportes para el ambiente marino, con un adecuado suplemento de HCO_3^- , Na y K en conjunto con pH y salinidad adecuados, las especies de *Arthrospira* pueden ser altamente productivas en agua de mar (Vonshak & Tomaselli, 2006; Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006).

El género *Arthrospira* es conocido comúnmente como espirulina; posee un arreglo multicelular de tricomas cilíndricos (Colla et al., 2007), producen clorofila a y pigmentos accesorios como ficocianina, que le otorgan un color verdeazulado, además de otros como ficoeritrina y carotenoides (Tarazona-Díaz, 2018).

Las principales características que diferencian este género de otros similares es que están formadas por filamentos cilíndricos multicelulares enrollados en forma helicoidal, sus tricomas (filamentos) tienen un patrón de arreglo en forma de hélice abierta y llegan a medir entre 100 a 200 micras (μm) o hasta 500 μm (Cruz, 2022). Además, cuentan con la presencia de paredes o septos intercelulares (Fernández-Honores et al., 2019) (Figura 1).

Arthrospira incluye actualmente 44 especies, algunas las cuales tienen una importancia comercial, nutricional e industrial como *A. platensis* y *A. maxima*.

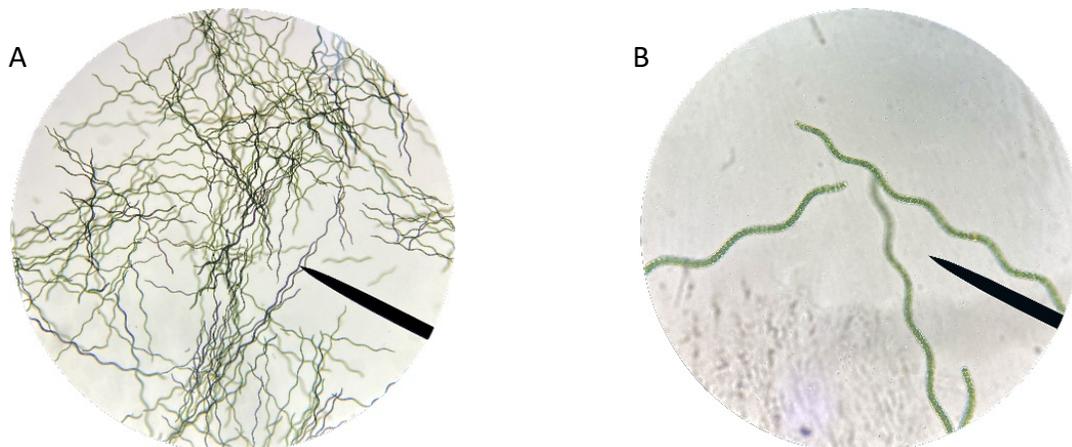


Figura 1. *Arthrospira maxima*. A) montaje en fresco a 40X; B) montaje en fresco a 100X (Foto original Herazo-Cárdenas).

1.3.2 Género *Nostoc*

El género *Nostoc* conforma un grupo de especies que pueden vivir en agua dulce y en tierra. Forman colonias esféricas, compuestas por filamentos de aspecto gelatinoso y color verde brillante (Whitton and Potts, 2000). Las especies del género producen cadenas en forma de sarta de perlas, donde se intercalan otras células de aspecto trasparente, mayor tamaño y de escaso contenido, llamadas heterocistos, cuya función es fijar el nitrógeno molecular atmosférico (Doods et al., 1995; Rosales et al., 2017).

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

Los acinetos o células de resistencia son aproximadamente 2 veces el tamaño de la célula vegetativa y se pueden encontrar en filas, generalmente ovaladas, pero raramente presentes. Las colonias de *Nostoc* son de gran utilidad, porque pueden atrapar el nitrógeno del aire y fijarlo en sus células, de allí su importancia en la agricultura como abono natural, además se ha utilizado en la alimentación humana y la medicina durante siglos (Qiu et al, 2002) (Figura 2).

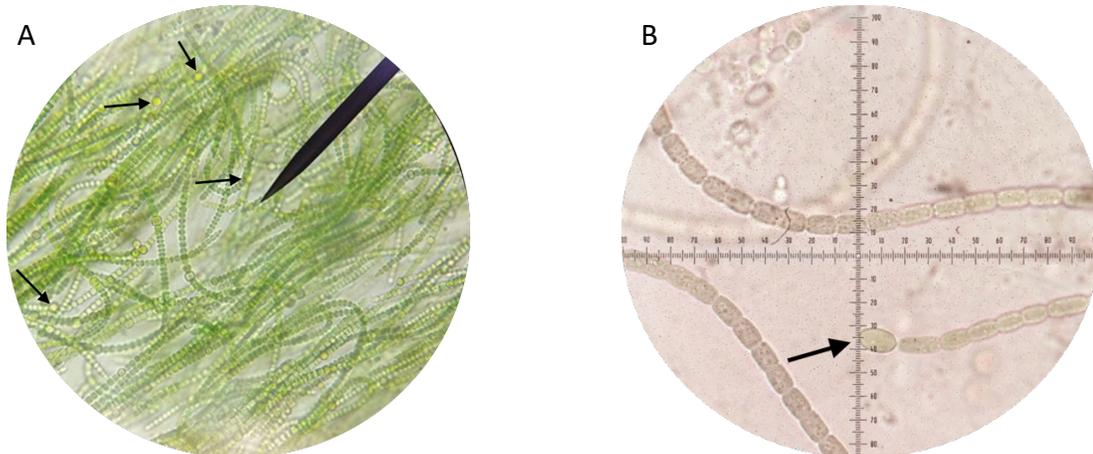


Figura 2. *Nostoc commune*. A) Heterocitos en filamentos de (flechas) (fresco 40X); B) Acinetos (flecha) (fresco 100X) (Foto original Herazo-Cárdenas).

A simple vista, *Nostoc* en colonias tiene aspecto de uvas, traslúcidas, gelatinosas y esféricas, con un diámetro que varía de 10 a 25 mm (Figura 3). También se presenta como colonias laminares de geometría irregular. Suelen vivir en climas extremos, con temperaturas bajo cero, prosperando en alturas sobre 3000 metros sobre el nivel del mar (msnm), habiéndose encontrado hasta 5000 m en atmósferas pobres en oxígeno. Son resistentes a radiación ultravioleta, lo que favorece su fotosíntesis. Pueden permanecer en estado latente durante años, hasta que las lluvias las rehidratan. Son especies primitivas que se han mantenido desde hace millones de años; su capacidad de supervivencia es única, existiendo desde zonas semidesérticas hasta en glaciares antárticos. En el mundo hay muchas especies, alrededor de 70 clasificadas (Ponce, 2014).

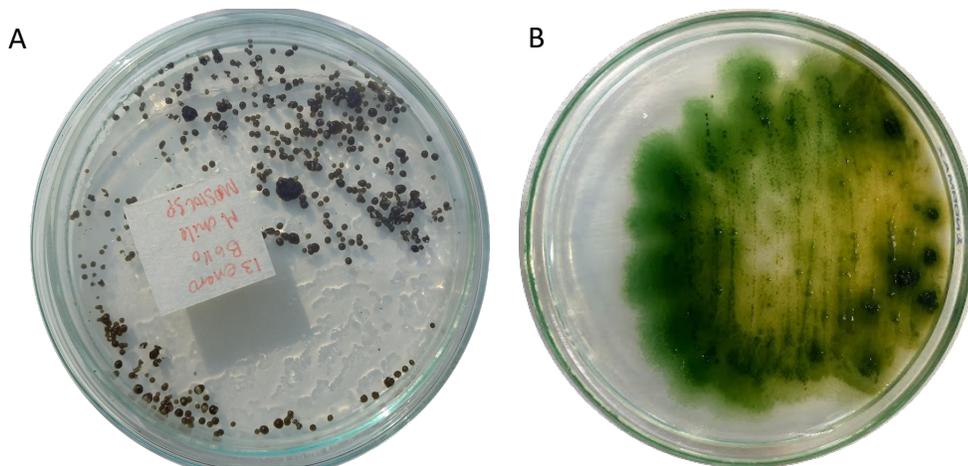


Figura 3. A) Colonia de *Nostoc* sp.; B) *N. commune* (Foto original Vegliante-Arrieta).

1.4 Composición bioquímica de las cianobacterias

1.4.1 Espirulina

La espirulina contiene nutrientes, minerales, aminoácidos esenciales y no esenciales, vitaminas, lípidos, enzimas y pigmentos, que la califican como un superalimento, detallados en la Tabla 1 (Henrikson, 1994).

Debido al contenido nutricional y producción de metabolitos secundarios, la espirulina es considerada un superalimento y un bioproducto de gran importancia biotecnológica.

TABLA 1. Contenido nutricional de espirulina.

Nutrientes	%	Aminoácidos esenciales	g/kg
Proteínas	55 – 70%	Histidina	13
Humedad	5 – 7%	Isoleucina	34
Minerales	7 – 9%	Leucina	50
Carbohidratos	15 – 20%	Lisina	28
Grasa total (g)	5 – 7%	Metionina	14
		Fenilalanina	27
		Treonina	30
		Triptófano	9
		Valina	39
Ác. Grasos esenciales	mg/kg	Aminoácidos no esenciales	g/kg
Ácido linoleico	10.450	Alanina	47
Ácido Gamma-linoleico	10.633	Arginina	45
Enzimas		Ácido Aspártico	67
Superóxido dismutasa (SOD)		Cistina	5
Glutación peroxidasa		Ácido glutámico	88
Pigmentos	mg/kg	Glicina	32
Clorofila	10.200	Prolina	26
Ficobiliproteínas	132.500	Serina	29

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

Nutrientes	%	Aminoácidos esenciales	g/kg
Carotenoides	4.000	Tirosina	27
Vitaminas	Cantidad mg/kg	Minerales	Cantidad (mg/kg)
Beta-carotenos	1.900	Calcio (mg)	5.000
Vitamina B ₁ Tiamina	40	Cobre	10
Vitamina B ₂ Riboflavina	38	Cromo	2
Vitamina B ₃ Niacina	155	Fósforo	8.000
Biotina	0.4	Hierro	900
Vitamina B ₅ Ac. Pantoténico	8	Magnesio	4.400
Vitamina B ₆ Piridoxina	6	Manganeso	40
Vitamina B ₁₂ Cobalamina	2	Potasio	12.000
Ac. Fólico	0.4	Selenio	1
Vitamina E Tocoferol	100	Sodio	6.500
		Zinc	33

(Henrikson, 1994)

1.4.2 *Nostoc* sp.

El *Nostoc* desecado, contiene nitrógeno absorbido, que luego se transforma en precursor de aminoácidos que generan proteínas (Gantar, 2008). La calidad alimentaria está en su aporte energético, contenido proteico y carbohidratos en diferentes porcentajes; también, es fuente de minerales, especialmente hierro, haciendo del *Nostoc* un producto de fácil digestión (Ponce, 2014; Defilippi, 2019) (Tabla 2).

La importancia del cultivo del *Nostoc* está en obtención de metabolitos secundarios precursores del crecimiento de plantas de interés agronómico y como potencial control de plagas.

TABLA 2. Contenido nutricional de *Nostoc* sp.

Nutrientes	Cantidad	Minerales	Cantidad
Energía	242 kcal	Calcio (mg/100g)	147
Proteínas totales	30.4 g/100g	Hierro (mg/100g)	83.60
Glúcidos	46.90 mg/kg	Fósforo (mg/100g)	64
Grasa total	0.5 g	Vitamina B ₂ Riboflavina (mg/100g)	0.41
Colesterol	-		



2 CAPÍTULO 2: CULTIVO DE CIANOBACTERIAS

2.1 Cepario

El mantenimiento de las cepas se puede hacer tanto en medio líquido como en medio sólido. Los cultivos líquidos de las cepas se mantienen en tubos de ensayo de 25 - 50 mL, mientras los cultivos semisólidos se mantienen en platos de Petri (Figura 4).

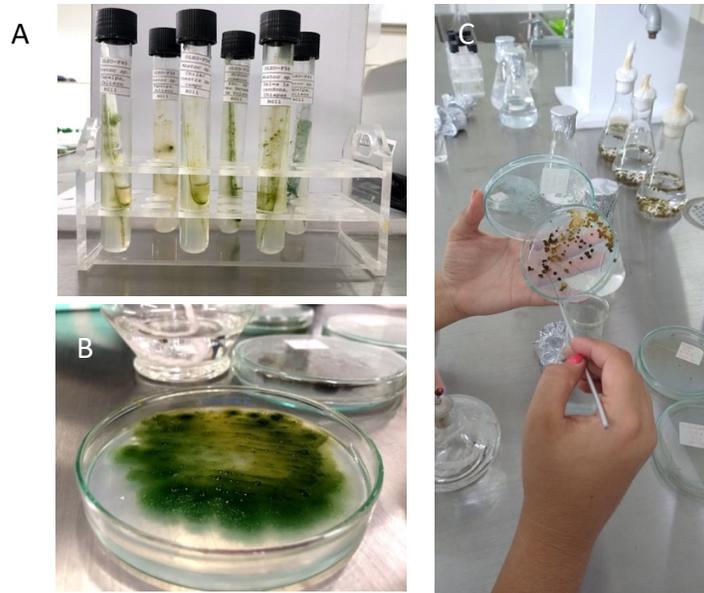


Figura 4. A) Cepario en tubos de ensayo debidamente rotulados y preservados en ambiente iluminado y temperatura constante. B) Mantenimiento de cepa en medio semisólido en platos de Petri. C) Método de purificación de las cepas. (Foto original Vegliante-Arrieta).

La transferencia de los cultivos se realiza generalmente cada 30 días, dependiendo del crecimiento de la cepa. Las inoculaciones se hacen bajo una atmósfera estéril en un cuarto de siembra, en presencia de mecheros de alcohol o gas. El área donde se hace la transferencia debe estar perfectamente desinfectada con etanol al 70%, cloro de 4 ppmil (partes por mil). Al momento de escalar a mayor volumen se recomienda hacerlo a baja temperatura, en un cuarto aislado y sin circulación de aire.

2.2 Mantenimiento de la cepa

Cada cultivo uniespecífico debe mantenerse por triplicado en tubos de ensayo con 17 mL de medio de cultivo (tubos A, B y C), correctamente rotulados con el nombre y origen de la especie, fecha de inoculación y tipo de medio de cultivo. Finalmente, se colocan en condiciones favorables de luz y temperatura para su mantenimiento (Figura 5).

En el caso de la colección del Laboratorio de Calidad de Agua de la Universidad de Córdoba, las condiciones del cepario son las siguientes: temperatura 28 ± 2 °C, irradiancia 40 - 50 μmol fotones $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y fotoperiodo 12:12 horas luz:oscuridad. De los tres tubos para el mantenimiento de la cepa, uno es más antiguo (tubo A: replica anterior), y los otros dos son la réplica actual (B y C), por lo tanto, tienen la misma fecha. El cambio de medio se realiza aproximadamente cada 30 días, así:

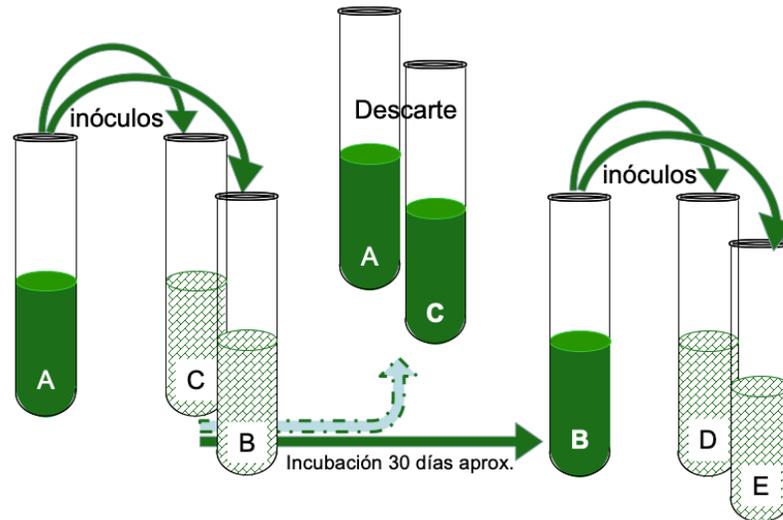


Figura 5. Técnica de replicación de la cepa (esquema original de Vallejo-Isaza).

1. Entre los dos tubos marcados como B y C, se elige uno para que funcione como inóculo (por ejemplo, B) y los otros dos se descartan (tubos A y C).
2. A partir del tubo elegido (B), se realizan dos replicas en tubos con medios nuevos, dando lugar a que se mantengan los tres tubos (B, D y E) y así sucesivamente.
3. Es **importante** mantener un tubo con el cultivo antiguo para asegurar la cepa, pues la replicación puede fallar.

2.3 Condiciones físicas y químicas de cultivo en laboratorio.

El mantenimiento del cultivo tiene como objetivo garantizar la alta calidad de la cepa al momento de iniciar un cultivo a gran escala. Las siguientes condiciones permiten mantener éste en un ambiente óptimo.

a) Iluminación:

La espirulina es una cianobacteria sensible a la luz, como organismo fotosintético, requiere iluminación para su desarrollo; sin embargo, una exposición prolongada de más de 12 horas, puede ser perjudicial para su crecimiento y desarrollo, siendo recomendable exponer el cultivo abierto, a media sombra (Xarxa, 2016).

En cultivos cerrados se recomienda usar luz artificial para el mantenimiento, ya que es posible controlarla de acuerdo a las necesidades de éste. La intensidad de luz varía con el volumen y concentración celular. Una intensidad lumínica de $80 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ se considera adecuada para cultivar cianobacterias (INDESOL, 2016).

b) Temperatura:

Para el mantenimiento de las cepas es recomendable mantener temperaturas a $27 \pm 5,0 \text{ }^\circ\text{C}$; sin embargo, en sistemas de cultivos abierto, se mantienen a la temperatura que oscila entre $30 \text{ }^\circ\text{C}$ y $38 \text{ }^\circ\text{C}$ para acelerar la tasa de crecimiento (Xarxa, 2016).

c) Agitación y aireación:

Para el cultivo de espirulina en raceways, es necesario la agitación para distribuir, la iluminación, la temperatura y los nutrientes en el cultivo, así como para prevenir que las células se acumulen en la superficie y en el fondo de la estructura. En este caso se recomienda el uso de paletas movidas a motor con un variador (dispositivo que regula las revoluciones por minuto) (Castro, 2018).

En cultivos de pequeños volúmenes no es necesaria una aireación, basta con una agitación manual diariamente. En cultivos a mayor escala, la aireación debe aumentar, garantizando la integridad celular del cultivo y evitando la formación de espuma. El aire puede ser suministrado por un compresor (aireador o blower) de medio a 1 hp (de acuerdo con el volumen de cultivo). Para distribuir el aire en los sistemas de cultivo es común utilizar líneas de PVC con válvulas y se recomienda la utilización de filtros.

d) pH:

El pH es una variable química que indica qué tan ácida o alcalina es una sustancia, influyendo en la solubilidad de varios compuestos metálicos (Abalde et al., 1995; Rodríguez y Triana, 2006). Las cianobacterias requieren pH alcalino entre 9 y 11 para su óptimo crecimiento, lo que contribuye a mantener la inocuidad. Para cultivos comerciales, el pH debe ser superior a 9,4, para evitar la contaminación biológica y en especial por otras microalgas (Berry, 2003).

e) Nutrientes:

Las cianobacterias obtienen su energía mediante la radiación lumínica y para su metabolismo utilizan el nitrógeno y fósforo en diferentes formas: como nitrógeno libre (atmosférico) o en compuestos inorgánicos como amonio y nitrato. El fósforo constituye un nutriente limitante en el ambiente acuático y es asimilado en forma inorgánica como ortofosfatos, el cual puede acumular para su reutilización en forma de gránulos de polifosfatos. Según Martigani (2012), estas características le otorgan ventajas adaptativas en relación a otras microalgas, en cuanto puedan colonizar otros ambientes con déficit de nutrientes.



2.4 Medios de cultivo.

Las cianobacterias tienen la capacidad de desarrollarse en diversos medios, ya sea líquidos o semisólidos. Para espirulina son utilizados los medios Zarrouk (en el proceso de aislamiento y purificación), SSM (el Medio Salino de Mar) (Gitelson, 1996) y Jourdan, para la etapa de producción a gran escala. Otros medios como ASM-1, Z8, DOBLEGA, BBM, AA, KMC, Kn Cg-10, D y BG11 (Whitton, 1992) son utilizados, siendo este último el recomendado para el cultivo de *Nostoc*.

En la Tabla 3 se presentan los macronutrientes y elementos traza y sus cantidades para la elaboración de los medios de cultivo.

TABLA 3. Nutrientes para el cultivo de cianobacterias: según Zarrouk y Jourdan para espirulina y BG11 para *Nostoc*.

Zarrouk para espirulina	Concentración	Jourdan para espirulina	Concentración	BG11 para Nostoc	Diluc.	Concentración
NaHCO ₃	16,8 g.L ⁻¹	NaHCO ₃	5,880 g.L ⁻¹	MgSO ₄ ·7H ₂ O	10 mL.L ⁻¹	0,15 g.200mL ⁻¹ dH ₂ O
K ₂ HPO ₄	0,5 g.L ⁻¹	Na ₃ PO ₄ ·12H ₂ O	0,165 g.L ⁻¹	CaCl ₂ ·2H ₂ O	10 mL.L ⁻¹	0,72 g.200 mL ⁻¹ dH ₂ O
NaNO ₃	2,5 g.L ⁻¹	NaNO ₃	0,921 g.L ⁻¹	Ácido cítrico·H ₂ O	10 mL.L ⁻¹	0,12 g.200 mL ⁻¹ dH ₂ O
K ₂ SO ₄	1,0 g.L ⁻¹	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,070 g.L ⁻¹	Citrato de amonio férrico	10 mL.L ⁻¹	0,12 g.200 mL ⁻¹ dH ₂ O
NaCl	1,5 g.L ⁻¹	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,004 g.L ⁻¹	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	10 mL.L ⁻¹	0,02 g.200 mL ⁻¹ dH ₂ O
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2 g.L ⁻¹	NaCl	2,0 g.L ⁻¹	Na ₂ CO ₃	10 mL.L ⁻¹	0,40 g.200 mL ⁻¹ dH ₂ O
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,04 g.L ⁻¹			NaNO ₃	10 mL.L ⁻¹	10 mL.L ⁻¹
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01 g.L ⁻¹			K ₂ HPO ₄	10 mL.L ⁻¹	10 mL.L ⁻¹
EDTA	0,08 g.L ⁻¹			Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O (en agar)	1 mL.L ⁻¹	10 mL.L ⁻¹
Solución de metales traza 1 mL/L				Solución de metales traza (1 mL/L)		
H ₃ BO ₃	2,86 g.L ⁻¹			H ₃ BO ₃		2,86 g.L ⁻¹
MnCl ₂ ·H ₂ O	1,81 g.L ⁻¹			MnCl ₂ ·4H ₂ O		1,81 g.L ⁻¹
ZnSO ₄ ·H ₂ O	0,222 g.L ⁻¹			ZnSO ₄ ·7H ₂ O		0,22 g.L ⁻¹
Na ₂ MoO ₄	0,0177 g.L ⁻¹			Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O		0,39 g.L ⁻¹
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,079 g.L ⁻¹			CuSO ₄ ·5H ₂ O		0,079 g.L ⁻¹
				Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O		49,4 mg.L ⁻¹

2.5 Escalamiento de cultivos.

2.5.1 Preparación de los medios de cultivo masivo: técnica y precauciones

Medio Jourdan en solución stock: Para el cultivo masivo de espirulina, debido a los costos de los reactivos analíticos, se utilizan reactivos de calidad comercial, en las proporciones mencionadas en la Tabla 3. Estos reactivos se adicionan en el agua tratada a través del sistema de filtración, y se almacena en un tanque de 120 L como solución stock.

La cantidad del medio que se prepara depende del volumen final del cultivo, guardando las proporciones y teniendo en cuenta el orden en el cual se van a ir agregando cada reactivo, tal y como aparece en la Tabla 3, empezando con el bicarbonato de sodio (NaHCO₃) y finalizando con el cloruro de sodio (NaCl) para evitar la quelación de los minerales. Una vez adicionadas las sales, se dejan precipitar por un lapso aproximado de 48 horas, tiempo tras el cual es transferido al

sistema raceways, homogenizando el cultivo al mezclarse con el movimiento del sistema de paletas.

2.5.2 Escalamiento del cultivo de espirulina

El cultivo se inicia con 160 mL del inóculo en recipientes de vidrio de aproximadamente 1 L de capacidad, a una concentración inicial aproximada de $0,2 \text{ g.L}^{-1}$, manteniendo las proporciones 20% inóculo, 20% medio de cultivo y 60% (480 mL) de agua a pH 9,0 para un volumen final de 800 mL. Cuando el cultivo alcanza la fase exponencial, aproximadamente en el día 15, se escala el cultivo en botellones de 3 L y luego a 16 L, manteniendo las proporciones 20, 20 y 60%, antes mencionadas. El movimiento del cultivo se garantiza con un aireador, evitando el autosombreo del cultivo. La iluminación se ubica detrás de los recipientes utilizando lámparas fluorescentes o LED's con fotoperiodo de 12:12 h (Figuras 6 y 7).

Los cultivos en el laboratorio se nutren semanalmente con medio Zarrouk y se mantienen bajo condiciones controladas de temperatura, pH, salinidad e inocuidad. Durante el escalamiento de los cultivos de cianobacterias se evalúa la tasa de crecimiento utilizando la cámara de conteo celular Sedwick Rafter y microscopio convencional.

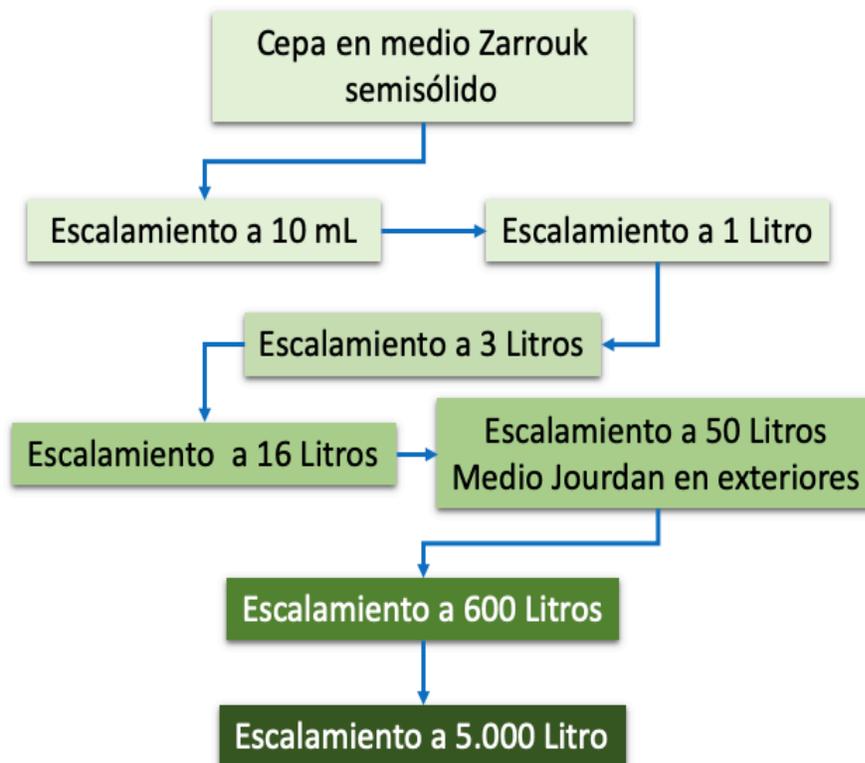


Figura 6. Diagrama de flujo de los pasos para el escalamiento de los cultivos de espirulina.

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

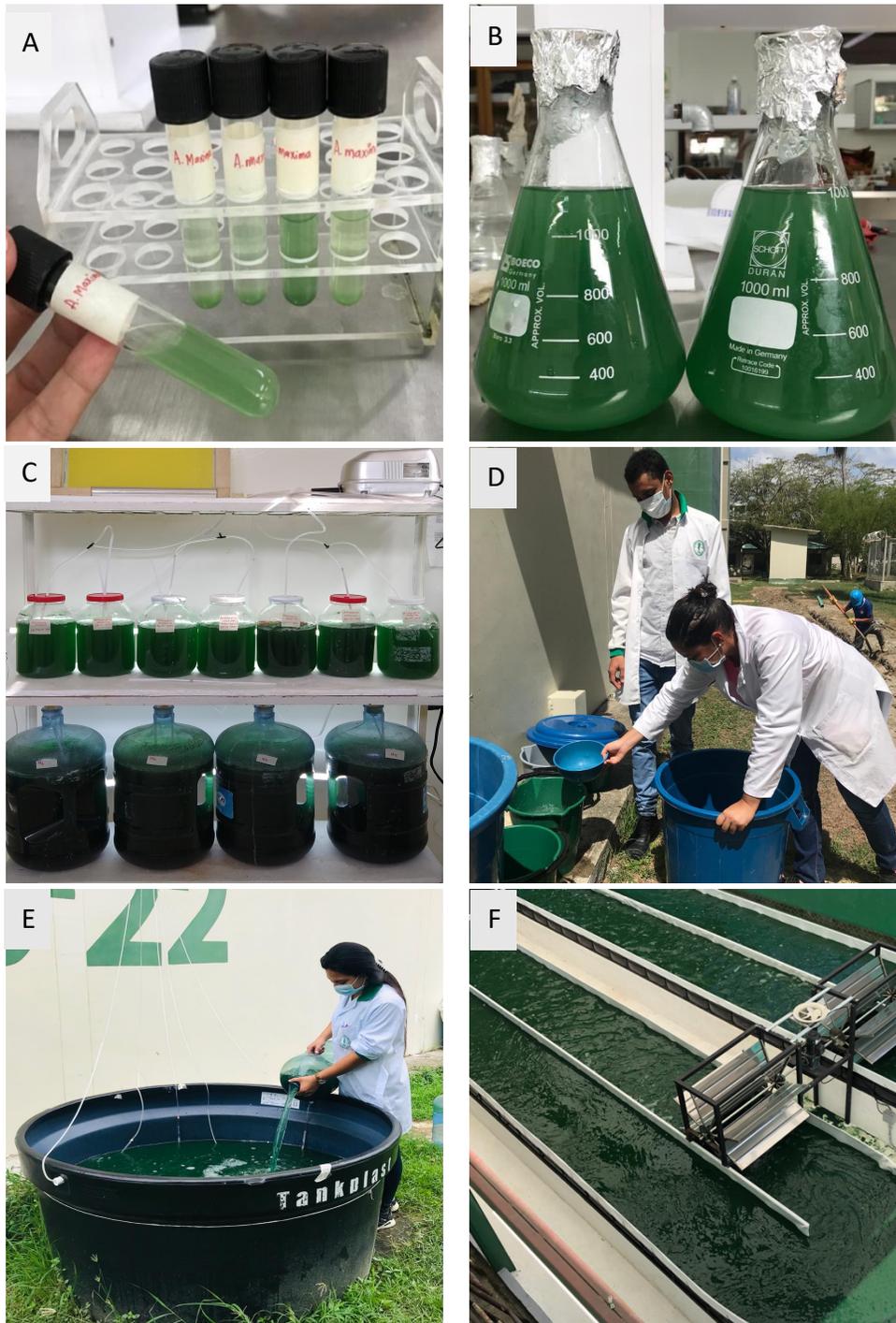


Figura 7. Escalamiento a 8 metros cúbicos en sistema semicontinuo en raceways. A) Inóculo en 10 mL. B) Cultivo en laboratorio en 1000 mL. C) Transferencia a 3 litros y a 20 litros. D) siembra en 50 litros. E) Transferencia a 600 L. F) Inóculo para el cultivo masivo en raceways gemelos con volumen de 8 metros cúbicos (Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de agua; foto original Vallejo-Isaza).

2.5.3 Escalamiento del cultivo de *Nostoc*

A diferencia de espirulina, ampliamente conocida y domesticada y que masivamente se cultiva en sistemas abiertos como el sistema raceway, *Nostoc* reviste desafíos en el cultivo a nivel masivo, debido a sus plasticidad y características ecológicas.

Cuando se pretende realizar un cultivo masivo, se deben implementar estrategias para el control de crecimiento de comunidades de microorganismos (microalgas y protozoarios), que reducen la eficiencia y calidad del cultivo. Por lo tanto, éste debe ser en sistema cerrado utilizando biorreactores, generalmente diseñados en forma vertical y a partir de diversos tipos de materiales transparentes, para garantizar la inocuidad y la eficiencia fotosintética (Figuras 8 y 9).

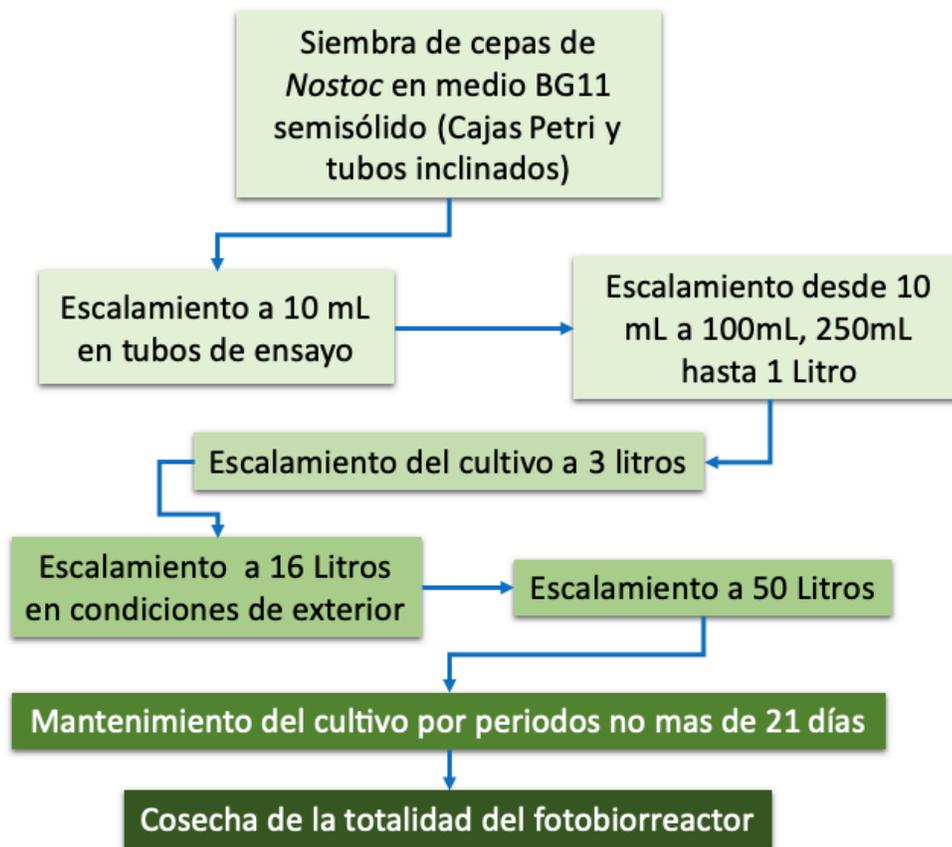


Figura 8. Diagrama de flujo de los pasos para el escalamiento de los cultivos de *Nostoc*.

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

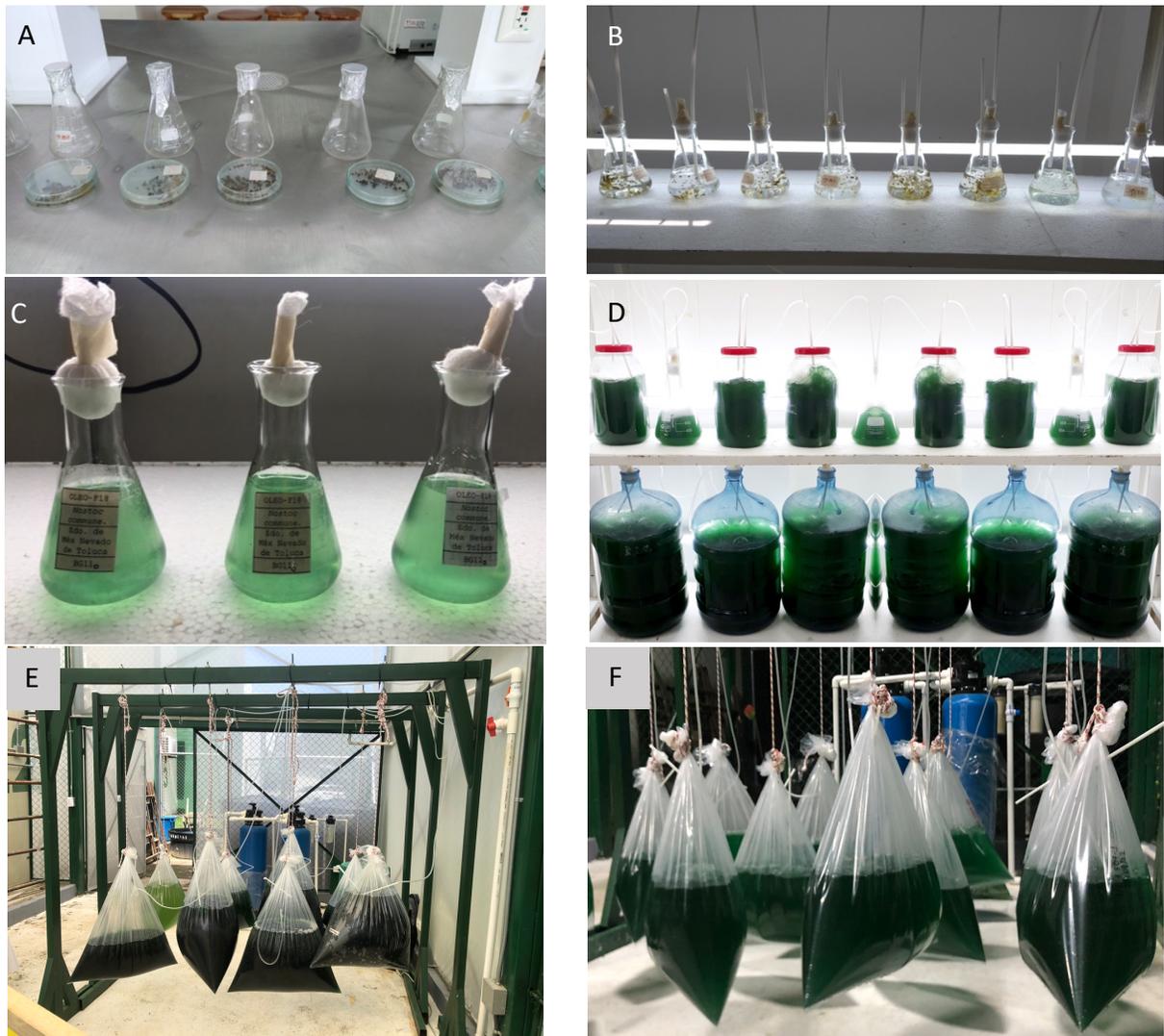


Figura 9. Escalamiento de la cepa de *Nostoc*: A) Preparación del inóculo de la cepa a volúmenes menores de 1000 mL; B) Inoculación de la cepa. C) Transferencia a volúmenes de 3 L. D) Estanterías con luz a temperatura constante. E) Escalamiento en volúmenes de 50 litros. D) Detalle del biorreactor en volumen de 50 L (Foto original Vegliante-Arrieta; Vallejo-Isaza; Herazo-Cárdenas).

2.6 Mantenimiento del cultivo de espirulina.

Los cultivos de espirulina en sistema de Raceway gemelos, se mantienen a partir de una excelente calidad de agua, para lo cual se necesita un sistema de filtración que comprende una unidad de acopio; de esta fase, el agua pasa por un sistema de filtros (Figura 10), iniciando con un filtro de zeolita y carbón activado para eliminar trazas de compuestos químicos, luego por 3 filtros de cartucho de 20, 10, 5 μm . El agua es almacenada en un tanque de 2000 L, que pasa a través de una lámpara de Luz UV, garantizando la eliminación de contaminantes biológicos (bacterias), antes de alimentar los raceways. Los cultivos abiertos en sistema Raceway presentan inconvenientes debido a la continua pérdida de agua por evaporación; para controlar este factor semanalmente se ajusta el volumen del Raceway completando la columna de agua a 14 cm de profundidad.



Figura 10. A) Tanques de copio de agua. B) Filtro de carbón activado y zeolita. C) Filtros millipore 25 μm , 5.0 μm y 1.0 μm ; D) Almacenamiento de agua purificada; E) Compresor de aire de 0,5 hp; F) Filtro ultravioleta (Foto original Vallejo-Isaza).

2.6.1 Fertilización del cultivo de espirulina

La fertilización del cultivo se realiza quincenalmente a partir de la preparación del medio Jourdan, rico en fuente de nitrógeno. Para el cultivo masivo a esta escala, se utilizan reactivos de grado comercial, a diferencia del cultivo en laboratorio que debe ser de grado analítico. El medio de cultivo Jourdan contiene en su formulación nitrato de sodio (NaNO_3) como principal fuente de nitrógeno. Debido a las restricciones legales en Colombia, este nutriente es reemplazado por nitrato de potasio (KNO_3), sin afectar el rendimiento del cultivo.

2.6.2 Manejo del cultivo de espirulina

Uno de los requisitos importantes para el cultivo de espirulina en raceway es la agitación suave y permanente, mediante un sistema de paletas movidas por un motor y controladas por un variador de velocidad para garantizar el movimiento adecuado del medio, mantener la integridad de los filamentos, evitar el sombreamiento y eliminar el exceso de CO_2 en las horas nocturnas. Para este fin y, en los casos que se requiera, se recomienda construir el sistema raceway con un foso delante a las paletas (50 x 50 x 100 cm de profundidad) (Figura 11). Una de las ventajas de este mecanismo consiste en sacar el CO_2 del medio para evitar la formación de ácido carbónico que disminuya del pH del medio.

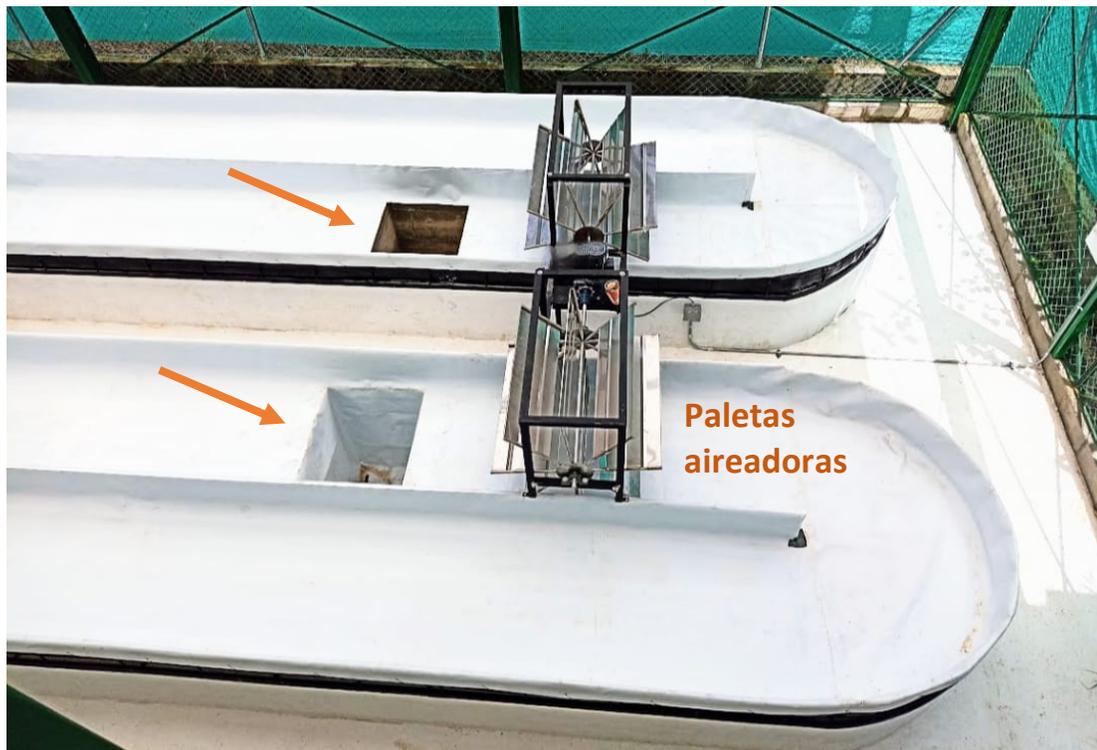


Figura 11. Foso desgasificador del sistema raceway (flechas) (Foto original Herazo-Cárdenas).

CAPÍTULO 2: Cultivo de cianobacterias

2.6.3 Monitoreo del cultivo de espirulina

Para el monitoreo de los parámetros ambientales se emplean equipos y materiales relativamente económicos y fáciles de conseguir, como son termómetro para medir la temperatura, Disco Secchi adaptado a la columna de agua (espirulómetro), cintas colorimétricas para medir el pH en el rango de 7 a 14 y refractrómetro para controlar la salinidad del medio (Figura 12).

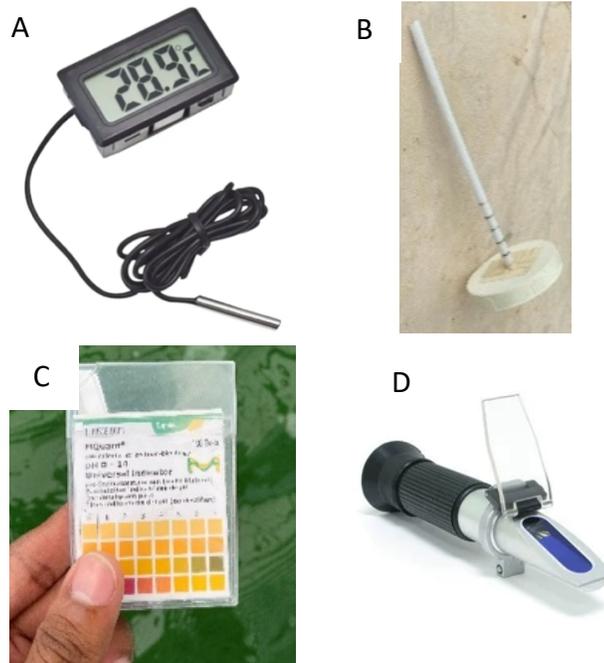


Figura 12. Instrumental básico para monitoreo de las variables físicas y químicas. A) Termómetro digital. B) Disco Secchi (o espirulómetro); C) pHchímetro por colorimetría; D) Refractrómetro.

Una actividad esencial en el mantenimiento de los cultivos, consiste en monitorear frecuentemente (día de por medio) el estado poblacional del cultivo. Uno de los métodos más sencillos es el recuento y verificación de la calidad del filamento o tricomas en placa Sedwick Rafter bajo el microscopio óptico en 10X (Figura 13).

Para monitorear el crecimiento del cultivo y el aumento de la biomasa de forma sencilla, se utiliza un “espirulómetro”, que consiste en un disco Secchi adaptado a la profundidad del raceway. Sin embargo, si se tiene la posibilidad, el uso del espectrofotómetro permite realizar la determinación de la densidad óptica (DO) con un nivel de precisión más elevado.

A partir de la muestra del cultivo, bajo el microscopio se evalúan los tricomas y determinación de microorganismos acompañantes, además del conteo celular y densidad óptica.

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

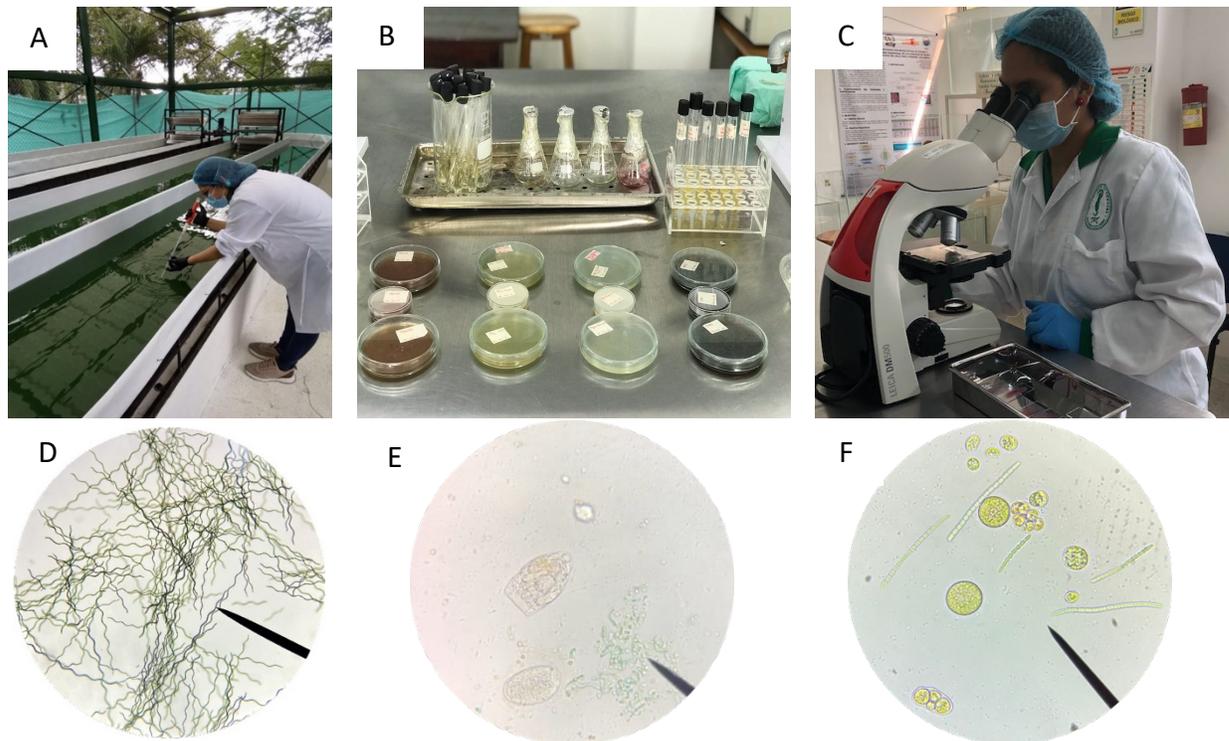


Figura 13. A) Recolección de muestras. B) Medios de cultivo para evaluar inocuidad. C) Inspección bajo el microscopio. D) Estado de vitalidad de espirulina. E) Contaminación biológica del cultivo por rotíferos, protozoos y microalgas. F) Contaminación por microalgas (Foto original: Herazo-Cardenas, Vallejo-Isaza, Pineda-Rodríguez).

2.7 Mantenimiento del cultivo de *Nostoc*

El cultivo de *N. commune* se desarrolla en biorreactores de 50 L (pueden ser bolsas de polipropileno de alta densidad u otro material transparente), los cuales son ubicados en estructuras metálicas y expuestos a la luz natural en fotoperiodo 12:12 h (Figura 14).

Los biorreactores con el medio de cultivo BG11, son inoculados con la cepa de *Nostoc* cuando el inóculo alcanza la densidad óptica (DO) de mínimo 0,9 nm de turbidez a longitud de onda (λ) 680 nm, densidad que se consigue al cabo de 30 días, aproximadamente.

2.7.1 Manejo del cultivo de *Nostoc*

El cultivo de *Nostoc* debe ser monitoreado para determinar la calidad celular de la cianobacteria, su dinámica poblacional y la presencia de microorganismos acompañantes.

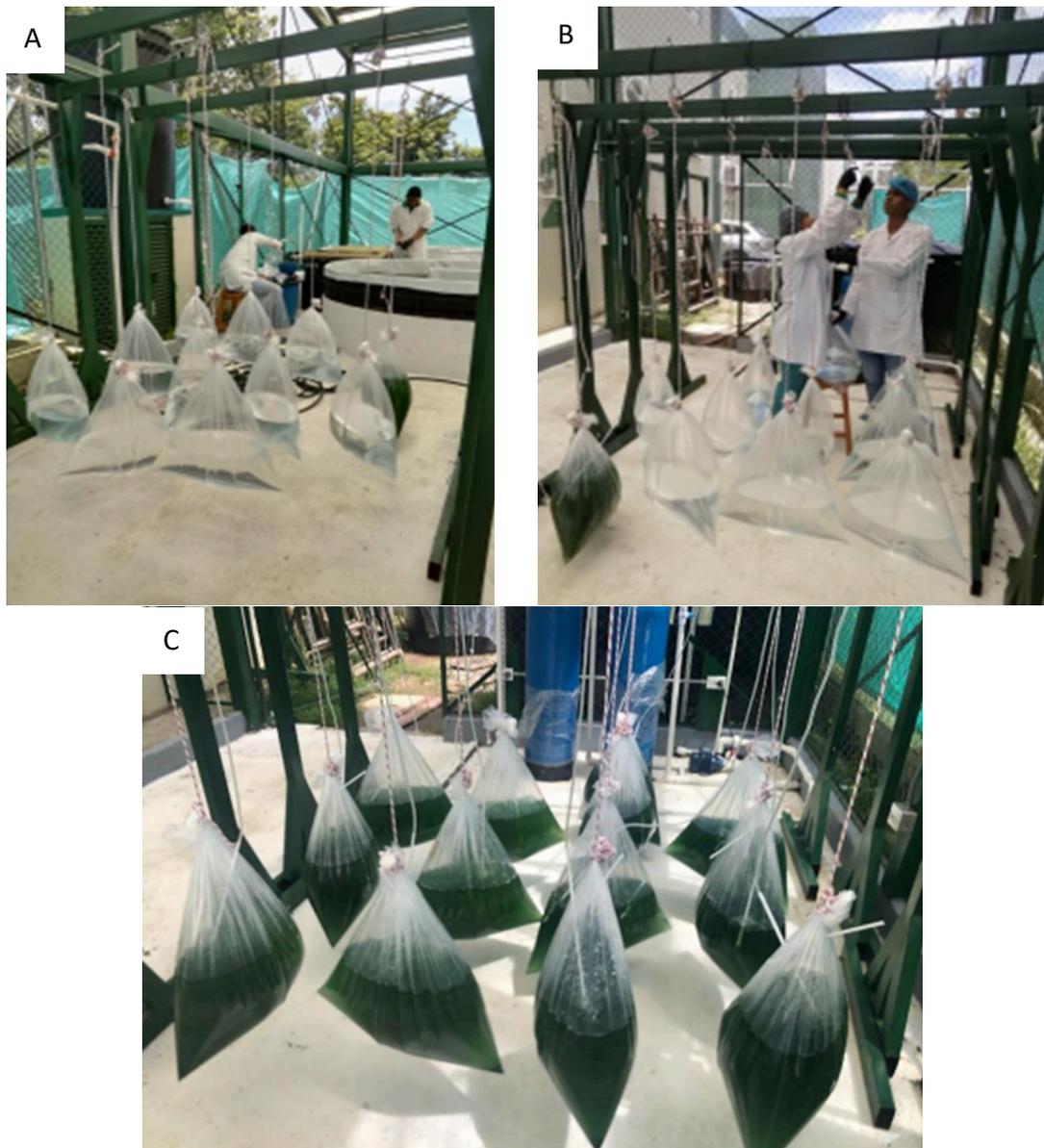


Figura 14. A) Estructuras soporte para los biorreactores. B) Disposición de los biorreactores listos para ser inoculados. C) Crecimiento de *Nostoc commune* en 50 L (Foto original: Herazo-Cardenas, Vegliante-Arrieta).

2.7.2 Monitoreo del cultivo de *Nostoc*

Las características del medio de cultivo BG11, con pH de 7,2 y baja concentración de sales, lo hacen propenso a contaminarse con otras microalgas (*Clamidomonas*) (Figura 15), protozoarios, rotíferos y otros. Según Jacinavicius y cols. (2013), un método que da buenos resultados para el control de estos microorganismos acompañantes a nivel de laboratorio es la aplicación de Cicloheximida ($C_{15}H_{23}NO_4$), a una dosis de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

En cultivos mayores a 16 L, los microorganismos acompañantes se controlan eficazmente al incrementar el pH a 9 y llevar a salinidad a 5 ppmil, condiciones a las que *Nostoc* se adapta muy bien.

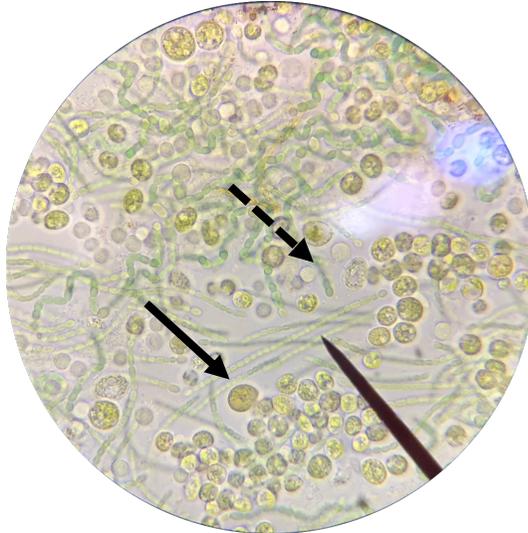


Figura 15. Contaminación del cultivo de *Nostoc commune* (flecha punteada) por *Chlamidomonas* (flecha continua) (gota húmeda 40X) (Foto original: Herazo-Cardenas, Vegliante-Arrieta).

2.7.3 Fertilización del cultivo de *Nostoc*

El cultivo de *Nostoc* tiene una duración de aproximadamente 30 días, tiempo durante el cual no requiere renovación de nutrientes. Cuando el cultivo alcanza la máxima tasa de crecimiento exponencial, se procede a la cosecha. Iniciar un nuevo cultivo, requiere la esterilización de los materiales como mangueras y aireadores y nuevas bolsas plásticas.

3 CAPÍTULO 3. COSECHA, SECADO Y APROVECHAMIENTO DE CIANOBACTERIAS.

3.1 Cosecha y secado de espirulina

La cosecha de espirulina se realiza cuando la población de cianobacterias se encuentra en la fase exponencial de crecimiento, es decir, hay mayor tasa de replicación que tasa de “mortalidad”. Esta información se obtiene con el registro diario de densidad poblacional, ya sea mediante el recuento celular bajo el microscopio (filamentos por mililitro), o la densidad óptica (OD), por espectrofotometría.

Se recomienda realizar la cosecha durante las primeras horas de la mañana, por las bondades de la temperatura ambiental, duración de la radiación solar para el secado de la biomasa cosechada. Además, en horas de la mañana, la concentración de proteína celular es más alta.

La cosecha se realiza en dos fases: la primera fase consiste en la extracción del volumen del cultivo establecido, a partir del uso de una bomba sumergible; en la segunda fase, se utiliza un tamiz de seda de 30 micras de ojo de malla, el cual se coloca sobre un tanque recolector de 1000 L; en el tamiz quedan retenidos los filamentos de espirulina que superan el tamaño del ojo de malla, para así obtener la biomasa húmeda disponible (Figura 16).

Para optimizar el cultivo, el agua filtrada es devuelta al raceway, y se repone el volumen faltante con agua filtrada y carbonatada. El exceso de agua de la biomasa cosechada se elimina exprimiéndola manualmente con un paño de seda de 30 μm .

El lavado de la espirulina, debe hacerse con agua alcalina para retirar el exceso de sales del cultivo; el uso de agua corriente (pH 7), ocasiona ruptura celular y pérdida de la calidad de la biomasa. Esto se evidencia fácilmente, porque el agua residual no sale clara, sino de color verde azulado, indicio del daño de las células.

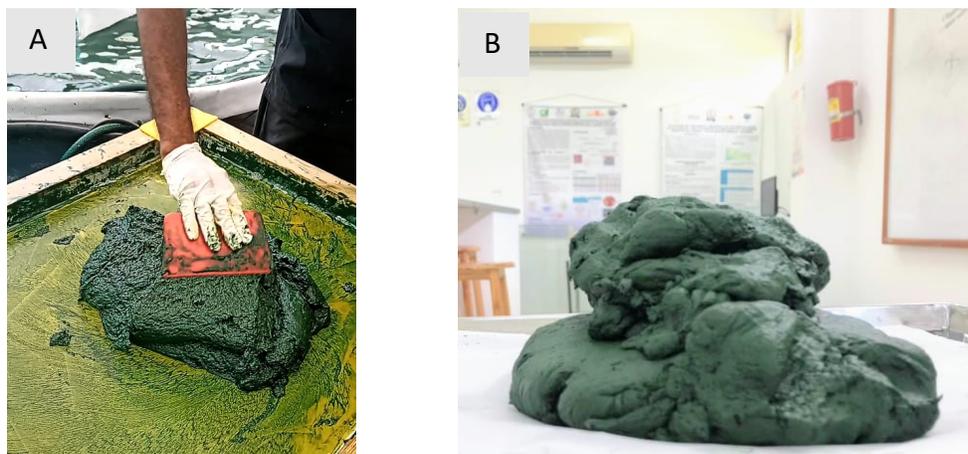


Figura 16. A) Cosecha y extracción del exceso de humedad de la biomasa. B) Biomasa húmeda lista para secado. (Foto original Herazo-Cárdenas).

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

El secado es un proceso importante en la producción de la espirulina; el proceso realizado correctamente permite que el producto almacenado tenga una durabilidad de hasta 5 años para su consumo.

La biomasa húmeda de espirulina se lleva a bandejas previamente esterilizadas, en las cuales se deposita en forma de “churros” o tiras de 0,5 a 1,0 cm de grosor para fácil manejo y rápido secado, utilizando una manga de repostería o un tubo de culinaria a presión manual (Figura 17 A)

Para el secado se pueden utilizar varios métodos: secado al sol directamente; secado en horno convencional, liofilización y secado por atomización.

Si bien, el proceso de secado por liofilización y atomización son muy eficientes y eficaces, también resultan más costosos. Cuando se produce espirulina a mediana escala es posible secarla al sol directamente, mientras las condiciones ambientales lo permitan; es importante tener en cuenta que, una exposición prolongada al sol, destruye la clorofila, haciendo que el producto se torne azulado.

El uso del horno deshidratador se recomienda cuando la intensidad de la radiación solar es insuficiente. Para este caso se recomienda secar la biomasa a temperatura entre 40 y 60°C hasta 7 horas, dependiendo de la carga de humedad de la biomasa cosechada o hasta que el producto seco se desprenda fácilmente de la bandeja de secado. Para preservar la biomasa seca de la humedad ambiental, se debe almacenar en empaques oscuros, al vacío o con cierre hermético.



Figura 17. A) Elaboración de “churros” para secado al sol o en hornos de secado. B) Biomasa seca lista para pulverizar. C) Molienda de espirulina. D) Espirulina en polvo (Foto original Herazo-Cárdenas)

3.2 Cosecha de *Nostoc*

La cosecha de *Nostoc* se realiza de manera similar a la espirulina. La biomasa húmeda del cultivo se obtiene a partir de filtración, mediante una tela o malla de fibra sintética de 30 micras (Figura 18).

Ante la dificultad de obtener la biomasa en el filtrado por el tamaño de las células y, teniendo en cuenta que las especies de *Nostoc* presentan exopolisacáridos ricos en compuestos bioactivos, el proceso de secado no se recomienda. Del total de la biomasa de *Nostoc* cosechada, el 10% corresponde a la fracción celular y el 90% a la fracción húmeda (Figura 19).

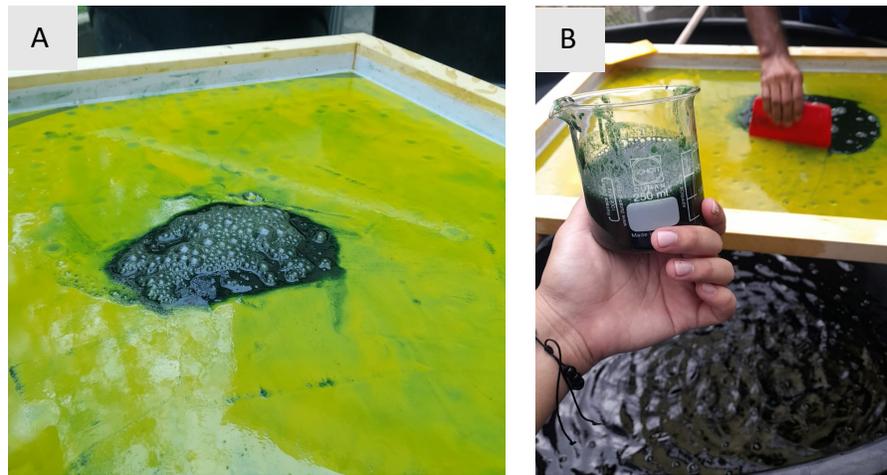


Figura 18. A) Cosecha de *Nostoc commune* en tamiz de 30 micras. B) Biomasa húmeda obtenida (Foto original Herazo-Cárdenas)



Figura 19. Biomasa húmeda de *Nostoc commune* (Foto original Vegliante-Arrieta).

3.3 Aprovechamiento.

Gracias a su composición bioquímica, las cianobacterias presentan un alto potencial biotecnológico; en la actualidad su uso va desde la alimentación suplementaria en humanos, grandes animales y pequeños animales, hasta su potencial en la industria farmacéutica, por sus compuestos bioactivos; además las cianobacterias tienen potencial como organismos biorremediadores al remover nutrientes (N y P), metales pesados, hidrocarburos; asimismo, actúa

CULTIVO DE CIANOBACTERIAS: Aspectos prácticos

en el mejoramiento de suelos como biofertilizantes y se utiliza en la industria energética en la producción de biocombustibles (Figura 20).



Figura 20. A) Obtención de bioproductos destinados a la agricultura. B) Utilización de espirulina para la obtención de biomoléculas destinadas a la nutrición, cosmética, medicina, etc.

En el marco del Programa: “Conectando conocimientos: Estrategias integrales para valorizar la biomasa microalgal en beneficio del sector agrícola colombiano” Código 1112-852, el proyecto “**Cultivo de *Arthrospira maxima* y *Nostoc commune* a escala piloto**”, código 71866 Universidad de Córdoba, produjo la biomasa necesaria para la formulación del biofertilizante y biopesticida obtenida por la Universidad CES, a partir del proyecto “**Desarrollo de biofertilizantes y biopesticidas para cultivos estratégicos en la agricultura colombiana**” código 71649, obteniendo como producto final los insumos para el desarrollo del proyecto: “**Evaluación de desempeño de los bioproductos en entornos reales en sistemas de producción agrícola del Caribe colombiano**” código: 71912, liderado por la Universidad de Córdoba (Figuras 21 y 22).

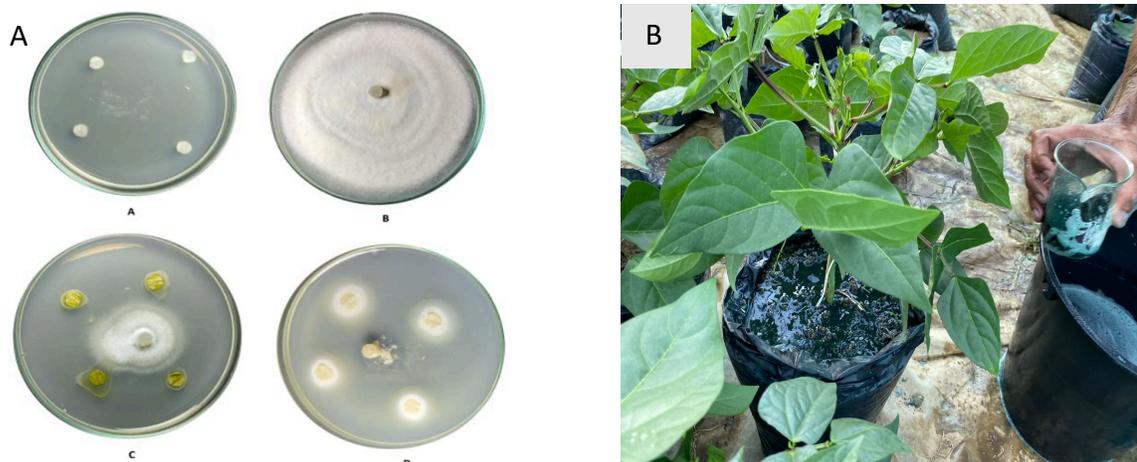


Figura 21. Prueba de antibiograma de bioproductos. Biofungicida A) Discos estériles; B) Hongo testigo; C) Hidrolizado en discos + hongo; D) Fungicida + hongo (Foto original Pico-González). B) Efecto del biofertilizante en frijol caupí (Foto original Ariza-González).

3.4 Costos de producción de espirulina.

El cultivo masivo de espirulina en sistema raceway, cosechado de manera semi continua, permitió obtener rendimientos en producción de biomasa de 0,71 g.L⁻¹, superior a lo reportado por diferentes autores, en cultivos similares en otras latitudes. Esta productividad se debe a las condiciones ambientales predominantes de la zona (Córdoba, Colombia), representadas por temperatura ambiente promedio de 33°C, fotoperiodo 12/12 y pH del cultivo 10 ± 1, salinidad de 10 ppmil, que garantizan la inocuidad del cultivo y su alto rendimiento.

Los costos estimados de producción mensual de harina de espirulina en raceways, considerando un cultivo semi continuo con seis (6) cosechas por mes de 1.000 L, para un total de 6.000 litros de cultivo cosechado, con un rendimiento de biomasa seca de 4.260 gramos/mes de harina de espirulina, se observa en la Tabla 4.

TABLA 4. Costos de producción mensual de harina de espirulina en raceways.

Rubro	Costos estimados	
	Valor (COP) mensual	(USD) values month
Medio de cultivo Jourdan	\$180.975	\$41,9
Equipos /materiales	\$461.979	\$107,0
Servicios	\$790.850	\$118,0
Personal	\$22.500	\$5,2
SUBTOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN	\$1.456.304	\$272,1
Imprevistos (10%)	\$145.630	\$27,2
COSTOS TOTALES DE OPERACIÓN MENSUAL	\$1.601.934	\$299,3
Biomasa producida (gramos/mes)	4.260	
PRECIO DE VENTA POR GRAMO	\$376	\$0,1

3.5 Calidad nutricional de espirulina.

La calidad nutricional de la espirulina cultivada en el sistema raceways de la Universidad de Córdoba, Colombia, fue obtenida a partir del análisis proximal de la espirulina seca, con los siguientes valores registrados en la Tabla 5. Destaca el 64,46% de contenido proteico en este sistema de producción, comparado con otras marcas comerciales nacionales e importadas (55 a 60%), lo que imparte una ventaja frente a productos similares.

TABLA 5. Valores nutricionales de polvo de espirulina *Arthrospira maxima*, cultivada en raceways.

Componente nutricional	100 g de espirulina (*)	Porción (3 g de espirulina)
Humedad	5,61%	0,168
Cenizas	5,21%	0,156
Proteína	64,46%	1,930
Grasa total	0,14%	0,0042
Carbohidratos totales	24,58%	0,737
Calorías (Kcal/100g)	357,42	10,722
Polvo de espirulina (<i>Arthrospira maxima</i>)		

* Laboratorio CECIF, Universidad CES, Medellín, Colombia

BIBLIOGRAFÍA

- Abalde, J., P. Hidalgo y E. Torres. 1995. Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. Universidad de Coruña, España. 210 p.
- Berry, S., Bolychevtseva, Y.V., Rogner, M., Karapetyan, N.V. 2003. Photosynthetic and respiratory electron transport in the alkaliphilic cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*. Photosy. Res. 78: 67 – 76.
- Carr, N., & Whitton, B. 1982. The Biology of Cyanobacteria (2nd Edition). California: University of California at Berkeley Press.
- Castenholz, R.W. 1989. Subsection III. Order Oscillatoriales. Bergey's manual of efficiency of systematic bacteriology.
- Castenholz, R. 1992. Species usage, concept and evolution in the cyanobacteria (blue green algae). Journal of Phycology, 737-745.
- Castro, G. 2018. BIOESTIMULANTES. Mexico.D.F
- Colla L.M., Reinehr C.O., Reichert C., Costa J.A.V. 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. EN: Bioresource Technology. Vol. 98; p. 1489-1493.
- Cruz, G. 2022. Manual para el cultivo artesanal de espirulina (*Arthrospira* spp.) en San Salvador Atenco, México. Tesis de grado. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. México.
- Defilippi Portal, P. F., Hurtado Salirrosas, V. A., Mendoza Vásquez, H. G., Morales Paico, N. R., & Negrini López, J. C. 2019. Quri: galletas de avena enriquecidas con cushuro (Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC)). Recuperado de <http://hdl.handle.net/10757/626268>
- Doods, W., Gudder, D., & Mollenhauer, D. 1995. The ecology of Nostoc. Phycology, 2-18.
- Encarnação, T., Pais, A. A., Campos, M. G., Burrows, H. D. 2015. Cyanobacteria and microalgae: a renewable source of bioactive compounds and other chemicals. Science Progress, 98(2). doi: 10.3184/003685015x14298590596266
- FAO 2011. espirulina: a livelihood and a business venture. Disponible el 2023-09-8 en: <https://www.fao.org/documents/card/es/c/fcbbb587-ac0a-4ceb-9a37-6ab2f79bd5c3/>
- Fernández-Honores, A. M., Alvítez-Izquierdo, E., & Rodríguez-Rodríguez, E. F. 2019. Taxonomía e importancia de "spirulina" *Arthrospira jenneri* (Cyanophyceae: Oscillatoriaceae). Arnao, 26(3), 1091-1104.
- Gantar, M. 2008. Microalgae and Cyanobacteria: Food for Thought. Phycol, 44: 260-268. Phycological Society of America. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2008.00469.x

BIBLIOGRAFÍA

- Gitelson, A., Qiuang, H., Richmonds, A. 1996. Photic volume in photobioreactors supporting ultrahigh population densities of the photoautotroph *Spirulina Platensis*. *Appl. Envir. Microb.* 62 (2): 1570 – 1573.
- Gouveia L, Marques A, Sousa J, Moura P, Bandara N. 2010. Microalgae: source of natural bioactive molecules as functional ingredients. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods.*; 7: 21-37
- Henrikson R. 1994. *Microalga spirulina super alimento del futuro: una notable alga azul que puede transformar su salud y nuestro planeta.* 1th Ed. Barcelona: Urano.
- INDESOL 2016. *Guía para la producción espirulina, Nutrición Verde.* Instituto Nacional de Desarrollo Social, México.
- Kebede, E., & Ahlgren, G. 1996. Optimum growth conditions and light utilization efficiency of *Spirulina platensis (Arthrospira fusiformis)* (Cyanophyta) from Lake Chitu, Ethiopia. *Hydrobiology*, 332(2), 99-109.
- Levasseur, W., Perré, P., Pozzobon, V. 2020. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology Advances*, 41, 107545. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107545
- López, U. 2023. *Evaluación del crecimiento y composición bioquímica de cianobacterias como alternativas nutricionales para humanos.* Tesis Maestría en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biotecnología Marina. CICESE. México.
- Martigani, F. 2012. *Influencia de la deficiencia por nutrientes, en el crecimiento y la producción de toxinas de una cianobacteria invasora.* Tesina para optar al grado de Licenciado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. 40 p.
- Panijar, N., Mishra, S., Yadav, A. N., Verma, P. 2017. *Functional foods from cyanobacteria.* *Microbial Functional Foods and Nutraceuticals.*
- Pedraza, G. 1989. *Cultivo de espirulina maxima para suplementación proteica.* *Livestock*
- Ponce, E. 2014. *Nostoc: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica.* *Idesia (Arica)*, 32(2),119-121. Recuperado el 27 de noviembre de 2022, de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000200015>.
- Qiu BS, Liu JY, Liu ZL, Liu SX. 2002. Distribution and ecology of the edible cyanobacterium *Ge-Xian-Mi (Nostoc)* in rice fields of Hefeng County in China. *J. Appl. Phycol.* 14: 423–429. Ramírez-Moreno & Olvera-Ramírez, 2006.
- Jacinavicius, F., Junior, W., Azevedo, M., Sant' Anna, C. 2013. *Manual para cultivo de Cianobacterias.* Universidad de Sao Paulo, Brazil,. 28 p.
- Ramírez-Moreno, L., & Olvera-Ramírez, R. 2006. *Uso tradicional y actual de Spirulina sp. (Arthrospira sp.).* *Interciencia*, 31(9), 657-663
- Rodríguez A.R, y Triana S, FC. 2006. *Evaluación del pH en el cultivo de espirulina spp. (=Arthrospira), bajo condiciones de laboratorio.* Trabajo de grado Microbiólogo Industrial.



Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá, D.C. abril 3 de 2006, 106 p.

Rosales-Loaiza, N., L. Díaz, C. Aiello-Mazzarri, y E. Morales- Avendaño. 2017. Cultivos a cielo abierto de las cianobacterias Nostoc LAUN0015 y Anabaena MOF015 para la producción de biomasa enriquecida. Pruebas piloto para cultivos masivos. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 48, No. 3, pp. 081-086.

Tarazona-Díaz, M. P. 2018. La espirulina una oportunidad como alimento funcional.

Vonshak & Tomaselli L. 2006. *Arthrospira* (Spirulina): systematics and ecophysiology. In The ecology of cyanobacteria. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p. 505–22

Xarxa espirulina 2016. Manual práctico de cultivo de espirulina en casa. Red internacional de cultivadores de espirulina por la soberanía alimentaria. <http://www.xarxaespirulina.cat/wp-content/uploads/2010/07/manual-cultivo-espirulina-bq.pdf>; buscado el 18 de enero 2022.

Whitton, B. 1992. Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. In: Mann N, Carr N, Eds. Photosy. proka. Plenum Press; pp. 1-37.

Whitton B & Potts M. 2000. Introduction to the cyanobacteria. Estados Unidos: Kluwer Academic Publishers.