

**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL****PRODUCTION OF *SPIRULINA PLATENSIS* (CYANOPHYTA) IN CONICAL PHOTOBIOREACTOR TUBULES UNDER LABORATORY CONDITIONS****PRODUCCIÓN DE *SPIRULINA PLATENSIS* (CYANOPHYTA) EN FOTOBIOREACTOR TUBULAR CÓNICO BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO**Ronald Huarachi O.<sup>1</sup>, Ursulo Yapo<sup>2</sup>, Alex Dueñas<sup>3</sup>, Joe Soto<sup>4</sup> & Rosaura González<sup>5</sup>

Laboratorio de Biología Acuática, Departamento Académico de Biología,  
Universidad Nacional de San Agustín (UNSA), Av. Alcides Carrión s/n, Arequipa, Perú.  
E-mail: <sup>1</sup>biologo18\_19@hotmail.com; <sup>2</sup>ultramolecular@hotmail.com; <sup>3</sup>amo\_jc@hotmail.com;  
<sup>4</sup>jsotofmet@gmail.com <sup>5</sup>rosagoju39@gmail.com

The Biologist (Lima), 2013, 11(2), jul-dec: 217-227.

**ABSTRACT**

The production of the Cyanophyta *Spirulina platensis* was investigated in a conical photobioreactor tubules under laboratory conditions. The laboratory-scale photobioreactor was constructed with a basal area of 0.221 m<sup>2</sup> and a cone (0.56 m x 0.60 m top diameter) designed with a PVC hose (47 m in length with 12 mm diameter using 40 m long for the 26 coils forming the cone, and 6.4 m for the heat exchanger), reinforced with metal wire and lined with aluminum foil (total volume = 4,085 L). The inner surface of the cone (0.5982 m<sup>2</sup>) (12 h light/12 h dark) was illuminated with a mercury vapor lamp. The photobioreactor operation ran with an air pump with a flow rate of 0.021 L/s resulting in a rate of production of dry biomass of 3.362 g/m<sup>2</sup> and a concentration of chlorophyll "a" of 0.05658 mg/L with illumination at 5617.23 lux. The growth of *S. platensis* in conical photobioreactor tubules conforms to an "S" curve growth model in 22 days (R<sup>2</sup> = 0, 865; F = 57, 592).

**Keywords:** conical, La Molina, photobioreactor, production, *Spirulina*.**RESUMEN**

La producción de la cyanophyta *Spirulina platensis* se investigó en un fotobioreactor tubular cónico bajo condiciones de laboratorio. El fotobioreactor a escala de laboratorio fue construido con un área basal de 0,221 m<sup>2</sup> y un cono (0,56 m de alto x 0,60m diámetro superior) diseñado con una manguera PVC (47 m de longitud con 12 mm de diámetro utilizando 40 m de largo para las 26 espiras que forman el cono; 6,4 m para el intercambiador de calor), reforzado con alambre de metal y forrado con papel aluminio; (volumen total = 4,085 L). La superficie interna del cono (0,5982 m<sup>2</sup>) fue iluminado con lámpara de vapor de mercurio (12 h luz/12 h oscuridad). La operación del fotobioreactor funcionó con una bomba de aire con un caudal 0,021 L/s dando como resultado una tasa de producción de biomasa seca de 3,362 g/m<sup>2</sup> y una concentración de clorofila "a" de 0,05658 mg/L con una iluminación de 5617,23 lux. El crecimiento de *S. platensis* en el fotobioreactor tubular cónico se ajusta al modelo de la curva de crecimiento "S" en 22 días (R<sup>2</sup>=0,865; F=57,592).

**Palabras clave:** cónico, fotobioreactor, La Molina, producción, *Spirulina*.

## INTRODUCCIÓN

La tecnología de la producción de *Spirulina* ha avanzado en los últimos treinta años, resultando una mejor calidad de producto a un costo relativamente menor. La *Spirulina* o *Arthrospira* ha atraído la atención de los investigadores por muchos años, como lo demuestran cientos de publicaciones en sus diversos aspectos. Hay más información disponible sobre su biología, biotecnología y aplicaciones de la nutrición, aplicación sanitaria, aplicaciones como la producción de biocombustibles y como un sistema vital de ayuda en estudios espaciales (Koru 2012).

Esta microalga puede ser una alternativa para ayudar en el tratamiento de aguas residuales de porcinos, reduciendo el impacto ambiental causado por los contaminantes y también utilizar la biomasa producida en alimentación animal y fertilizantes, en la producción de pigmentos, vitaminas, polisacáridos, entre otros (Mezzomo *et al.* 2010) Las microalgas, incluyendo cianobacterias, pueden ser una fuente de compuestos bioactivos valiosos, por ejemplo, pigmentos, vitaminas u otros complementos alimenticios, así como metabolitos secundarios con actividad farmacológica altamente selectiva. El desarrollo futuro de la biotecnología algal se está moviendo hacia el campo de los productos de alto valor fabricados en condiciones de cultivo bien controladas (luz, temperatura, pH, CO<sub>2</sub> y nutrientes) (Borowitzka & Moheimani 1995, Skulberg 2004). Sin embargo, el control total de los parámetros del cultivo sólo es posible en sistemas cerrados, es decir, en fotobiorreactores, que son sistemas flexibles que pueden ser diseñados de acuerdo a las características biológicas y fisiológicas de una especie de microalga seleccionada. Uno de los factores limitantes para el logro de altos niveles de producción de biomasa de *Spirulina platensis* Nordstedt, 1844 es la disponibilidad de fotobiorreactores adecuados.

Hasta la fecha, casi toda la producción comercial de esta alga se realiza en estanques en la que el cultivo es agitado con una rueda de paletas. Sin embargo, la experiencia acumulada en los últimos años indica que las altas tasas de producción no pueden ser alcanzadas con dichos sistemas de cultivo por un número de razones: (1) dificultad en el mantenimiento de la temperatura óptima durante todo el día y en todo el año; (2) limitada disponibilidad de luz a las células debido a una baja relación superficie-volumen, (3) concentración de biomasa baja, dando lugar a costosos procedimientos de recolección y economía desfavorables; (4) alto riesgo de contaminación por otros microorganismos y (5) dificultad de optimizar y automatizar el proceso con el fin de lograr una mejor utilización de la energía solar y temperatura en todo momento. Como resultado de estos problemas, los fotobiorreactores cerrados han ganado importancia para el cultivo de microalgas. Una parte importante del diseño y la construcción del fotobiorreactor tubular es proporcionar un alto sistema de iluminación en una relación superficie-volumen adecuada (Torzillo *et al.* 1993). En esta investigación se describe el diseño, construcción y producción del cultivo de *S. platensis* en un fotobiorreactor. Tal diseño al ser llevado a escala industrial permitiría maximizar la captura de la radiación incidente sobre el plano del fotobiorreactor y lograr la plena utilización de la superficie de terreno que ocupa. Este segundo aspecto podría ser importante en el desarrollo de fotobiorreactores tubulares en las zonas donde el precio del terreno es alta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Fotobiorreactor tubular cónico

El fotobiorreactor utilizado en este estudio consistió de cinco partes: (1) un cono espiral de 56 cm de altura y 60 cm de diámetro construido con una manguera transparente de PVC

(Policloruro de Vinilo) de 40 m de longitud y 12 mm de diámetro interno; (2) un intercambiador de calor de forma espiral construido de manguera de PVC (6,4 m de longitud y 12 mm de diámetro interno); (3) un desgasificador construido con una botella de 1 L de capacidad; (4) una lámpara de vapor de mercurio de 250 Watts (marca Philips), y (5) una bomba de aire Rikasp aquarium SB-348 (Figuras 1 y 2). (Watanabe & Hall 1996).

El fotobioreactor tiene un área basal de  $0,221\text{m}^2$ . La superficie externa del cono está cubierta con papel aluminio para evitar la absorción de la luz exterior. El área iluminada (superficie interior del cono) es  $0,5982\text{ m}^2$ ; la manguera de PVC que forma las espiras del cono ocupa una superficie de  $2,2609\text{ m}^2$ ; esta superficie interior del área de la manguera del cono es más grande que la superficie interior del cono. Luego usamos el valor del área iluminada  $2,2609\text{ m}^2$  para calcular la producción de biomasa por metro cuadrado. El volumen total de la manguera que forma el cono fue  $4,52\text{ L} = (\pi \times (0,6\text{ cm})^2 \times 4000\text{ cm})$ ; la proporción del área iluminada (superficie interior del cono) al volumen total de la manguera que forma el cono fue  $0,132\text{ m}^2/\text{L}$ . El volumen total del sistema, incluyendo el intercambiador de calor y tuberías de conexión fue  $6,313\text{ L}$ .

### **Organismo, medio de cultivo y operación del sistema.**

El inóculo de *S. platensis* fue obtenido de la Colección de Biotecnología de Microalgas del Laboratorio de Biología Acuática - Universidad Nacional de San Agustín (UNSA), Arequipa, Perú. El cultivo fue mantenido usando la solución hidropónica "La Molina" al 25% (Contreras 1998, Mesco 2002), con la siguiente composición (g/L): Solución A: Superfosfato triple 35;  $\text{KNO}_3$  110;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  70; Solución B:  $\text{MgSO}_4$  44; Fetrilon combi 2,5; Ácido bórico 0,24 y  $\text{NaHCO}_3$  8 g. Todos los nutrientes fueron

disueltos en agua de clorada, manteniendo un  $\text{pH}=9$  y se autoclavó a  $120^\circ\text{C}$ ; 15 Lb de presión por 20 mi. El volumen de *S. platensis* que se colocó al fotobioreactor fue de 4,085 L para mantener un  $\text{pH}$  entre 9 a 10.

### **Observación ultramicroscópica de los filamentos de *Spirulina platensis***

Se realizó en el Centro de Microscopía Electrónica (CME) de la Universidad Nacional de San Agustín (UNSA) de Arequipa, Perú.

Para la observación ultramicroscópica de los filamentos de *S. platensis*, se utilizó el microscopio electrónico de barrido marca Philips SEM XL 20 con microanalizador de rayos X por dispersión de energía marca EDAX DX 4i; las muestras al ser de tipo no metálicas fueron metalizadas, es decir han sido recubiertas con una capa metálica de oro de espesor aproximado de  $100\text{ (Å)}$  Angstroms con el metalizador de vacío marca Denton Vacuum Desk II, con la finalidad que sean conductoras y puedan ser analizadas en el microscopio electrónico. Las imágenes fueron grabadas por computadora (Fig. 3).

### **Caudal del fotobioreactor tubular cónico**

El fotobioreactor utiliza una bomba de aire, el flujo de líquido fue mediante la inyección de aire. La manguera de diámetro interno de 1,2 cm es adecuada para permitir el funcionamiento del ascensor de aire en este reactor de tipo cono. Un grupo de filamentos de *Spirulina* (agregaciones) se puso en el fotobioreactor con el fin de controlar la circulación del medio de cultivo. Los agregados circulan con el medio donde está la viscosidad prácticamente equivalente a la del agua, con caudales de aire. Diez mediciones de las tasas de movimiento del agregado se realizaron entre dos puntos en el tubo de abajo para el cálculo del caudal del medio (Watanabe & Hall 1996).

### **Determinación espectrofotométrica de la clorofila "a" de *S. platensis***

Las muestras de producción de *S. platensis* se

concentraron mediante centrifugación (10000 rpm; 10 min), decantando el sobrenadante y sometiéndolo a nitrógeno líquido para su lisis, después se resuspendió en un volumen de etanol absoluto hasta cubrir el precipitado el cual se mantuvo en refrigeración a 4°C en un frasco ambar por 2 días. El extracto se centrifugó por 10 min a 8000 rpm para su clarificación, separando el sobrenadante y anotando el volumen total del extracto. Posteriormente se transfirió 1,5 mL del extracto clarificado a una cubeta de espectrofotómetro (1 cm) registrándose la densidad óptica a 750 nm y 664 nm, enseguida se añadió 0,05 mL de HCl 0,1 N agitando con cuidado el extracto acidificado y se tomaron las absorbancias (DO) a 750 nm y 665 nm; 90 seg después de la acidificación. Restando las absorbancias que se obtuvieron a 750 nm (no-acidificada y acidificada) a las correspondientes lecturas que se obtuvieron a 664 nm antes de acidificar y a 665 nm después de acidificar (la absorbancia registrada a 750 nm es una medida de la turbidez en el extracto). Utilizando los valores corregidos (DO = 664 nm y DO = 665 nm) se calculó la concentración de clorofila - "a" (APHA 1992).

#### **Evaluación del crecimiento de *S. platensis* en fotobioreactor tubular cónico**

Para evaluar el crecimiento de *S. platensis* se realizó el conteo con cámara de Sedgwick-Rafter y se determinó en organismos/mL (Fig. 4) (Borowitzka & Moheimani 2013).

#### **Determinación de la biomasa**

Para la determinación de la biomasa seca se procedió a filtrar 350 mL de muestra de *S. platensis*, a través de un papel filtro (marca Whatman y porosidad semilento) luego se secó en estufa durante 2 h a 105 °C (Vonshak 2002).

El otro método que se utilizó para determinar la producción de *Spirulina* fue por el método del espirómetro, utilizando un disco Secchi casero hecho a base de una regla de 20 cm y un disco de color blanco de 3 cm de diámetro, que

permitió una medida aproximada pero bastante subjetiva que depende: del sujeto, de la claridad circundante, del ángulo y de la turbidez del medio de producción. Antes de medir se agitó el medio para homogenizar, luego se dejó reposar por un min. Se anotó la profundidad en cm hasta donde es posible distinguir el disco. La teoría indica que cada uno debe determinar su propia correlación; profundidad-correlación-turbidez, dentro de las condiciones estándar. (Planchon & Fuentes 2009).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El área basal del cono fue 0,221 m<sup>2</sup>; siendo la relación del interior de la superficie de la maguera que forma el cono (área iluminada) a la zona basal de 10,23. La velocidad de flujo del medio de cultivo en la zona comprendida entre el desgasificador con el intercambiador de calor fue de 0,0132 m/s con un caudal medio igual a 0,002 L/s. El flujo de la bomba de aire resultó igual a 0,133 L/s dando lugar a un flujo medio en la parte superior del cono igual a 0,021 L/s. El pH igual a 10,16 del medio de cultivo resultó dentro del rango de crecimiento de *S. platensis* (Fig. 5). La temperatura máxima alcanzada fue de 31°C a las 12 del mediodía y la temperatura media fue de 25,26°C hasta los 22 días de evaluación (Fig. 6), la temperatura es responsable del aumento de la productividad. La *Spirulina* es un candidato excelente para cultivo al aire libre, siendo termófila y alcalófila, bajo condiciones óptimas de crecimiento con temperatura máxima de 37 °C y pH de alrededor de 10; facilitando el mantenimiento del cultivo al aire libre (Vonshak 2002). La iluminación artificial en el fotobioreactor dió una irradiación diaria promedio de 208,5 W m<sup>-2</sup> [250 W ÷ 0,5982 m<sup>2</sup> x 12 h (24 h)<sup>-1</sup> = 208,5 W m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup>] (Style 2012).

En el estudio de la estructura ultramicroscópica de los filamentos de *S.*

*platensis* mediante microscopía electrónica a diferentes aumentos (266X; 1276X y 160X) se observó los extremos romos característicos del filamento de la microalga, mostrando cinco a seis espiras de 60 µm aprox., coincidiendo con los caracteres morfológicos típicos de *S. platensis* (Fig. 3) (Fox 1996), describiendo la longitud de espiras entre 30 a 75 µm.

El recuento de organismos presentó un crecimiento máximo a los 11 días de 233333 org/mL. El crecimiento de *S. platensis* se ajustó a un modelo matemático de crecimiento "S".

$$x(t) = x \left[ 1 - \exp \left\{ - \left[ \frac{t - t_0}{T} \right]^2 \right\} \right]$$

para  $t > t_0$  (Fig. 7) (Juarez 2010).

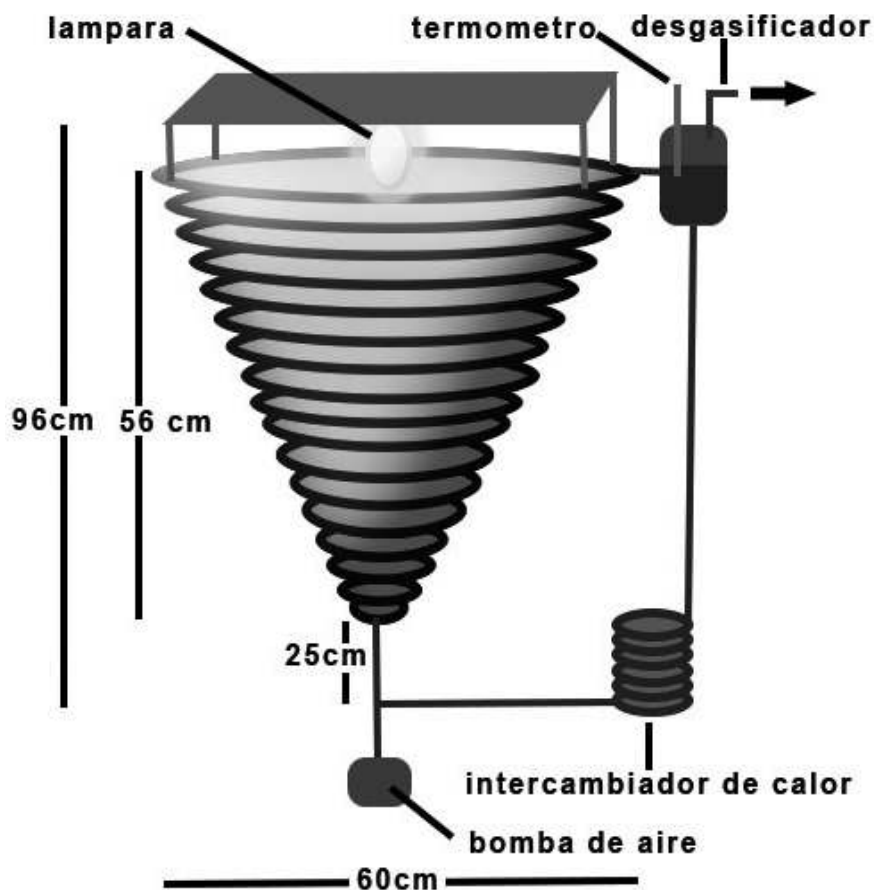
La producción en peso seco de *S. platensis* fue de 0,743 g/L ó 0,03715 g/L/día ó 3,362 g/m<sup>2</sup>. La densidad medida mediante disco Secchi (2,7 cm) fue igual a 0,67 g/L (Planchon & Fuentes 2009), la tasa de producción de biomasa en peso seco fue de 0,51 g de biomasa seca/L/día en un cultivo realizado en un fotobioreactor tubular (Watanabe & Hall 1996); en cultivos realizados a campo abierto en reactores tubulares se obtuvo productividades promedio de 0,83; 0,44 y 0,61 g peso seco L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> alcanzados en otoño (septiembre-octubre), invierno (noviembre-diciembre) y marzo, respectivamente (Zittelli *et al.* 1996). La productividad en peso seco en cultivo con agua de mar natural enriquecida con diferentes cantidades de NaHCO<sub>3</sub> y NaNO<sub>3</sub> fue de 0,28 g/L en 18 días (Gami *et al.* 2011). *S. platensis*, en cultivo semicontinuo aireado en matraces Erlenmeyer de dos L por 90 días (2160 h) a 30° C con menos de 2500 lux de iluminación en un fotoperíodo de 12 h. presentó productividad (0,042 g/L/día) (Reichert *et al.* 2006). El

cultivo de *S. platensis* en fotobioreactor de columna de burbujas con un volumen total de 1200 mL utilizando orina humana como medio de cultivo obteniendo una productividad de 0,17 g/L/día en 14 días (Feng & Wu 2005). Se realizó un cultivo mixotrófico feed-batch de *Arthrospira platensis*, los cultivos fueron realizados a 30°C con el uso de luz 2 klux con alternancia de luz y oscuridad alimentado con glucosa y obteniendo una concentración de biomasa de 1,3 g/L en 12 días (Lodi *et al.* 2005). Se realizó un cultivo de *S. platensis* por proceso continuo usando Cloruro de amonio como una fuente de nitrógeno, obteniendo una productividad máxima de 0,092 g/L/día (Sassano *et al.* 2007). La producción de *S. platensis* en sistema combinado de reactor tubular fue de 0,71 g/L/día al cabo de 15 días de cultivo (Converti *et al.* 2006). La producción medida por unidad de área basal no supera a la obtenida por estanques al aire libre o reactores cerrados descritos; el fotobioreactor tubular cónico es recomendable para mantener la *S. platensis* como cepa madre para producción industrial o bioensayos. La biomasa seca se determinó al día 22, sin embargo el mayor crecimiento se presentó en el día 11 de cultivo indicando de esta manera que la cosecha de *Spirulina* sería adecuado hasta este tiempo, ya que la producción en fotobioreactor tubular cónico es rápida, es recomendable cosechar cuando la producción es máxima, caso contrario aumentaría la viscosidad formando agregaciones en las paredes de la manguera, tanto a nivel del cono como del intercambiador de calor.

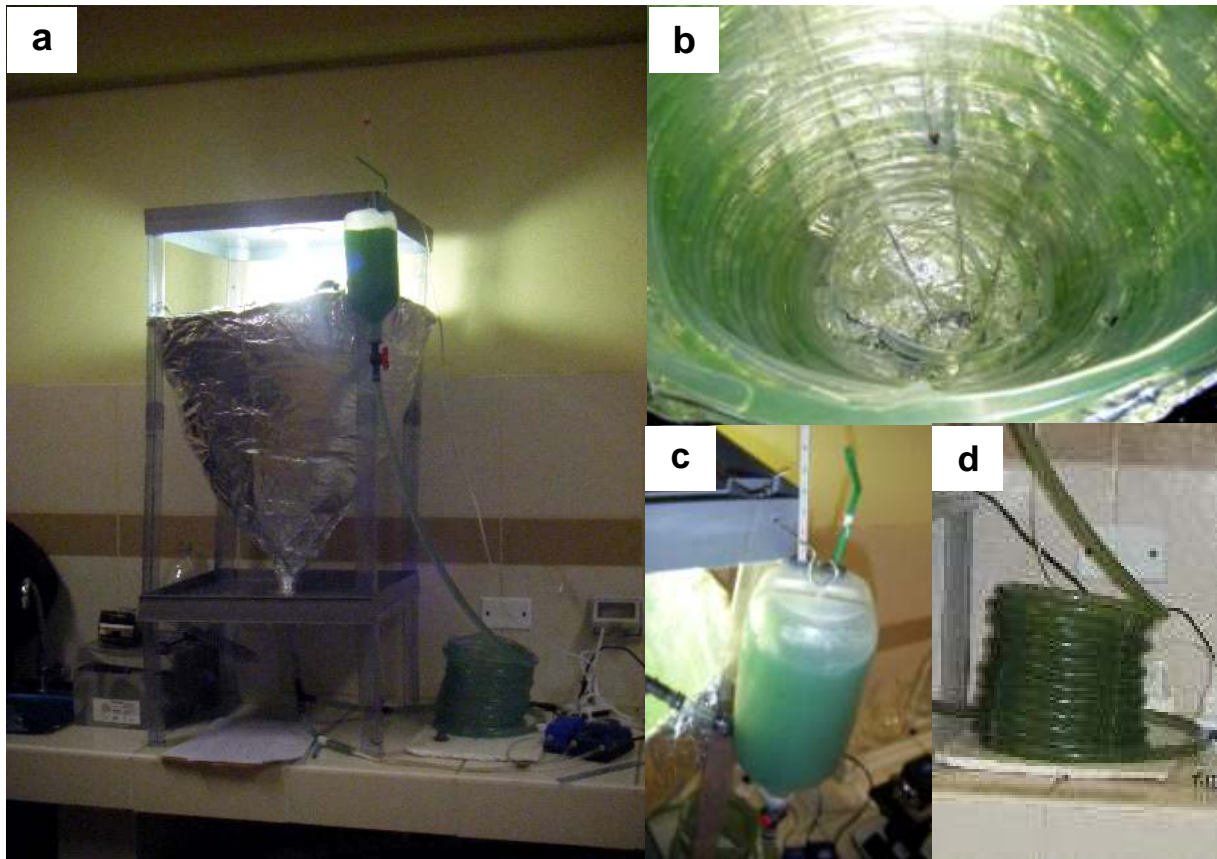
La concentración de clorofila "a" en valores de biomasa fue de 0,05658 mg/L con una iluminación de 5617,23 lux=(12700Lm/2,2069 m<sup>2</sup>) equivalente a 0,0076% de biomasa seca. La composición de clorofila "a" presente en *Spirulina* varía de 0,8 a 1,5 % de materia seca (Paoletti *et al.* 1980). Se obtuvo 26 mg de clorofila/L en 1,4 g de peso seco/L en un fotobioreactor tubular diseñado con 10 tubos de vidrio conectado a

PVC (Policloruro de vinilo) que sirven como codos iluminado con 7400 lux (Vonshak *et al.* 1996). Se realizó un cultivo “fed-batch” para el crecimiento de *S. platensis*, bajo la influencia de la intensidad de la luz y la suplementación de úrea como fuente de nitrógeno obteniendo 0,69 mg/L/d de clorofila “a” con 5600 lux (Rangel *et al.* 2003). Se investigó la eficiencia fotoquímica del PSII (fotosistema II) y tasa de crecimiento de *S. platensis* y su variante menor en cultivo semicontinuo bajo diferentes

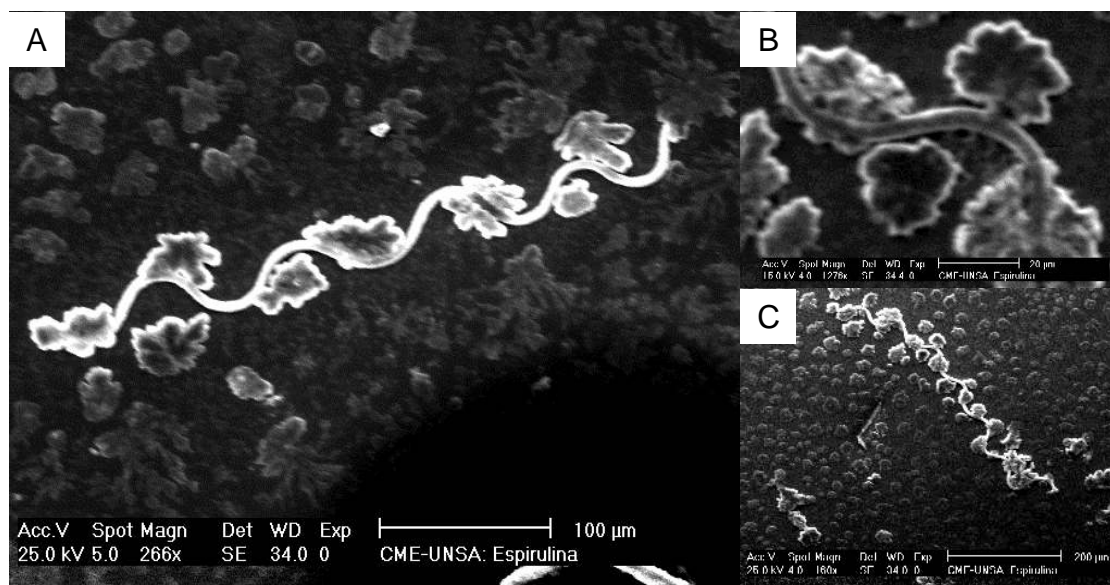
longitudes de onda obteniendo 5 a 6 ug de clorofila “a”/mg de peso seco (Gao & Ma 2008). Se realizó el cultivo de *S. platensis* en un fotobioreactor cerrado con columna de burbujas obteniendo 4,79 mg/L de clorofila con 1000 lux iluminado con luz blanca (Ravelonandro *et al.* 2008). La concentración de clorofila “a” es una relación inversa a la intensidad de la luz (Rangel *et al.* 2003).



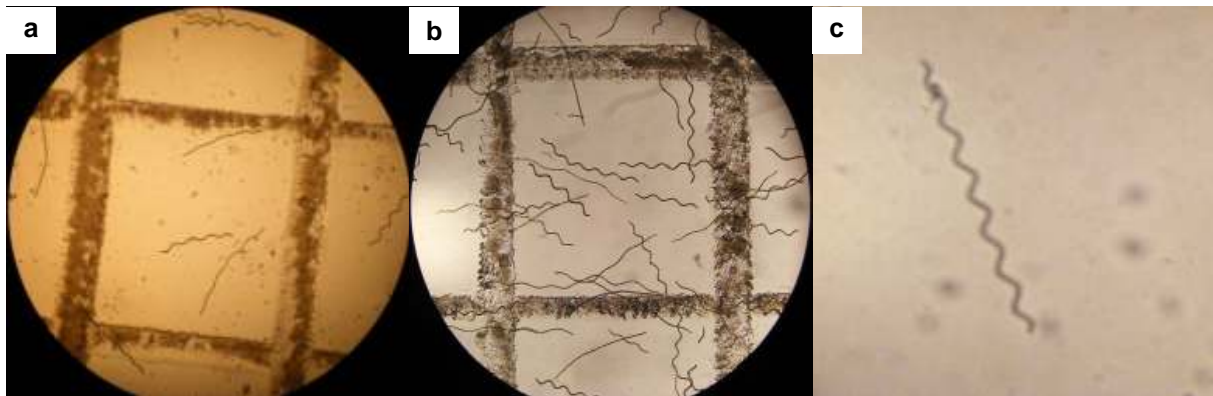
**Figura 1.** Diagrama Esquemático del Fotobioreactor Tubular Cónico para producción de *S. platensis*. Altura del sistema (96 cm). Altura del cono (56 cm). Número de espiras del cono (26). Diámetro del cono (0,60 m). Número de espiras del intercambiador de calor (13). El fotobioreactor tubular cónico es un sistema construido con manguera PVC (47 m de longitud, 12 mm de diámetro) utilizando 40 m de largo para el cono; 6,4 m para el intercambiador de calor; desgasificador (1L de capacidad con termómetro y tubo de salida de gas). Longitud de la manguera que une el desgasificador con el intercambiador de calor (0,60 m). El sistema funciona con lámpara de vapor de mercurio (250 Watts) y una bomba de aire.



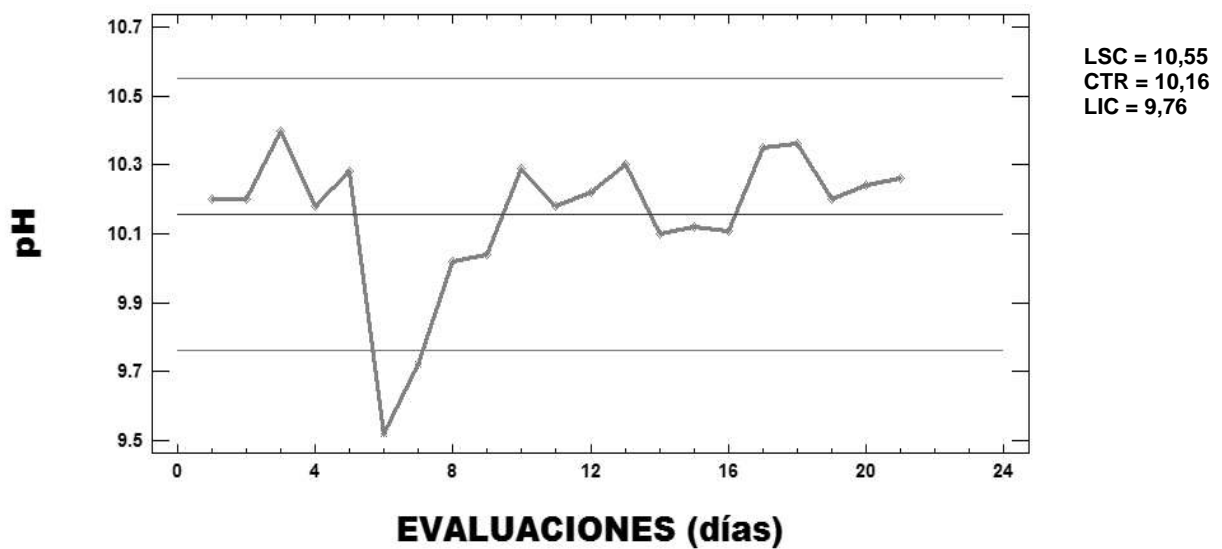
**Figura 2.** Fotobioreactor: (a) Fotobioreactor tubular cónico; (b) Interior del cono con 26 espiras; (c) Desgasificador de 1 L de capacidad con un tubo de salida de gas y un termómetro de alcohol (d) Intercambiador de calor con 13 espiras.



**Figura 3.** Morfología de *Spirulina platensis*. Micrografía Electrónica de los filamentos a diferentes aumentos (A,266X; B,1276X; C,160X). Fotos tomadas por J. Soto, Centro de Microscopía Electrónica (CME), Universidad Nacional de San Agustín (UNSA), Arequipa - Perú



**Figura 4.** Vista microscópica (a, b) *Spirulina platensis* en cámara de conteo Sedgwick-Rafter (40X) y (c) *Spirulina platensis* (40X).



**Figura 5.** Relación entre el pH del medio de producción de *S. platensis* en fotobioreactor cónico y el tiempo de evaluación (en días). LSC = Límite Superior de Confianza; LIC = Límite Inferior de Confianza; CTR = Valor Medio del pH.



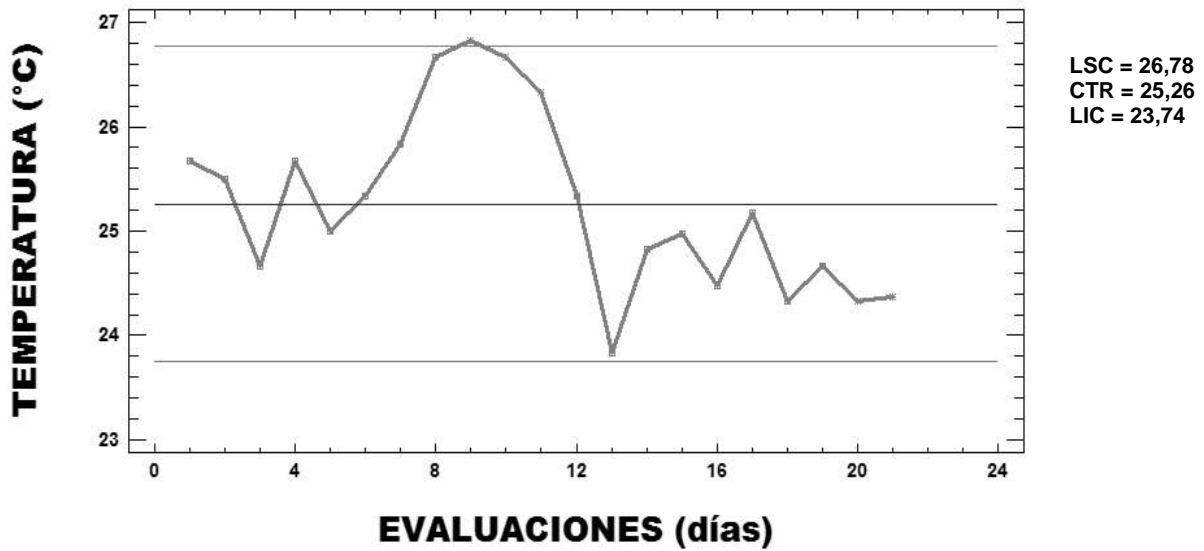


Figura 6. Relación entre la temperatura media de la producción de *S. platensis* en fotobioreactor cónico y el tiempo de evaluación (en días). LSC= Límite Superior de Confianza; LIC= Límite Inferior de confianza; CTR= Valor medio de la Temperatura.

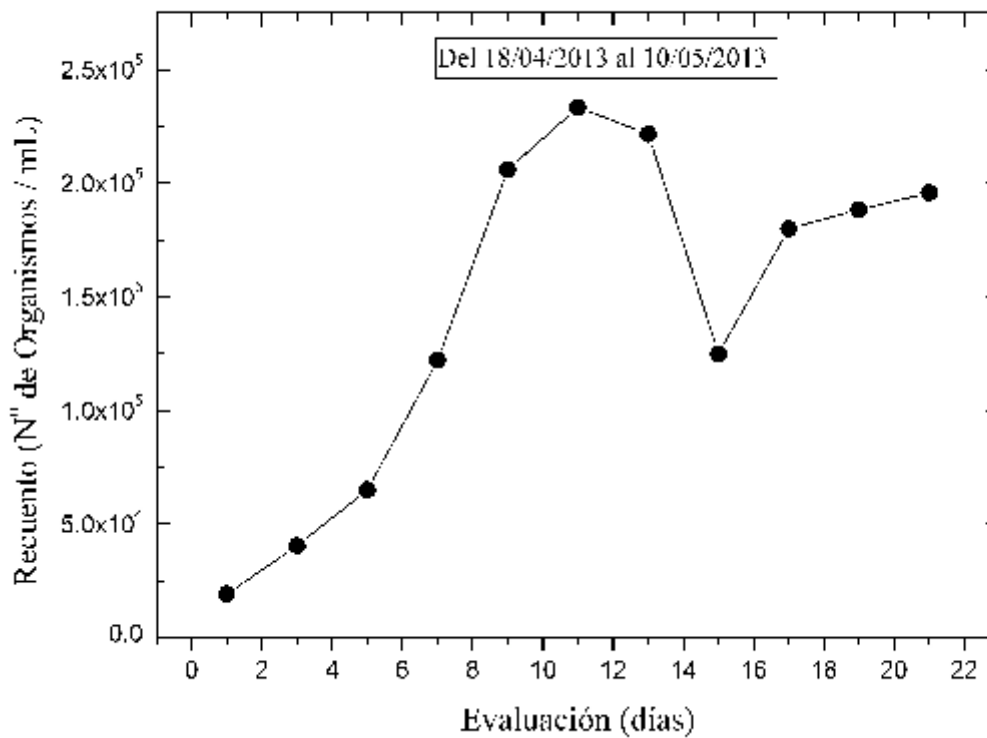


Figura 7. Crecimiento de *S. platensis* en fotobioreactor tubular cónico hasta los 22 días de evaluación.

## AGRADECIMIENTOS

A Joseph Le Bour; Tito Cuadros; Cynthia Romero; Percy Apfata, Alex Ticona y Giovani Alatrística por la ayuda que nos brindaron en la presente investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters*. 18<sup>va</sup> ed. American Public Health Association. Washington, DC.
- Borowitzka, M. & Moheimani, N., 2013. *Standard methods for measuring growth of algae and their composition. Algae for biofuels and Energy*, Developments in Applied Phycology . Springer Science. Australia. pp. 265-284
- Contreras, C. 1998. *Evaluación de la producción de Spirulina platensis (Nordstedt) utilizando como medio de cultivo la solución hidropónica "La Molina"*. Tesis para optar el título de Ingeniero Pesquero. Universidad Nacional de San Agustín. 66 p.
- Converti, A.; Lodi, A.; Borghi, A. & Solisio, C. 2006. Cultivation of *Spirulina platensis* in a combined airlift-tubular reactor system. *Biochemical Engineering Journal*, 32: 13-18.
- Feng, D. & Wu, Z. 2005. Culture of *Spirulina platensis* in human urine for biomass production and O<sub>2</sub> evolution. *Journal of Zhejiang University Science B*, 7:34-37.
- Fox, R. 1996. *Spirulina: Production & Potential*. Edisud. 232 p.
- Gami, B.; Naik, A. & Patel, B. 2011. Cultivation of *Spirulina* species in different liquid media. *Journal of Algal Biomass Utiln*, 2: 15 - 26.
- Gao, K. & Ma, Z. 2008. Photosynthesis and growth of *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Cyanophyta) in response to solar UV radiation, with special reference to its minor variant. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 123-129.
- Juárez, S. 2010. *Pronóstico de la demanda en los sistemas de distribución de energía eléctrica: Aplicando la teoría de valores extremos*. Tesis. Universidad Veracruzana. 71 p.
- Koru, E. 2012. *Earth Food Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Standarts*. Food Additive. Y. El-Samragy (Ed.). ISBN: 978-953-51-0067-6, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/food-additive/earth-food-spirulina-arthrospira-production-and-qualitystandarts>, leído el 3 de enero del 2013.
- Lodi, A.; Binaghi, L.; De Faveri, D.; Carvalho, J.; Converti, A. & Del Borghi, M. 2005. Fed-batch mixotrophic cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Cyanophyceae) with carbón source pulse feeding. *Annals of Microbiology*, 55: 181-185.
- Mesco, A. 2002. *Cultivo de Spirulina platensis en condiciones de laboratorio utilizando solución hidropónica en combinación con agua de subsuelo*. Tesis para optar el título de Ingeniería Pesquera. Universidad Nacional de San Agustín. 107 p.
- Mezzomo, N.; Saggiorato, A.; Siebert, R.; Tatsch, P.; Lago, M.; Hemkemeier, M.; Costa, J.; Bertolin, T. & Colla, L. 2010. Cultivation of microalgae *Spirulina platensis (Arthrospira platensis)* from biological treatment of swine wastewater. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 30: 173-178.
- Paoletti, C.; Vicenzini, M.; Bocci, F. & Materassi, R. 1980. *Composizione biochimica generale delle biomasse di Spirulina platensis e Spirulina maxima. Prospettive della coltura di Spirulina in*

- Italia. Roma: Consiglio Nazionale delle Ricerche. pp.111-125.
- Planchon, G. & Fuentes, R., 2009. *La Spiruline Pour Tous*. Pilgrims Book House. India. 179 p.
- Ravelonandro, P.; Ratianarivo, D.; Joannis-Cassan, C.; Isambert, A. & Raherimandimby, M. 2008. Influence of light quality and intensity in the cultivation of *Spirulina platensis* from Toliara (Madagascar) in a closed system. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83:842–848.
- Rangel, C.; Godoy, E.; Monteiro, J. & Sato, S. 2003. Chlorophyll production from: *Spirulina platensis* cultivation with urea addition by fed-batch process. *Bioresource Technology*, 138: 133-141.
- Reichert, C.; Reinehr, C. & Costa J. 2006. *Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23: 23-28.
- Sassano, C.; Gioielli, L.; Almeida, K.; Sato, S.; Perego, P.; Converti, A. & Carvalho, J. 2007. Cultivation of *Spirulina platensis* by continuous process using ammonium chloride as nitrogen source. *Biomass and Bioenergy*, 31: 593–598.
- Style, O. 2012. *Energía Solar Autónoma (Planificación, dimensionado e instalación de un sistema fotovoltaico autónomo)*. 1<sup>ra</sup> ed. Itaca. Barcelona, España.
- Skulberg O. 2004. *Bioactive chemicals in microalgae*. In: Richmond, A. (ed.). *Handbook of microalgal cultures: Biotechnology and Applied phycology*. Blackwell, Oxford, pp. 485-512.
- Torzillo, G.; Carlozzi, P.; Pushparaj, B.; Montaini, E. & Materassi, R. 1993. Two-plane tubular photobioreactor for outdoor culture of *Spirulina*. *Biotechnology and Bioengineering*, 42: 891 - 898.
- Vonshak, A.; Torzillo, G.; Accolla, P. & Tomaselli, L. 1996. Light and oxygen stress in *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) grown outdoors in tubular reactors. *Physiologia Plantarum*, 97: 175-179.
- Vonshak, A. 2002. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis. Ben Gurion University of the Negev, Israel. 227 p.
- Watanabe, Y. & Hall, D. 1996. *Photosynthetic production of the filamentous cyanobacterium Spirulina platensis in a cone-shaped helical tubular photobioreactor*. Springer-Verlag. pp. 693-698.
- Zittelli, G.; Tomasello, V.; Pinzani, E. & Tredici, M. 1996. Outdoor cultivation of *Arthrospira platensis* during autumn and winter in temperate climates. *Journal of Applied Phycology*, 8: 293-301.

Received July 15, 2013.  
Accepted September 18, 2013.