

## CONTENIDO DE LÍPIDOS, ÁCIDOS GRASOS, EXOPOLISACÁRIDOS Y MINERALES DE *Arthrospira maxima* CULTIVADA EN FOTOBIOREACTORES<sup>1</sup>

## CONTENTS OF LIPID, FATTY ACIDS, EXOPOLYSACCHARIDES AND MINERALS OF *Arthrospira maxima* CULTIVATED IN PHOTOBIOREACTORS<sup>1</sup>

Lolymer Romero Maza\*, Miguel Guevara\*\*, Bertha Arredondo-Vega\*\*\*, Bladimir Gómez\*, Berenice Licett\*\*\*\* y Luis Freites\*\*

<sup>1</sup>Trabajo financiado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente. Bajo el Proyecto CI.-2-030603-1282/06.

\*Estudiantes de Postgrado en Ciencias Marinas y \*\*Profesor. Universidad de Oriente. Instituto Oceanográfico de Venezuela.

\*\*\*Investigadora. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR), Baja California. México.

\*\*\*\*Investigadora. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Sucre). Venezuela.

Correo electrónico: miguevara2003@yahoo.es

### RESUMEN

Esta investigación planteó la evaluación de la composición bioquímica de la biomasa de *Arthrospira maxima* obtenida en fotobiorreactores, bajo condiciones ambientales controladas. A tal efecto, esta cianobacteria fue cultivada de forma discontinua en fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos, durante 30 d en medio Zarrouk. El crecimiento poblacional analizado, a través de la determinación de la biomasa seca, fue mayor en el fotobiorreactor helicoidal (1,37 mg ml<sup>-1</sup>). El mayor contenido de exopolisacáridos se encontró en el fotobiorreactor helicoidal a los 12 d de cultivo. En ambos sistemas de cultivo se detectaron saponinas, esteroides insaturados y alcaloides. El contenido promedio de lípidos totales obtenido en los fotobiorreactores helicoidales (6,05 ± 0,012%) no mostró diferencias significativas (P>0,05) con los determinados en los fotobiorreactores cilíndricos (5,76 ± 0,038%). El ácido palmítico fue el ácido graso que se encontró en mayor proporción (fotobiorreactor helicoidal = 43,84 ± 0,922% y fotobiorreactor cilíndrico = 44,87 ± 3,094%). Los ácidos grasos poliinsaturados 18:2n-6 y 18:3n-6 mostraron concentraciones similares en ambos tipos de fotobiorreactores (16 a 18%). Al culminar esta investigación se deja en evidencia que los dos sistemas de cultivo evaluados permiten obtener biomasa de *Arthrospira maxima* con altos contenidos de lípidos totales y ácidos grasos, además de minerales y compuestos químicos de interés para la medicina, las industrias farmacéuticas y alimenticias.

**Palabras Clave:** *Arthrospira maxima*; cianobacteria; fotobiorreactor.

### SUMMARY

*Arthrospira maxima* (UTEX) was cultivated in batch mode under controlled environmental conditions in helical and cylindrical photobioreactors for 30 days in Zarrouk medium. Population growth, analyzed through the determination of dry biomass was higher in the helical photobioreactor (1.37 mg ml<sup>-1</sup>). The highest content of exopolysaccharides was found in the helical photobioreactor at 12 days of culture. In both culture systems we detected saponins, unsaturated sterols and alkaloids. The average content of total lipids obtained in the helical photobioreactor (6.05 ± 0.012%) showed no significant differences (P > 0.05) with those determined in the cylindrical photobioreactor (5.76 ± 0.038%). Palmitic acid was the fatty acid found in greater proportion (helical bioreactor = 43.84 ± 0.922%; cylindrical photobioreactor = 44.87 ± 3.094%). Polyunsaturated fatty acids found in greatest proportion were 18:2n-6 and 18:3n-6, which showed concentrations of 16-18%, with similar concentrations in both culture systems. This investigation demonstrated that the cultivation of *A. maxima* in both photobioreactors allows the production of biomass with high content of total lipids and fatty acids, plus minerals and important chemical compound for medical, pharmaceutical and food industries.

**Key Words:** *Arthrospira maxima*; cyanobacterium; photobioreactor.

## INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias comprenden un grupo grande y heterogéneo de procariontes fotoautotróficos oxigénicos, ampliamente aprovechadas para diferentes fines, destacándose su utilidad para la biorremediación de ambientes contaminados (Chaumont, 1993), como fertilizantes (Venkataraman, 1981), productoras de metabolitos secundarios (Naranjo *et al.*, 2010), especialmente en la producción de alimentos para el consumo humano y animal (Vonshak, 1997; Abdulqader *et al.*, 2000; Chamorro *et al.*, 2002).

Una de las cianobacterias más cultivada es *Arthrospira* (Silva *et al.*, 2012) como alimento para humanos y animales sometidos a cultivo, entre ellos crustáceos, moluscos y peces. Su gran aplicabilidad se fundamenta en su alto contenido nutricional: proteínas (55 a 60%), carbohidratos (12 a 20%), fibra (8 a 10%), vitaminas (A, complejo B, E, biotina, ácido fólico, inositol y ácido pantoténico), minerales (calcio, fósforo, hierro, sodio, potasio, zinc, cobre, manganeso, germanio), lípidos (6 a 8%), ácidos grasos: linoleico (20 a 30%), palmítico (55 a 70%) y oleico (3 a 50%) y pigmentos: betacaroteno (52 a 69%), zeaxantina (24 a 19%), ficocianina (10 a 15%), clorofila a (1 a 2%), según Belay, 2002.

Otros tipos de productos químicos obtenidos a partir de *Arthrospira* son los metabolitos secundarios (saponinas, fenoles) y los exopolisacáridos, los cuales son utilizados en la industria farmacéutica como anticoagulantes, antivirales y antioxidantes (Chamorro *et al.*, 2002); además los exopolisacáridos se emplean en la biorremediación de suelos contaminados por xenobióticos, ya que funcionan como quelantes de metales pesados y como removedores de material suspendido en reservorios de agua (Bender and Phillips, 2004; Trabelsi *et al.*, 2009).

En la última década se ensayaron diferentes métodos para la producción masiva de cianobacterias, destacándose entre éstos el uso de los fotobiorreactores, representando una serie de ventajas (control de las condiciones de cultivo, limitación de contaminantes y facilidad de la cosecha de biomasa); sin embargo, se deben tomar algunas precauciones al momento de diseñar el fotobiorreactor, como lo son: adecuada trayectoria de la luz, agitación constante, evitar la acumulación de O<sub>2</sub> y sustancias inhibitorias y un sistema que permita mantener valores óptimos de temperatura y pH (Contreras *et al.*, 2003).

Los fotobiorreactores permiten optimizar la producción de *Arthrospira*. Al respecto, Tredici y Zittelli (1997)

obtuvieron rendimientos de 25 a 28 g m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup> de *Arthrospira* en pequeños biorreactores cerrados. Por su parte, Matsudo *et al.* (2009) lograron cultivar *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* en fotobiorreactores utilizando como fuente de nitrógeno la urea, obteniendo un máximo valores de 2 101 ± 113 mg l<sup>-1</sup> de biomasa. Cogne *et al.* (2005) también cultivaron *Arthrospira platensis* en biorreactores y reportan que la luz es uno de los factores limitantes del crecimiento celular.

La máxima producción de biomasa de *Arthrospira*, con una calidad nutricional óptima, puede lograrse a través de las variaciones de las condiciones de cultivo, las cuales incluye temperatura de 25 a 40 °C, pH entre 10 a 11; irradiancia de 60 a 1 000 μmol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, salinidades de 1,5 a 5,0 UPS, nutrientes y abundante agitación (Zarrouk, 1966; Pedraza, 1989; Rojas *et al.*, 2012).

En Venezuela, las investigaciones sobre la producción de biomasa de *Arthrospira* son escasas (Fuenmayor *et al.*, 2002; Loreto *et al.*, 2007; Licet, 2008) y no se ha logrado desarrollar una tecnología para aprovechar los beneficios que brinda esta microalga. Esta investigación planteó la evaluación de la composición bioquímica de la biomasa de *Arthrospira maxima* obtenida en fotobiorreactores, bajo condiciones ambientales controladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Microorganismo:** en esta investigación se utilizó una cepa de *A. maxima* procedente de la colección de Texas EE. UU. (UTEX), donada por el Laboratorio de Microalgas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR, México) y mantenida en el cepario del Laboratorio de Acuicultura, Extensión Plancton del Departamento de Biología Pesquera del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente.

**Condiciones de cultivo y diseño de los fotobiorreactores:** la microalga *A. maxima* fue cultivada de forma discontinua, por triplicado, en medio Zarrouk (Zarrouk, 1966) durante 30 d, bajo condiciones de ambiente controlado (25 ± 1 °C) en dos tipos de fotobiorreactores:

**1. Fotobiorreactor helicoidal:** con una inclinación de 2° con respecto a la horizontal, consiste en una manguera plástica transparente flexible (20 m de largo y 2,5 cm de diámetro) enrollada alrededor de una estructura rígida de malla metálica con forma cilíndrica (2 m de alto y 0,6 m de diámetro), que sirvió como soporte (Figura 1a).

El inicio y final de la manguera estuvieron conectados a un desgasificador (5 l de capacidad), el volumen de cultivo en este fotobiorreactor fue de 25 l, el suministro de aireación constante (200 ml/min) por la parte inferior de la manguera garantizó el flujo continuo del medio de cultivo, evitando de esa manera la sedimentación de las células y permitiendo un mayor intercambio gaseoso y exposición a la fuente de luz ( $98 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) proporcionada por tres lámparas fluorescentes de 40W.

**2. Fotobiorreactor cilíndrico:** botellones de vidrio (15 l de capacidad y 30 cm de diámetro), conteniendo 12 l de medio de cultivo con aireación constante de  $200 \text{ ml min}^{-1}$  y ubicados a 10 cm de distancia de una fuente de luz (tres lámparas fluorescentes de 40 w) que suministraron una irradiancia de  $98 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 1b).

**Parámetros de crecimiento poblacional y pH:** desde el inicio del ensayo, cada 24 h se tomaron 10 ml por triplicado de los cultivos de *A. maxima* y se centrifugaron a 4 000 rpm durante 15 min, posteriormente, la pastilla celular fue lavada con formiato de amonio a 1% para eliminar restos de sales, centrifugada nuevamente y colocada en una estufa a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta obtener una masa constante. El pH se midió diariamente utilizando un pH metro marca Denver.

### Composición química

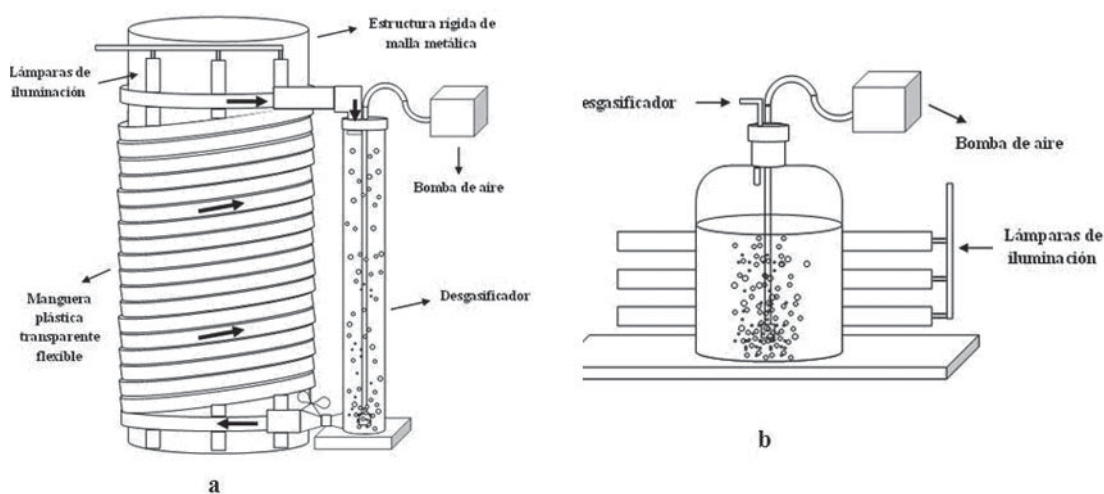
**Exopolisacáridos:** se determinaron durante las fases de crecimiento exponencial (12 d) y estacionaria (24 d) de los cultivos, según el método de precipitación en acetona (Vicente *et al.*, 2004). Este método consistió

en centrifugar (3 500 rpm, 40 min) 20 ml de los cultivos en fase de crecimiento exponencial (12 d) y en fase estacionaria (24 d), posteriormente, se separó el sobrenadante, al cual se le adicionó 40 ml de acetona. La mezcla se dejó reposar (48 h,  $0 \text{ }^\circ\text{C}$ ), se centrifugó hasta obtener la pastilla de exopolisacárido y se colocó en una estufa a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , para luego pesarla. El contenido de exopolisacáridos se expresó en  $\text{mg ml}^{-1}$  y corresponde al promedio de todas las réplicas.

**Metabolitos secundarios:** la detección de las familias de compuestos se realizó al final del ensayo (30 d) de acuerdo con las técnicas descritas por Domínguez (1973) y Marcano y Hasegawa (2002).

**Lípidos totales:** la determinación de los lípidos totales se realizó al final del ensayo (30 d). La extracción del contenido lipídico, a partir de la biomasa de *A. máxima*, se llevó a cabo a través de la metodología descrita por Bligh and Dyer (1959); mientras que la cuantificación se hizo mediante un ensayo cuantitativo basado en la carbonización de la materia orgánica (Marsh and Weinstein, 1966).

**Perfil de ácidos grasos:** al final del ensayo (30 d) los extractos lipídicos de la biomasa de *A. máxima*, obtenidos a través del método de Bligh y Dyer (1959), se esterificaron de acuerdo con la metodología de Sato y Murata (1988). Los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron analizados a través de un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (HP 1800B), utilizando una columna omegawax TM 250 fused sílica (Supelco) de  $0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m} \times 25 \text{ m}$  de largo.



**FIGURA 1.** Diseño de los fotobiorreactores. a) Helicoidal y b) Cilíndrico.

Los ácidos grasos fueron identificados mediante la comparación de los tiempos de retención de un patrón comercial de ésteres metílicos de ácidos grasos PUFA-3 (Sigma) y por comparación de los espectros de masa que generaron las muestras, con relación al espectro de masas contenido en las bibliotecas NIST2000 y CIBNOR. Los resultados se expresaron en porcentaje con base a los ácidos grasos encontrados.

**Microelementos:** la biomasa de *A. maxima* cosechada al final del ensayo (30 d) se sometió a un proceso de digestión en caliente (100 °C), en un horno microondas, CEM Mars5X 12044, durante 2,5 h, con una mezcla de ácido nítrico: ácido clorhídrico, en proporción de 3:1 (APHA *et al.*, 1980). Luego, las muestras digeridas fueron analizadas en un espectrómetro de absorción atómica, GBC Avanta 12209. Las concentraciones de metales se expresaron en mg l<sup>-1</sup> de cultivo.

**Análisis estadísticos:** los resultados de lípidos totales, ácidos grasos, microelementos y metabolitos secundarios fueron contrastados mediante un análisis de varianza de una vía (factor: sistema de cultivo). Los resultados del contenido de exopolisacáridos se analizaron a través de una ANOVA de dos vías (factor 1: fases de cultivo, factor 2: sistema de cultivo) (Sokal y Rohlf, 1995).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Crecimiento poblacional y pH

El crecimiento de *A. maxima* cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio, en los dos tipos de fotobiorreactores, se muestra en la Figura 2. Además, se observa que el mayor contenido de biomasa en el fotobiorreactor helicoidal se obtuvo en el día 20 ( $1,4 \pm 0,015$  mg ml<sup>-1</sup>), mientras que en el cilíndrico ocurrió durante el día 22 ( $0,94$  mg ml<sup>-1</sup>). Al comparar estos valores con los referidos en la literatura, se evidencia que son superiores a los reportados por Reichert *et al.* (2006), alcanzando concentraciones de biomasa de  $0,50$  mg ml<sup>-1</sup> inferiores a los demostrados por Andrade y Costa (2007), quienes encontraron concentraciones de biomasa de  $2,8$  mg ml<sup>-1</sup>. Las diferencias observadas en el crecimiento poblacional de *A. maxima* cultivada en los fotobiorreactores se debió a la agitación del medio de cultivo.

El fotobiorreactor helicoidal, al ofrecer mayor movimiento del cultivo propició un crecimiento poblacional más elevado, debido principalmente, a que esta agitación mantuvo en suspensión las sales nutritivas, permitié

un mayor intercambio gaseoso y penetración de la luz. La menor agitación presente en los fotobiorreactores cilíndricos propició la formación de una capa densa de *A. maxima* en la superficie de los cultivos, la cual, al limitar el paso de la luz al fondo del recipiente, produjo una disminución del crecimiento del alga. Esta formación de biocapas sobre la superficie del cultivo, está íntimamente asociada con aquellas microalgas que producen polisacáridos exocelulares (De Philippis y Vincenzini, 1998), como es el caso de *A. maxima* (observación personal) y *A. platensis* (Eliach *et al.*, 2004).

Los valores de pH registrados durante el desarrollo de los cultivos, se mantuvieron entre 10 a 11 (promedio:  $10,5 \pm 0,70$ ), los cuales están en concordancia con lo reportado por la mayoría de los autores, quienes indican que el metabolismo de *A. maxima*, así como el de otras especies del género *Arthrospira* es óptimo a pH 9 a 11 (Melack y Kilham, 1974; Rafiqul *et al.*, 2005), lo que garantiza que los cultivos sean menos contaminados por otros organismos competidores y depredadores, tipo microalgas o protozoarios (Ciferri, 1983), situación que se corroboró en este trabajo, pues, no se evidenció en los cultivos la presencia de este tipo de organismos.

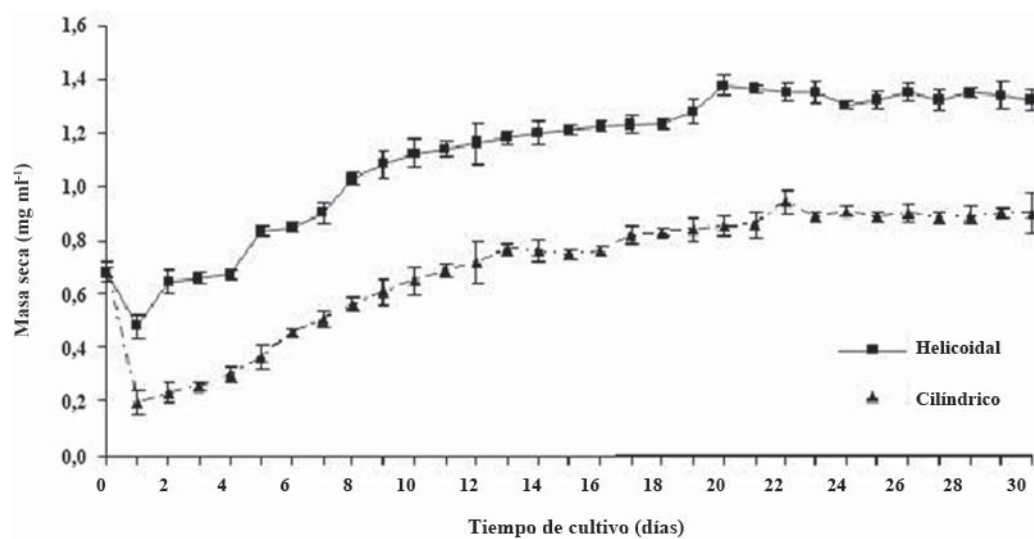
### Composición química de la biomasa de *A. maxima*

**Exopolisacáridos:** la concentración de exopolisacáridos obtenida en los cultivos de *A. maxima* en fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos se presenta en la Figura 3. El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el contenido de estos exocompuestos, tanto en el tipo de fotobiorreactor utilizado ( $P < 0,05$ ;  $F_s = 58,48$ ) como en el periodo de cosecha ( $P < 0,05$ ;  $F_s = 9,79$ ), obteniéndose los mayores valores ( $14,50 \pm 0,901$  mg ml<sup>-1</sup>) en el fotobiorreactor helicoidal, durante la fase exponencial (12 d de cultivo).

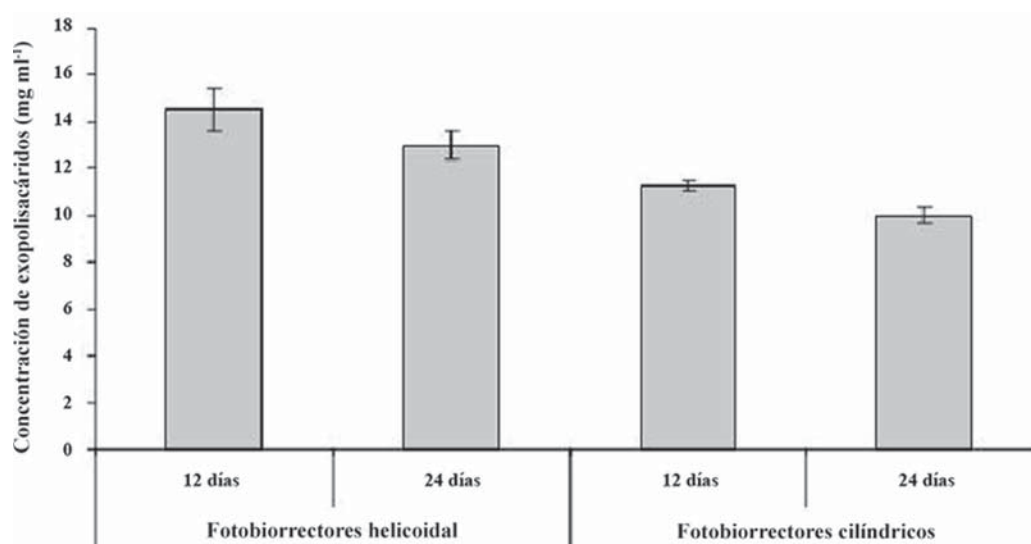
Lo anterior puede ser atribuido a que en estos cultivos *A. maxima* estuvo expuesta a una mayor irradiancia, lo que propicia la síntesis de polisacáridos exocelulares, como protección de las células ante los factores estresantes (De Philippis y Vincenzini, 1998). El estudio de los exopolisacáridos de *Arthrospira* ha tomado auge durante los últimos años, dado que estos compuestos poseen una marcada actividad biológica.

Al respecto, Seyoum *et al.* (1998) observaron que extractos acuosos de *A. platensis* inhibieron la replicación del VIH-1 en líneas de células T humanas. La caracterización química de estos extractos reveló la presencia de polisacáridos y taninos con interés clínico, debido a la significativa actividad antirretroviral que poseen.





**FIGURA 2.** Crecimiento poblacional de *A. maxima*, cultivada bajo condiciones de ambiente controlado en fotobiorreactores.



**FIGURA 3.** Contenido de exopolisacáridos ( $\text{mg ml}^{-1} \pm \text{DS}$ ) en *A. maxima*, cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio en fotobiorreactores.

**Metabolitos secundarios:** las únicas familias químicas detectadas en los extractos de *A. maxima*, cultivada en fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos, fueron saponinas, esteroides insaturados y alcaloides. Estos resultados difieren de los presentados por Li-Chen *et al.* (2005) y Colla *et al.* (2007) quienes reportan que *A. platensis* logra producir compuestos fenólicos, posibles responsables de la actividad antioxidante de dicha cepa.

Esta discrepancia de resultados se debe a que los mencionados autores analizaron otra especie de *Arthrospira* y además utilizaron condiciones de cultivo distintas, lo que puede llevar a la cianobacteria hacia la producción de un compuesto u otro. La influencia que ejerce el medio y las condiciones de cultivo sobre la producción de un determinado compuesto por parte de *Arthrospira* se demuestra en numerosas investigaciones (Mussagy *et al.*, 2006; Ballot *et al.*, 2005; Codd *et al.*, 2005).

**Lípidos totales:** el contenido promedio de lípidos totales, obtenido en *A. maxima* (Cuadro 1) en los fotobiorreactores helicoidales ( $6,05 \pm 0,0125\%$ ), demostró diferencias no significativas ( $P > 0,05$ ;  $F_s = 0,72$ ) con los determinados en los fotobiorreactores cilíndricos ( $5,76 \pm 0,038\%$ ). Estas concentraciones de lípidos son similares a los valores reportados por Cohen (1997); Oliveira *et al.* (1999); Ramírez y Olvera (2006), quienes indicaron que la mayoría de las especies de *Arthrospira* posee entre 6 a 13% de lípidos totales. Sin embargo, el contenido de esta macromolécula puede incrementarse al variar las condiciones y sistemas de cultivo (Ciferri, 1983). Al respecto, Paoletti *et al.* (1980) lograron incrementar hasta 15% los lípidos totales en *A. maxima* cuando los cultivos se realizaron en lagunas abiertas que estuvieron expuestas a elevada temperatura ( $40\text{ }^\circ\text{C}$ ) e irradiancia.

**Ácidos grasos:** en el Cuadro 1 se presenta el perfil de ácidos grasos de *A. maxima*, los ácidos grasos mayoritarios fueron: palmítico (16:0), linoleico (18:2n-6) y gammalinolénico (18:3n-6), conformando entre el 77 a 78% del total de los ácidos grasos analizados. Estos resultados coinciden con los publicados por Oliveira *et al.* (1999); Mühlhing *et al.* (2005), quienes indicaron que los ácidos grasos palmítico, linoleico y gammalinoleico de diferentes cepas de *A. maxima* y *A. platensis* constituyen entre 70 a 80% del total de los ácidos grasos totales.

El ácido graso saturado encontrado en mayor proporción fue el ácido hexadecanoico (palmítico, 16:0) con valores de  $43,84 \pm 0,921\%$  y  $44,87 \pm 3,090\%$ , obtenidos en los fotobiorreactores helicoidal y cilíndrico, respectivamente.

**CUADRO 1.** Perfil de ácidos grasos y lípidos totales (%) de *A. maxima* cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio en fotobiorreactores.

Ácidos grasos	Promedio $\pm$ DS fotobiorreactor helicoidal	Promedio $\pm$ DS fotobiorreactor cilíndrico
14:00	1,473 $\pm$ 0,0426	0,655 $\pm$ 0,1227
14:0 iso	0,068 $\pm$ 0,0078	0,009 $\pm$ 0,0007
14:0 antiiso	0,106 $\pm$ 0,0057	0,060 $\pm$ 0,0488
15:00	0,277 $\pm$ 0,0049	0,177 $\pm$ 0,0625
15:0 iso	0,125 $\pm$ 0,0032	0,277 $\pm$ 0,1907
16:00	43,843 $\pm$ 0,9218	44,875 $\pm$ 3,0936
16:0 antiiso	0,378 $\pm$ 0,0591	1,909 $\pm$ 0,8982
17:00	0,678 $\pm$ 0,2746	0,487 $\pm$ 0,0380
18:00	1,675 $\pm$ 1,6237	1,154 $\pm$ 0,5377
19:00	0,101 $\pm$ 0,0069	0,036 $\pm$ 0,0131
19:0 iso	0,745 $\pm$ 0,0111	0,437 $\pm$ 0,1018
20:00	0,466 $\pm$ 0,0424	1,309 $\pm$ 0,9592
22:00	0,368 $\pm$ 0,0484	1,340 $\pm$ 0,7774
<b>Saturados</b>	<b>50,3027</b>	<b>52,725</b>
16:1n-9	1,845 $\pm$ 0,5133	1,630 $\pm$ 0,5769
16:1n-7	4,052 $\pm$ 1,1147	3,497 $\pm$ 0,7307
17:1n-7	0,154 $\pm$ 0,0080	0,115 $\pm$ 0,0330
18:1n-9 (Z)	5,078 $\pm$ 1,5818	7,210 $\pm$ 2,6847
18:1n-9 (E)	0,326 $\pm$ 0,0791	0,210 $\pm$ 0,0850
<b>Monoinsaturados</b>	<b>11,455</b>	<b>12,662</b>
18:2n-6 (Z)	18,100 $\pm$ 3,8823	16,007 $\pm$ 0,0445
18:3n-6	17,775 $\pm$ 1,3239	17,028 $\pm$ 0,1494
20:2n-6	0,618 $\pm$ 0,0973	0,077 $\pm$ 0,0355
20:4n-6	1,749 $\pm$ 0,3399	1,501 $\pm$ 0,2270
<b>Poliinsaturados</b>	<b>38,242</b>	<b>34,613</b>
<b>Lípidos totales</b>	<b>6,05 <math>\pm</math> 0,0125</b>	<b>5,76 <math>\pm</math> 0,038</b>

Entre los ácidos grasos monoinsaturados, el 18:1n-9(Z) (oleico) demostró las mayores concentraciones, alcanzando 5% en el fotobiorreactor helicoidal y 7% en el cilíndrico. Los ácidos grasos poliinsaturados encontrados en mayor proporción fueron los ácidos 18:2n-6 y 18:3n-6, los cuales revelaron concentraciones entre 16 a 18%, siendo sus concentraciones similares en ambos sistemas de cultivo.

Los ácidos grasos poliinsaturados C-18, determinados en esta investigación en los fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos, representan 36 y 33%, respectivamente, con relación al total de los ácidos grasos. Estas concentraciones obtenidas, son superiores a las referidas por Oliveira *et al.* (1999), pero menores que las citadas por Mühling *et al.* (2005), estas diferencias se deben a las temperaturas e irradiancias usadas por estos autores.

Un resultado importante obtenido en esta investigación fue que las condiciones de cultivo utilizadas promovieron una acumulación significativa del contenido del ácido gammalinolénico (17% con relación al total de los ácidos grasos), ya que este compuesto tiene mucha aplicación en la industria farmacéutica, al reducir los niveles de triacilglicérols en la sangre (Leaf and Weber, 1988) y estimular el sistema inmune (Wu and Meydani, 1996).

**Microelementos:** el contenido de microelementos analizados en la biomasa de *A. maxima* producida bajo condiciones controladas de laboratorio, en los dos tipos de fotobiorreactores ensayados, se presenta en el Cuadro 2, el único elemento que indicó diferencias en su concentración fue el sodio, siendo el más elevado en la biomasa procedente del fotobiorreactor helicoidal (89 mg l<sup>-1</sup> en el fotobiorreactor helicoidal y 61 mg l<sup>-1</sup> en fotobiorreactor cilíndrico). El resto de los elementos mostraron concentraciones similares en ambos tipos de fotobiorreactores.

En la biomasa de *A. maxima*, cultivada en el fotobiorreactor helicoidal, se cuantificaron mayores concentraciones de metales (sodio, zinc, magnesio y hierro) que en aquellos cultivos realizados en el fotobiorreactor cilíndrico. Estas diferencias podrían estar justificadas en el hecho de que el fotobiorreactor helicoidal mantiene una mejor agitación, lo que conlleva a una mejor biodisposición de los nutrientes y, por ende, un mejor desarrollo y crecimiento de las células.

Es conocido que *Arthrospira* es una microalga muy utilizada como complemento nutricional en niños y adultos, por su alto contenido de hierro, magnesio y metales trazas; además de que estos minerales son más fáciles de absorber

(60% mejor absorbidos) de fuentes como *Arthrospira*, que del sulfato ferroso y otros suplementos de hierro, entre otros (Puyfoulhoux *et al.*, 2001).

**CUADRO 2.** Concentración de microelementos (mg l<sup>-1</sup>) en *A. maxima*, cultivada bajo condiciones controladas de laboratorio en fotobiorreactores.

Fotobiorreactor	Metal	Concentración Promedio ± DS
Helicoidal	Na	89,19 ± 0,399
	Mg	4,11 ± 0,057
	Fe	0,30 ± 0,014
	Zn	5,67 ± 0,019
Cilíndrico	Na	60,93 ± 0,319
	Mg	3,58 ± 0,018
	Fe	0,28 ± 0,008
	Zn	5,44 ± 0,071

Los resultados de esta investigación evidencian que *A. maxima* es una cianobacteria con potencial biotecnológico, debido principalmente a la obtención de biomasa con alto contenido de ácidos grasos, minerales, entre otros productos bases en la industria de la alimentación humana y animal (utilizados como colorantes, antioxidantes, aditivos), farmacéutica (utilizados como vitaminas, provitaminas e inmunotrazadores) y de la medicina (industria que considera a *Arthrospira* como uno de los productos más importantes para combatir un sin número de enfermedades y afecciones, como el cáncer, SIDA, virus, obesidad, síndrome premenstrual, entre otras).

El trabajo aquí descrito pretende ser uno de los pioneros en el cultivo de *Arthrospira* en nuestro país, utilizando sistemas de fotobiorreactores en ambientes controlados.

Sin embargo, se recomienda realizar estudios adicionales, con el fin de evaluar la influencia de otros factores ambientales (irradiancia, temperatura y concentración de CO<sub>2</sub>, entre otros) sobre la fisiología de este microorganismo y en la producción de compuestos de interés industrial; además de evaluar cepas autóctonas, que puedan ser utilizadas en futuros proyectos de obtención de biomasa con alta calidad nutricional y menor riesgo de intromisión de especies exóticas en nuestras regiones, los cuales pueden causar problemas de impacto ambiental.

### CONCLUSIONES

- El crecimiento de *A. maxima* fue mayor en los cultivos realizados en el fotobiorreactor helicoidal.
- Los metabolitos secundarios detectados en la biomasa de *A. maxima*, en los dos tipos de fotobiorreactores, fueron saponinas, esteroides insaturados y alcaloides.
- La acumulación de lípidos totales fue similar en los fotobiorreactores helicoidales y cilíndricos.
- El ácido graso con mayor concentración en ambos fotobiorreactores fue el ácido palmítico (16:0) y los poliinsaturados mayormente acumulados fueron los ácidos linoleico (18:2 n-6) y el linolénico (18:3 n-6).

### AGRADECIMIENTO

A las profesionales Elena Palacios, Olivia Arjona y Laura Carreon del CIBNOR-México, por el apoyo brindado para los análisis de los ácidos grasos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abdulqader, G., L. Barsanti and M. Tredici. 2000. Harvest of *Arthrospira platensis* from Lake Kossorum (Chad) and its household usage among the Kanembu. *J. Appl. Phycol.* 12:493-498.
- American Public Health Association (APHA). American Water Works Association & Water Pollution Control Federation. 1980. Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C. USA.
- Andrade, M. and J. Costa. 2007. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture*, 264:130-134.
- Ballot, A., L. Krienitz, K. Kotut, C. Wiegand and S. Pflugmacher. 2005. Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in the alkaline crater lakes Sonachi and Simbi, Kenya. *Harmful Algae*, 4:139-150.
- Belay, A. 2002. The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J. Am. Nutr. Asso.* 5(2):27-49.
- Bender, J. and P. Phillips. 2004. Microbial mats for multiple applications in aquaculture and bioremediation. *Bioresour. Technol.* 94: 229-238.
- Bligh, E. and W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Chaumont, D. 1993. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems outdoor may culture. *J, Appl. Phycol.* 5:593-604.
- Chamorro, G., M. Salazar, K. Gomes, C. Pereira, G. Ceballos y L. Fabila. 2002. Actualización en la farmacología de *Spirulina (Arthrospira)*, un alimento no convencional. *ALAN*, 52: 232-240.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.* 47(4):551-578.
- Codd, G., L. Morrison and J. Metcalf. 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 203(3):264-272.
- Cogne, G., J. Cornet and J. Gros. 2005. Design, Operation, and Modeling of a Membrane Photobioreactor to Study the Growth of the Cyanobacterium *Arthrospira platensis* in Space Conditions. *Biotechnol. Progr.* 21(3):741-750.
- Cohen, Z. 1997. The chemicals of *Spirulina*. **In:** *Spirulina platensis: Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. A. Vonshak (ed). Taylor & Francis, London, 175-204 pp.
- Colla, L., E. Furlong y J. Vieira. 2007. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. *Braz. Arch. Of Biol. and Technol.* 50(1):161-167.
- Contreras, C., J. Peña, L. Flores y R. Cañizares. 2003. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, 28(8):450-456.
- De Philippis, R. and M. Vincenzini. 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *Microbiol. Reviews*, 22:151-175.
- Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México, D.F. 2 81 pp.
- Eliach, J., G. Bourges, L. Duré, M. Medina y M. Lara. 2004. Incidencia de la agitación en el crecimiento



- microalgal en biorreactores. Pub. Secretaría de Ciencia y Técnica. Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura. Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. 15 p.
- Fuenmayor, G., N. Rosales, R. Mora y E. Morales. 2002. Crecimiento de la cianobacteria *Spirulina subsalsa*, a diferentes salinidades y concentraciones de bicarbonato. XXVIII Jornadas Nacionales de Microbiología, Barquisimeto, Venezuela.
- Leaf, A. and P. Weber. 1988. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *New England J. of Medicine*. 318(9):549-557.
- Licet, B. 2008. Cultivo de *Arthrospira platensis* (División: Cyanophyta) a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno como estrategia para modificar su composición bioquímica. Trabajo de Grado de Maestría. Postgrado en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente.
- Li-Chen, W., A. Ja-an, S. Ming-Chen y L. In-Wei. 2005. Antioxidant and antiproliferative activities of *Spirulina* and *Chlorella* water extracts. *J. Agric. Food Chem.* 53:4207-4212.
- Loreto, C., G. Fuenmayor, B. Briceño, N. Rosales y E. Morales. 2007. Calidad microbiológica y bioquímica de derivados comerciales de la cianobacteria *Spirulina*. *Bo. Centr. Investig. Biol.* 41:107-113.
- Marcano, D. y M. Hasegawa. 2002. *Fitoquímica Orgánica*. Consejo Científico, Univ. Central Venezuela, Caracas. 451 p.
- Marsh, J. and D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipids. Res.* 7:574-592.
- Matsudo, M., Bezerra, R., Sato, S. Perego, P. Converti, A. and J. Carvalho. 2009. Repeated fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using urea as nitrogen source. *Bioch. Engin. J.* 43:52-57.
- Melack, J. and P. Kilham. 1974. Photosynthetic rates of photoplankton in East Africa alkaline, saline lakes. *Limnol. Oceanogr.* 19:743-755.
- Mühling, M., A. Belay and B. Whitton. 2005. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira (Spirulina)* strains. *J. Appl. Phycol.* 17:137-146.
- Mussagy, A., H. Annadotter and G. Cronberg. 2006. An experimental study of toxin production in *Arthrospira fusiformis* (Cyanophyceae) isolated from African waters. *Toxicon*, 48:1 027-1 034.
- Naranjo, L., Rojas, D., González, H., Torres, R., Zegarra, J., Sena, L. y D. Sosa. 2010. *Arthrospira platensis* como biofactoría de metabolitos secundarios de interés farmacológico: el ácido pipercolico. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal*, 1(1):64-90.
- Oliveira, M., M. Monteiro, P. Robbs and S. Leite. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquacult. Internat.* 7:261-275.
- Paoletti, C., M. Vincenzini, F. Bocci y R. Materassi. 1980. *Composizione bioquímica generale delle biomasse di Spirulina platensis e S. maxima. In: Prospettive Della coltura di Spirulina in Italia.* Materassi, R (Ed.). Italia.
- Pedraza, G. 1989. Cultivo de *Spirulina maxima* para suplementación proteica. *Liv. Res. for Rural Dev.* 1(1):1-6.
- Puyfoulhoux, G., J. Rouanet, P. Besancon, B. Baroux, J. Baccou and B. Caporiccio. 2001. Iron availability from iron-fortified *Spirulina* by an *in vitro* digestion/ CaCO<sub>2</sub> cell culture model. *J. Agric. Food Chem.* 49:1 625-1 629.
- Rafiqul, I., K. Jalal and M. Alam. 2005. Environmental factors for optimization of *Spirulina* biomass in laboratory culture. *Biotechnology*, 4(1):19-22.
- Ramírez, L. y R. Olvera. 2006. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). *Interciencia*, 31(9):657-663.
- Reichert, C., C. Reinehr and J. Costa. 2006. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. *Brazilian J. of Chem. Engin.* 23(1):23-28.
- Rojas, E., M. Ávila and G. Parada. 2012. Aplicación de estrategias nutricionales y su efecto en el crecimiento en el cultivo continuo de *Spirulina (Arthrospira platensis)*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 40(3): 763-771.
- Sato, N. and N. Murata. 1988. Membrane Lipids. *Method Enzimol.* 167:251-259.

- Seyoum, A., A. Belay, T. Baba and R. Ruprecht. 1998. Inhibition of HIV-1 Replication by an Aqueous Extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). J. Acquir. Immune Deficienc. Syndromes & Human Retrovir. 18 (1): 7-12.
- Silva, J., A. Pinto, H. Sabry and M. Carmo. 2012. *Spirulina* meal has acted as a strong feeding attractant for *Litopenaeus vannamei* at a very low dietary inclusion level. Aquacult. Research. 43:430-437.
- Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. 1995. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. 3rd edition. W.H. Freeman, New York.
- Trabelsi, L., N. Houda, H. Ben Ouada, H. Bacha and S. Roudesli. 2009. Partial characterization of extracellular polysaccharides produced by cyanobacterium *Arthrospira platensis*. Biotech. and Bioproc. Engin. 14:27-31.
- Tredici, M. and G. Zittelli. 1997 Cultivation of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* in flat plate reactors. **In:** *Spirulina platensis: Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. A. Vonshak (ed). Taylor & Francis, London, 117-130 pp.
- Venkataraman, G. 1981. Blue-green algae for rice production. FAO Soil Bull., 16:33-42.
- Vicente, V., E. Ríos, G. Calderón, R. Cañizales and R. Olvera. 2004. Detection, isolation, and characterization of exopolysaccharide produced by a strain of *Phormidium* 94 a isolated from an arid zone of Mexico. Biotechnol. and Bioeng. 85:306-310.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell biology and biotechnology. J. Appl. Phycol. 9:295-596.
- Wu, D. and N. Meydani. 1996. Gamma-Linolenic acid and immune function. **In:** Gamma-Linolenic acid: Metabolism and its roles in nutrition and medicine. Huang, S. and Mills, D. (Eds). AOCS Press. U.S.A.
- Zarrouk, C. 1966. Contribution l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de París. Italia. 41 pp.