

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

Cultivo de Microalgas y Cianobacterias en Lactosuero ácido y dulce: Evaluación de la Producción de Biomasa y potencial nutricional

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Bioquímico
Farmacéutico


Autores:

Ana Elizabeth Quito Vazquez

Pamela Carolina Sucuzhañay Macancela

Director:

Fabián León Tamariz

ORCID:  0000-0003-1540-8087

Cuenca, Ecuador

2025-09-03

Resumen

En Ecuador, la desnutrición infantil es un grave problema de salud pública que afecta el desarrollo físico e intelectual de los niños, a pesar de la rica agroalimentación del país. Esta situación se agrava por altos niveles de desperdicio de alimentos, que incluyen no solo productos frescos, sino también subproductos nutritivos como el lactosuero. De la producción total de lactosuero en la industria quesera, apenas se utiliza el 10%, lo que representa una pérdida significativa de nutrientes y contribuye a problemas ambientales. Con el fin de explorar nuevas alternativas de aprovechamiento, se evaluó el uso del lactosuero como suplemento en cultivos de microorganismos con potencial nutracéutico, específicamente microalgas y cianobacterias. Se modificaron medios de cultivo convencionales (BG-11 y WC) incorporando suero dulce y ácido en concentraciones del 5, 10 y 15%. Se cultivaron dos cepas: *Chlorella vulgaris* (MAAL 26) y un consorcio de microalgas y cianobacterias (MAAL 58). Se cuantificó la producción de biomasa, la cantidad de carotenoides y el contenido de proteínas totales. Los resultados indicaron que ambas cepas crecieron con los dos tipos de lactosuero. MAAL 58 alcanzó su mayor producción de biomasa con un 5% de suero ácido, mientras que MAAL 26 lo hizo con un 5% de suero dulce. Los días de mayor crecimiento presentaron un pH entre 6 y 9, siendo este último valor el más repetitivo entre los distintos cultivo. La conductividad del medio varió según el cultivo; MAAL 58 mostró mejor desempeño con valores de 2200 a 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en BG-11, mientras que MAAL 26 se destacó en rangos de 560 a 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en WC.

Palabras clave del autor: MAAL 58, MAAL 26, cultivo, recuento



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

In Ecuador, child malnutrition is a serious public health problem that affects the physical and intellectual development of children, despite the country's rich agricultural food supply. This situation is aggravated by high levels of food waste, which includes not only fresh produce, but also nutritious by-products such as whey. Of the total production of whey in the cheese industry, barely 10% is used, which represents a significant loss of nutrients and contributes to environmental issues. In order to explore new alternatives for utilization, the use of whey as a supplement in cultures of microorganisms with nutraceutical potential, specifically microalgae and cyanobacteria, was evaluated. Conventional culture media (BG-11 and WC) were modified by incorporating sweet and acid whey in concentrations of 5, 10 and 15%. Two strains were cultured: *Chlorella vulgaris* (MAAL 26) and a consortium of microalgae and cyanobacteria (MAAL 58). Biomass production, amount of carotenoids and total. The results indicated that both strains grew with both types of whey. MAAL 58 achieved its highest biomass production with 5% acid whey, while MAAL 26 did so with 5% sweet whey. The days of greatest growth presented a pH between 6 and 9, the latter being the most repeated value among the different cultures. The conductivity of the medium varied according to the culture; MAAL 58 showed the best performance with values of 2200 to 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in BG-11, while MAAL 26 stood out with ranges of 560 to 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in WC.

Author Keywords: MAAL 58, MAAL26, cultivate, coun



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

1.	Marco teórico	13
1.1.	Descripción general de microalgas y cianobacterias.....	14
1.2.	Especies de interés en este estudio.....	15
1.2.1.	<i>Chlorella vulgaris</i>	15
1.2.2.	Consortio microbiano.....	16
1.3.	Lactosueros	17
1.4.	Condiciones de cultivo	18
1.4.1.	Medios.....	18
1.4.2.	Condiciones de crecimiento para microalgas.....	19
2.	Metodología.....	21
2.1.	Tipo de estudio	21
2.2.	Equipos	21
2.3.	Métodos	21
2.3.1.	Obtención de suero	21
2.4.	Control microbiológico de crecimiento.....	22
2.4.1.	En suero dulce y ácido	22
2.4.2.	Cultivo de microalgas en medios suplementados con 5% de suero	22
2.5.	Cultivo de microalgas	22
2.5.1.	Cálculo de la cantidad de sueros y medio requerido	22
2.5.2.	Siembra de microalgas	23
2.5.3.	Condiciones de crecimiento	23
2.5.4.	Medida del pH y conductividad.....	24
2.6.	Determinación de biomasa	24
2.7.	Cosecha de biomasa.....	25
2.8.	Cálculo del rendimiento de la biomasa	25
2.9.	Determinación de carotenoides y clorofila	25
2.10.	Análisis de resultados	26
3.	Resultado y discusión.....	27
3.1.	Control microbiológico.....	27

UCUENCA

	5
3.1.1. En suero dulce y ácido.....	27
3.1.2. En siembras suplementadas con 5% de suero	27
3.2. Recuento de biomasa frente a pH y conductividad de los diferentes tipos y concentraciones de lactosueros	28
3.3. Rendimiento de biomasa	37
3.4. Cuantificación de clorofila y carotenoides.....	38
3.5. Proteínas Totales.....	40
3.6. Limitaciones del estudio	41
4. Conclusiones y recomendaciones.....	42
4.1. Conclusiones	42
4.2. Recomendaciones	42
Referencias.....	44
Anexos	52

Índice de figuras

Figura 1. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 5%.	30
Figura 2. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 5%.	30
Figura 3. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 de <i>Chlorella vulgaris</i> suplementado con lactosueros al 5%	31
Figura 4. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 de <i>Chlorella vulgaris</i> suplementado con lactosueros al 5%	31
Figura 5. Comportamiento de Recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 10%.	32
Figura 6. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 10%	32
Figura 7. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 de <i>Chlorella vulgaris</i> suplementado con lactosueros al 10%.	33
Figura 8. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 de <i>Chlorella vulgaris</i> suplementado con lactosueros al 10%.	33
Figura 9. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 15%.	34
Figura 10. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 15%	34
Figura 11. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 de <i>Chlorella vulgaris</i> suplementado con lactosueros al 15%.	35
Figura 12. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 de <i>Chlorella vulgaris</i> suplementado con lactosueros al 15%.	35
Figura 13. Concentración de carotenoides y clorofila obtenidos de muestras de MAAL 26 y MAAL 58 suplementadas con lactosueros al 5%	39
Figura 14. Concentración de carotenoides y clorofila obtenidos de muestras de MAAL 26 y MAAL 58 suplementadas con lactosueros al 10%	40

Índice de tablas

Tabla 1. Resultados del control microbiológico de los lactosueros	27
Tabla 2. Resultados del control microbiológico de las siembras de cultivos suplementados con 5% de sueros.....	28
Tabla 3. Comparativo de suero y valor máximo de cel/ml de cada microalgas	29
Tabla 4. Rendimiento de biomasa de cada cultivo	38
Tabla 5. Proteínas totales de cada especie	40

Agradecimiento

Agradecemos a la Universidad de Cuenca y a sus docentes por compartir generosamente sus conocimientos y por permitirnos formar parte de esta prestigiosa institución, la cual, a lo largo de nuestra formación profesional, nos ha proporcionado valiosas herramientas y orientaciones que han contribuido a nuestro desarrollo académico y personal.

De manera especial, expresamos nuestro sincero agradecimiento al Dr. Fabián León por su constante apoyo, guía y paciencia durante el proceso de elaboración de este proyecto.

Asimismo, queremos extender un agradecimiento muy especial a la Dra. Jessica Calle, quien, con su calidez, amabilidad y constante disposición, nos ofreció no solo su apoyo académico, sino también un acompañamiento humano invaluable.

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres, Carmita y Fausto por su amor incondicional y apoyo constante en cada paso de mi camino, por haberme forjado en la persona que soy, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que incluye este. Además, a mis hermanos y abuelitos que siempre han estado para darme palabras de aliento y motivándome a seguir adelante, al igual que mejor amiga. Por último, a mi amiga Anita, que sin querer la vida nos ha unido en esta etapa de la vida, por lo que agradezco su compañía a lo largo de este proyecto.

Pamela Sucuzhañay.

Dedico este trabajo a mi familia, especialmente a mi madre Soledad, cuyo amor y apoyo incondicional fueron claves en todo mi caminar universitario. Sus palabras de aliento fueron mi fuerza, y su inmensa comprensión fue la más bella demostración de amor que me pudo brindar. Asimismo, dedico mi esfuerzo a mi padre y hermanos, quienes no solo me brindaron su ayuda y compañía, sino que supieron cuidarme y darme ánimos en días difíciles. Finalmente, a Pamela, mi compañera de proyecto y ahora también mi amiga, le agradezco su confianza y compañía durante este camino recorrido.

Ana Elizabeth Quito V.

Introducción

En Ecuador, la desnutrición crónica infantil (DCI) es considerada uno de los principales problemas de salud pública. Acorde a la UNICEF (2021) Ecuador es el segundo país con mayor tasa de desnutrición en América Latina y el Caribe. Se conoce que 3 de cada 10 niños menores de 2 años la padece, implicando una gran amenaza a su desarrollo físico e intelectual, a corto y largo plazo. Los niños afectados enfrentan dificultades de aprendizaje y baja madurez mental durante la etapa escolar, y en la adultez son más propensos a desarrollar sobrepeso, obesidad y enfermedades no transmisibles como hipertensión o diabetes, así como mayores dificultades sociales. La desnutrición va más allá del hambre, está relacionada con la mala educación nutricional, la falta de acceso a alimentos nutritivos e incluso con la falta de acceso a la salud pública (UNICEF, 2021).

Paradójicamente, Ecuador es un país con una notable diversidad y riqueza natural en cuanto a la producción de alimentos. Su territorio ofrece condiciones favorables para el cultivo de una amplia variedad de frutas, hortalizas, legumbres y otros productos agrícolas con alto valor nutricional. Sin embargo, esta abundancia contrasta con las elevadas tasas de desnutrición y desperdicio alimentario. Acorde al informe emitido por la ONU en 2024, Ecuador ocupa el segundo lugar entre los países con mayor desperdicio de alimentos kg/per cápita/año y León et al. (2023) indican que a nivel país el desperdicio es de aproximadamente 939.000 toneladas de alimentos al año. El desbalance entre riqueza productiva, niveles de desnutrición y desperdicio, revela una falla en la cadena de producción, distribución y consumo de alimentos.

Dentro del contexto de la pérdida y desperdicio de alimentos, uno de los subproductos con un resaltable valor nutricional, muchas veces infravalorado, es el suero de leche o lactosuero. En su composición prevalece mayoritariamente el agua, pero en su reducida fracción sólida concentra nutrientes de gran interés. Se destaca su alto contenido de lactosa, su bajo contenido de grasa y una fracción proteica de aproximadamente 20% del total de las proteínas lácteas. Además, presenta compuestos nitrogenados no proteicos, vitaminas del complejo B, ácido cítrico y láctico, y minerales esenciales como calcio, fósforo, potasio y magnesio. Gracias a este perfil composicional, este subproducto es aprovechado mayoritariamente en la industria alimentaria, donde se encuentra en productos como quesos, yogures, helados, bebidas fermentadas, temas de panadería y confitería, productos para lactantes, carnes procesadas e incluso en alimentos para animales (Chawla et al., 2022; Krolczyk et al., 2016; Torres, 2023).

A pesar de sus múltiples aplicaciones, gran parte del lactosuero aún es tratado como un residuo industrial. De acuerdo a datos de la FAO (2020), la industria láctea a nivel mundial genera alrededor de 11 millones de toneladas de lactosuero al año y, en el caso específico de Ecuador, el Centro de la Industria Láctea (CIL, 2022) reporta una producción diaria de aproximadamente 900.000 L de suero, de los cuales solo el 10% es aprovechado por la industria (Lema, 2023). Esta falta de valorización, sumada al alto volumen generado, ha llevado a una gestión inadecuada del lactosuero, lo que no solo representa una pérdida de recursos nutritivos, sino también un problema ambiental por su disposición inapropiada (Zandona et al., 2021).

Ante la coexistencia de la problemática de la desnutrición y el desperdicio de subproductos alimentarios con buenos perfiles nutritivos, la aplicación de principios de economía circular se presenta como una alternativa estratégica y sostenible. Este enfoque propone transformar los residuos en recursos útiles, maximizando el valor de los materiales. En este contexto, el lactosuero ya está revalorizado en cierto nivel en productos alimenticios, pero esto ocurre mayoritariamente a nivel industrial, alejado del alcance de productores ganaderos de mediana y pequeña escala. La utilización de este residuo como un medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos con alto potencial nutracéutico como son las microalgas y cianobacterias puede resultar en la congruencia de dos potencialidades que aporten a la resolución de las problemáticas arriba descritas.

Las microalgas y las cianobacterias despiertan el interés por su versatilidad en diversos sectores como el farmacéutico, cosmético, energético y, de forma muy especial, en la industria alimentaria. En esta última sobre todo por su capacidad para proporcionar beneficios a la salud, más allá de su valor nutricional básico (Kosseva et al., 2009; Flores-Mendoza et al., 2020). Estos microorganismos comparten características clave, como la presencia de compuestos antioxidantes, vitaminas y minerales que hacen frente a una serie de trastornos metabólicos y enfermedades crónicas. En su composición, las microalgas destacan por su contenido de carotenoides y compuestos fenólicos, mientras que las cianobacterias por pigmentos y ácidos grasos; pero su acción conjunta en cultivos mixtos potencia efectos antioxidantes, antiinflamatorios, cardioprotectores e incluso neuro protectores (Malpartida et al., 2022; Renugadevi et al., 2023; Kratzer & Murkovic, 2021; Tiwari et al., 2022).

Una función relevante de las proteínas de microalgas en la nutrición humana es la de complementar los aminoácidos esenciales que se encuentran en proteínas de plantas y legumbres, dado que estas presentan diferentes aminoácidos limitantes. En la mayoría de las legumbres, como los frijoles, los guisantes y las lentejas, los aminoácidos limitantes son la metionina, la cisteína o el triptófano. En contraste, en microalgas como *Chlorella vulgaris*,

Chlorella sorokiniana y *Acutodesmus obliquus*, los aminoácidos limitantes iniciales son la histidina o la isoleucina. Al combinarse o consumirse en conjunto, se puede alcanzar un perfil de aminoácidos más equilibrado, lo que a su vez mejora la bioeficiencia general de los aminoácidos del producto proteico combinado (Wang et al., 2021).

Por lo tanto, considerando que las condiciones de cultivo influyen directamente en la composición bioquímica de microalgas y cianobacterias, una modificación adecuada del medio puede potenciar la producción de metabolitos de interés nutracéutico. En este contexto, el lactosuero se presenta como una alternativa valiosa, pues su alto contenido de proteínas, lactosa y otros nutrientes puede actuar como un modulador positivo en el cultivo. De esta manera, se impulsa un enfoque de economía circular que permite aprovechar un subproducto agroindustrial habitualmente desechado, transformándolo en un recurso para fortalecer procesos biotecnológicos orientados a la obtención de compuestos con alto valor nutricional como las microalgas y cianobacterias. Esta estrategia se apega al criterio de convertir desechos en oportunidades, y es un primer paso en la búsqueda de soluciones innovadoras para problemas como la desnutrición en Ecuador.

Objetivos Generales y Específicos

Objetivo general

Analizar la producción de biomasa, contenido proteico y carotenoides presentes en cultivos de *Chlorella vulgaris* y de un consorcio microalgal, suplementados con lactosuero dulce y ácido al 5, 10 y 15%.

Objetivos específicos

- Cultivar la microalga *Chlorella vulgaris* y un consorcio de microalgas y cianobacterias en medios WC y BG11 suplementados respectivamente con lactosuero dulce y ácido en concentraciones de 5, 10 y 15%.
- Determinar la concentración y el tipo de suero que permite obtener una mayor producción de biomasa de los cultivos.
- Cuantificar la presencia de carotenoides en biomásas cosechadas en condiciones de cultivo optimizadas.
- Cuantificar la presencia de proteínas en biomásas cosechadas en condiciones de cultivo optimizadas.

1. MARCO TEORICO

Existen numerosos documentos que indican el uso histórico de las cianobacterias y microalgas como nutrientes para los humanos (García & de Vicente, 2018). Se conoce que los Aztecas consumían espirulina (*Arthrospira platensis*) y los Mayas ya la utilizaban antes de esta época. En la era moderna el desarrollo biotecnológico en esta área comenzó a tomar fuerza a partir del primer Simposio de Cultivo Masivo de Algas que se celebró en la Universidad de Stanford (EEUU) en 1952, a partir de ello la *Spirulina* fue declarada en la Conferencia Mundial de Alimentos de las Naciones Unidas (1974) como el mejor alimento para el futuro.

El potencial nutracéutico de las microalgas radica en su composición bioquímica, que incluye moléculas esenciales como lípidos, proteínas y carbohidratos, lo que les confiere un alto valor nutricional. Su elevado contenido proteico y la presencia de aminoácidos esenciales han permitido considerarlas como una alternativa viable con respecto a las fuentes tradicionales de proteína, siendo *Limnospira platensis* un ejemplo destacable (Sartaş et al., 2024).

Además, las microalgas son una fuente significativa de carbohidratos, mismos que se presentan en forma de polisacáridos, lípidos polares, ácidos grasos poliinsaturados como los omega-3 y omega-6. También contienen vitaminas, especialmente del complejo B y vitamina A y, minerales como potasio, hierro y magnesio. A esto se suma la presencia de micronutrientes y antioxidantes como el β -caroteno, astaxantina y polifenoles, conocidos por sus efectos protectores contra el estrés oxidativo (Sartaş et al., 2024). Gracias a esta diversidad de compuestos bioactivos, las microalgas son consideradas una fuente prometedora de productos innovadores en el ámbito farmacéutico, debido a que muchos de sus metabolitos poseen propiedades biológicas como antibacterianos, anticancerígenos y antivirales (Saeed et al., 2021).

Por otro lado, gracias a su alta tasa fotosintética y su capacidad de acumular lípidos estos microorganismos son reconocidos como una alternativa viable para la producción de biodiésel (Chew et al., 2018). Agarwal et al., (2022), menciona que las cianobacterias son capaces de sintetizar compuestos esenciales como diacilglicerol (DAG) y triacilglicerol (TAG), lo que las convierte en biofactorías eficientes para la producción de biocombustibles. Especies destacadas incluyen *Anabaena*, *Synechocystis*, *Nostoc muscorum* y *Spirulina*.

En cambio, un estudio reciente menciona que utilizando residuos agroindustriales de frutas y hortalizas como medio de cultivo para microalgas, se obtiene un aumento del contenido proteico y fenólico, así como una mayor actividad antioxidante y niveles de ácidos grasos

saludables en comparación con medios sintéticos. Las microalgas *S. quadricauda* y *L.longiseta* fueron las especies empleadas en este estudio (Medeiros et al., 2020).

1.1. Descripción general de microalgas y cianobacterias

Las microalgas son microorganismos fotoautótrofos, pertenecientes al dominio eucariota, con un tamaño que varía entre 0,5 a 30 μm y pueden ser unicelulares o multicelulares. Son parte esencial de la cadena trófica en entornos acuáticos y tienen la capacidad de captar CO_2 atmosférico y utilizar la luz como fuente de energía para sintetizar macronutrientes (Devaprakash et al., 2024).

Según Zanella & Vianello, (2020), las microalgas presentan una amplia variedad de compuestos bioactivos como son:

- Proteínas: específicamente *Chlorella* y *Spirulina*, han reportado un contenido proteico entre 50 a 65%.
- Lípidos: suelen representar entre 5-20% de la biomasa, con alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), como omega-3 y omega-6.
- Carbohidratos y fibra: incluyen polisacáridos y fibra dietética, que pueden llegar al 14-17% en algunas especies.
- Pigmentos: contiene clorofila, carotenoides (como beta-caroteno y astaxantina) y ficobiliproteínas en cantidad bajas. Todos estos pigmentos presentan propiedades antioxidantes.
- Vitaminas y minerales: son fuente de vitaminas (A, B, C, E) y minerales esenciales.
- Otros compuestos bioactivos: polifenoles, esteroides, péptidos bioactivos y exopolisacáridos, con efectos antioxidantes, antiinflamatorios y otros beneficios para la salud.

Por otro lado, las cianobacterias o algas verdeazuladas, son microorganismos procariotas, unicelulares y autótrofos; capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y de desarrollar una fotosíntesis oxigénica (Bagul, 2024).

Según Mondal et al., (2024) & Rousso et al., (2022), poseen una composición química muy diversa:

- Pigmentos fotosintéticos: contienen clorofila a, y en algunos casos clorofilas d y f, también poseen ficobiliproteínas como la ficocianina y la ficoeritrina, que forman parte de los ficobilisomas, complejos captadores de luz. Los carotenoides son formados a partir de que las moléculas de IPP tomen la vía del 2-C-metileritritol 4- fosfato (MEP o vía no-mevalonato).
- Exopolisacáridos (EPS): producen polisacáridos extracelulares con una gran variedad de monosacáridos (ácidos y neutros), grupos cargados como ácidos urónicos, piruvilo o sulfato, ya veces fragmentos peptídicos o acetilos, lo que les confiere propiedades aniónicas y estructurales complejas. Estos EPS pueden representar una fracción significativa de la biomasa y tienen aplicaciones industriales y biotecnológicas.
- Metabolitos secundarios: producen compuestos bioactivos como microcistinas, dolastatinas, curacinas y otros, con actividades farmacológicas y potencial uso en medicina y biotecnología.
- Elementos y estructuras celulares: presentan paredes celulares con capas bilaminares o trilaminares, vainas mucilaginosas, y pueden contener inclusiones intracelulares con restos de pigmentos y metales como el níquel asociado a derivados de clorofila.

1.2. Especies de interés en este estudio

1.2.1. *Chlorella vulgaris*

La microalga *Chlorella vulgaris*, es una especie de alga verde unicelular clasificada como clorofitas. Presenta una pared celular robusta tras madurar, un alto contenido de clorofila y eficientes habilidades fotosintéticas. Sus células son típicamente esféricas, de entre 1 a 10 μm y su reproducción es asexual, mediante autoesporación (Panahi, 2019 ; Coronado et al., 2022).

Los investigadores se ven atraídos principalmente por su composición. Donde el 51-58 % de su biomasa son proteínas, un 12 a 17% carbohidratos, de 14 a 22% lípidos y el restante se distribuye entre vitaminas, antioxidantes y oligoelementos (Panahi, 2019). El valor de folato y hierro, permite resaltarlas sobre otros alimentos de origen vegetal (Bito et al., 2020).

Los beneficios de *Chlorella* a la salud son indiscutibles. Se ha demostrado que extractos de esta especie exhiben efectos protectores ante infecciones virales y metástasis cancerosas. Además, mejora los niveles de colesterol total, lipoproteínas de baja densidad y la presión

arterial. También se la considera inmunoestimulante y antidiabético, sin alterar los niveles de triglicéridos ni de lipoproteínas de alta densidad (Bito et al., 2020).

Sus condiciones de crecimiento moldean su composición final. Los mínimos requerimientos son el carbono, nitrógeno, y fósforo. El carbono como principal factor suele ser suministrado como fuentes orgánicas (ácido acético o peptonas), o en forma inorgánica como CO₂ en el medio. El Nitrógeno se suele añadir como nitrato (NO³⁻) y su escasez provoca una disminución de clorofilas pero aumentan los carotenoides y lípidos. Una escasez extensa será limitante para la producción de biomasa. El fósforo suele añadirse como ortofosfato (PO₄³⁻) (Panahi, 2019).

Otros elementos complementarios son el selenio, potasio, sodio, hierro, magnesio y calcio, que suelen añadirse en combinaciones con elementos traza como boro, cobre, manganeso o zinc. Todos ellos son parte de reacciones enzimáticas indispensables. Adicionalmente, en un cultivo de algas también se debe prever la concentración salina del medio. Se ha constatado que cantidades excesivas de sal en un cultivo de *C. vulgaris*, reducen su crecimiento (Panahi, 2019).

1.2.2. Consorcio microbiano

Se define como la asociación estable de dos o más especies diferentes de microorganismos, como microalgas, cianobacterias, bacterias u hongos, que coexisten en un entorno común (Zhang et al., 2018). En este estudio, el término “consorcio” se utiliza para describir una comunidad compuesta por microalgas y/o cianobacterias que interactúan simbióticamente. Estas asociaciones permiten que los organismos involucrados colaboren metabólicamente, funcionando como una unidad integrada, donde cada especie aporta funciones específicas que enriquecen el sistema global.

El interés biotecnológico de los consorcios radica en su capacidad para enfrentar de manera eficiente distintos desafíos ambientales e industriales. Se han reportado aplicaciones en el tratamiento de aguas residuales, la biorremediación de compuestos tóxicos, la producción de bioenergía, y la síntesis de metabolitos de alto valor agregado. A través de intercambios metabólicos mutuos, los organismos del consorcio optimizan la utilización de recursos, mejoran la eliminación de nutrientes y contaminantes, y aumentan la producción de compuestos bioactivos relevantes para las industrias farmacéutica, cosmética, alimentaria y nutracéutica (Gururani et al., 2022).

Entre las ventajas más destacadas de los consorcios se encuentran sus características físicas, como el aumento de biomasa, mejor sedimentación y mayor estabilidad del sistema, así como sus propiedades químicas, ya que favorecen una mayor eficiencia en la asimilación de nutrientes. Además, permiten la producción sinérgica de metabolitos con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, cardio y neuro protectoras. Por ejemplo, se ha demostrado que pigmentos como la ficocianina, presente en cianobacterias, y los carotenoides luteína y zeaxantina, producidos por microalgas, tienen una fuerte actividad antioxidante. De igual forma, la presencia de ficocianina, aloficocianina y polisacáridos se ha asociado a efectos antiinflamatorios; mientras que los fosfolípidos y pigmentos como la ficocianina también se vinculan con actividad anticancerígena (Renugadevi et al., 2023; Kratzer & Murkovic, 2021; Tiwari et al., 2022; Martínez-Francés & Escudero-Oñate, 2018).

1.3. Lactosueros

De acuerdo con la normativa INEN (2011), el lactosuero es un subproducto líquido de origen lácteo, obtenido durante la elaboración de queso, caseína u otros productos similares. Este se genera a partir de la separación de la cuajada, tras la coagulación de leche pasteurizada, el cual se lleva a cabo principalmente mediante la acción enzimática de cuajos.

Si bien esta definición inicial centra su enfoque en la coagulación enzimática, en otras secciones del mismo documento se reconoce que la coagulación también puede llevarse mediante acidificación química o bacteriana, y son precisamente estas diferentes técnicas, las que constituyen la base para la clasificación del lactosuero en dos tipos principales:

- **Suero dulce:** obtenido de la producción de quesos duros y semiduros, se consigue al añadir a la leche una mezcla de cuajo que contiene la proteasa quimosina. Esta enzima actúa sobre la caseína (proteína), formando la cuajada, mientras que el líquido restante corresponde al suero dulce, que mantiene un pH de 5,2 a 6,7 (Ozcelik et al., 2024; Gutiérrez-Hernández et al., 2022; Bentahar et al., 2019).

En cuanto a su composición nutricional, se reconoce ampliamente que este tipo de suero presenta un alto contenido de lactosa y proteínas, pero un bajo nivel de sales minerales (Bleoussi et al., 2020). Según Santa y Sribinovska (2023), la fracción proteica incluye tanto proteínas sensibles al calor, como la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, albúmina sérica e inmunoglobulinas, como proteínas resistentes al calor, entre ellas la proteosa-peptona. Además, presenta compuestos como la lactoferrina y una variedad de enzimas, entre ellas lisozima, oxidoreductasas, fosfatasa, lactoperoxidasa, enzimas lipolíticas y proteinasas, muchas de las cuales

desempeñan funciones clave en la modulación del sistema inmunológico.

- **Suero ácido:** A partir de la elaboración de requesón y yogur griego su producción se basa en la coagulación de la caseína por fermentación microbiana, utilizando microorganismos como *Lactobacillus spp*, así como ácidos orgánicos o minerales. El resultado es un suero con un pH de 3,8 a 4,6 (Ozcelik et al., 2024; Gutiérrez-Hernández et al., 2022; Bentahar et al., 2019).

Con respecto a su composición nutricional, la principal diferencia en comparación con el lactosuero dulce radica en su menor concentración de lactosa y proteínas, siendo esta última reducida debido a la precipitación causada por la acidez. Sin embargo, esta disminución se ve compensada por un mayor contenido de minerales, especialmente calcio y fósforo (Bleoussi et al., 2020).

Bleoussi et al., (2020) menciona que el lactosuero, independientemente de si es dulce o ácido, contiene más del 90% de agua, con una fracción sólida rica en lactosa, alrededor del 75% de la materia seca, proteínas solubles, que son aproximadamente el 20% del total proteico de la leche, bajo contenido de grasa y diversos minerales. Además, menciona ácidos orgánicos como el cítrico y el láctico, también compuestos nitrogenados no proteicos, urea y ácido úrico, y vitaminas del complejo B, especialmente B1 (tiamina), B2 (riboflavina) y B6 (piridoxina).

En términos industriales, el lactosuero es el subproducto significativo de la elaboración de queso. Se estima que por cada 10L de leche utilizados, se obtiene aproximadamente 1Kg de queso y 9L de suero, lo que evidencia el alto volumen generado y refuerza la importancia de su aprovechamiento. Este subproducto presenta un alto potencial biotecnológico con aplicaciones a nivel de nutrición, industria alimentaria, medicina y agricultura. En el ámbito nutricional y médico, resulta de interés por su alto contenido proteico y bajo contenido graso, convirtiéndolo en una fuente ideal para el desarrollo de suplementos dietéticos empleados en contextos deportivos y clínicos. En la industria alimentaria, la lactosa es modificada para su incorporación en productos infantiles y/o dietéticos. Asimismo, las proteínas del suero se utilizan para producir alimentos como los quesos ricotta (Castro, 2015).

1.4. Condiciones de cultivo

1.4.1. Medios

De acuerdo a Pandey et al., (2023), el medio Blue Green-11 (BG11) es uno de los más utilizados para el cultivo de cianobacterias y microalgas de agua dulce, siendo un derivado

del Medio No. 11, con un contenido de nitrato tres veces mayor, posee un pH de 7 a 7.5. Se destaca por altos niveles de fosfato y la inclusión de micronutrientes esenciales, como los oligoelementos presentes Anexo 1. El medio proporciona los nutrientes necesarios para el cultivo de microalgas, siendo la opción preferida para estudios de laboratorio por su facilidad de preparación y disponibilidad.

Este medio ha mostrado una notable productividad de lípidos y de biomasa, por ejemplo, se ha observado que *Chlorella vulgaris*, en condiciones de escasez de nitrógeno, presenta una mejor productividad de lípidos. En comparación con otros, como TAP, que requiere más tiempo para su preparación, y Chu, D y BBM, que carecen de ciertos nutrientes, BG-11 es la opción más eficiente. (Pandey et al., 2023).

El medio WC (Wright's Cryptophyte) es ampliamente utilizado para el cultivo de cianobacterias, permite el crecimiento eficiente y sostenido de especies como *Microcystis viridis* y *Geitlerinema amphibium*. Además, en él se evalúa el efecto de diferentes fuentes de nitrógeno, como amonio y nitrato, sobre el crecimiento y la composición proteica de las cianobacterias. También se ha observado que favorece una mayor producción de biodiesel en *Geitlerinema amphibium*, lo que es relevante para aplicaciones biotecnológicas (Sánchez-Bayo et al., 2020; University of Waterloo, 2015).

1.4.2. Condiciones de crecimiento para microalgas

De acuerdo a Pandey et al., (2023), cuyo estudio radica en la obtención de lípidos a partir de microalgas para la producción de biodiesel, las condiciones de crecimiento para estos microorganismos son

- **Luz:** la luz solar o artificial se utiliza como fuente de energía para realizar la fotosíntesis. Las luces artificiales, como los LED blancos en el rango de 2500 a 3000 lux, son más apropiadas para el crecimiento de las microalgas. La intensidad de la luz no solo afecta el proceso de fotosíntesis, sino también la tasa y el tipo de acumulación de lípidos. La acumulación de lípidos polares se ve favorecida con una intensidad de luz baja, mientras que la de lípidos apolares se promueve con una intensidad de luz alta.
- **pH:** se recomienda un pH de entre 6,5 y 8 para el desarrollo de microalgas. Las variaciones en el pH influyen en el crecimiento celular, la asimilación de carbono y en todas las reacciones bioquímicas asociadas.
- **Temperatura:** la actividad enzimática está influenciada por la temperatura, lo que

significa que la temperatura de cultivo afecta directamente la producción de lípidos en las microalgas. Un rango de temperatura óptimo para su crecimiento se sitúa entre 16 y 27 °C. A temperaturas menores a 16 °C, el crecimiento se ralentiza, mientras que por encima de 35 °C se ve considerablemente limitado.

- **Fotoperiodo:** el ciclo luz: oscuridad (L: O) determina el período de exposición a la luz. Un período de luz más largo provoca fotoblanqueo en las microalgas y reduce la productividad de la biomasa. El ciclo L:O 14:10 es óptimo para el crecimiento de las microalgas.
- **Aireación:** el CO₂ es un elemento fundamental en el proceso de fotosíntesis. Se emplean diversas fuentes para proporcionar carbono, incluyendo el carbono atmosférico, el carbonato soluble y el carbono orgánico. La adición de 1 volumen de medio por minuto (vvm) de aire o un 2-5 % de CO₂ a las microalgas favorece la producción de biomasa.

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de estudio

Estudio de tipo experimental, basado en la manipulación controlada de variables en un entorno de laboratorio.

2.2. Equipos

Equipos	Procedencia
Cabina de Flujo Laminar II A2 LABCONCO	Estados Unidos
Centrifuga modelo 2-6 SIGMA	Darmstadt, Alemania
Balanza modelo PB 1502-L METTLER TOLEDO,	Suiza
Liofilizador FreeZone 2.5 LABCONCO	Estados Unidos
Estufa de Laboratorio MEMMERT SN30	Alemania
Biofreezer Fisher Scientific R134A	Estados Unidos, Carolina del Norte
Biofreezer marca POL-EKO modelo ZLN	Polonia
Espectrofotómetro GENESYS 10 uv	Estados Unidos

2.3. Métodos

2.3.1. Obtención de suero

Seis litros de leche entera fueron obtenidos de la granja Irquis (Universidad de Cuenca) y transportados sin cadena de frío al laboratorio de fitoquímica del grupo de plantas medicinales ubicado en el campus central. La leche fue pasteurizada inmediatamente, dividiéndola en dos volúmenes iguales (3L c/u). Se calentó a 62 °C durante 30 minutos y luego se mantuvo a 40 °C por 1 hora (Mora et al., 2023).

A una porción se le añadió aproximadamente 0,05 g de fermento, obtenido previamente por el método de descalce, y se dejó reposar 1 hora a 40 °C. Posteriormente, ambos volúmenes recibieron una porción de cuajo, se homogeneizaron y se mantuvieron a 40 °C por 30 minutos.

Tras la formación del coágulo, se realizó el desuerado mediante cortes verticales y horizontales, seguido de agitación con molinillo. Tanto el suero dulce como el ácido obtenidos fueron separados usando gasas estériles y aplicando una ligera presión. Finalmente, alícuotas de 100 ml fueron trasvasadas a frascos estériles y almacenados a -20 °C.

2.4. Control microbiológico de crecimiento

2.4.1. En suero dulce y ácido

Dentro de cabina de flujo laminar se prepararon diluciones de ambos lactosueros en concentraciones de hasta 10^{-4} y se realizaron siembras por profundidad en duplicado. Para la inoculación se vertió 0.1 ml de cada dilución en la caja monopetri y sobre ello 25 ml de agar TSA líquido, a una temperatura de aproximadamente 45-50°C, luego se homogeneizó con ligeros movimientos en forma de infinito para extender de manera homogénea la muestra y se dejó solidificar dentro de la misma cabina. Las cajas fueron incubadas a 35°C en la estufa durante 24 y 48 horas en condiciones de aerobiosis (Amazará et al., 2022).

A partir de diluciones de los dos lactosueros (10^{-1} - 10^{-4}) se verificó el crecimiento bacteriano a través del conteo de colonias en medio sólido (INEN, 2006).

2.4.2. Cultivo de microalgas en medios suplementados con 5% de suero

Se aplica la metodología antes mencionada utilizando las diluciones:

- 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} de suero dulce de *Chlorella vulgaris* y de MAAL 58
- 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} de suero ácido de *Chlorella vulgaris* y de MAAL 58

Para los cálculos y consideraciones extras, se utilizó de base la norma INEN 1529-5:2006 , del control microbiológico de alimentos y las unidades igualmente fueron UFC.

2.5. Cultivo de microalgas

2.5.1. Cálculo de la cantidad de sueros y medio requerido

Se realizaron los cálculos proporcionales para la suplementación con 5, 10 y 15 % de suero en 1L, tal como se muestra a continuación:

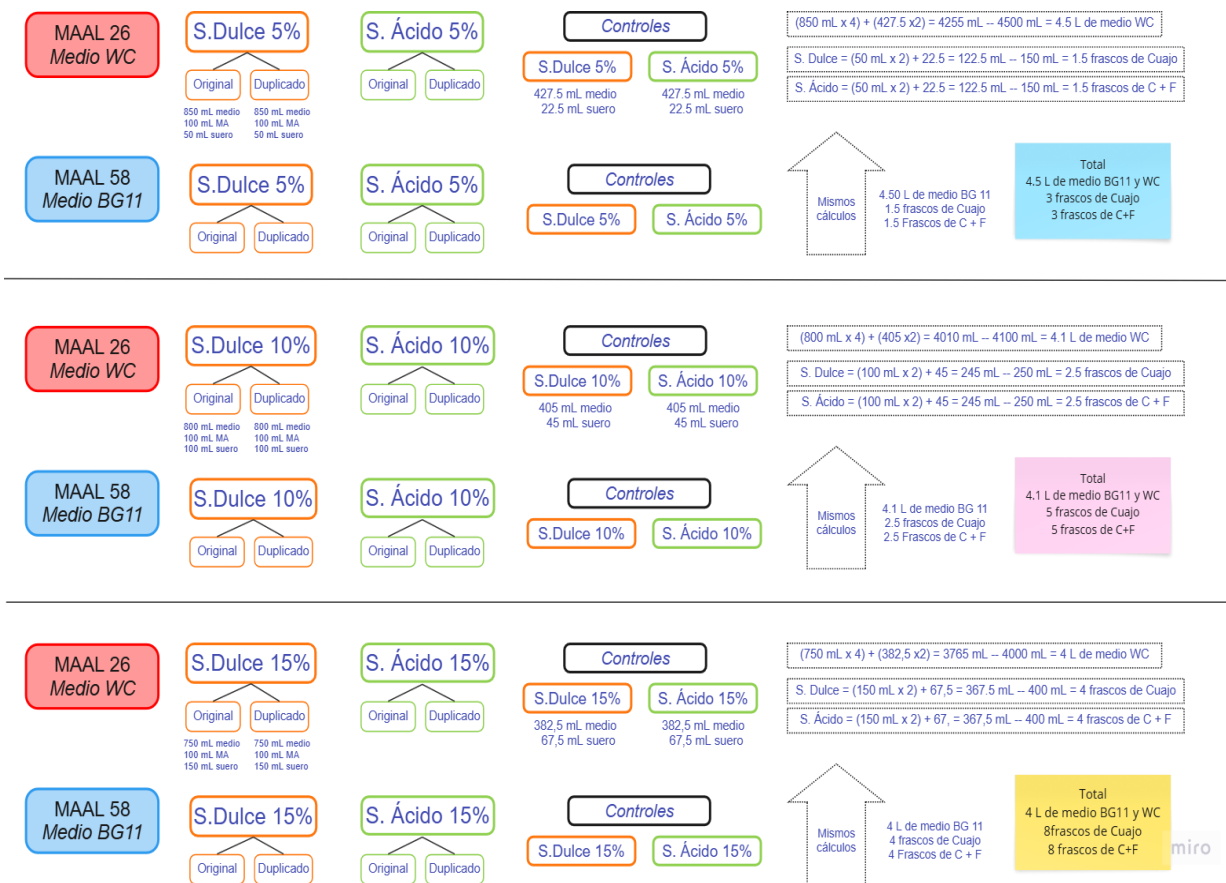
$$\frac{1000 \text{ ml} \times 5\%}{100\%} = \text{ml de suero}$$

$$\text{ml de suero} + 100 \text{ ml microalga o consorcio} + X2 \text{ ml medio} = 1000 \text{ ml } X2 \text{ ml medio}$$

$$= 1000 \text{ ml} - X \text{ ml suero} - 100 \text{ ml microalga o consorcio}$$

Para los controles fue únicamente medio y suero, dispuestos en balones estériles con un volumen máximo de 450 ml, por lo tanto se aplicó nuevamente los cálculos proporcionales.

Los cálculos realizados se resumen en el esquema 1.



Esquema 1. Cálculos generales de volúmenes a utilizar en las diferentes siembras.

2.5.2. Siembra de microalgas

Para llevar a cabo el proceso, dos frascos estériles de 1 litro de capacidad fueron utilizados como biorreactores para los cultivos microalgales (n=2). Posteriormente, 100 ml de la suspensión madre de microalgas fueron trasvasados a cada biorreactor, la cantidad determinada de los dos tipos de lactosuero fueron agregados a cada frasco según el caso, completando el medio de cultivo hasta el volumen determinado. Se ajustaron las tapas de los frascos y se fijó una línea para aireación.

2.5.3. Condiciones de crecimiento

Tomando como referencia las recomendaciones de Pandey et al., (2023), complementadas por los parámetros brindados por Jui et al., (2024), se definieron las condiciones del cultivo en función de los recursos disponibles en el laboratorio.

- **Luz:** se utilizan luminarias led de luz blanca, de 1200 mm de longitud, reguladas para un ciclo de luz: oscuridad de 12:12 horas.
- **Agitación:** suave y constante mediante una placa magnética y una pastilla agitadora. Sin embargo, no se estableció una velocidad específica para los cultivos.
- **Oxigenación:** manguera de aireación conectada a la tapa del frasco durante las 24 h.
- **Temperatura:** se controlaba mediante termómetros fijos, manteniéndose a temperaturas entre 23 -27 °C.

2.5.4. Medida del pH y conductividad

Estos parámetros fueron medidos inicialmente tras la preparación de medios y siembra de especies. Sin embargo, su medición diaria fue decidida a partir de la segunda semana de investigación. Se utilizó el equipo OHAUS, equipado con electrodos específicos para pH y conductividad. Mediciones fueron realizadas diariamente. Previo a realizar la determinación se homogeneizó cada muestra y se leyeron los valores tras la indicación de estabilización del equipo.

2.6. Determinación de biomasa

Siguiendo la metodología de Criollo & Siavichay (2016), 10 ul de muestra fueron traspasados a una cámara de Neubauer MARIENFELD (Alemania) asegurando la eliminación de burbujas y controlando que las muestras lleguen hasta las zonas de conteo pero sin inundarlas. Se dejó reposar la muestra y se observó al microscopio empleando el objetivo de 10x para verificar la distribución homogénea de las células y luego con 40x, hasta obtener nitidez de las células. Se contó y sumó todos las células de cada cuadrante.

La aceptación o rechazo de una célula dependía de su ubicación. De encontrarse en el límite superior o izquierdo se contabiliza, mientras que si se encontraba en el límite inferior o derecho se rechaza (Criollo & Siavichay, 2016; Lucero, 2016).

Debido a la complejidad del método de conteo, se realizó una sola determinación de crecimiento diaria para los cultivos suplementados con 5% y 10% de lactosueros. En el caso

de los cultivos suplementados con 15% de lactosuero el conteo fue realizado 3 veces por semana.

La concentración de microalgas y cianobacterias se obtuvo mediante la ecuación

$$\text{Concentración } \left(\frac{\text{cel}}{\text{ml}} \right) = \frac{\sum \text{células de los 4 cuadrantes}}{\text{Número de cuantrantes contados}} \times 10\,000$$

Ecuación 1. Concentración de células/ ml de microalgas y cianobacterias

2.7. Cosecha de biomasa

A los 14 días tras la siembra, se seleccionaron los cultivos de coloración verdosa y con recuentos de células/ml favorables en los dos últimos días. De la concentración al 5% y 10 % se eligió MAAL 58 y MAAL 26 en lactosuero dulce y MAAL 58 en lactosuero ácido. Este procedimiento no se realizó para la concentración del 15%.

El contenido de los frascos se dejó decantar y se trasvasó a tubos que fueron centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos, tras dos lavados, se recolectaron 10 ml de biomasa misma que fue transferida a tubos de vidrio de liofilizador previamente pesados.

2.8. Cálculo del rendimiento de la biomasa

La biomasa líquida se congeló en un biofreezer a - 80 °C hasta formar una película delgada en las paredes. Se liofilizó aplicando 0,160 mBar de presión y - 49 °C de temperatura del colector. El proceso se desarrolló por 24 h y tras este tiempo los tubos se pesaron nuevamente para obtener el peso de biomasa seca (P2).

Para obtener el rendimiento , se aplicó la fórmula:

$$\text{Rendimiento en \% de biomasa} = P2 - P1 * 100$$

Ecuación 2. Rendimiento en porcentaje de la biomasa

Donde:

P1 = Peso del tubo vacío

P2 = Peso del tubo con biomasa liofilizada

2.9. Determinación de carotenoides y clorofila

Siguiendo la metodología planteada por Brix (2009), a aproximadamente 5 mg de muestra seca se añadió 100 ul de agua destilada y se dejó en reposo por 10 minutos. Se añadieron 8 ml de EtOH 96% y se homogeneizó en vórtex MIXER (Taiwán). Se protegió de la luz con

papel aluminio y se incubó a temperatura ambiente toda la noche. Al día siguiente, se homogeneizaron las muestras y se dejó sedimentar a las partículas. Se leyó las absorbancias en el espectrofotómetro a longitudes de onda de 470 nm, 648 nm y 664 nm. Los ensayos se realizaron por triplicado.

El contenido de carotenoides y clorofila total fueron obtenidos mediante las siguientes fórmulas y los resultados se expresaron en mg/g de peso seco.

Clorofila a

$$1. \quad C_a = \frac{(13.3A_{664.2} - 5.19A_{648.6}) * 8,1}{DW} \quad [mg \ g^{-1} \ dw]$$

Ecuación 3. Concentración de clorofila a

Clorofila b

$$2. \quad C_b = \frac{(27.43A_{648.6} - 8.12A_{664.2}) * 8,1}{DW} \quad [mg \ g^{-1} \ dw]$$

Ecuación 4. Concentración de clorofila b

Clorofilas totales

$$3. \quad C_{\alpha+\beta} = \frac{(5.24A_{664.2} + 22,24A_{648.6}) * 8,1}{DW} \quad [mg \ g^{-1} \ dw]$$

Ecuación 5. Concentración de clorofilas totales

Carotenoides totales

$$4. \quad C_{x+c} = \frac{(4,785A_{470} + 3,657A_{664.2} - 12,6A_{648.6}) * 8,1}{DW} \quad [mg \ g^{-1} \ dw]$$

Ecuación 6. Concentración de carotenoides totales

Donde:

A_{664.2} = Absorbancia a 664.2 nm

A_{648.6} = Absorbancia a 648.6 nm

A₄₇₀ = Absorbancia a 470 nm

DW = Peso seca de la planta o matriz

2.10. Análisis de resultados

El análisis de resultados se realizó a través de estadística descriptiva y representaciones gráficas, con el fin de visualizar las tendencias y diferencias observadas entre los tratamientos evaluados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Control microbiológico

3.1.1. En suero dulce y ácido

Los resultados del control microbiológico se presentan en la tabla 1. En la misma se observa que el lactosuero ácido presentaba una carga microbiana inicial significativamente mayor. Esta observación puede explicarse considerando el proceso de obtención de este tipo de lactosuero, cuyo fermento estaba conformado por *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Tabla 1. Resultados del control microbiológico de los lactosueros

Tipo de suero	Dilución	Colonias a las 24 H		Colonias a las 48 H	
		Caja 1	Caja 2	Caja 1	Caja 2
Dulce	10 [*] -1	22	27	34	29
	10 [*] -2	1	0	1	0
	10 [*] -3	0	0	0	0
	10 [*] -4	0	0	0	0
Ácido	10 [*] -1	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
	10 [*] -2	540	387	604	591
	10 [*] -3	42	31	44	44
	10 [*] -4	0	0	8	3

MNPC: Muy numeroso para contar.

3.1.2. En siembras suplementadas con 5% de suero

A partir de los datos anteriores, se seleccionaron las diluciones para trabajar los cultivos suplementados y los resultados se presentan en la Tabla 2. Existe un crecimiento considerablemente elevado en la mayoría de los cultivos. Sin embargo, es evidente que únicamente en medio ácido la generación de gas es mínima e incluso nula. Es de consideración que la determinación de carga microbiana se realizó al sexto día tras el cultivo, por lo tanto estos resultados indican que la carga microbiana incrementa con el paso de los días y que incluso se produjeron especies generadoras de gas, sobre todo en medios con lactosuero dulce.

Si bien en ambos tipos de lactosuero, predominan las bacterias ácido lácticas (BAL) como *Lactobacillus* o *Streptococcus*, también se encuentran *Actinobacterias*, *Bacteroidetes* y *Proteobacterias* (Mazorra-Manzano et al., 2022). Esta condición sugiere que, si bien las BAL serán predominantes, otras bacterias con diferentes propiedades pueden proliferar en el medio, utilizando los recursos que inicialmente estaban destinados para las microalgas y

cianobacterias. Además, no se puede descartar la posibilidad de que las microalgas presentes también contribuyan a la producción de gas, pero en bajas cantidades, ya que estaban en condiciones mixotróficas.

Tabla 2. Resultados del control microbiológico de las siembras de cultivos suplementados con 5% de sueros

Especie/Suero	Dilución	Colonias a las 24 H		Colonias a las 48 H	
		Caja 1	Caja 2	Caja 1	Caja 2
MAAL 26, S. Dulce 5%	10 [*] 0	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
	10 [*] -1	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
	10 [*] -2	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
	10 [*] -3	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
MAAL 26, S. Ácido 5%	10 [*] -1	MNPC	MNPC	-	-
	10 [*] -2	MNPC	MNPC	-	-
	10 [*] -3	MNPC (g+)	MNPC	-	-
	10 [*] -4	MNPC	MNPC	-	-
MAAL 58, S. Dulce 5%	10 [*] 0	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
	10 [*] -1	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
	10 [*] -2	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
	10 [*] -3	MNPC (g+)	MNPC (g+)	-	-
MAAL 58, S. Ácido 5%	10 [*] -1	MNPC	MNPC	-	-
	10 [*] -2	MNPC	MNPC	-	-
	10 [*] -3	MNPC	MNPC	-	-
	10 [*] -4	232	259	-	-

MNPC : Muy numerosa para contar ; g+ : Presencia de gas

3.2. Recuento de biomasa frente a pH y conductividad de los diferentes tipos y concentraciones de lactosueros

El análisis de los resultados se basó en los datos detallados en el Anexo 6, así como en las figuras 1-12, es así que obtiene que las concentraciones y el tipo de suero con mejor producción de biomasa se resumen en la tabla 3. Se evidencia que MAAL 58 presentó mejor desarrollo en las tres concentraciones que fueron suplementadas con lactosuero ácido, mientras que MAAL 26, presentó cierta afinidad al lactosuero dulce. La mayor producción de biomasa de ambas especies ocurrió frente a concentraciones de 5% de los lactosueros.

Tabla 3. Comparativo de suero y valor máximo de cel/ml de cada microalgas

Microalgas	Concentración de suero (%)	Suero con mayor recuento	Valor máximo alcanzado de cel/ml
MAAL 58	5	Ácido	1,95E+07
	10	Ácido	1,94E+07
	15	Ácido	1,67E+06
MAAL 26	5	Dulce	1,49E+07
	10	Dulce	8,43E+06
	15	Ácido	1,20E+06

Adicional a estos datos y basándonos en las figuras 1-12, que corresponden a los cultivos con los valores de recuentos más elevados, se analizaron los datos de pH y conductividad obteniendo como resultado que durante los tres días de mayor crecimiento el pH del medio va de 6 a 9, donde este último valor corresponde al pH con mayor predominio entre los diferentes cultivos.

Adicionalmente la conductividad de los medios varía, en BG11 con MAAL 58, los días de mejor producción tienen conductividades de entre 2200 a 2800 uS/cm, mientras que en WC con *Chlorella vulgaris* la conductividad en los días de mayor crecimiento suele rodear los 560 a 1500 uS/cm.

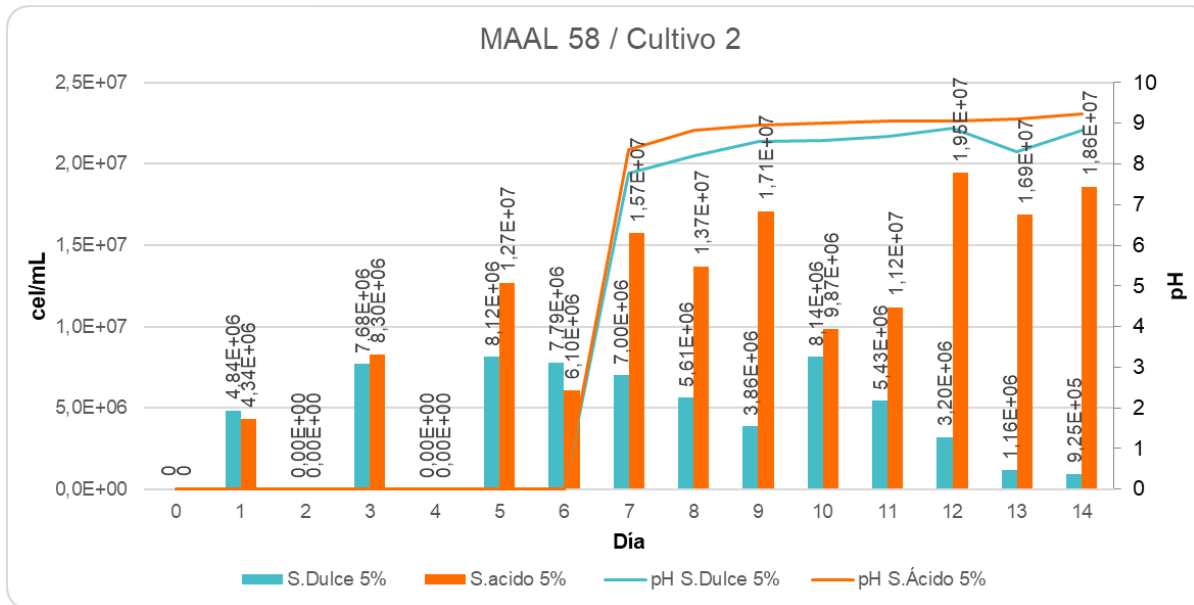


Figura 1. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 5%.

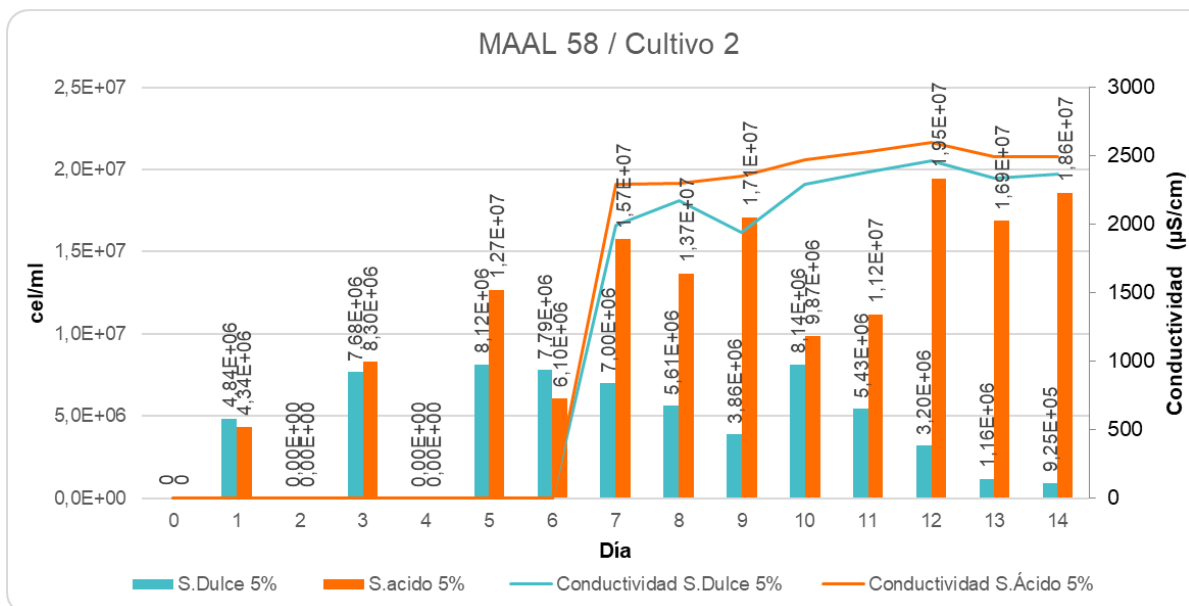


Figura 2. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 5%.

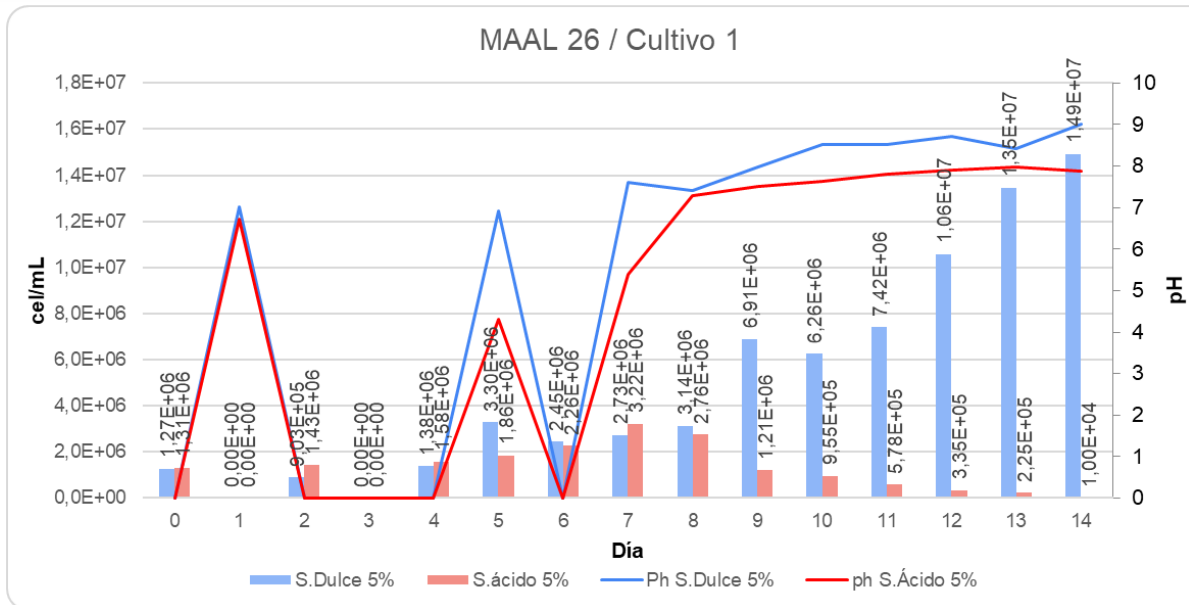


Figura 3. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 5%

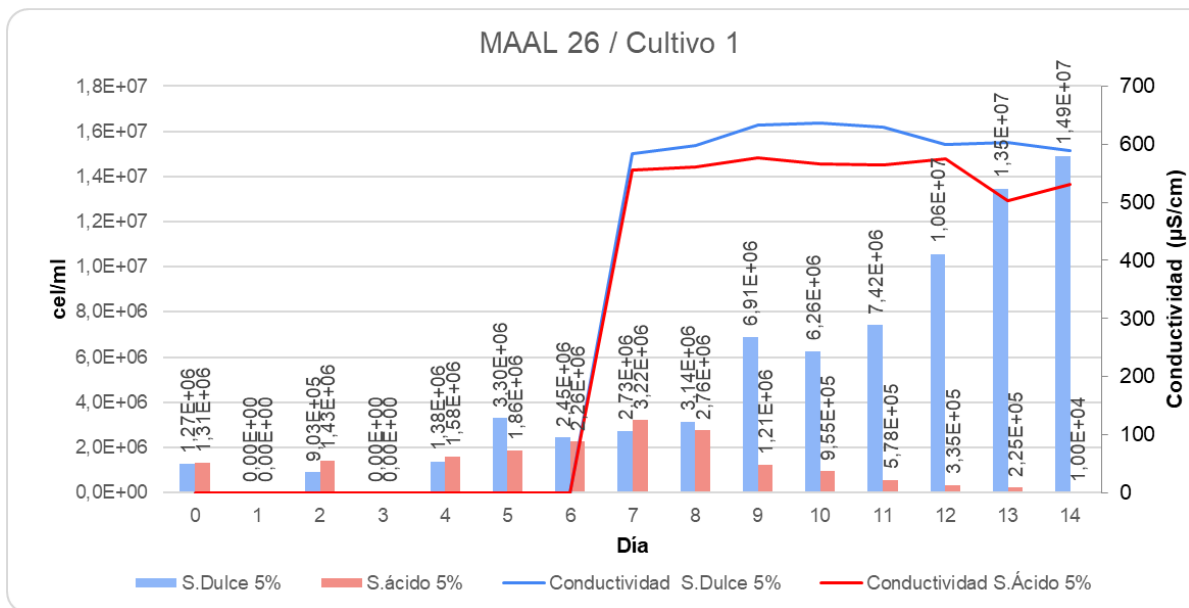


Figura 4. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 5%.

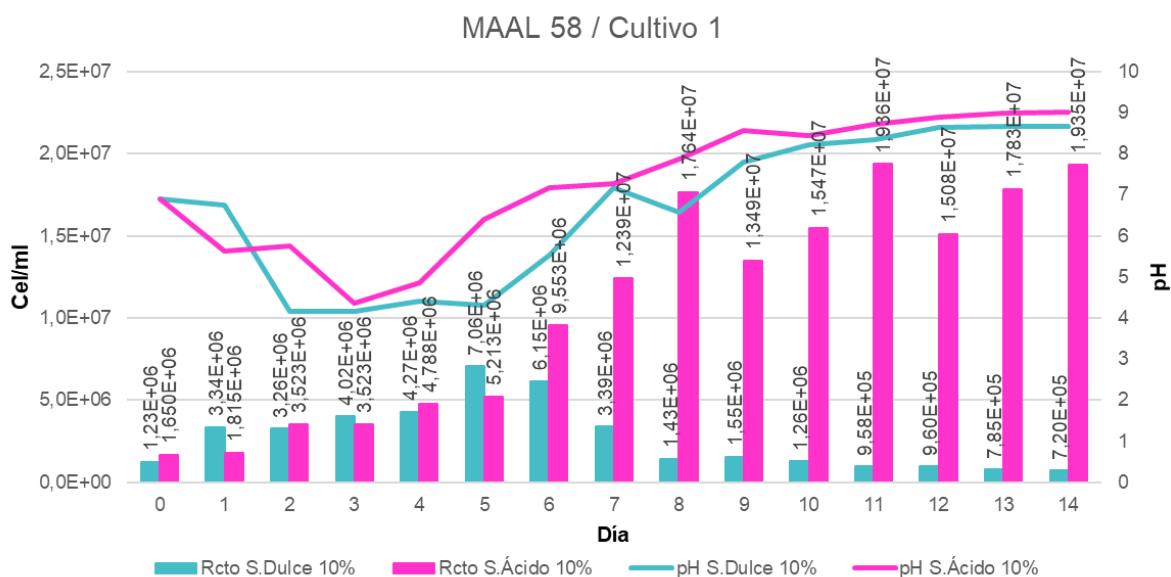


Figura 5. Comportamiento de Recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 10%.

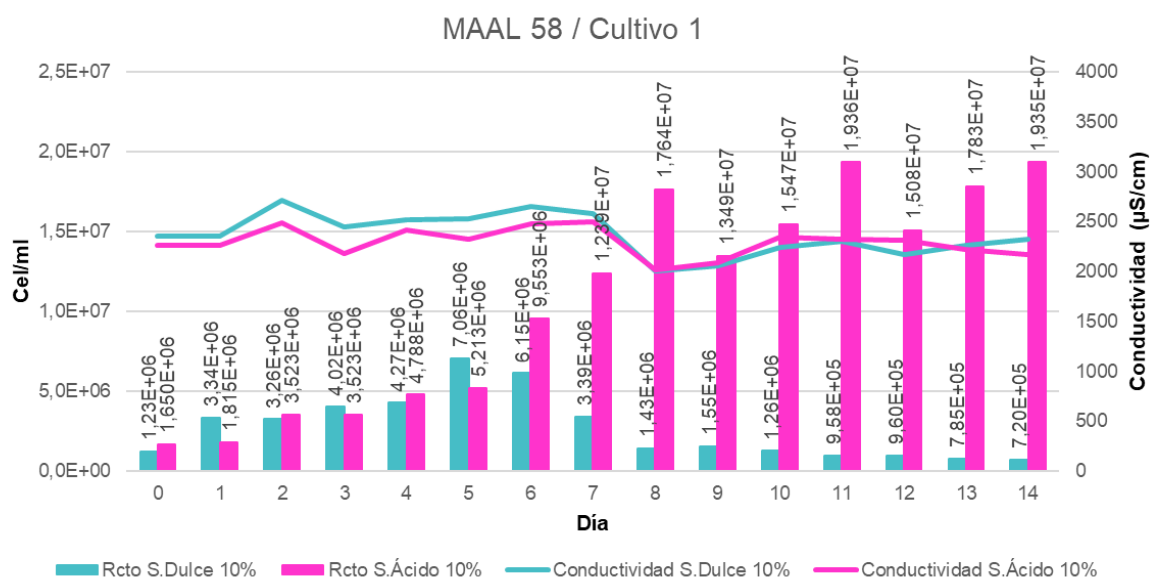


Figura 6. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 10%.

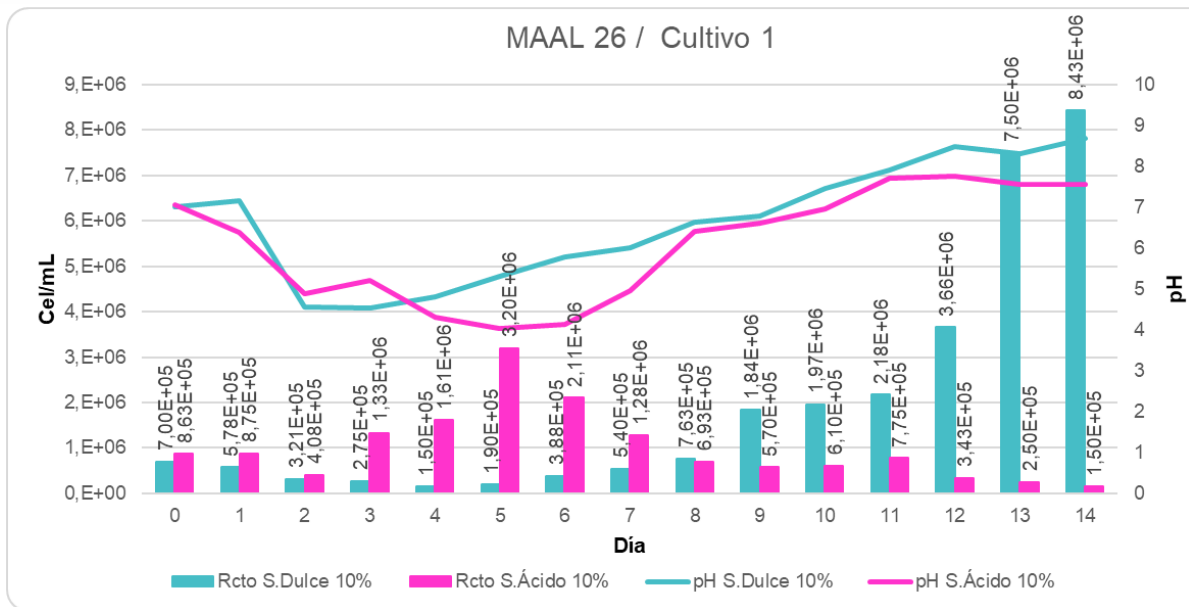


Figura 7. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 10%.

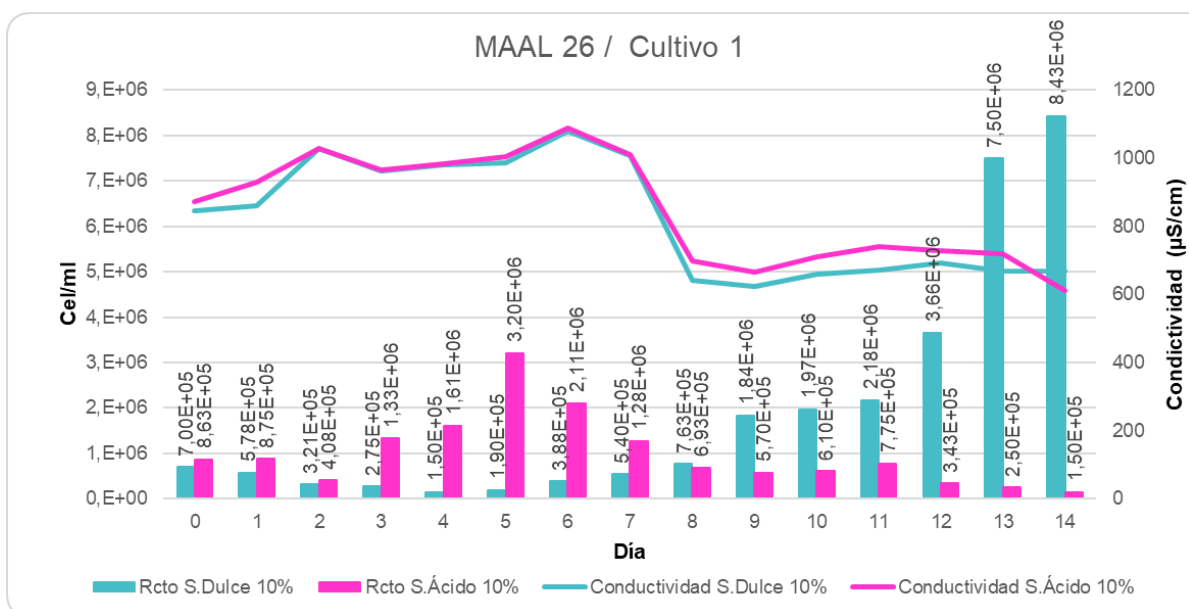


Figura 8. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 10%.

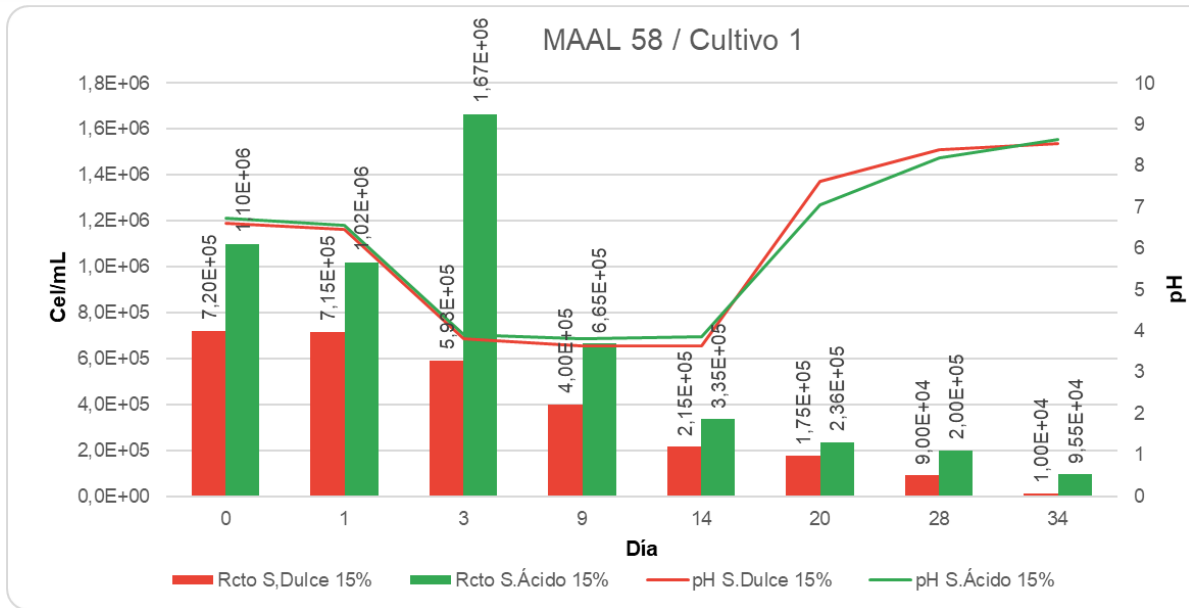


Figura 9. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 15%.

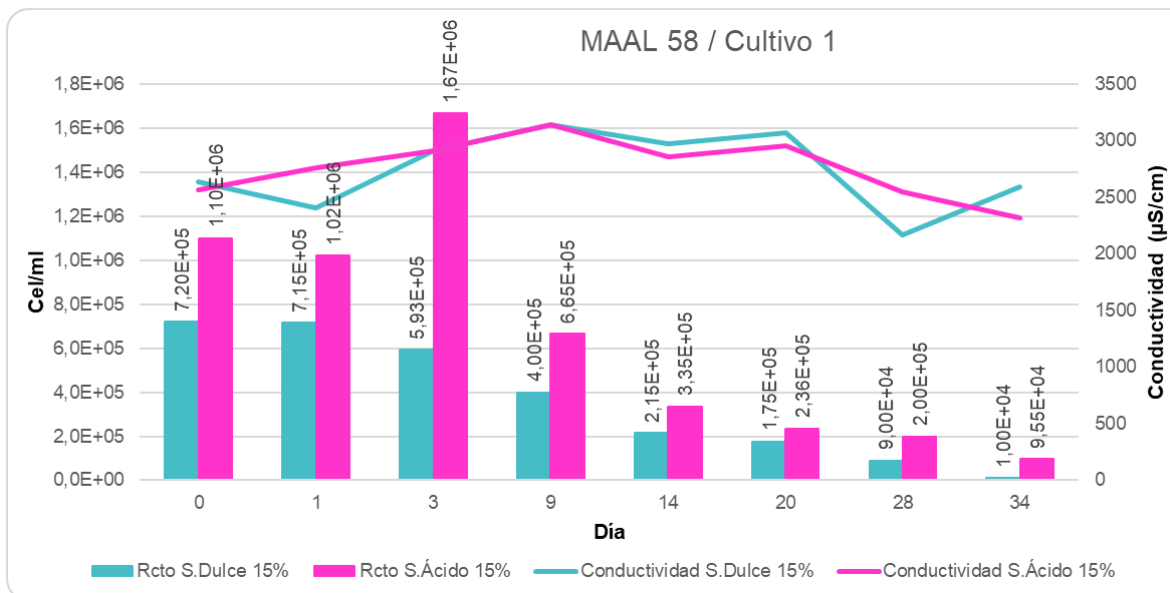


Figura 10. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 15%.

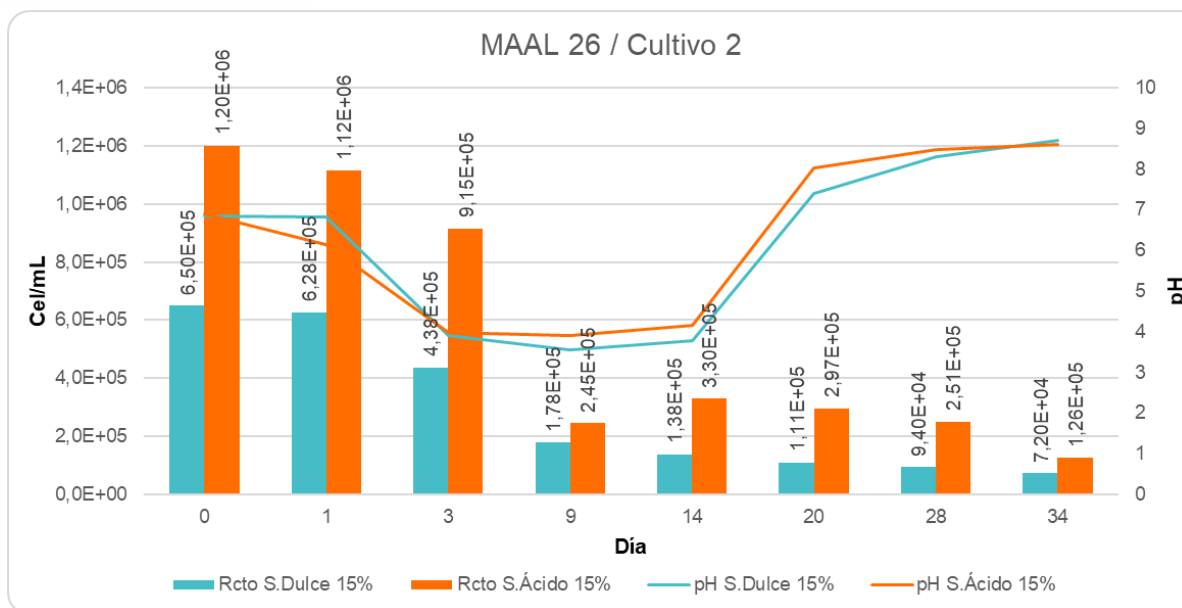


Figura 11. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 15%.

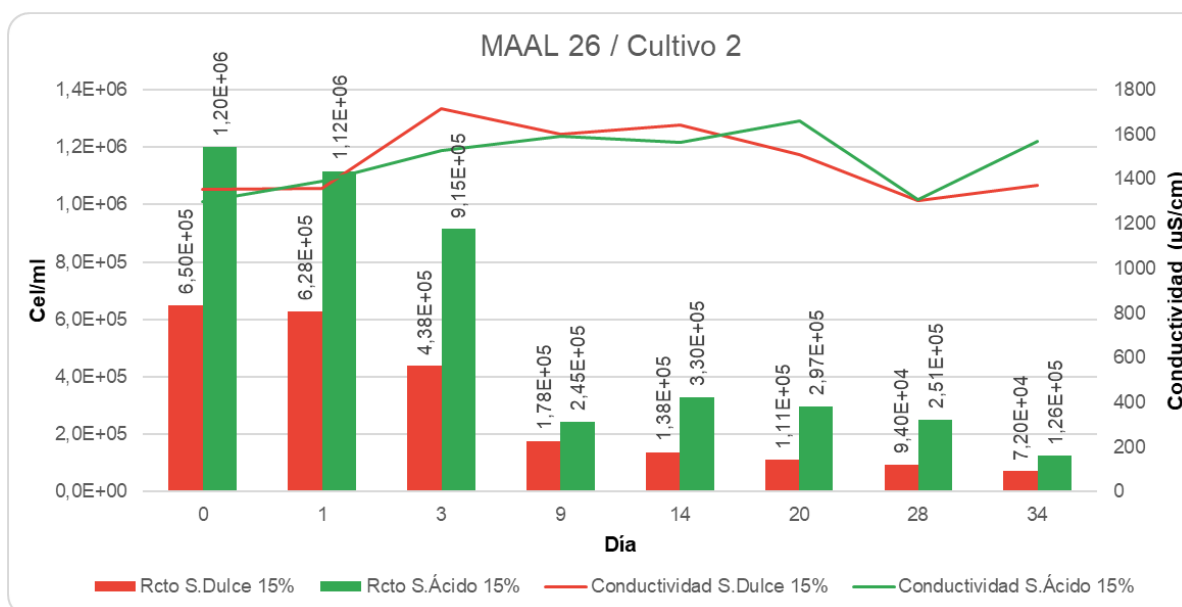


Figura 12. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 15%.

Diversos estudios han explorado el efecto de la concentración de lactosuero en el cultivo de microalgas. Por ejemplo, Moreno y Moreno (2018) reportaron que el enriquecimiento del medio de cultivo de *Chlorella vulgaris* con un 2% v/v de suero lácteo resultó en un aumento significativo en la productividad de biomasa. Sin embargo, Athanasiadou et al. (2023) sugieren que la mayor producción se logra con una concentración del 10%. En contraste, los resultados obtenidos indican que una concentración del 5% favoreció el crecimiento. Resultados similares fueron obtenidos por Nabizadeh et al. (2020) que tras un estudio de concentraciones del 0%, 2.5% y 5% de suero de leche, concluyeron que la última

concentración es óptima para el cultivo de microalgas. De manera similar, Soto (2022) señala en su estudio que la adición de un 5% de suero de leche al medio de cultivo de la cianobacteria *Arthrospira maxima* optimiza la producción de biomasa, alcanzando una concentración de 1.40×10^6 células/ml.

Asimismo, se observó que al incrementar la concentración de suero en el medio de cultivo, este aumentó su turbidez y presentó una alteración en su coloración. Según lo señalado por Herrera (2019), estos cambios pueden interferir con la actividad fotosintética de los microorganismos, lo que podría comprometer su viabilidad y, en consecuencia, reducir su tasa de crecimiento celular. Este efecto fue evidente en los cultivos suplementados con un 15% de lactosuero, donde se registró una disminución en el crecimiento celular.

El pH también es un factor relevante, aunque hay poca evidencia que sugiera que este aumenta a lo largo del tiempo de crecimiento de las microalgas. Bentahar et al., (2019) ajustan el pH utilizando Tris (hidroximetil) aminometano para obtener un valor inicial de 6.8, alcanzando hasta 7.2, mientras Hernández et al. (2025) mantienen un pH inicial y final de 6.65. Esto contrasta con los resultados obtenidos por esta investigación, donde los valores de pH del medio tienden a acercarse a la alcalinidad durante el crecimiento máximo. Mejía et al. (2018) corroboran que hay un crecimiento exponencial acompañado de un aumento del pH al quinto día, alcanzando un valor cercano a 9 al final del ensayo, sugiriendo que las condiciones óptimas pueden variar según el contexto experimental.

Es pertinente señalar que la replicabilidad entre cultivos no fue la esperada. Se identificaron inconsistencias en el comportamiento del recuento, pH y conductividad del cultivo 1 frente al cultivo 2, a pesar que ambos fueron desarrollados bajo las mismas condiciones. Como ejemplo puntual se presenta a MAAL 58 suplementado con 10% de lactosuero, donde el cultivo 1 evidenció un mayor crecimiento al ser suplementado con lactosuero ácido, mientras que el cultivo 2 presentó un desarrollo superior con lactosuero dulce. De igual forma en MAAL 26 suplementado con lactosueros al 15%, el cultivo 1 demostró mejor crecimiento con lactosuero dulce mientras que el cultivo 2 fue con lactosuero ácido.

Asimismo, se evidenciaron discrepancias en el comportamiento de los distintos tipos de suero en función de la concentración y la microalga cultivada. Este fenómeno fue especialmente notorio en MAAL 26, que mostró una mejor respuesta al lactosuero dulce en concentraciones de 5% y 10%, pero presentó un incremento significativo con lactosuero ácido al 15%.

Si bien en los análisis previos se priorizaron los datos más consistentes y representativos, es importante destacar que las fluctuaciones sugieren la posible influencia de interacciones complejas entre la cepa, el tipo de suero y su concentración. Tampoco se descarta la

posibilidad que ciertas condiciones con un control menos riguroso, hayan influido significativamente en el desarrollo de las microalgas, ya sea favoreciendo o inhibiendo su crecimiento.

Un primer factor relevante es la agitación, mismo que asegura la homogeneidad del medio y que no fue controlado con precisión durante los ensayos. En consecuencia, es posible que se hayan generado diferencias en la distribución de oxígeno y nutrientes, creando microambientes favorables para el desarrollo de determinadas cepas bacterianas o levaduriformes. Esta heterogeneidad en el cultivo puede explicar parte de las variaciones observadas en los resultados experimentales (Pandey et al., 2023).

Otro factor crítico es el manejo posterior del lactosuero. Si bien la pasteurización de la leche a 72 °C durante 15 segundos, como indica Jaramillo (2021), es fundamental para eliminar bacterias contaminantes, el suero resultante es altamente inestable frente a cambios de temperatura. Por ello, como señala Camacho (2009), debe mantenerse a 7 °C para preservar su calidad microbiológica. Dentro de este contexto, el control microbiológico del suero toma especial relevancia, ya que en las etapas siguientes se introducen condiciones favorables para el desarrollo microbiano, como aireación constante, iluminación, temperatura y agitación. Aunque estas condiciones están diseñadas para optimizar el crecimiento de las microalgas, también pueden beneficiar a microorganismos contaminantes, generando inestabilidad en el cultivo.

3.3. Rendimiento de biomasa

Si bien MAAL 58 suplementada con 5% de lactosuero ácido generó una mayor cantidad de biomasa, la producción con 10% del mismo suplemento fue muy similar. En este caso, el parámetro que permite establecer cuál condición resulta más ventajosa es el rendimiento. Como se puede apreciar en la Tabla 4, con una concentración menor, del 5%, se obtuvo casi el doble de rendimiento, lo que indica que el cultivo suplementado con esa concentración fue significativamente más eficiente, es decir utilizó mejor los recursos disponibles y generó mayor biomasa por unidad de suero. Este hallazgo sugiere que es posible optimizar la producción empleando menores concentraciones de lactosuero sin sacrificar el rendimiento final.

Por otro lado, el comportamiento de MAAL 58 frente al lactosuero dulce fue menos favorable. A pesar de presentar un mejor rendimiento con una concentración del 10%, la biomasa producida fue considerablemente menor que la obtenida con lactosuero ácido. Esto evidencia que un mayor rendimiento no necesariamente compensa una baja productividad total. Por

esta razón, se considera que el análisis detallado de MAAL 58 con suero dulce no resulta relevante para los fines de esta investigación, y no será profundizado en las comparaciones posteriores.

De manera similar, MAAL 26 suplementada con 5% de lactosuero dulce presentó la mayor producción de biomasa. Sin embargo, el rendimiento fue ligeramente superior al aumentar la concentración al 10%, lo que refleja una leve mejora en la eficiencia del uso del sustrato. Aun así, esta diferencia no fue lo suficientemente significativa como para representar una ventaja sustancial.

Tabla 4. Rendimiento de biomasa de cada cultivo

Nombre del cultivo	Suero	Concentración de suero (%)	Valor máximo alcanzado de (cel/mL)	Rendimiento obtenido (%)
MAAL 58	Ácido	5	19.450.000	35,08
		10	19.360.000	17,08
	Dulce	5	8.137.000	4,65
		10	7.060.000	16,25
MAAL 26	Dulce	5	14.915.000	13,28
		10	8.430.000	15,41

3.4. Cuantificación de clorofila y carotenoides

En relación con el contenido de pigmentos, específicamente los carotenoides, se puede apreciar en las figuras 13 y 14, que MAAL 58 presentó valores significativamente reducidos, e incluso nulos, de este pigmento en presencia del lactosuero dulce a concentraciones del 5% y 10%. En contraste, MAAL 58 combinado con lactosuero ácido al 5% y 10% generó cantidades apreciables de carotenoides. Aunque los valores entre ambas concentraciones no difieren drásticamente, el 10% evidenció un ligero aumento.

En el caso de MAAL 26, *Chlorella vulgaris*, se observó que el lactosuero dulce, independientemente de la concentración utilizada, estimuló la producción y acumulación de carotenoides pues Schagerl y Müller (2006), reportan que esta especie suele alcanzar alrededor de 1977,02 µg/g de carotenoides y como se puede observar en las dos figuras antes mencionadas, los valores se sitúan muy por encima de lo reportado. Por lo tanto, esto sugiere una relación directa con las condiciones experimentales aplicadas en este estudio.

Respecto al contenido de clorofila, Morales-Rivera et al. (2024) señalan que especies como *Spirulina platensis* pueden alcanzar hasta 6000 mg/L (equivalentes a 6 mg/g de biomasa

seca) durante la fase estacionaria, aunque destacan que los valores pueden variar considerablemente según la especie y la etapa de crecimiento. Es así que realizando la comparación con los resultados y como se observa en la figura 14, incluso MAAL 58 con lactosuero dulce al 10%, que fue la condición menos favorable en términos de producción de clorofila, presentó valores considerablemente más altos que los reportados en la literatura.

Por otro lado, el contenido de clorofilas en la microalga *Chlorella vulgaris* (MAAL 26), demostró que la suplementación con lactosuero dulce favoreció significativamente la acumulación de este pigmento, siendo la concentración al 10% la que estimuló en mayor medida su producción, hecho que se evidencia en la figura 14. Según lo reportado por Morales-Rivera et al. (2024), *Chlorella vulgaris* puede alcanzar concentraciones de clorofila entre 200-1500 mg/L (equivalentes a 0,2-1,5 mg/g) en fase logarítmica, y entre 100-1000 mg/L (0,1-1 mg/g) en fase estacionaria. En comparación, los valores obtenidos en este estudio fueron considerablemente superiores, lo que sugiere que el uso de lactosuero como suplemento no solo potencia la productividad de biomasa, sino que también mejora de forma sustancial el perfil pigmentario de esta microalga.

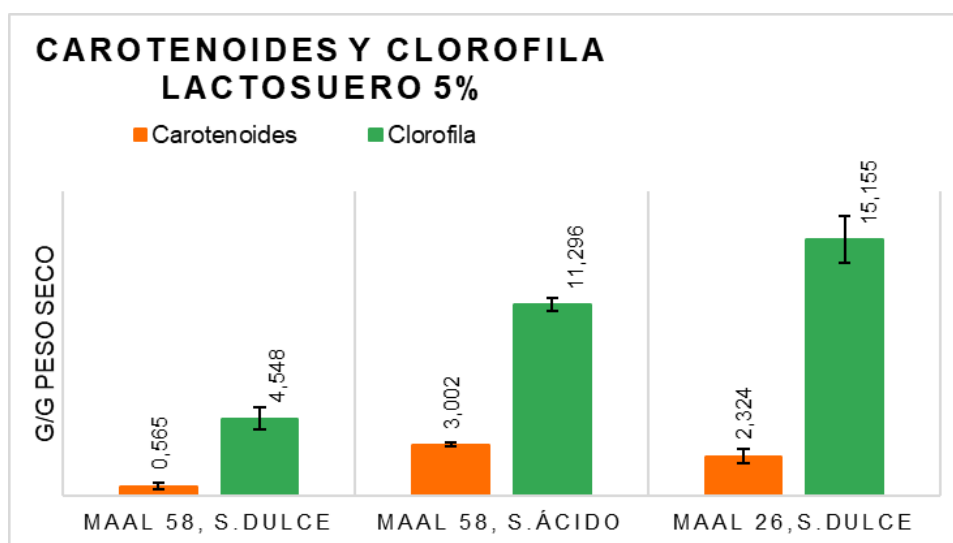


Figura 13. Concentración de carotenoides y clorofila obtenidos de muestras de MAAL 26 y MAAL 58 suplementadas con lactosueros al 5%

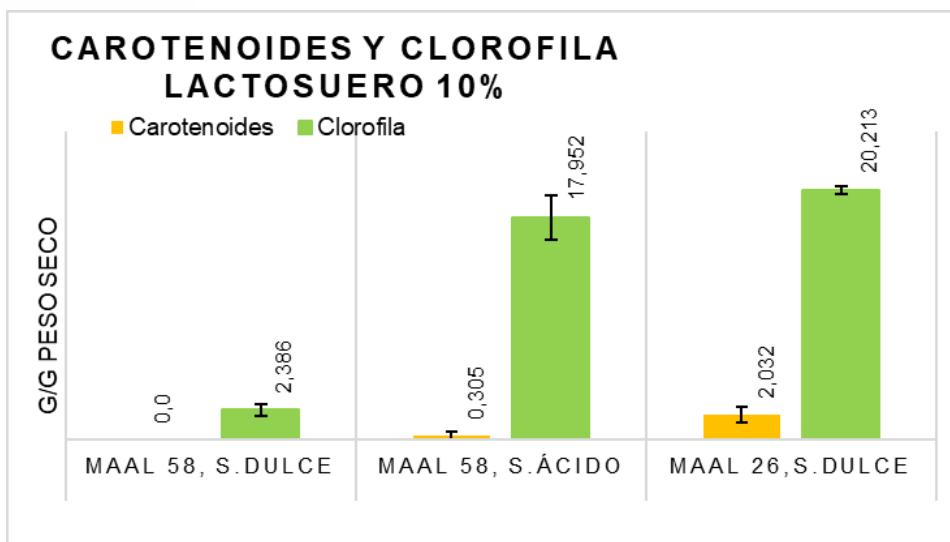


Figura 14. Concentración de carotenoides y clorofila obtenidos de muestras de MAAL 26 y MAAL 58 suplementadas con lactosueros al 10%

3.5. Proteínas Totales

En un estudio paralelo, se evaluó el contenido de proteínas totales en las especies MAAL 58 (consorcio cianobacteriano y microalgal) y *Chlorella vulgaris* (MAAL 26), siendo apreciable mediante la tabla 5 que MAAL 58 presentó una mayor concentración proteica en comparación con la microalga.

Tabla 5. Proteínas totales de cada especie

Muestra	ug proteina /mg biomasa liofilizada
26A	0,9691
26B	0,5530
26C	0,8967
58A	6,5311
58B	8,0501
58C	6,6632

No obstante, es importante señalar que estos resultados no corresponden a una biomasa obtenida a partir de medios suplementados con diferentes concentraciones y tipos de lactosuero. Además, en dicho estudio ambas especies se ubicaron entre las de menor producción de proteínas en comparación con otras microalgas y consorcios evaluados.

Dado el bajo contenido proteico de las microalgas, Becker (2007) menciona que no se ha priorizado la extracción de proteínas a partir de las células. En su lugar, el enfoque ha sido

augmentar la producción de biomasa, ya que las células que la componen presentan proteínas en su estructura. Por lo tanto, al incrementar la cantidad de biomasa, se incrementa también, de forma indirecta, la disponibilidad total de proteínas.

Bonett (2018) reportó que el uso de lactosuero no concentrado y sin enriquecimiento adicional permitió obtener cantidades de biomasa ligeramente superiores a las alcanzadas en medios sintéticos como BG11, en condiciones mixotróficas. Por lo tanto, se espera que, con base en la biomasa obtenida en este experimento donde sí se utilizó suplementación con lactosuero, una futura determinación del contenido proteico revele valores superiores a los previamente observados.

Herrera (2019) respalda esta proyección al señalar que, en el caso de la cianobacteria *Spirulina*, la adición de un 3% de lactosuero permitió alcanzar una biomasa final de 1.467 mg/ml de medio de cultivo, superando al control en medio específico. Este tipo de evidencia refuerza el potencial del lactosuero como suplemento eficaz no solo para mejorar el crecimiento celular, sino también para potenciar la producción de compuestos de interés como las proteínas.

3.6. Limitaciones del estudio

Como último objetivo se planteó la cuantificación de proteínas en la diferentes biomásas bajo las condiciones de cultivo optimizadas. Sin embargo, esta actividad no pudo llevarse a cabo debido a limitaciones de tiempo, a pesar de ello se cuenta con la biomasa disponible para poder realizarlo en próximas investigaciones.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

Las mejores condiciones para la producción de biomasa en el caso de MAAL 58 se alcanzaron con la suplementación de lactosuero ácido al 5%, mientras que *Chlorella vulgaris* mostró su pico de producción con lactosuero dulce a la misma concentración. En ambos casos, los valores máximos de biomasa generada se registraron cuando el medio alcanzaba un pH alcalino, dentro de un rango aproximado de 6 a 9. Se evidenció una diferencia marcada en la conductividad eléctrica de los medios suplementados con lactosuero, mientras el medio BG11 presentó valores elevados, entre 2200 y 2800 $\mu\text{S}/\text{cm}$, el medio WC mostró conductividades que fluctuaron entre 590 y 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

En cuanto a la producción de pigmentos, específicamente clorofila, *Chlorella vulgaris* alcanzó su mayor concentración con la suplementación de lactosuero dulce al 10%, mientras que MAAL 58 lo hizo con lactosuero ácido a la misma concentración. Por otro lado, la mayor producción de carotenoides en ambos cultivos se observó con una suplementación al 5% de lactosuero.

4.2. Recomendaciones

Con el objetivo de avanzar en la investigación en busca de nuevas fuentes con potencial nutracéutico, se sugiere explorar la suplementación con lactosuero esterilizado. Posteriormente, se podría añadir un fermento bacteriano para simular las condiciones del lactosuero ácido, o bien trabajar únicamente con lactosuero dulce esterilizado. Además, se recomienda implementar un control microbiológico más riguroso, lo que permitirá una caracterización más precisa y confiable del producto.

Además, es fundamental controlar el pH del medio tras la suplementación. Se sugiere definir rangos de fluctuación específicos y ajustar el pH mediante el uso de soluciones tampón o buffer. Este enfoque facilitará la obtención de resultados más consistentes y permitirá reducir las oportunidades de variación en los experimentos. Al establecer condiciones óptimas y mantener un control riguroso sobre el pH, se podrá identificar con mayor precisión los puntos ideales para la producción de biomasa y compuestos bioactivos, como carotenoides y clorofilas.

Por último y considerando la heterogeneidad observada en el estudio, se recomienda ampliar la escala experimental a lotes de mayor tamaño, con el fin de evaluar la variabilidad y reducir la falta de replicabilidad en algunos resultados.

Referencias

- Agarwal, P., Soni, R., Kaur, P., Madan, A., Mishra, R., Pandey, J., Singh, S., & Singh, G. (2022). Cyanobacteria as a Promising Alternative for Sustainable Environment: Synthesis of Biofuel and Biodegradable Plastics. *Frontiers in Microbiology*, 13, 939347. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.939347>
- Amazará, E., Tarazona, G., Quinter, Y., Vacca, Y., & Vaca, D. (2022). Microbiología de alimentos recuento de los microorganismos aerobios mesófilos. Universidad Francisco de Paula Santander. https://www.researchgate.net/publication/361449495_MICROBIOLOGIA_DE_ALIMENTOS_RECUESTO_DE_LOS_MICROORGANISMOS_AEROBIOS_MESOFILOS
- Athanasiadou, V., Klontza, E. E., Dimitriou-Christidis, P., Fountoulakis, M., & Lekkas, D. F. (2023). Evaluación del crecimiento de *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* en suero de queso en el contexto de la economía circular. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 34, 101173. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101173>
- Bagul, S. Y. (2024). El papel de las microalgas en la valorización y la biorremediación de las aguas residuales. En *Biología de algas* (1.a ed.).
- Bentahar, J., Doyen, A., Beaulieu, L., & Deschênes, J.-S. (2019). Permeado ácido de suero: Un medio de crecimiento alternativo para la microalga *Tetrademus obliquus* y la producción de β -galactosidasa. *Algal Research*, 41, 101559. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101559>
- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207-210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>
- Bito, T., Okumura, E., Fujishima, M., Watanabe, F. (2020). Potential of *Chlorella* as a Dietary Supplement to Promote Human Health. *Nutrients*, 12(9), DOI 2524 10.3390/nu12092524
- Bleoussi, R., Konfo, C. T. R., Tchekessi, C. C. K., Sachi, P., Banon, J. S. B., Djogbe, A., Assogba, K. T., Edwige, D.-A., & Innocent, B. Y. (2020). Nutritional quality and use of whey in human food for its valorization. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. 8(1), 284-293. <https://doi.org/10.30574/WJARR.2020.8.1.0356>

Bonett, J. E. A. (2018). Aislamiento de microalgas y su cultivo en suero de leche.

Universidad Federal de Lavras.

Brix, H. (2009) . Chlorophylls and carotenoids in plant material. Protocol Plants Chlorophyll ab carotenoids ethanol. pp. 1-3. pdf

Camacho, M. (2009). Obtención de un concentrado proteico del suero de la leche de vaca utilizando tecnología de membranas. Escuela Politécnica Nacional.

Campo, J. A. G.-M. del, Calvillo-Femat, A., Mosqueda-Esparza, J. I., Rodríguez-Hernández, A. I., & Jaramillo-González, F. (2020). Espirulina un suplemento alimenticio como posible alternativa en el control de peso. Un estudio con ratas Wistar. Journal of the Selva Andina Research Society, 11(1), 49-56.

Castro, C. P. T. (2015). Aprovechamiento industrial del lactosuero [Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/d9fee080-43ca-4f59-9291-4b1735a4e9f5/content>

Cavallini, A., Torre, S., Usai, L., Casula, M., Fais, G., Nieri, P., Concas, A., & Lutz, G. A. (2024). Efecto del suero de queso sobre la producción de ficobiliproteínas y el perfil FAME de *Arthrospira platensis* (Spirulina): Promoviendo el concepto de una bioeconomía circular. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 40, 101625. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101625>

Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Yap, Y. J., Ling, T. C., & Chang, J.-S. (2018). Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 91, 332-344. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.05.039>

Coronado, J., Salazar, J., Juárez, B. (2022). Chlorella vulgaris, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. Food Science and Technology, 42. DOI 10.1590/fst.37320

Criollo, D. & Siavichay, G. (2016). Análisis de la influencia de diferentes foto-periodos y concentración de nutrientes sobre la síntesis de polifenoles carotenoides en especies cultivadas de *Chlorella* y *Nannochloropsis*. [Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26011/1/Tesis.pdf>

- Devaprakash, M., Thirumalaivasan, R., Sivakumar, N., & Shyamkumar, R. (2024). Chapter 16—Cyanobacterial interactions and symbiosis. En A. K. Mishra & S. S. Singh (Eds.), *Cyanobacteria* (pp. 425-489). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13231-5.00004-0>
- García, J. L., & de Vicente, M. (2018). Presente y futuro del cultivo de las microalgas para su uso como superalimentos.
- Guaygua Arroyo, L. J., Carrasco Pérez, V. M., & Chauca Toapanta, V. N. (2021). Influencia de la *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) como alimento funcional en enfermedades crónicas. *Mediciencias UTA*, 5(4.1), 7-12. <https://doi.org/10.31243/mdc.uta.v5i4.1.1441.2021>
- Gutiérrez-Hernández, C. A., Hernández-Almanza, A., Hernández-Beltrán, J. U., Balagurusamy, N., & Hernández-Teran, F. (2022). Cheese whey valorization to obtain single-cell oils of industrial interest: An overview. *Food Bioscience*, 50, 102086. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102086>
- Gururani, P., Bhatnagar, P., Kumar, V., Vlaskin, M. S., & Grigorenko, A. V. (2022). Algal Consortia: A Novel and Integrated Approach for Wastewater Treatment. *Water*, 14(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/w14223784>
- Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Hency, R., Shiva, B., Prajasattak, K., Smitha J., L., Felix, Yadav, S. P., Gupta, P. K., & Paswan, V. K. (2023). Development and Characterization of Cultured Buttermilk Fortified with *Spirulina plantensis* and Its Physico-Chemical and Functional Characteristics. *Dairy*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/dairy4020019>
- Hernández, A. R., Rabell, V. C., Martínez, C. E. G., & Antonio, C. G. (2025). Cultivo de microalgas: estrategia sustentable para la valorización del suero de queso. *Naturaleza y Tecnología*, 12(1), Article 1. <http://www.naturalezaytecnologia.com/index.php/nyt/article/view/594>

- Herrera, C. (2019). Determinación de perfil de aminoácidos y fitoquímicos de *Spirulina platensis* usando suero lácteo como fuente de carbono. Instituto tecnológico de Orizaba.
- Jaramillo, C. (2021). Desarrollo de un suplemento nutricional a partir de Lactosuero para deportistas adultos. Universidad Técnica del Norte.
- Jui, T. J., Tasnim, A., Islam, S. M. R., Manjur, O. H. B., Hossain, Md. S., Tasnim, N., Karmakar, D., Hasan, Md. R., & Karim, Md. R. (2024). Condiciones óptimas de crecimiento para mejorar la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* en fitotanques interiores y evaluación de la calidad de alimento y cultivo. *Heliyon*, 10(11), e31900. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31900>
- Kratzer, R., & Murkovic, M. (2021). Food Ingredients and Nutraceuticals from Microalgae: Main Product Classes and Biotechnological Production. *Foods*, 10(7), 1626. <https://doi.org/10.3390/FOODS10071626>
- León, P. (2022). Análisis de la capacidad antioxidante de los extractos de microalgas *Nannochloropsis oculata* y posible *Hapalosiphon* sp. Obtenidos de biomasa fresca vs liofilizada [Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38752>
- Leon, F., Ortiz, J., Vanegas, P. (2023). Superfood for Guaguas
- Martínez-Francés, E., & Escudero-Oñate, C. (2018). Cyanobacteria and Microalgae in the Production of Valuable Bioactive Compounds. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.74043>
- Malpartida Y., R., Aldana F., L., Sánchez S., K., Gómez H., L., & Lobo P., J. (2022). El valor nutricional y compuestos bioactivos de la *Espirulina*: Potencial suplemento alimenticio. *Ecuadorian Science Journal*, 6(1), 42-51. <https://doi.org/10.46480/esj.6.1.133>
- Medeiros, V. P. B., Pimentel, T. C., Varandas, R. C. R., dos Santos, S. A., de Souza Pedrosa, G. T., da Costa Sassi, C. F., da Conceição, M. M., & Magnani, M. (2020). Exploiting the use of agro-industrial residues from fruit and vegetables as alternative microalgae culture medium. *Food Research International*, 137, 109722. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109722>

- Mejía, C., Areteaga, K., Molino, A., Batalla, L., & Zárate, D. (2018). Producción de biomasa de microalga por cultivo mixotrófico usando suero de queso como fuente de carbono alternativa. Universidad Juárez autónoma de Tabasco.
- Mondal, S., Pandey, D., & Singh, S. P. (2024). Chromatic acclimation in cyanobacteria renders robust photosynthesis and fitness in dynamic light environment: Recent advances and future perspectives. *Physiologia Plantarum*, 176(5), e14536. <https://doi.org/10.1111/ppl.14536>
- Mora, F. J. C., Barreiro, J. A. V., Moran, J. V. I., Troya, D. F. R., & Villalva, J. C. G. (2023). Manual para elaboración de quesos. Portal de Libros Universidad Técnica de Babahoyo. <https://libros.utb.edu.ec/index.php/utb/catalog/view/101/67/262>
- Morales-Rivera, F. N., Torres-Momber, S., Jacuinde-Ruíz, J. C., Camacho-Arriaga, J. C., & González-Hernández, J. C. (2024). Evaluation of the Effect of Growth Factors on Chlorophylls a and b Production from Microalgae. *Journal of Visualized Experiments (JoVE)*, 212, e67208. <https://doi.org/10.3791/67208>
- Moreno, L. J. M., & Moreno, M. A. P. (2018). Producción de proteínas a partir de la microalga *Chlorella vulgaris* enriqueciendo el medio de cultivo con fuentes de nitrógeno. Universidad de América.
- Murillo, M. (2023). Procedimiento para determinar la concentración fitocelular de un cultivo mediante la utilización del instrumento biológico cámara de Neubauer. [Universidad de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/20894>
- Nabizadeh, A., Rezazad BARI, M., Amiri, S., & Atashbar, B. (2020). Application of whey as a medium for cultivation of *Donalia salina* microalgae. *Food Research Journal*, 30(2), 13-28.
- NTE INEN (2006). NTE INEN 1529-5:2006. Control Microbiológico de Los Alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.
- Oscanoa, A., Tenorio, C., Ynga, G., Flores, L., Aguilar, C. (2018). Instructivo para producción de biomasa microalgal de cepas nativas del género *Desmodesmus* colectadas en zonas altoandinas del Perú. Instituto del Mar del Perú.
- Ozcelik, D., Suwal, S., Ray, C., Tiwari, B. K., Jensen, P. E., & Poojary, M. M. (2024). Valorization of dairy side-streams for the cultivation of microalgae for value added food products. *Trends in Food Science & Technology*, 146, 104386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104386>

- Panahí, Y., Yari, A., Sahebkar, A., Heidari, H. (2019). Impact of Cultivation Condition and Media Content on *Chlorella vulgaris* Composition. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(2), 189-194. DOI 10.15171/apb.2019.022.
- Pandey, S., Narayanan, I., Vinayagam, R., Selvaraj, R., Varadavenkatesan, T., & Pugazhendhi, A. (2023). A review on the effect of blue green 11 medium and its constituents on microalgal growth and lipid production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(3), 109984. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109984>
- Pagels, F., Pereira, R. N., Vicente, A. A., & Guedes, A. C. (2021). Extraction of Pigments from Microalgae and Cyanobacteria—A Review on Current Methodologies. *Applied Sciences*, 11(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/app11115187>
- Renugadevi, K., Valli, N. C., & Christy, J. P. (2023). A short review on cyanobacterial phycocyanin and its application. *Research Journal of Biotechnology*, 18(3), 125-130. <https://doi.org/10.25303/1803rjbt1250130>
- Rendón, N. M., Riveroll, A. S. L., & Ortega, J. A. A. (2024). Efecto del consumo del alga espirulina (*Arthrospira platensis*) sobre marcadores y biomarcadores de sobrepeso y obesidad. *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 12(24), Article 24. <https://doi.org/10.29057/icsa.v12i24.11919>.
- Rouso, B. Z., Bertone, E., Stewart, R., Aguiar, A., Chuang, A., Hamilton, D. P., & Burford, M. A. (2022). Chlorophyll and phycocyanin in-situ fluorescence in mixed cyanobacterial species assemblages: Effects of morphology, cell size and growth phase. *Water Research*, 212, 118127. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118127>
- Saeed, M., Hussain, N., Shahbaz, A., Hameed, T., Iqbal, H., & Bilal, M. (2021). Bioprospecting microalgae and cyanobacteria for biopharmaceutical applications. *Journal of Basic Microbiology*. 62(9). <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jobm.202100445>
- Sánchez-Bayo, A., Morales, V., Rodríguez, R., Vicente, G., & Bautista, L. F. (2020). Cultivation of Microalgae and Cyanobacteria: Effect of Operating Conditions on Growth and Biomass Composition. *Molecules*, 25(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/molecules25122834>

- Santa, D., & Srbinovska, S. (2023). Whey: Source of Bioactive Peptides, Probiotics, Organic Acids, Aromatic Compounds and Enzymes (pp. 239-258). https://doi.org/10.1007/978-981-99-5459-9_12
- Santaş, S., Kalkan, A. E., Yılmaz, K., Gurdal, S., Göksan, T., Witkowska, A. M., Lombardo, M., & Karav, S. (2024). Biological and Nutritional Applications of Microalgae. *Nutrients*, 17(1), 93. <https://doi.org/10.3390/nu17010093>
- Shi, W., Li, S., Li, G., Wang, W., Chen, Q., Li, Y., & Ling, X. (2016). Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*. *Optik*, 127(16), 6688-6694. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2016.04.125>
- Solano, J. (2017). Evaluación del potencial antibacteriano en extractos lipofílicos de cianobacterias y microalgas cultivadas a partir de muestras de agua recolectadas en el sector del Cajas. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/28676>
- Soto, J. (2022). Valorización de suero de leche como sustrato en cultivo de *arthrospira maxima* y su aplicación como suplemento en dietas de codorniz japonesa. *Coturnix japonica*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Tiwari, S., Claret, E. A., & Chauhan, V. S. (2022). Algae as a Source of Polysaccharides and Potential Applications (pp. 257-293). <https://doi.org/10.1201/9781003195405-9>
- UNICEF. (2021). La desnutrición crónica es un problema que va más allá del hambre. Unicef Ecuador. <https://www.unicef.org/ecuador/comunicados-prensa/la-desnutrici%C3%B3n-cr%C3%B3nica-es-un-problema-que-va-m%C3%A1s-all%C3%A1-del-hambre#:~:text=QUITO%2C%20MAYO%2011%20DE%202021,el%20Caribe%2C%20despu%C3%A9s%20de%20Guatemala>.
- United Nations Environment Programme (2024). Food Waste Index Report 2024. Think Eat Save: Tracking Progress to Halve Global Food Waste. <https://wedocs.unep.org/20500.11822/45230>.
- University of Waterloo. (2015). WC medium. <https://uwaterloo.ca/canadian-physiological-culture-centre/cultures/culture-media/wc#TM>

- Wang, Y., Tibbetts, S. M., & McGinn, P. J. (2021). Microalgae as Sources of High-Quality Protein for Human Food and Protein Supplements. *Foods*, 10(12), 3002. <https://doi.org/10.3390/foods10123002>
- Zhang, S., Merino, N., Okamoto, A., & Gedalanga, P. (2018). Interkingdom microbial consortia mechanisms to guide biotechnological applications. *Microbial biotechnology*, 11(5), 833-847. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13300>
- Zandona, E., Blažić, M., & Režek Jambrak, A. (2021). Whey Utilization: Sustainable Uses and Environmental Approach. *Food technology and biotechnology*, 59(2), 147-161. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6968>
- Zanella, L., & Vianello, F. (2020). Microalgas del género *Nannochloropsis*: Composición química e implicaciones funcionales para la nutrición humana. *Journal of Functional Foods*, 68, 103919. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103919>

Anexos

Anexo A. Tabla de composición de macroelementos presentes en medio de cultivo BG-11

Macroelemento	Concentración mg	Macroelemento	Concentración mg
NaNO ₃	1500.00	Ácido cítrico	6.00
K ₂ HPO ₄	40.00	Na ₂ CO ₃	20.00
MgSO ₄ 7H ₂ O	75.00	Na ₂ EDTA	1.00
CaCl ₂ 7H ₂ O	36.00	Citrato amonio férrico	6.00

Anexo B. Tabla de composición de microelementos presentes en medio de cultivo BG-11

Microelementos	Concentración mg	Microelementos	Concentración mg
H ₃ BO ₃	2.860	Na ₂ MoO ₄ 2 H ₂ O	0.390
MnCl ₂ 4H ₂ O	1.810	CuSO ₄ 5H ₂ O	0.079
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.222	Co(NO ₃) 2 6H ₂ O	0.0494

Anexo C. Tabla de composición de macroelementos presentes en medio de cultivo WC

Macroelemento	Concentración mg/L	Macroelemento	Concentración mg/L
NaHO ₃	12.60	CaCl ₂ 2H ₂ O	36.76
K ₂ HPO ₄	8.71	Na ₂ SiO ₃ 9H ₂ O	28.42
MgSO ₄ 7H ₂ O	36.97	Na ₂ NO ₃	85.01

Anexo D. Tabla de composición de microelementos presentes en medio de cultivo WC

Metales traza	Concentración mg/L	Metales traza	Concentración mg/L
Na ₂ EDTA	4.36	CoCl ₂ 6 H ₂ O	0.01
FeCl ₃ H ₂ O	3.15	MnCl ₂ 4 H ₂ O	0.18
CuSO ₄ 5 H ₂ O	0.01	NaMoO ₄ 2 H ₂ O	0.006
ZnSO ₄ 7 H ₂ O	0.022	H ₃ BO ₃	1.0

Anexo E. Tabla de composición de vitaminas presentes en medio de cultivo WC

Vitaminas	Concentración mg/L
Tiamina	0.1
Biotina	0.0005
B12	0.0005

Anexo F. Gráficas comparativas

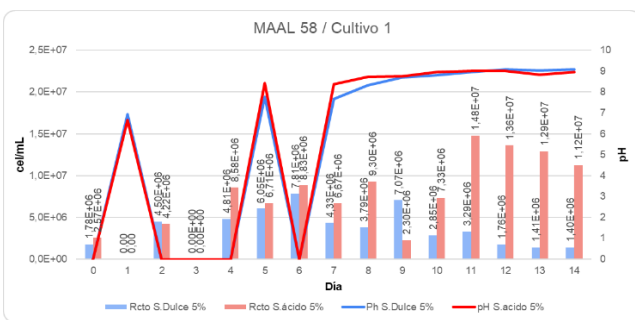


Figura 15. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 5%.

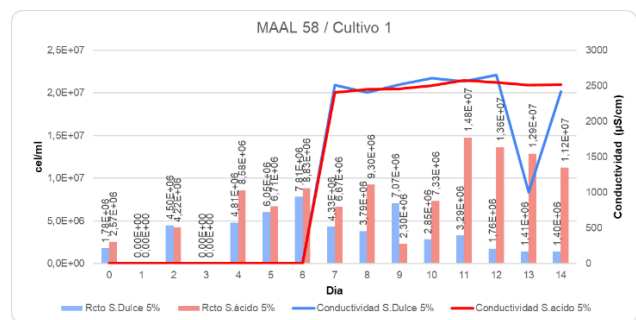


Figura 16. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 del consorcio suplementado con lactosueros al 5%.

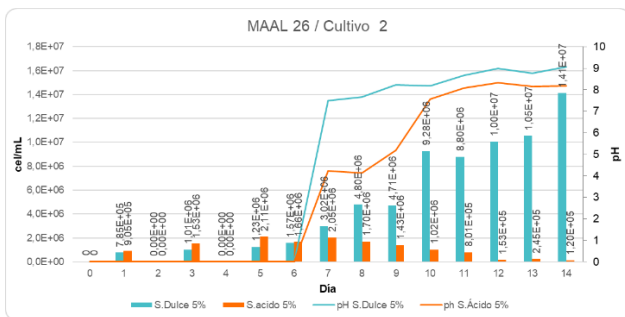


Figura 17. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 5%.

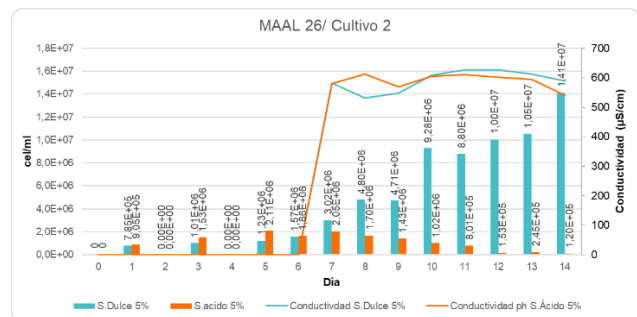


Figura 18. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 5%.

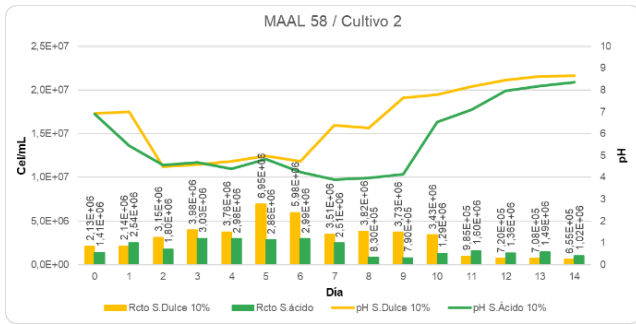


Figura 19. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 10%.

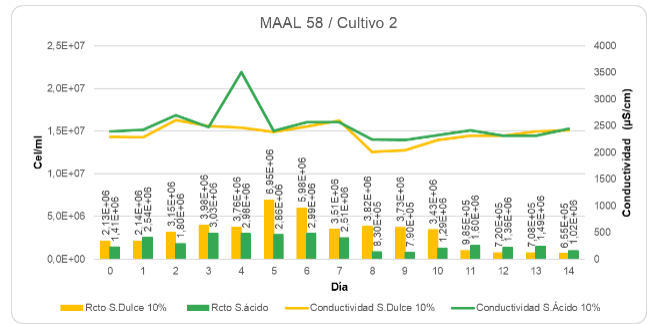


Figura 20. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 10%.

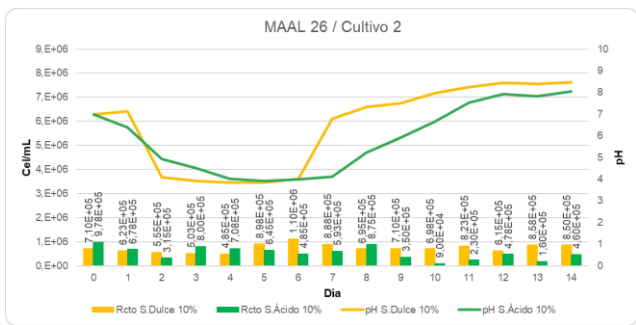


Figura 21. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 10%.

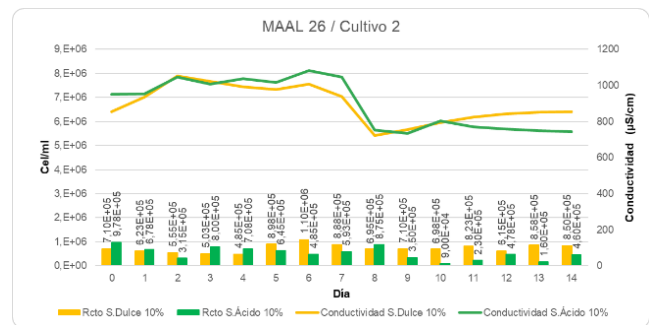


Figura 22. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 10%.

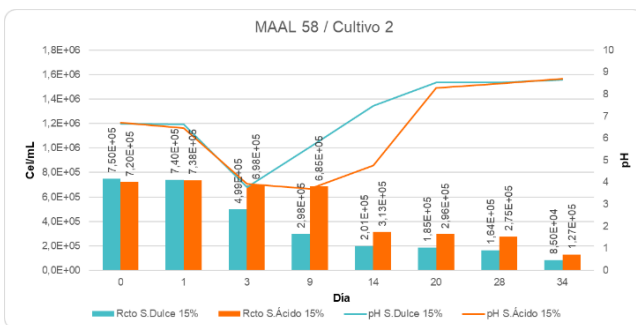


Figura 23. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 15%.

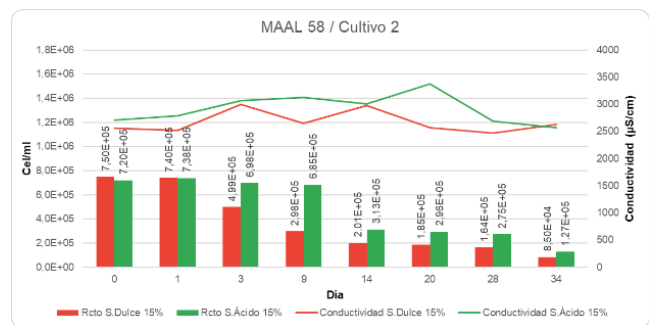


Figura 24. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 2 del consorcio suplementado con lactosueros al 15%.

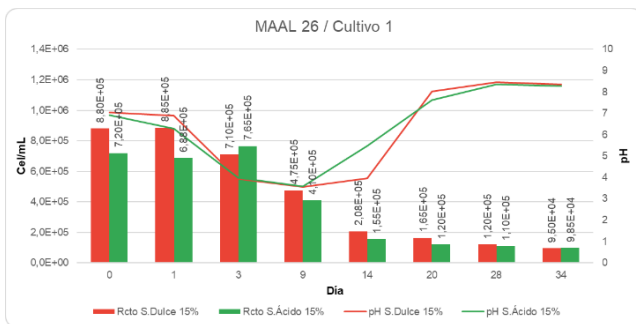


Figura 25. Comportamiento de recuento de biomasa frente a pH. Datos del cultivo 1 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 15%.

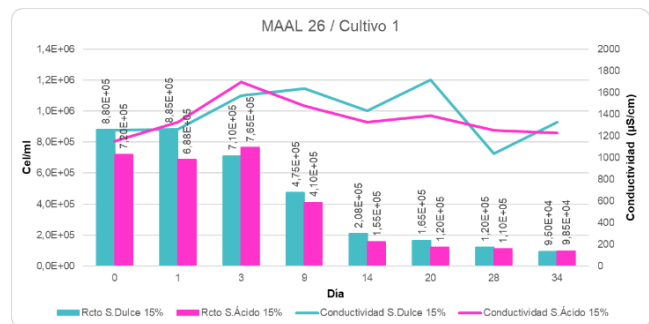
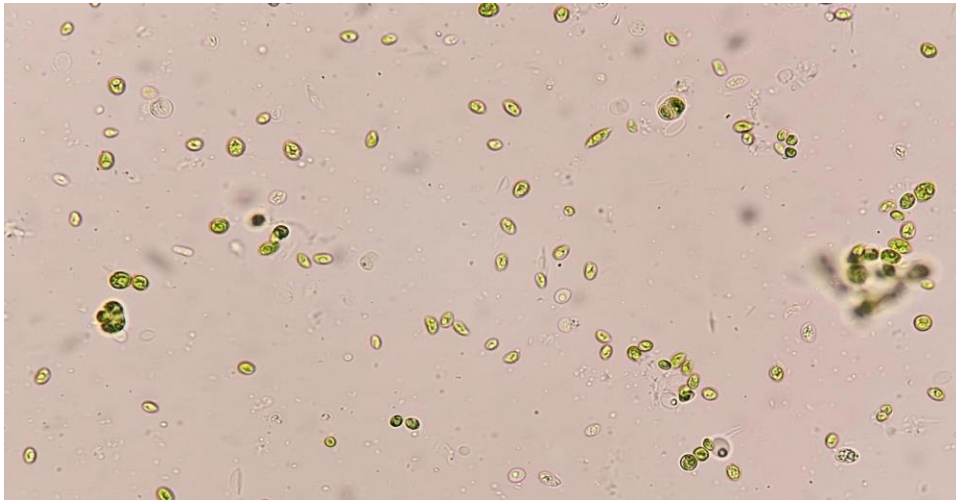
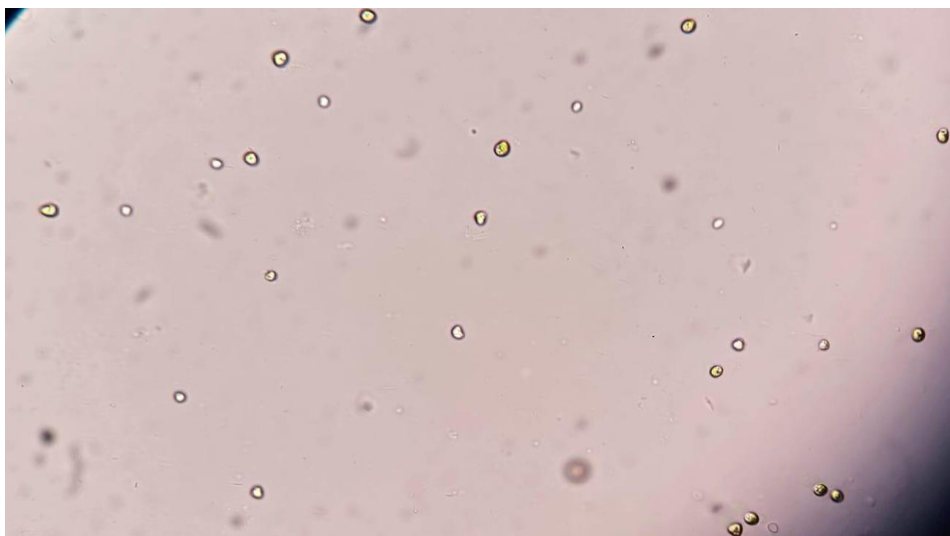


Figura 26. Comportamiento de recuento de biomasa frente a conductividad. Datos del cultivo 1 de *Chlorella vulgaris* suplementado con lactosueros al 15%.

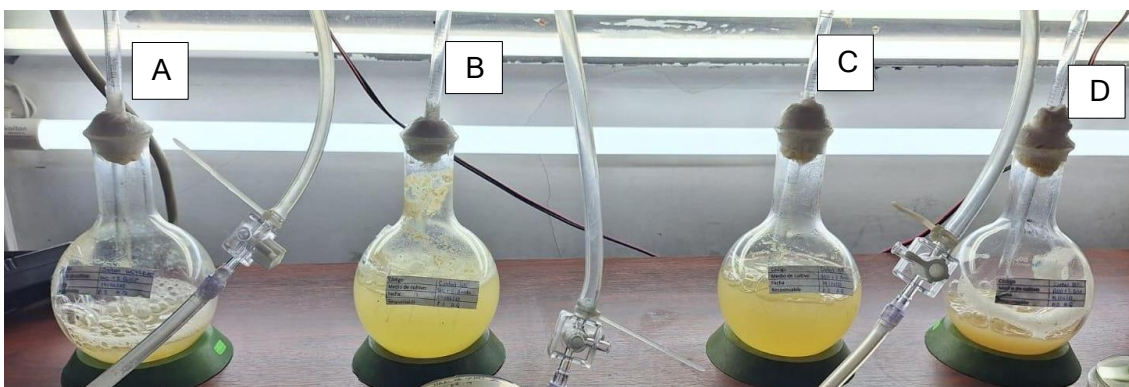
Anexo G. Consorcio MAAL 58. Placa en fresco. 40X.



Anexo H. Microalga *Chlorella vulgaris* (MAAL 26). Placa en fresco. 40X



Anexo I. Evidencia fotográfica de cultivos



Controles de siembra con 5% de lactosueros en el día 14.

A: WC/lactosuero dulce; B: WC/lactosuero ácido; C: BG11/lactosuero ácido; D: BG11/lactosuero dulce



Siembras de MAAL 58, medio BG11 con lactoseros al 5%, en día 14.

A: lactosuero ácido cultivo 1; B: lactosuero ácido cultivo 2; C: lactosuero dulce cultivo 1; D: lactosuero dulce cultivo 2.



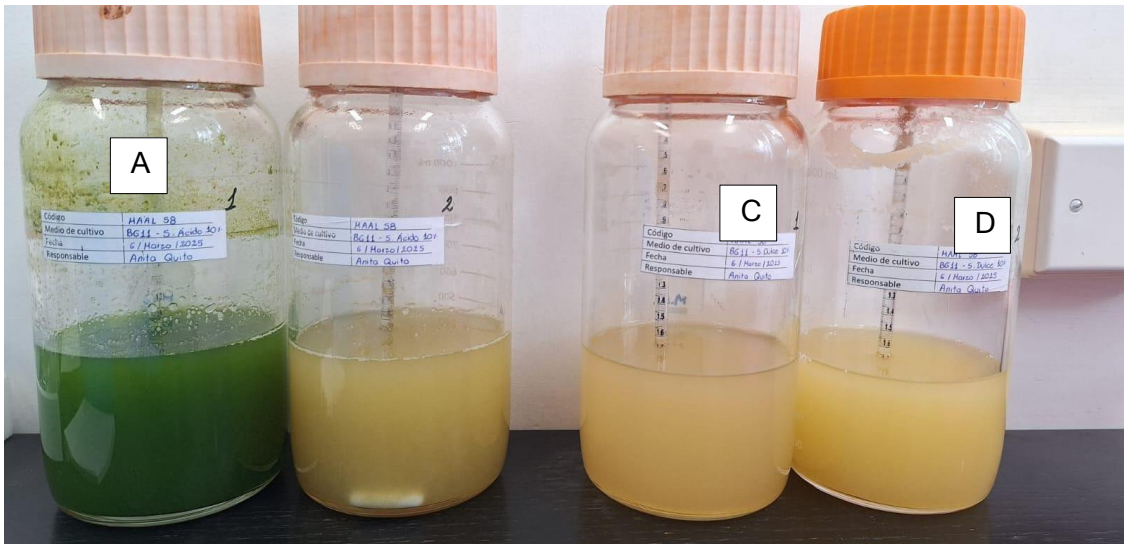
Siembras de MAAL 26, medio WC con sueros al 5%, en día 14.

A: lactosuero dulce cultivo 1; B: lactosuero dulce cultivo 2; C: lactosuero ácido cultivo 1; D: lactosuero ácido cultivo 2.



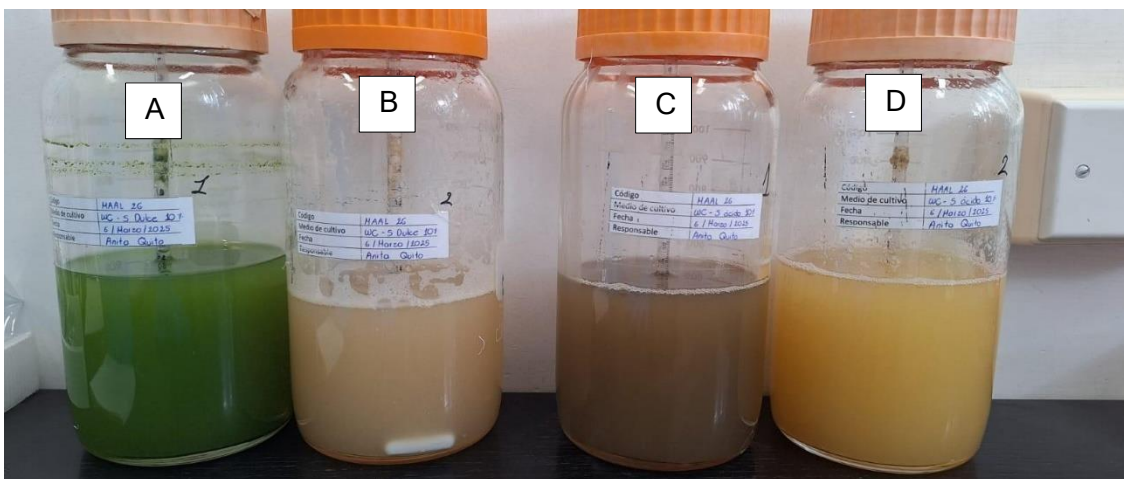
Controles de siembra con 10% de lactoseros en el día 14.

A: Medio WC/lactosuero dulce; B: Medio WC/lactosuero ácido; C: Medio BG11/lactosuero dulce; D: Medio BG11/lactosuero ácido.



Siembras de MAAL 58, medio BG11 con lactosueros al 10%, en día 14.

A: Lactosuero ácido cultivo 1; B: Lactosuero ácido cultivo 2; C: Lactosuero dulce cultivo 1; D: Lactosuero dulce cultivo 2.



Siembras de MAAL 26, medio WC con sueros al 10%, en día 14.

A: Lactosuero dulce cultivo 1; B: Lactosuero dulce cultivo 2; C: Lactosuero ácido cultivo 1; D: Lactosuero ácido cultivo 2.