Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

EVALUACION DE ORIGINALIDAD

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título es:

"IDENTIFICACION DE LOS FACTORES NO CONMUTATIVAS EN EL CULTIVO DE LA ESPIRULINA

(Arthrospira platensis, Spirulina) ARTIFICIAL O NATURAL."

Presentado por:

DANIEL ERASMO ECHEVARRIA HUAMANI

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos. El resultado obtenido es 04 **% de porcentaje de similitud por** el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones:

APROBADO OBTUVO EL 04% (MENOR AL 20% REQUERIDO)

Ica, **28** de diciembre de 2022

.....

JUAN MARINO ALVA FAJARDO
DIRECTOR DE UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

“IDENTIFICACION DE LOS FACTORES NO CONMUTATIVAS EN EL CULTIVO DE LA ESPIRULINA (*Arthrospira platensis, Spirulina*) ARTIFICIAL O NATURAL.”

INVESTIGACIÓN MONOGRÁFICA PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO PESQUERO

POR LA MODALIDAD DE SUFICIENCIA ACADÉMICA

ÁREA DE INVESTIGACIÓN: ACUICULTURA

AUTOR

Bachiller:

Daniel Erasmo, Echevarría Huamani

daniel_eh8@hotmail.com

PISCO - PERÚ

2022

DEDICATORIA

Agradecer a mis padres por su apoyo y a mis hermanas Alexandra; Luciana y Carol por ser mis ejemplos a seguir.

ÍNDICE GENERAL

Contenido

DEDICATORIA 2

ÍNDICE GENERAL 3

LISTADO DE FIGURAS 4

LISTADO DE TABLAS 4

INTRODUCCIÓN 6

CAPÍTULO I: RECURSOS 8

1. Aspecto Teórico 8

3.2. Espirulina (*Arthrospira platensis*, Spirulina) 8

CAPITULO II: FACTORES DE CRECIMIENTO 12

3.2. Crecimiento. Cambios. 12

2.2 Cinética de crecimiento. Acción. 12

3.2. Factores climáticos: Temperatura, pH, Iluminación, Nutrición, CO_2,
eceptera. 13

CAPÍTULO III: GESTION PROCEDIMIENTO 16

3.1 Condiciones General 16

3.2. Inócuo 16

3.3. Ensayo de pH y otros 17

3.4. Método de determinación de factores 18

3.5. Medio de cultivo y reactivo 18

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y CONCLUSIONES 19

4.1. Resultado del análisis pH, temperatura, iluminación y crecimiento. 19

4.2. Conclusión 24

CAPÍTULO V: RECOMENDACIONES 26

CAPITULO VI: FUENTE DE INFORMACION 27

CAPITULO VII: ANEXO 29

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. La Spirulina vista desde el microscopio. 8
Figura 2. Ciclo de vida Spirulina sp. (Sánchez, 2003/b) 9
Figura 3. Cámara de experimentación 16
Figura 4. Inóculo preparación. 17
Figura 5. Comportamiento del pH para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días ... 20
Figura 6. Comportamiento de la temperatura °C, para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días 21
Figura 7. Las gráficas de Iluminación de los tratamientos control, T1 a T3. Lux 22
Figura 8. Comportamiento de la reproducción o crecimiento mg/L, para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días 23
Figura 9. Curva de comportamiento del monitoreo de los ensayos en pH 30
Figura 10. Curva de respuesta del monitoreo de los ensayos en Temperatura °C, Total días y por día 32
Figura 11. Biomasa (crecimiento) g/L en función a pH y horas. Curva de respuesta en los ensayos durante las 30 primeras horas de cultivo 34

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional comparativa de diferentes algas 10
Tabla 2. Resultados del pH en el cultivo. 19
Tabla 3, Resultados de la temperatura en el cultivo, °C 20
Tabla 4. Evaluaciones de la Iluminación de los tratamientos control, T1 a T3. Lux ... 22

Tabla 5. Resultados de la reproducción o crecimiento en el cultivo, mg/L. 1 días 23
Tabla 6. Resultados de la reproducción o crecimiento en el cultivo, mg/L. 30 días ... 24
Tabla 7. Respuesta del monitoreo de los ensayos en pH 29
Tabla 8. Respuesta del monitoreo de los ensayos en Temperatura °C, Total días y por día 31
Tabla 9. Biomasa (crecimiento) g/L en función a pH y horas, Datos en los ensayos durante las 30 primeras horas de cultivo (Biomasa g/L) 33

INTRODUCCIÓN

Las propiedades fisicoquímica multifuncionales de la espirulina y su aplicación en acuicultura. En las prácticas de cultivo comerciales con altas densidades de peces, la alimentación juega un papel significativo en el rápido crecimiento y los altos rendimientos. Los alimentos acuícolas contienen muchos ingredientes, componentes nutritivos y balanceados que mejoran los mecanismos digestivos de los peces y camarones. Ello conduce a lograr un mejor peso, salud, óptima inmunidad y mejores tasas de supervivencia. La espirulina es un alimento natural único de alta calidad, que posee una proteína enriquecida óptima para los peces y camarones, y ha demostrado ser un suplemento alimenticio adecuado para los alimentos acuícolas, balanceadas en energías y masa.

La espirulina es un alga azul verdosa en forma de espiral que posee largos hilos delgados y se conoce como *genus Arthrospira* o *phylum Oscillatoriaceae*. La espirulina es conocida como alga verde azul (cianobacterias) debido a la presencia de pigmentos verdes (clorofila) y azules (ficocianina) s en su estructura celular. Las dos especies más importantes por sus valores nutritivos son la espirulina máxima y la espirulina plantensis

Valor nutricional como alimento:

El uso de la espirulina como alimento complementario en diversos sectores de la acuicultura puede provocar un rápido crecimiento, mejor pigmentación y aumento de la respuesta del sistema inmune. Se considera un excelente alimento, carente de toxicidad y con propiedades correctivas contra los microorganismos patógenos. No posee paredes celulares de celulosa y por lo tanto no requiere productos químicos o procesamientos para hacerla digerible (digestibilidad del 83 al 84%). La espirulina es considerada una rica fuente de proteínas, vitaminas, minerales esenciales, aminoácidos, EFFA (gamma LNA) y pigmentos antioxidantes como los carotenoides. Asi también en anergia y materia.

Propiedades de la Espirulina:

Tienen efectos antioxidantes,

Cuenta con un alto contenido de proteínas y minerales,

Posee virtudes antiinflamatorias,

Actúa como revitalizante,

Es un excelente complemento alimenticio,

Es un prebiótico, pues protege el sistema inmune.

CAPÍTULO I: RECURSOS

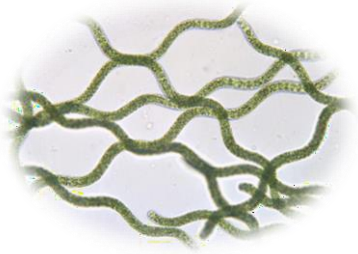
1. Aspecto Teórico

3.2. Espirulina (*Arthrospira platensis*, Spirulina)

1.1.1. Descripción.

Son entidades procariotas fotosintéticos. El calificativo común aparece del tono azulado que tienen debido a un pigmento biliproteico (ficocianina) que disimula el color verde de la clorofila; son organismos muy primitivos y cosmopolitas. Presentan morfologías muy variadas, pudiendo encontrarse colonias esféricas, ovoides o en placa (Marín, 2003). En este grupo se encuentran en diferentes medios acuáticos desde mares hasta lagos y ríos. Las cianobacterias son organismos desprovistos de membrana nuclear y mitocondrias; difieren de otros procariotes en la composición de sus ácidos grasos, ya que comúnmente presentan ácidos grasos no saturados con dos o más enlaces dobles. Las cianobacterias relacionan el carbono a través del ciclo de Calvin y almacenan energía y carbono en forma de glucógeno (Rheinheimer, 1987).

Figura 1.
La Spirulina vista desde el microscopio.



1.1.2. Taxonomía de la Espirulina.

Según Wikipedia (2022), la clasificación taxonómica de la espirulina es:

Arthrospira.

Nombre científico: Spirulina

Clasificación superior: Spirulinales

Categoría: Género

Clase: Cyanophyceae

Dominio: Bacteria

Familia: Spirulinaceae

Filo: Cyanobacteria

1.1.3. Reproducción y Ciclo de vida.

Una fisionomía primordial de la biología con la reproducción en la Spirulina spp. es su ciclo vital, encuadrado por su lugar taxonómica, su fisiología y discrepancias ambientales de cultivo. Todas las células acomodadas en filamentos, tienen la potestad de multiplicarse por bipartición. El tricoma desarrollado se fragmenta en varios filamentos u hormogonios pequeños, gracias a la formación precedente de células especializadas, las citadas células de necridio, que caracterizan por alcanzar una envoltura granulosa, sus tabiques transversales se curvan fuertemente y la célula se revierte bicóncava, la materia de la célula se reabsorbe para permitir la fragmentación. La ruptura celular sucede por bandas conocidas como disyuntores. Para este proceso, el tricoma crece longitudinalmente y toma su forma típica helicoidal (Abbayes, 1989; Berry, et al., 2003).

Este es un período que se puede resumir en tres etapas fundamentales:

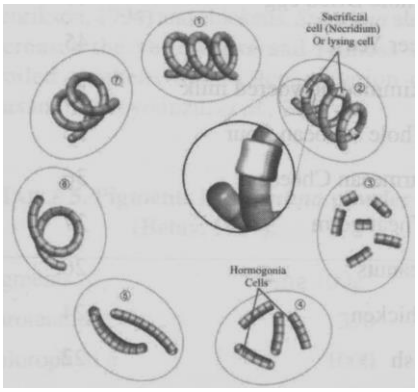
1. Fragmentación de tricomas.

2. La ampliación de células del hormogonio y procesos de maduración.

3. Alargamiento de tricoma.

Figura 2.

Ciclo de vida Spirulina sp. (Sánchez, 2003/b)



1.1.4. Composición fisicoquímica y nutricional.

La constitución química (proteína, carbohidratos, lípidos, fibras, ceniza, nitrógeno) de las algas está derechamente ajustada por la especie, la maduración, la situación geográfica, las situaciones ambientales, la estación del año (Ito y Hori, 1989; Marinho-Soriano et al., 2006; Cruz-Suárez et al., 2009), asimismo de la irradiación y nutrientes (Kain y Norton, 1990). Estructura bioquímica de nutrimentos de la espirulina, con sus valores mínimos y máximos. En todos los análisis bioquímicos de la constitución nutrimental de la espirulina se presentan diferencias en los valores de cada sustancia medida y de cada muestra.

Tabla 1.

Composición nutricional comparativa de diferentes algas

Composición general	***Spirulina platensis*[1] %**	***Chlorella vulgaris* [2] *g/100g***	***Ulva clathrata*[3] g kg^{-1}**	***Macrocystis*[4] g kg^{-1}**	***Sargassum filipendula*[5] %**
Proteina	55 – 69	60.6	27.2	61	9.00
Carbohidratos	15 – 25	5.6	--	442	--
Grasas (Lipidos)	5-6	8.1	1.1	7	0.15
Fibra cruda	--	--	5.4	105	48.95
Minerales (cenizas)	6 – 9	9.1	18.6	311	38.6
Humedad	2.5 -4.5	---	--	74	12.5
Materia seca	---	96.6	--	--	87.5

Elaboración propia. 1 Zahroojian *et al.* (2013). 2 Halle *et al.* (2009). 3 Cruz-Suarez *et al.*(2008) 4 Cruz-Suarez *et al* (2009) 5 Álvarez, R. y Sierra L. (2009)

1.1.5. Aplicaciones.

Entre las microalgas de mayor jerarquía por su importe económico y nutricional; tanto para animales como humanos se encuentra la Spirulina, con variados manejos por su calidad proteica y las peculiaridades de sus metabolitos, y la explotación convencional en la biotecnológicas, así como el fomento de nuevas utilidades le confieren gran categoría al cultivo de microalgas, A partir de su producto pueden

alcanzar diferentes mercancías: suplementos nutricionales, lípidos, enzimas, proteínas, almidón, polímeros, pigmentos, vitaminas, antioxidantes, isótopos bioquímicosestables, estimuladores del crecimiento y biocombustibles, destacando además entre sus usos convencionales la producción de biofertilizantes, y la alimentación animal; al mismo tiempo de la obtención de productos de interés químico-farmacéutico como el omega 3. La spirulina fresca es una pasta fácil a diluir, mezclar o esparcir.

CAPITULO II: FACTORES DE CRECIMIENTO

3.2. Crecimiento. Cambios.

El lapso celular durante su crecimiento percibe de una cadena de eventos que adquieren lugar en la célula durante este período crece, duplica sus cromosomas y división. Siendo un sistema cerrado delicadamente sistematizado, regulado entre factores conmutativos y no conmutativos complejos de tiempo, energías, dinámica, cinética y espacio; estando en presencia de nutrientes que incitan su metabolismo para producir más moléculas e incrementar su tasa de tamaño y masa.

Actualmente la mayoría de las investigaciones de laboratorio tienen como inicio la utilización del medio clásico para el crecimiento y desarrollo, sin embargo en términos de experimentación varían la composición para la obtención de consecuencias específicos, como: la producción de pigmentos, ácidos orgánicos, el gama-linoléico, clorofila, carotenoides y como fuente proteica.

2.2 Cinética de crecimiento. Acción.

El crecimiento en el cultivo por particiones, bajo circunstancias pre señaladas por cada investigador, presenta las subsecuentes fases de perfeccionamiento: (Becker, 1982)

1. Fase de adaptación
2. Fase de crecimiento exponencial
3. Fase de crecimiento lineal
4. Fase estacionaria
5. Fase de muerte.

En la inicial fase de adaptación el cultivo acoplase a las escenarios establecidas, la tasa de crecimiento específico es baja y se incrementa gradualmente con el tiempo del cultivo y el aforo biológico de ajuste de la cepa manejada.

Para la segunda fase exponencial ha adaptado a las situaciones de crecimiento, la intensidad lumínica no es una limitante, y las permutas en la concentración de nutrientes son tan bajos que la secuela en el crecimiento del cultivo no es significativo.

Durante el cultivo, sin luz ni nutrientes limitados, el incremento en la biomasa de la microalga (peso seco, número de células, densidad óptica etc.) por unidad de tiempo, son proporcional a la biomasa inicial del cultivo (Becker, 1982).

La tercera fase de crecimiento lineal continua, en la cual la multiplicación celular se extiende, hasta llegar a esconder una célula sobre la otra, produciendo una disminución de luz. Esta derivación reduce la tasa de crecimiento específico y el incremento de biomasa es lineal. Esta fase lineal continúa hasta alcanzar a una inhibición del crecimiento formal a la extenuación de nutrientes; alcanza el momento, donde la respiración celular llega a ser una interferencia, puede persistir varios días.

Considerando la cuarta fase estacionaria, una disminución de la tasa de crecimiento, el suplemento lumínico son limitados y la respiración aumenta. El metabolismo oxidativo de síntesis de sustancias llega a reducir el constante aumento de biomasa. La curva es el valor inmediato máximo, alcanza el equilibrio entre la concentración máxima de biomasa y la pérdida del transcurso de degradación.

La quinta fase muere, liberando materia orgánica, esta fase es causada por las situaciones nocivas del ambiente y el limitado complemento de luz y nutrientes o la contaminación de otros microorganismos, este tipo de crecimiento ocurre en sistemas cerrados (Nascimento, 1990, Becker, 1982).

El monitoreo y seguimiento del proceso del cultivo es llevado a cabo por el método espectrofotométrico, la estimación de concentración de células suspendidas. La exactitud de esta metodología es alta y confiable, siempre y cuando se tenga en cuenta al: tamaño celular, forma, y presencia de precipitados. La lectura a una longitud de onda de 560 nm (Becker, 1982).

3.2. Factores climáticos: Temperatura, pH, Iluminación, Nutrición, CO_2,, eceptera.

2.3.1. Temperatura Energía térmica (Calor)

La temperatura o energía térmica (Calor) influye directa con la velocidad de crecimiento, y es necesario la referencia del medio ambiente y al medio líquido; no inicia su crecimiento por debajo de 20°C y la máxima velocidad de crecimiento entre

los 35 – 38 ºC. por tanto los cambios bruscos de temperatura en el cultivo disminuyen el rendimiento (González, 1995).

2.3.2. Iluminación. Luz Energía fotón

La iluminación es determinante para su constitución estructural debido al proceso de la fotosíntesis, el filamento no puede soportar una exposición prolongada a la iluminación será destruido por fotolisis; controlando en foto-períodos regulados de tiempo día/noche; cada período genera reacciones particulares: en el día, se favorece la asimilación de CO_2 a través del ciclo de Calvin, (glicógeno). En la noche suceden reacciones bioquímicas de síntesis (proteico). Un lux = 0.01953 μmolquanta/m^2.s (microeistein) (Vonshak, 1984, Gitelson, 1996).

3.3.3. Agitación. Movimiento.

Favorecer la dispersión homogénea en el líquido y la exposición a la luz, para tener activo su mecanismo fotosintético. Cuando es muy brusca puede estropear, generando la aparición de espuma, que problematiza la penetración de la luz y el intercambio gaseoso del cultivo.

Una inyección de aire y/o ser completada con la adición de CO_2, este último se puede lograr un reforzado objetivo: suministrar agitación y beneficiarse el cultivo con más carbono disponible para el metabolismo celular (González, 1995, Morales, 2002).

3.3.4. Nutrición. Materia sustancial

Exigen nutrientes en el cultivo, las exigencias nutricionales son pocas al compararse con algas marinas verde-azules y especies de Botryococcus spp. necesitan vitamina B12 y tiamina para el crecimiento (Becker, E 1982).

El medio Zarrouk es manipulado como práctica durante el proceso de aislamiento,

Ocho factores influyen en la productividad del cultivo de Spirulina spp.: luminosidad, temperatura, tamaño de inoculo, velocidad de agitación, sólidos disueltos, pH, calidad de agua, presencia de macro y micronutrientes (Ciferri, 1983; Ayala, 1982).

3.3.5. pH. Energía química.

El pH en el medio de cultivo es una referencia clave, en el medio de cultivo se alcaliniza por el consumo de la fuente de carbono, lo que genera bases como el NaOH; puede convertirse en una evaluación cuantitativa de la cantidad de producto. A mayor biomasa, mayor degradación de bicarbonato y la concentración de grupos hidroxilos en el medio, aumentándose así el pH (Pelizer, 2000).

El rango de pH óptimo de entre 8 – 11. El pH en el cultivo se ve modificado por factores como:

1. La capacidad buffer del medio utilizado.
2. La cantidad de CO_2 disuelto.
3. La temperatura que afecta los gases disueltos.
4. La actividad metabólica de Spirulina spp.

3.3.6. CO_2. Gas

La adición de CO_2 al medio genera la reacción:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^- \rightleftharpoons 2\,H^+ + CO_3^{--}$$

Para la regulación del pH, el CO_2 que ingresa al medio tiene un paso rápido, ya que sale para equilibrarse con el atmosférico, pH 10.5 son la retención en el medio líquido del CO_2. En general la concentración de este gas es importante, ya que disminuye la alcalinidad y amortigua el pH (De Alva, 1997).

La concentración de CO_2 entre 0.05 – 5% (v/v) gaseoso, se suministra por burbujeo y mezclado con aire. También se han propuesto mezclas con otros gases, como el nitrógeno (Morales, 2002). La lluvia es benéfica para compensar la evaporación del agua, el viento es también favorecedor para la agitación de la superficie y para airear el cultivo.

CAPÍTULO III: GESTION PROCEDIMIENTO

3.1 Condiciones General

Los sondeos llevados en la cámara de experimentación cuadriforme de 70cmx40cmx60cm, figura , dependiente a una circunstancia lumínica de aprox. 3000 lux (58.59 μmolquanta/m^2.s), concebida por tres lámparas de luz día, conectadas al temporizador para concebir fotoperiodos de luz y oscuridad, y mantenerse la temperatura en 25 +/- 2 ºC. La análisis de la temperatura a la cámara efectuado con un termómetro de máximos y mínimos. Los cultivos se custodiaron en agitación y conservando el períodos de luz – oscuridad.

Figura 3.

Cámara de experimentación

3.2. Inócuo

Es la preparación del inóculo o semilla, o sea la siembra o inocular es implantar artificial una porción de muestra (inóculo) en un medio conveniente, con el fin de emprender el cultivo, para su impulso y proliferación; el medio de cultivo se incuba a una temperatura conveniente para el crecimiento.

La cepa fue conservada durante veinte días a la temperatura de 25+/- 2 ºC y a 3000 lux en medio Zarrouk. Cada veinte días fue el recambio del medio de cultivo de salvaguardar la cepa en fase de crecimiento y ambientes. El volumen práctico de trabajo

de 500 mL, agitándose por aire procedente de un minicompresor. Los ensayos se prepararon con un 10% (v/v) de este inóculo (figura) (Rafiqul, 2005).

Figura 4.

Inóculo preparación.

3.3. Ensayo de pH y otros

Se valoraron seis pruebas con valores de pH inicial de 8.2 a 10.2; con un volumen firme de trabajo de 250mL, agitados por aireación valorando su pH por triplicado (figura). En la primera treinta horas de cultivo tomaron muestras cada dos horas determinaron la concentración de biomasa, por el método espectrofotométrico a una longitud de onda de 560nm (Becker, 1982).

A continuación la lectura de absorbancia se realizó cada 24 h. igualmente determinan el valor de pH, por medio de un medidor de pH digital marca HANNA, previa calibración con soluciones buffer a pH 4.1 y 7.1; adicionalmente, determina la concentración de bicarbonato (72 h), recurriendo con la técnica de temperatura, iluminación, crecimiento agitación, etc.

3.4. Método de determinación de factores

Los factores críticos no conmutativos de éxito tienen que descubrir a través de una experiencia a base de las intenciones convenientes del cultivo y crecimiento, que derivan de su misión, su visión y sus valores, rectificar relaciones obligatorias y esenciales para que la organización sobreviva, para ser competitiva y tener éxito.

También son aquellas particularidades del beneficio que son altamente valorados por un grupo de no conmutativos del cultivo y crecimiento y las que, por lo tanto, el cultivo debe de obtener éxito para superar a los competidores. Identificar adecuadamente los factores establece el contraste entre estos.

Para la verificación de biomasa se utilizó la técnica de peso (Sánchez, 2003/a).

3.5. Medio de cultivo y reactivo

Tenemos el medio de cultivo Zarrouk y la solución hidropónica La Molina® A y B. Agua residual hidropónica, procedente del Centro de Investigación Biológica (CIB).

El medio de cultivo estándar Zarrouk, preparado a partir de la fórmula de sales que se están concretas; para una capacidad determinada en cada unidad experimental del procedimiento control. Anticipadamente realizó un escalamiento a partir de 10 ml distribuidos en 10 tubos de ensayo, hasta conseguir lograr un volumen concluyente de 500 ml. El medio de cultivo Zarrouk estuvo esterilizado en la autoclave a 121 °C, 15Lb.in^{-2} por 15 minutos.

- Reactivos: metanol, bicarbonato de sodio, agua destilada.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y CONCLUSIONES

4.1. Resultado del análisis pH, temperatura, iluminación y crecimiento.

4.1.1. Resultado del pH

La estipulación verificada a los resultados adquiridos del análisis químico con la variable pH, establecimos que en **pH 9,0** equivalente a la energía química requerida, los notables grados de asociación un factor transcendental al obtenerse en el desarrollo del cultivo, fue la identificación producida durante el crecimiento de la Spirulina spp.

La relación por el factor de crecimiento, se observa en los resultados de los ensayos reportados al pH de (9,0 a 9,8) aparentaron a los del control, para adaptarse ligeramente a tales grados de acidez y la fase endógena fue activada por el demasía de alcalinidad; observado en las primeras treinta horas de cultivo. Los valores de pH del control, T1, T2, y T3 muéstrense en la Tabla 2.

Los valores del pH se variaron durante los treinta días, internamente la condición de alcalinidad para el cultivo. El valor máximo de pH se registró el día 27 y 28; registramos en la tabla siguiente en donde se observan las variaciones de los valores del pH por ensayos durante treinta días (diario y total).

Tabla 2.

Resultados del pH en el cultivo.

Ensayos	Máximo	Mínimo	DS
C	10.54	8.71	0.4404
T1	10.72	8.72	0.4953
T2	10.72	8.71	0.5225
T3	10.80	8.71	0.6113

Estas diferenciales se explica por las variaciones dinámicas electroquímica del proceso del crecimiento o desarrollo del cultivo, que acontece en las reacciones químicas tanto intrínsecas del cultivo, sistema, interrelación con el medio acuoso y nutrientes.

El ccomportamiento del pH para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días mostramos en la figura Anexo.

Figura 5.

Comportamiento del pH para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días

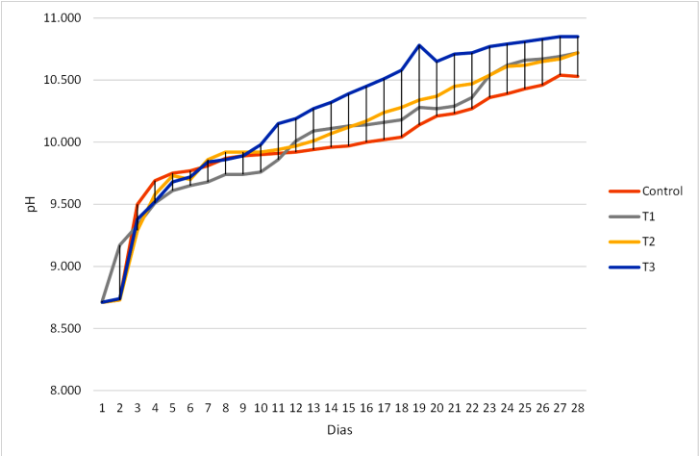


Tabla 3. ANEXO.
Valores de pH para los tratamientos: Control, T1 a T3, para 30 días

4.1.2. Resultados de la Temperatura

Los valores de las temperaturas de los tratamientos tales como: Control, T1, T2, y T3; varían continuamente durante los treinta días, el rango aceptado para el cultivo a 30°C.

Los valores de la temperatura variaron durante los treinta días, internamente la condición en alcalinidad para el cultivo. El valor máximo de temperatura se registra el día 28; verificamos en la tabla siguiente en donde se observan las variaciones de los valores de la temperatura por ensayos durante treinta días (diario y total). Los valores de la temperatura del control, T1, T2, y T3 muéstrese en la tabla y figura, además en el ANEXO.

Tabla 3,

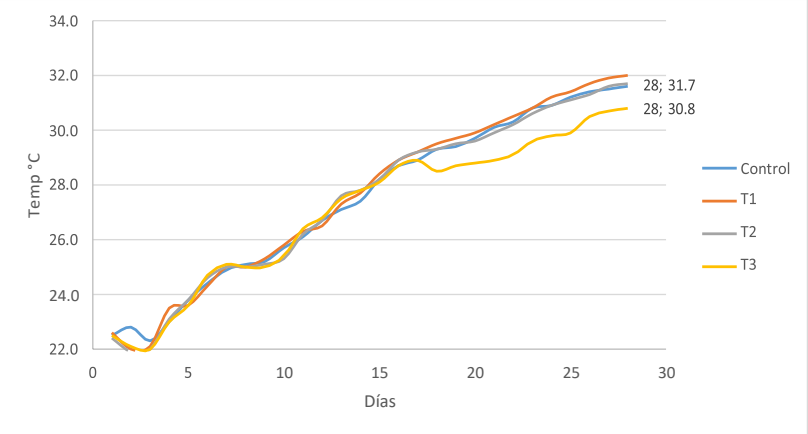
Resultados de la temperatura en el cultivo, °C.

Ensayos	Máximo	Mínimo	DS
C	31.60	22.30	3.078

T1	32.30	22.00	3.226
T2	31.70	21.90	3.148
T3	30.80	22.00	2.755

Figura 6.

Comportamiento de la temperatura °C, para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días



Las adecuadas condiciones físico-químicas de la temperatura y energía, no solo afecta las reacciones celulares, sino además los exigencias nutricionales y la composición de la biomasa, la solubilidad de los gases en el agua, actividad metabólica, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas; apoyan la conducción del sistemas de cultivo y por tanto algunos de los parámetros críticos. Crece en condiciones alcalinas con un pH 9.0 y a temperatura de 30 °C. Evaluamos los parámetros físico-químicos como: temperatura. La temperatura del líquido de cultivo posee un predominio directo con la velocidad de crecimiento, la máxima velocidad de crecimiento se alcanza entre los 30.80 – 32.00 ºC.

Los cambios bruscos de temperatura traen como consecuencia la reducción en la producción de biomasa. Debido al diferencial de temperatura (energía – calor) entre el aire del medio y el agua del cultivo, se produce una transferencia de energía (calor) del aire al agua o sistema como intercambio de energías.

Tabla en ANEXO.

Valores de Temperatura en los tratamientos (Control, T1, T2 y T3), durante 30 días

4.1.3. Resultados de la Iluminación

Los valores promedio de iluminación registrados para el Control, T1, T2 y T3 se presentamos en la tabla 4 y figura 7. subsecuentes. Asimismo tenemos a la relación de iluminación en relación al Control de T1 – T3 de 1.00 y T2 de 0.85 veces en lux.

Tabla 4.

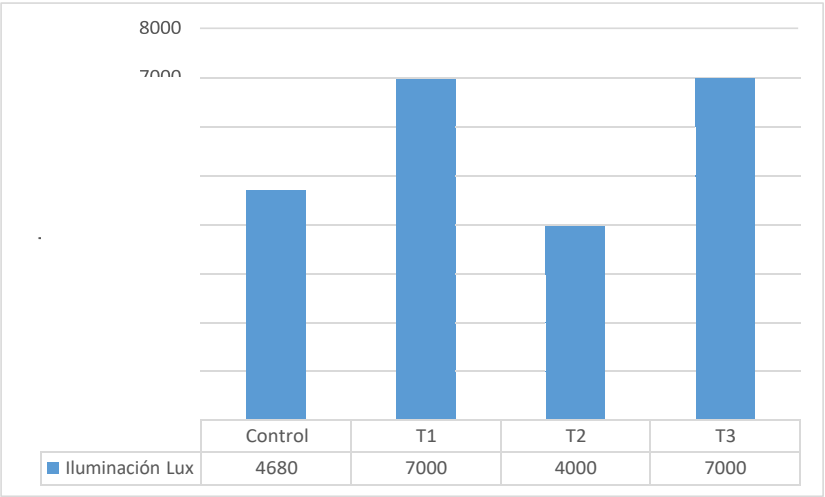
Evaluaciones de la Iluminación de los tratamientos control, T1 a T3. Lux

Muestras	Lux
Control	4680,3
T1	7000,0
T2	4000,0
T3	7000,0

Figura en ANEXO

Figura 7.

Las gráficas de Iluminación de los tratamientos control, T1 a T3. Lux



Fuente: Elaboración propia.

4.1.4. Resultados del crecimiento de la spirulina

Este parámetro de esta forma observamos que en todas las fases de crecimiento del desarrollo es exponencial alcanzando la capacidad de crecimiento o reproducción promedio correspondiente a 0.028 $mg.L^{-1}$ y una desviación estándar 0.0130 ($días^{-1}$).

(Ver Tabla 4. en ANEXO).

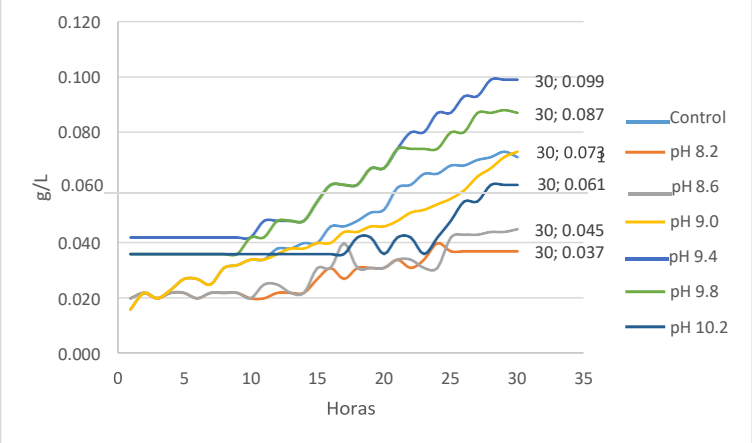
Tabla 5.

Resultados de la reproducción o crecimiento en el cultivo, mg/L. 1 días

Ensayos - pH	Máximo	Mínimo	DS
C - 9.0	0.016	0.016	0.000

Figura 8.

Comportamiento de la reproducción o crecimiento mg/L, para los sistemas: Control, T1 a T3 por 30 días



Los valores que mostramos en las tablas y curvas en las figuras (ANEXO) corresponden a los máximos, mínimos y la desviación estándar del peso (g) en el tratamiento proporcionado a treinta días.

Los cambios mostrados se deben a la dinámica y cinética del crecimiento o reproducción manifiesta en el sistema por la interrelación tripolar de los agentes íntimos actuantes de estos como: metabolismo, síntesis química, fotoquímica, etc.

Tabla 6.

Resultados de la reproducción o crecimiento en el cultivo, mg/L. 30 días

Ensayos pH	Máximo	Mínimo	DS
C	0.073	0.016	0.018
9.0	0.073	0.016	0.015

El análisis estadístico en relación a los valores del tratamiento Control en dependencia con los días estimados, muestra diferencias significativas promedio 0.028 – 0.0130 en cuanto la crecida de la biomasa en gramos durante los días del cultivo (ver Tabla ANEXO).

La reproducción de Spirulina spp. en el sistemas cerrados o abiertos, en alcanzar una superior productividad en cuanto a biomasa g/L; obtiene a la aplicación de los valores pH de 8.2, 8.6, 9.0, 9.4, 9.8 a 10.2. Luego según Ciferri, 1983 y Ayala, 1982 atestigua que ocho principios fiscalizan la productividad: luminosidad, temperatura, tamaño de inoculo, velocidad de agitación, sólidos disueltos, pH, calidad de agua, presencia de macro y micronutrientes.

Considerando al análisis estadístico de las variables con el propósito de seleccionar el valor de pH, temperatura, iluminación dominante se relaciona con la producción de biomasa, para ello se manipuló como instrumento estadística los indicadores al análisis de regresión de los datos versus tiempo.

4.2. Conclusión

- Las conclusiones extraídas tienen por enfoque basándose en la energía-materia viva, considerando a la cuántica y el operador conmutativo y no conmutativo durante el experimento; por tanto tenemos.

- El cultivo de la espirulina en un medio controlado observamos que el análisis realizado experimentalmente cuatro ensayos correspondientes uno de control y tres tratamientos o triplicado durante 30 días, aplicaron el monitoreo diario y final a los factores climáticos, ambientales tanto a su correspondientes sistemas, considerando como un sistema complejo.

- El crecimiento o desarrollo de ello en los sistemas encuéntranse íntimamente ligados o correlacionándose con alguno de los ocho factores climáticos, así considerando el pH, la temperatura, la iluminación, en función al crecimiento o producción, cuyos parámetros de trabajo son pH 9.0, temperatura 30 °C y de luz 40 × 103 lux.

- En las tablas y figuras además del anexo, observamos importantes variaciones siendo estas discrepancias debido por los procesos del operador conmutativo y no conmutativo, biológicos (vida), metabolismo (reacción bioquímica), fotosíntesis (luz), respiración (gases), electroquímica (reacciones), entre otros. Estos cambios son intercambios polisistema de energía en sus diferentes presentaciones, transferencia de calor tripolares de la materia y luego los intercambios de masa-energía durante el crecimiento en la capacidad de eficiencia y eficacia entre los sistemas.

- En cuanto al mecanismo cuántico del movimiento energía-masa, están en función con las variables paramétricas o indicadores ingenieriles y tecnológica pueden identificar el punto crítico en las funciones determinadas.

CAPÍTULO V: RECOMENDACIONES

Motivar a los estudiantes de pregrado realizar pesquisas sobre los neuroaminoácidos, neurotransmisores-receptores, etcétera originados por la espirulina en función con los parámetros de los indicadores Ingenieril y Tecnológico, durante el crecimiento usando los operadores conmutativos y no conmutativos complejos.

CAPITULO VI: FUENTE DE INFORMACION

Gomez Luna, L. Cultivo y aplicación de las microalgas Dunaliella salina and Chlorella vulgaris en Cuba. Tesis de Doctorado, Universidad de La Coruña, España, 1997, pp. 265 ISBN 978-84-692-8147-S.

Jiménez C., Cossío B.R., Labella D., Niell F.X., 2003. The feasibility of industrial production of Spirulina (Anthrospira) in Southern Spain. EN: Aquaculture. Vol. 217; p. 179-190.

Jourdan, Jean-Paul, 1999. Cultivez Votre Spiruline. First Edition, Antenna Technologie.

Marsham S, Scott GW, Tobin ML. 2007. Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds. Food chemistry 100:1331-1336.

McHugh DJ. 2002. Perspectivas para la producción de algas marinas en los países en desarrollo. FAO Circular de Pesca. N° 968, Roma. [Internet], [28 febrero 2016]. Disponible en: http://www.fao.org/docrep/004/y3550s/Y3550S00.htm.

Melo TV, Ferreira RA, Oliveira VC, Carneiro JB, Moura AM, Silva CS, Nery VL. 2008. Calidad del huevo de codornices utilizando harina de algas marinas y fosfato monoamónico. Arch. Zootec. 57(219):313-319.

Mora SC. 2012. Evaluación de spirulina en la alimentación de pollos broiler en la Ponderosa Km 7 1/2 parroquia Puerto Limón de Santo Domingo de los Tsachilas. Tesis para obtener el título profesional. Latacunga. Universidad Técnica de Cotopaxi. 87 p.

Morales de León J, Babinsky V, Bourges RH, Camacho PM. 2000. Tablas de composición de alimentos mexicanos. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubairán. México DF.

NTC 4657 (1999). Alimento para animales, determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. Disponible en: www.icontec.org. Fecha de consulta: 31 de Enero de 2008.

Oh-Hama, T.; Miyachi S. Chlorella. En: M.A. Borowizka & L.J. Borowizka eds. Microalgal Biotechnology. Cambridge: Cambridge University Press, 1988, pp. 3-26. ISBN: 978-0521323499.

Pelizer L.H., Danesi E.D.G., Rangel C. de O., Sassano C.E.N., Carvalho J.C.M., Sato S., Moraes I.O., 2003. Influence of inoculum age and concentration in Spirulina platensis cultivation. EN: Journal of Food Engineering. Vol. 56; p. 371-375. mundial de avicultura. USA. p 486-487.

Spolaore, P.; Joannis-Cassan C; Duran E.; Isambert A.. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, 101(2), pp. 87-96. ISSN: 1389-1723.

CAPITULO VII: ANEXO

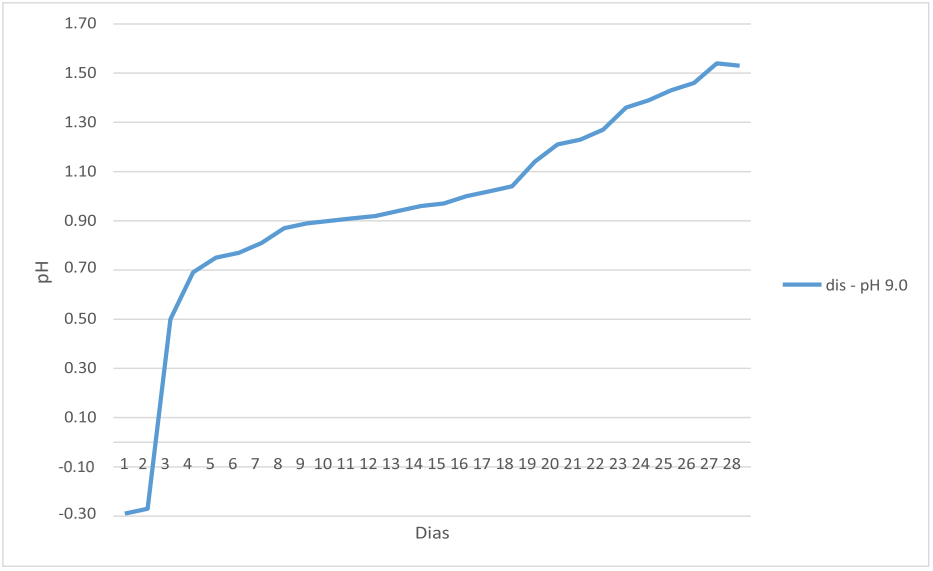
Tabla 7.

Respuesta del monitoreo de los ensayos en pH

Días	Control	T1	T2	T3	MAX F	MIN F	PROM F	DS F	DDS f	dif	dis - pH 9.0
1	8.710	8.72	8.71	8.71	8.72	8.71	8.713	0.00509	0.5092	-0.0033	-0.29
2	8.73	9.17	8.73	8.74	9.17	8.73	8.88	0.22368	22.3681	-0.1500	-0.27
3	9.5	9.33	9.29	9.38	9.38	9.29	9.33	0.04501	4.5010	0.1667	0.50
4	9.69	9.51	9.58	9.52	9.58	9.51	9.54	0.03533	3.5329	0.1533	0.69
5	9.75	9.61	9.73	9.68	9.73	9.61	9.67	0.06003	6.0031	0.0767	0.75
6	9.77	9.65	9.7	9.72	9.72	9.65	9.69	0.03512	3.5119	0.0800	0.77
7	9.81	9.68	9.86	9.84	9.86	9.68	9.79	0.09100	9.1003	0.0167	0.81
8	9.87	9.74	9.92	9.86	9.92	9.74	9.84	0.09018	9.0185	0.0300	0.87
9	9.89	9.74	9.92	9.89	9.92	9.74	9.85	0.09074	9.0738	0.0400	0.89
10	9.9	9.76	9.92	9.98	9.98	9.76	9.89	0.11042	11.0420	0.0133	0.90
11	9.91	9.86	9.94	10.15	10.15	9.86	9.98	0.14554	14.5539	-0.0733	0.91
12	9.92	10.01	9.97	10.19	10.19	9.97	10.06	0.11082	11.0822	-0.1367	0.92
13	9.94	10.09	10.01	10.27	10.27	10.01	10.12	0.13036	13.0356	-0.1833	0.94
14	9.96	10.11	10.07	10.32	10.32	10.07	10.17	0.12607	12.6066	-0.2067	0.96
15	9.97	10.13	10.12	10.39	10.39	10.12	10.21	0.13713	13.7127	-0.2433	0.97
16	10	10.14	10.17	10.45	10.45	10.14	10.25	0.15686	15.6856	-0.2533	1.00
17	10.02	10.16	10.24	10.51	10.51	10.16	10.30	0.17595	17.5952	-0.2833	1.02
18	10.04	10.18	10.28	10.58	10.58	10.18	10.35	0.20092	20.0924	-0.3067	1.04
19	10.14	10.28	10.34	10.78	10.78	10.28	10.47	0.25266	25.2660	-0.3267	1.14
20	10.21	10.27	10.37	10.65	10.65	10.27	10.43	0.19079	19.0788	-0.2200	1.21
21	10.23	10.29	10.45	10.71	10.71	10.29	10.48	0.21022	21.0220	-0.2533	1.23
22	10.27	10.36	10.47	10.72	10.72	10.36	10.52	0.18050	18.0503	-0.2467	1.27
23	10.36	10.54	10.54	10.77	10.77	10.54	10.62	0.11711	11.7110	-0.2567	1.36
24	10.39	10.62	10.61	10.79	10.79	10.61	10.67	0.09131	9.1307	-0.2833	1.39
25	10.43	10.66	10.62	10.81	10.81	10.62	10.70	0.09559	9.5588	-0.2667	1.43
26	10.46	10.67	10.65	10.83	10.83	10.65	10.72	0.09100	9.1003	-0.2567	1.46
27	10.54	10.69	10.67	10.85	10.85	10.67	10.74	0.09100	9.1003	-0.1967	1.54
28	10.53	10.72	10.72	10.85	10.85	10.72	10.76	0.06619	6.6193	-0.2333	1.53
pH	9										
MAX	10.54	10.72	10.72	10.85	10.85	10.72	10.76	0.2527	25.27	0.17	1.54
MIN	8.71	8.72	8.71	8.71	8.72	8.71	8.71	0.0051	0.51	-0.33	-0.29
PROM	9.96	10.02	10.06	10.21	10.24	10.00	10.10	0.1199	11.99	-0.14	0.96
DS	0.44038	0.49529	0.52247	0.61132	0.56966	0.52744	0.53873	0.06172	6.17194	0.15238	0.44038
			0.06068								

Figura 9.

Curva de comportamiento del monitoreo de los ensayos en pH



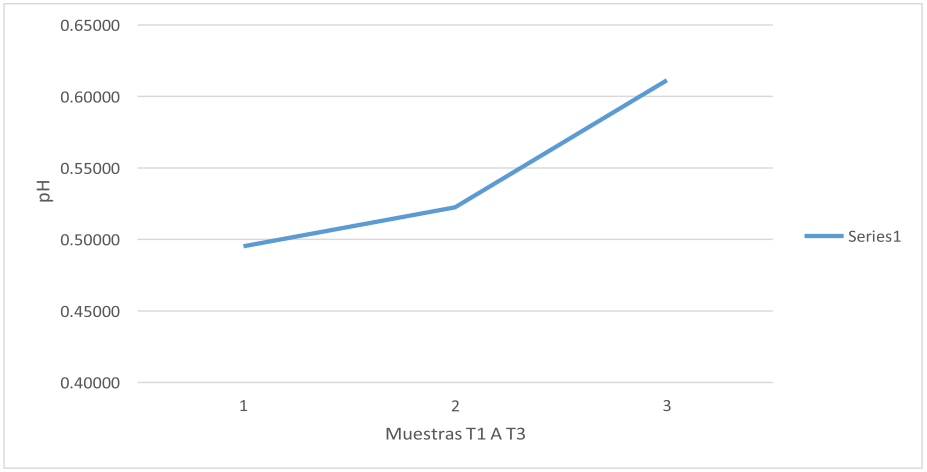


Tabla 8.

Respuesta del monitoreo de los ensayos en Temperatura °C, Total días y por día

Días	Control	T1	T2	T3	MAX F	MIN F	PROM F	DS F	DDS f	dif	dis - temp °C
1	22.5	22.6	22.4	22.5	22.6	22.4	22.500	0.10000	10.0000	0.0000	-7.50
2	22.8	22.0	21.9	22.1	22.1	21.9	22.00	0.10000	10.0000	0.8000	-7.20
3	22.3	22.1	22.0	22.0	22.1	22.0	22.03	0.05092	5.0918	0.2667	-7.70
4	23.0	23.5	23.1	23.0	23.5	23.0	23.20	0.25166	25.1661	-0.2000	-7.00
5	23.8	23.6	23.8	23.6	23.8	23.6	23.67	0.10184	10.1835	0.1333	-6.20
6	24.4	24.3	24.6	24.7	24.7	24.3	24.53	0.20092	20.0924	-0.1333	-5.60
7	24.9	25.0	25.0	25.1	25.1	25.0	25.03	0.05092	5.0918	-0.1333	-5.10
8	25.1	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.00	0.00000	0.0000	0.1000	-4.90
9	25.2	25.3	25.1	25.0	25.3	25.0	25.13	0.15031	15.0308	0.0667	-4.80
10	25.7	25.8	25.3	25.4	25.8	25.3	25.50	0.25166	25.1661	0.2000	-4.30
11	26.1	26.3	26.2	26.4	26.4	26.2	26.30	0.10000	10.0000	-0.2000	-3.90
12	26.7	26.5	26.7	26.8	26.8	26.5	26.67	0.15031	15.0308	0.0333	-3.30
13	27.1	27.3	27.6	27.5	27.6	27.3	27.47	0.15031	15.0308	-0.3667	-2.90
14	27.4	27.7	27.8	27.8	27.8	27.7	27.77	0.05092	5.0918	-0.3667	-2.60
15	28.2	28.4	28.2	28.1	28.4	28.1	28.23	0.15031	15.0308	-0.0333	-1.80
16	28.7	28.9	28.9	28.7	28.9	28.7	28.83	0.10184	10.1835	-0.1333	-1.30
17	28.9	29.2	29.2	28.9	29.2	28.9	29.10	0.15275	15.2753	-0.2000	-1.10
18	29.3	29.5	29.3	28.5	29.5	28.5	29.10	0.50332	50.3322	0.2000	-0.70
19	29.4	29.7	29.5	28.7	29.7	28.7	29.30	0.50332	50.3322	0.1000	-0.60
20	29.7	29.9	29.6	28.8	29.9	28.8	29.43	0.55210	55.2100	0.2667	-0.30
21	30.1	30.2	29.9	28.9	30.2	28.9	29.67	0.65348	65.3481	0.4333	0.10
22	30.3	30.5	30.2	29.1	30.5	29.1	29.93	0.70422	70.4220	0.3667	0.30
23	30.8	30.8	30.6	29.6	30.8	29.6	30.33	0.60492	60.4918	0.4667	0.80
24	30.9	31.2	30.9	29.8	31.2	29.8	30.63	0.70422	70.4220	0.2667	0.90
25	31.2	31.4	31.1	29.9	31.4	29.9	30.80	0.75498	75.4983	0.4000	1.20
26	31.4	31.7	31.3	30.5	31.7	30.5	31.17	0.60123	60.1233	0.2333	1.40
27	31.5	31.9	31.6	30.7	31.9	30.7	31.40	0.60277	60.2771	0.1000	1.50
28	31.6	32.0	31.7	30.8	32.0	30.8	31.50	0.60277	60.2771	0.1000	1.60
Temp	30										
MAX	31.60	32.00	31.70	30.80	32.00	30.80	31.50	0.75	75.50	0.80	1.60
MIN	22.3	22	21.9	22	22.1	21.9	22.00	0.00	0.00	-0.37	-7.70
PROM	27.46	27.58	27.45	27.07	27.64	27.01	27.37	0.32	31.79	0.10	-2.54
DS	3.07802	3.22617	3.14813	2.75507	3.18821	2.79469	3.03787	0.25557	25.55680	0.26674	3.07802
			0.25250								

Figura 10.

Curva de respuesta del monitoreo de los ensayos en Temperatura °C, Total días y por día

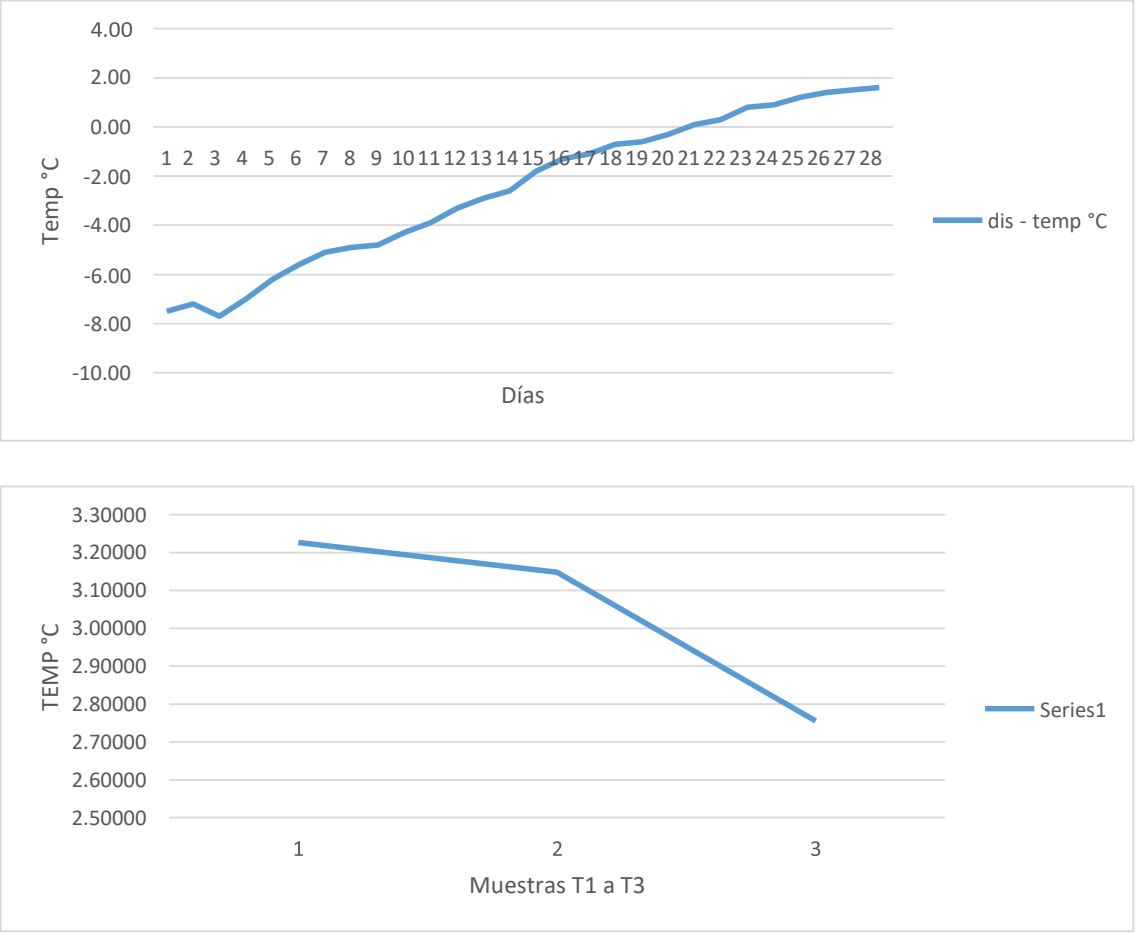
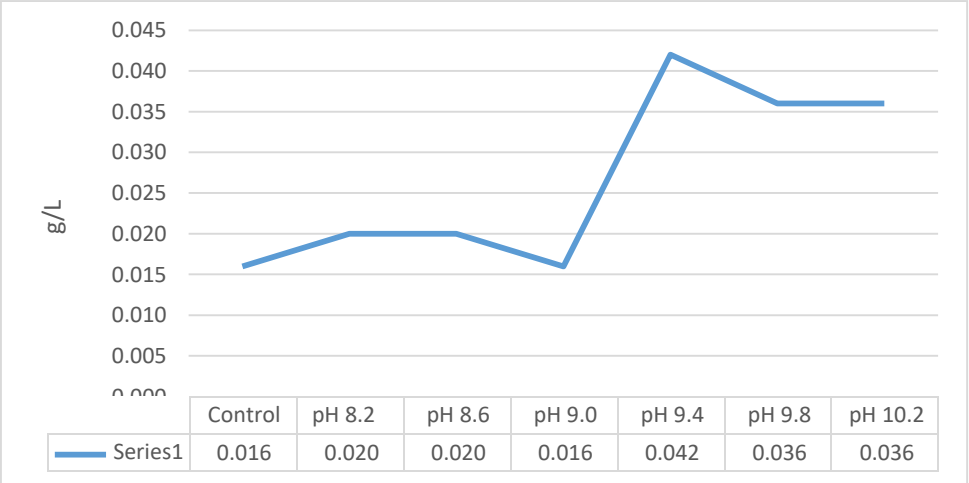
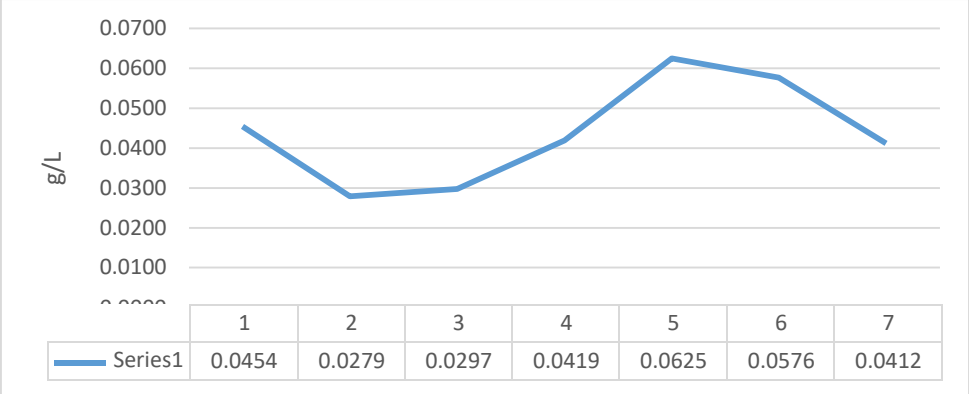


Tabla 9.

Biomasa (crecimiento) g/L en función a pH y horas, Datos en los ensayos durante las 30 primeras horas de cultivo (Biomasa g/L)

Hora	Control	pH 8.2	pH 8.6	pH 9.0	pH 9.4	pH 9.8	pH 10.2	MAX F	MIN F	PROM F	DS F	DDS f	dif	dis - pH 9.0
1	0.016	0.020	0.020	0.016	0.042	0.036	0.036	0.042	0.016	0.028	0.01301	1.3006	-0.0123	-0.03
2	0.022	0.022	0.022	0.022	0.042	0.036	0.036	0.022	0.022	0.030	0.00462	0.4619	-0.0080	-0.02
3	0.020	0.020	0.020	0.020	0.042	0.036	0.036	0.02	0.02	0.029	0.00520	0.5196	-0.0090	-0.02
4	0.023	0.022	0.022	0.023	0.042	0.036	0.036	0.023	0.022	0.030	0.00445	0.4455	-0.0072	-0.02
5	0.027	0.022	0.022	0.027	0.042	0.036	0.036	0.027	0.022	0.031	0.00443	0.4429	-0.0038	-0.02
6	0.027	0.020	0.020	0.027	0.042	0.036	0.036	0.027	0.02	0.030	0.00520	0.5202	-0.0032	-0.02
7	0.025	0.022	0.022	0.025	0.042	0.036	0.036	0.025	0.022	0.031	0.00431	0.4311	-0.0055	-0.02
8	0.031	0.022	0.022	0.031	0.042	0.036	0.036	0.031	0.022	0.032	0.00535	0.5346	-0.0005	-0.01
9	0.032	0.022	0.022	0.032	0.042	0.036	0.036	0.032	0.022	0.032	0.00568	0.5680	0.0003	-0.01
10	0.034	0.020	0.020	0.034	0.042	0.042	0.036	0.034	0.02	0.032	0.00765	0.7647	0.0017	-0.01
11	0.034	0.020	0.025	0.034	0.048	0.042	0.036	0.034	0.02	0.034	0.00813	0.8131	-0.0002	-0.01
12	0.038	0.022	0.025	0.036	0.048	0.048	0.036	0.036	0.022	0.036	0.00804	0.8035	0.0022	-0.01
13	0.038	0.022	0.022	0.038	0.048	0.048	0.036	0.038	0.022	0.036	0.00864	0.8643	0.0023	-0.01
14	0.040	0.022	0.022	0.038	0.048	0.048	0.036	0.038	0.022	0.036	0.00864	0.8643	0.0043	0.00
15	0.040	0.027	0.031	0.040	0.055	0.055	0.036	0.04	0.027	0.041	0.00771	0.7705	-0.0007	0.00
16	0.046	0.031	0.031	0.040	0.061	0.061	0.036	0.04	0.031	0.043	0.00638	0.6380	0.0027	0.00
17	0.046	0.027	0.040	0.044	0.061	0.061	0.036	0.044	0.027	0.045	0.01006	1.0064	0.0012	0.00
18	0.048	0.031	0.031	0.044	0.061	0.061	0.042	0.044	0.031	0.045	0.00781	0.7810	0.0030	0.01
19	0.051	0.031	0.031	0.046	0.067	0.067	0.042	0.046	0.031	0.047	0.00907	0.9070	0.0037	0.01
20	0.052	0.031	0.031	0.046	0.067	0.067	0.036	0.046	0.031	0.046	0.00876	0.8758	0.0057	0.01
21	0.060	0.034	0.034	0.048	0.074	0.074	0.042	0.048	0.034	0.051	0.00907	0.9074	0.0090	0.02
22	0.061	0.031	0.034	0.051	0.080	0.074	0.042	0.051	0.031	0.052	0.01185	1.1846	0.0090	0.02
23	0.065	0.034	0.031	0.052	0.080	0.074	0.036	0.052	0.031	0.051	0.01189	1.1891	0.0138	0.02
24	0.065	0.040	0.031	0.054	0.087	0.074	0.042	0.054	0.031	0.055	0.01348	1.3476	0.0103	0.02
25	0.068	0.037	0.042	0.056	0.087	0.080	0.048	0.056	0.037	0.058	0.01170	1.1702	0.0097	0.03
26	0.068	0.037	0.043	0.059	0.093	0.080	0.055	0.059	0.037	0.061	0.01337	1.3371	0.0068	0.03
27	0.070	0.037	0.043	0.064	0.093	0.087	0.055	0.064	0.037	0.063	0.01535	1.5354	0.0068	0.03
28	0.071	0.037	0.044	0.067	0.099	0.087	0.061	0.067	0.037	0.066	0.01699	1.6994	0.0052	0.03
29	0.073	0.037	0.044	0.071	0.099	0.088	0.061	0.071	0.037	0.067	0.01851	1.8506	0.0063	0.03
30	0.071	0.037	0.045	0.073	0.099	0.087	0.061	0.073	0.037	0.067	0.01929	1.9287	0.0040	0.03
pH	0.043													
MAX	0.073	0.040	0.045	0.073	0.099	0.088	0.061	0.073	0.037	0.067	0.019	1.929	0.014	0.030
MIN	0.0160	0.0200	0.0200	0.0160	0.0420	0.0360	0.0360	0.0200	0.0160	0.0283	0.0043	0.4311	-0.0123	-0.0270
PROM	0.0454	0.0279	0.0297	0.0419	0.0625	0.0576	0.0412	0.0428	0.0274	0.0435	0.0095	0.9488	0.0019	0.0024
DS	0.01807	0.00693	0.00871 0.00447	0.01540	0.02113	0.01928	0.00855	0.01461	0.00669	0.01292	0.00425	0.42475	0.00621	0.01807

Figura 11.

Biomasa (crecimiento) g/L en función a pH y horas. Curva de respuesta en los ensayos durante las 30 primeras horas de cultivo