



**Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero
FONDEPES**

Dirección de Acuicultura
Av. Petit Thouars 115, Lima – Perú
Telefax: (511) 706 8516
Central Telefónica: (511) 706 8500
e – mail: acuicultura@fondepes.gob.pe
Página web: www.fondepes.gob.pe



PERÚ

Ministerio
de la Producción

Fondo Nacional de
Desarrollo Pesquero

Protocolo

Cultivo de Microalgas



Dirección de Acuicultura



Fondo Nacional
de Desarrollo Pesquero

Protocolo

Cultivo de Microalgas

Autor

Blgo. Pesq. Nancy Vásquez García

Bach. Hugo Chávez Cristóbal

Centro de Acuicultura La Arena

Casma - Ancash



Fondo Nacional
de Desarrollo Pesquero

Prohibida su reproducción total o parcial, sin permiso de la Dirección de Acuicultura del Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero.

Hecho en el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2010 – 03695.

Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero –
FONDEPES, Dirección de Acuicultura.
Av. Petit Thouars N° 115 – 119, Lima – Perú

Primera Edición, Marzo 2010

DISTRIBUCIÓN GRATUITA
PROHIBIDA SU VENTA

Índice

I.	ANTECEDENTES	- 7 -
II.	OBJETIVO	- 7 -
III.	ASPECTOS GEOGRÁFICOS	- 7 -
IV.	ASPECTOS DE CULTIVO	- 8 -
	4.1 DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS	- 8 -
	4.2 MATERIALES Y EQUIPOS	- 8 -
	4.3 ACONDICIONAMIENTO DE AMBIENTES.....	- 15 -
V.	BENEFICIOS	- 24 -
VI.	PROBLEMAS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS	- 25 -

Introducción

El objetivo de este documento es proporcionar una guía práctica que permita establecer las nociones básicas para el manejo adecuado que requieren los cultivos de microalgas, teniendo como fuente de producción principal las especies: ***Isochrysis galbana var. Tahiti***, ***Pavlova lutherii***, ***Chaetoceros calcitrans***, ***Chaetoceros gracilis***.

La producción de estas especies, debe brindar una calidad y cantidad de nutrientes que permitan satisfacer los requerimientos necesarios para el cultivo de LARVAS de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) y otras especies de peces marinos, los cuales se desarrollan en ambientes controlados.

La metodología a aplicar en cada uno de los procesos, se basa en los trabajos de cultivo realizados durante casi una década en el Centro de Acuicultura La Arena, información que se pone a disposición de todos aquellos que quieran incursionar en esta actividad.

El creciente interés por invertir en la reproducción de moluscos, peces y crustáceos en nuestro país, nos compromete a seguir mejorando los procesos de producción en los diferentes niveles de cultivo, lo que permitirá proporcionar información a futuro, que conlleve a una actividad menos costosa y más rentable, teniendo como base principal el mitigar cualquier impacto negativo al medio marino.

I. Antecedentes

La elaboración de este protocolo obedece a la experiencia y recopilación de datos obtenidos durante las labores de producción, siendo este el primer trabajo elaborado por personal profesional y técnico del Centro de Acuicultura La Arena – Casma - FONDEPES.

II. Objetivo

Contar con una metodología, que permita establecer los criterios necesarios para llevar a cabo el cultivo de Microalgas.

III. Aspectos geográficos

Las instalaciones en tierra y mar del Centro de Acuícola La Arena se encuentran en la playa La Arena y Basurero, ubicadas en el distrito de Comandante Noel, Provincia de Casma, Región Ancash.

Gráfico 1: Vista Satelital del C.A. La Arena



Fuente: Google Earth

IV. Aspectos de Cultivo

4.1 DATOS FÍSICOS Y QUÍMICOS

La **Temperatura** de la sala de microalgas deberá estar entre 19-20 °C.

La **Salinidad** se encuentra en un promedio de 36.4 UPS.

EL **pH** en el rango varía de 7.5 - 8.5

El **Oxígeno Disuelto (O₂)** entre 7- 8 mg/l

El **Dióxido de Carbono (CO₂)**, se inyecta 30 l/min. a través de la línea de aire por 2 minutos cada 2 horas, solo a nivel de botellas.

La **Iluminación**, la intensidad varía dependiendo del nivel y/o la especie en cultivo. Se utilizan tubos fluorescentes de luz blanca de 40 watts.

4.2 MATERIALES Y EQUIPOS

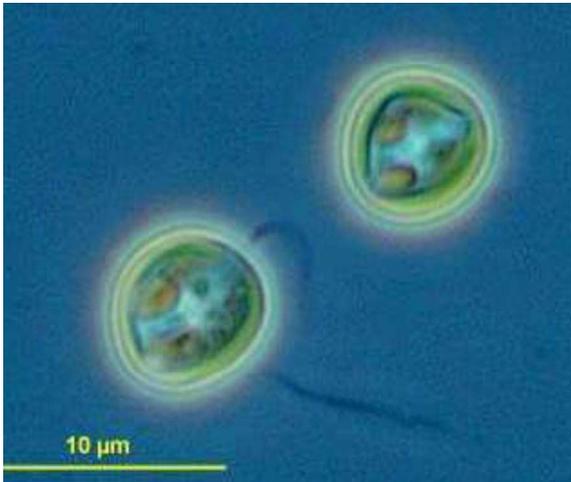
MICROALGAS

a) CEPAS DE PRODUCCION

- *Isochrysis galbana* var. *Tahiti*. (proviene de Chile).
- *Pavlova lutheri*.
- *Chaetoceros calcitrans*.
- *Chaetoceros gracilis*.
- *Isochrysis galbana* var. *Tahiti* (cepa americana).



Cepas de microalgas



Pavlova lutheri.

b) OTRAS CEPAS

- *Chaetoceros mulleri*.
- *Phaeodactylum tricornutum*.
- *Nannochloris occulata*.
- *Tetraselmis suecica*.
- *Dunaliella tertiolecta*.

MATERIALES

a) REACTIVOS QUIMICOS

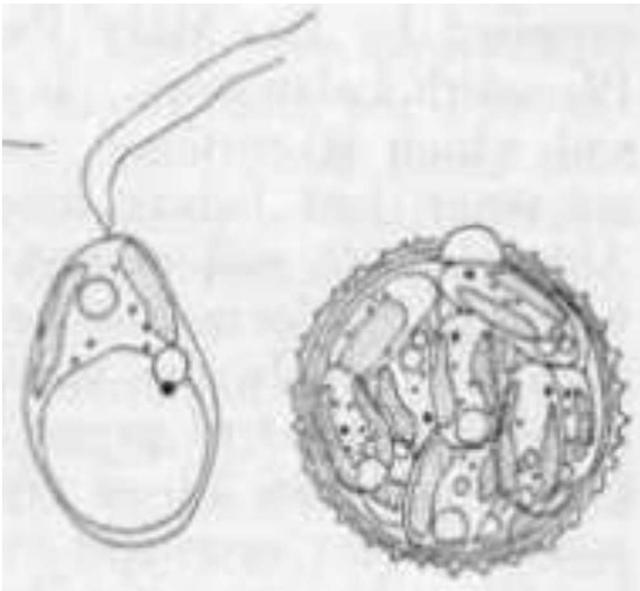
1. Nitrato de sodio NaNO_3 .
2. Fosfato de sodio $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.
3. Metasilicato de sodio $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.
4. Triz (Hidroximetil amino metano) $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.
5. EDTA (Acido etilen diamino tetraacético di sódico) $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.
6. Cloruro férrico $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.
7. Cloruro de manganeso $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.
8. Molibdato de sodio $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.
9. Sulfato de Cobre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.
10. Sulfato de Zinc $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.
11. Cianocobalamina (B12).
12. Biotina (H)
13. Tiamina Hidroclórica (B 1)
14. Ácido clorhídrico puro (37 %).
15. Bayfolan (abonos foliares).
16. Biofolka (abonos foliares).

b) OTROS

1. Formol.
2. Aceite de Inmersión.
3. Rojo de fenol.
4. Ortotholodine.



Chaetoceros calcitrans



Isochrysis galbana

6. Cloruro de potasio.
7. Buffer 4-7-10.
8. Bacto Agar.
9. Agar Agar

c) MATERIALES DE LIMPIEZA Y DESINFECCION

1. Hipoclorito de sodio (lejía comercial).
2. Hipoclorito de calcio al 70 %.
3. Avlonwill desinfectante hospitalario.
4. Ácido muriático.
5. Alcohol 96º.
6. Jabón bacteriológico.
7. Detergente lava vajilla.
8. Filtros para aire de 1µm.
9. Filtros para agua de mar, bobinados de 1µm, 20” de largo.
10. Filtros de papel 0.45 µm y 0.2 µm, 47 mm de diámetro.
11. Mangas de filtrar de 1µm y 16” de largo.
12. Otros.

d) MATERIALES DE VIDRIO

1. Matraz de Kitasato de 4 Lt. y accesorios de filtrado.
2. Erlenmeyer de 2-1-0.5-0.25 Lt.
3. Pipetas graduadas de 10-5-1 ml.
4. Pipetas Pasteur.
5. Frascos ámbar de 1- 0.5- 0.25 Lt.
6. Placas petri.
7. Tubos de ensayo con tapas y sin tapas.
8. Beakers de 1- 0.5 Lt.
9. Probetas de 100- 50- 25 ml.
10. Cámaras Neubauer.

11. Termómetros de Temperaturas máximas y mínimas.
12. Termómetros ambientales.
13. Viales para obtención de muestras.
14. Otros.

e) MATERIAL DE PLASTICO, SILICONA Y FIBRA DE VIDRIO

1. Baldes de 20 y 8 Lt
2. Jarras de 2-1-0.5-0.25 Lt.
3. Vasos graduados.
4. Pipetas.
5. Llaves para aire.
6. Tapers rectangulares de diferentes tamaños.
7. Válvulas de $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ y 1".
8. Gradillas.
9. Botellas de 20 Lt. de capacidad (carboys).
10. Fuentes.
11. Escurridores.
12. Embudos.
13. Ts, crucetas y conectores.
14. Tapones de jebe y de silicona #10.
15. Mangueras de 1".
16. Tanques de fibra de vidrio.
17. Azafates.

f) OTROS

1. Algodón.
2. Gasa quirúrgica.
3. Hilo nylon (macramé).
4. Cinta de embalaje.
5. Papel toalla.
6. Papel Kraft.
7. Papel aluminio.
8. Toallas absorbentes.

9. Asa bacteriológica.
10. Máscaras antigases.
11. Mascarillas para polvo.
12. Lentes de protección.
13. Guantes de jebe.
14. Guardapolvos.
15. Mandiles plásticos.
16. Botas de jebe.
17. Pantalones de agua.
18. Piedras difusoras.
19. Estantería de madera.
20. Luminarias (fluorescentes de 40 watts y respectivos accesorios).
21. Tuberías de PVC.
22. Papel parafilm 3M.
23. Cinta adhesiva para control de esterilizado a vapor.
24. Ollas a presión de 18 Lt. de capacidad.
25. Balón de gas propano.
26. Cinta teflón.
27. Cinta aislante.
28. Brochas

g) EQUIPOS

1. Olla esterilizadora eléctrica (para esterilizar hasta 3 litros).
2. Microscopios binoculares de 4X- 10X- 40X- 100X.
3. Destilador de agua, cuya producción es de 1 Lt. de agua destilada cada 20 minutos.
4. Bomba de vacío.
5. Agitador magnético con calentador.
6. Balanza analítica 300 gr. de capacidad, 0.0001 gr.
7. Balanza de 2000 gr. de capacidad, 0.1gr
8. Centrífuga para 06 tubos.
9. Estufas para esterilizar material seco.

10. Equipo de luz ultravioleta de 6 lámparas de 30 watts, 60 galones/minuto, 15000 microwatts/segundo.
11. Autoclave trifásica de 80 Lt. de capacidad, 6 Kw de potencia eléctrica.
12. Refrigerador.
13. Equipos de aire acondicionado de 36000 BTU/hora.
14. Deshumedecedores.
15. Campana de siembra.
16. Equipo de luz ultravioleta de 2 lámparas de 15 watts.
17. Cocina a gas semi-industrial de 2 hornillas.
18. Blower de 0.6 HP, monofásico.
19. Botella de CO₂.
20. Manómetro.
21. Flujómetro.
22. Contómetro hasta 9999.
23. Multiparámetro para medir pH, O₂, Salinidad, Temperatura.
24. Refractómetro para medir salinidad.

4.3 ACONDICIONAMIENTO DE AMBIENTES

4.3.1 LINEA DE AGUA SALADA

- 4.3.1.1 Llenar con agua salada e hipoclorito de calcio a 1000 ppm.
- 4.3.1.2 Reposar por 24 horas.
- 4.3.1.3 Eliminar el agua.
- 4.3.1.4 Se hace circular agua de mar en las siguientes 48 horas.
- 4.3.1.5 Probar con el reactivo orthotholodine para verificar si hay residuos de cloro.

4.3.2 LINEA DE AIRE

- 4.3.2.1 Al inicio de la línea de aire hacer ingresar alcohol y dejar que circule por ésta.
- 4.3.2.2 Se prende el blower para que desplace el alcohol por toda la tubería y luego se apaga.
- 4.3.2.3 Se deja que haga efecto el alcohol por varias horas.
- 4.3.2.4 Luego se prende el blower nuevamente y se hace que elimine todo los residuos de alcohol al ambiente.

4.3.3 LIMPIEZA DE SALAS

- a. Durante la producción se limpia las paredes, estantería de madera con el desinfectante hospitalario "Avlonwill", semanalmente.
- b. Los pisos diariamente se trapean con agua e hipoclorito de calcio a 500 ppm.
- c. El pediluvio se limpia diariamente, eliminando el agua, limpiándolo y remplazándolo con agua e hipoclorito a 500 ppm.
- d. Las mesas de cemento se limpian después de los trabajos diarios con Avlonwill.
- e. Las ventanas, puertas, parte externa de tubería de aire se limpia con un paño humedecido en alcohol semanalmente.
- f. Los vidrios de las mesas y estantes se limpian diariamente con alcohol

4.3.4 LIMPIEZA Y ESTERILIZADO DE MATERIALES

a) MATERIALES DE VIDRIO

- a.1 Se prepara ácido muriático más agua en proporción 1:1

- a.2 En esta solución se sumerge todo el material de vidrio, previo enjuague con agua dulce.
- a.3 Transcurrido como mínimo 6 horas, se enjuaga con abundante agua dulce cada recipiente, por 5 minutos.
- a.4 Se realiza una prueba para comprobar si queda algún residuo de ácido con el reactivo rojo de fenol.
- a.5 Se deja escurrir, se cubre con papel aluminio y se pone a esterilizar a 125 °C por 2 horas.

b) MATERIAL DE PLASTICO

- b.1 Botellas de siembra.
 - b.1.1 Se prepara una solución de ácido muriático como la anterior proporción y se vacía una parte de ésta en cada botella, también se lava con agua dulce previamente, se agita vigorosamente las botellas y se deja de un día para otro.
 - b.1.2 Al otro día se enjuaga haciendo correr agua de mar filtrada e irradiada con luz UV por 15 minutos cada botella.
 - b.1.3 Se enjuaga con agua dulce, se deja escurrir y se cubre la boca del recipiente con papel Kraft sujeto con una liga o con papel aluminio.
- b.2 Material de filtrado para agua de mar. (Filtros bobinados-mangas de filtrar).
 - b.2.1 Se sumergen en una solución de agua dulce e hipoclorito de calcio a 1000 ppm diariamente después del trabajo los filtros bobinados, las carcasas de los filtros y mangas de filtrar de un día para otro.

- b.2.2 Al día siguiente se escurre y se enjuaga a presión durante 5 minutos cada filtro y cada bolsa de filtrar durante 3 minutos.
- b.2.3 Se comprueba si no contiene residuos de cloro.
- b.3 Otros materiales plásticos.
(Tapones-mangueras siliconadas-jarras embudos, vasos de muestreo).
- b.3.1 Se sumergen en una solución de agua dulce con 500 ppm de hipoclorito de calcio o hipoclorito de sodio, se deja de un día para otro.
- b.3.2 Al otro día se enjuaga con abundante agua dulce.
- b.3.3 Se comprueba si no hay residuos de cloro y se deja escurrir.
- b.3.4 El material que es posible esterilizar en estufa, se envuelve en papel Kraft y se coloca en ésta a 100 °C por 2 horas.

4.3.5 CALIDAD Y TRATAMIENTO DE AGUA DE MAR

- Recibir agua salada en filtros bobinados de 1µm.
- Pasarla por equipo Ultravioleta.
- Usarla para lavar botellas.

4.3.6 PROCESO DE CULTIVO DE MICROALGAS

- 4.3.6.1 SEMBRADO DE BOTELLAS A NIVEL DE 12 y 18 LITROS.
- Recibir agua salada en filtros bobinados de 1µm.
- Pasarla por equipo Ultravioleta.
- Filtrar el agua en mangas de 1µm.
- Incorporar 0.5 ml de lejía por cada litro de agua salada.

- Declorinar con tiosulfato de sodio a 30 ppm.
- Comprobar con ortotolodine.
- Rotular con el nombre de la especie y fecha de siembra.
- Agregar nutrientes (F/2 MEDIO GUILLARD & RYTHER 1962, GUILLARD 1965) según TABLA N° 01.
- Observar y contar las muestras de microalgas (inóculo).
- Agregar inóculo.
- Poner varilla para aire y tapón.
- Llevar a cepario y colocar aire y luz.

4.3.6.2 SEMBRADO DE MATRACES A NIVEL DE 1 LITRO.

- Recibir agua salada en filtros bobinados de 1µm.
- Pasarla por equipo Ultravioleta.
- Filtrar el agua en mangas de 1µm en un envase adecuado.
- Incorporar 0.5 ml de lejía por cada litro de agua salada.
- Declorinar con tiosulfato de sodio a 30 ppm.
- Comprobar con ortotolodine.
- Agregar nutrientes (F/2 MEDIO GUILLARD & RYTHER 1962, GUILLARD 1965) según TABLA N° 01.
- Llenar a 750 ml. de volumen los matraces Erlenmeyer de 1 Lt. de capacidad
- Esterilizar en húmedo el medio a 125°C, 1bar de presión por 30 minutos.
- Colocar los medios en la campana de siembra.
- Prender el mechero a gas.
- Colocar varillas de aireación.
- Adicionar vitaminas a los medios de cultivo.
- Prender las luces UV de la campana por una hora.

- Dejar reposar por una hora.
- Rotular con el nombre de la especie y fecha de siembra
- Observar y contar las muestras de microalgas (inóculo).
- Agregar inóculo junto a un mechero bunsen con buena flama.
- Llevar a cepario y colocar aire y luz.

4.3.6.3 SEMBRADO DE MATRACES A NIVEL DE 125 MILILITROS.

- Recibir agua salada en filtros bobinados de 1 μ m.
- Pasarla por equipo de luz Ultravioleta.
- Filtrar el agua en mangas de 1 μ m en un envase adecuado.
- Incorporar 0.5 ml de lejía por cada litro de agua salada.
- Declorinar con tiosulfato de sodio a 30 ppm.
- Comprobar con ortotolodine.
- Filtrar con papel filtro de 0.45 μ m en matraz Kitasato con ayuda de una bomba de vacío.
- Se sigue el procedimiento anterior pero ahora con papel filtro de 0.2 μ m.
- El agua filtrada es depositada en Matraces Erlenmeyer de 2Lt de capacidad los cuales son esterilizados en la autoclave a 125°C, 1 bar de presión por 30 minutos.
- Agregar nutrientes (F/2 MEDIO GUILLARD & RYTHER 1962, GUILLARD 1965) según TABLA N° 01.
- Vaciar solamente 100 ml del medio a cada matraz Erlenmeyer de 250 ml de capacidad, colocar tapón de algodón y papel aluminio.
- Esterilizar en la autoclave los medios a 125°C a 1bar de presión por 30 minutos.

- Colocar los medios en la campana.
- Adicionar vitaminas a los medios de cultivo.
- Prender las luces UV de la campana por una hora.
- Dejar reposar por una hora.
- Rotular con el nombre de la especie y fecha de siembra.
- Observar y contar las muestras de microalgas (inóculos).
- Agregar inóculo junto a un mechero bunsen con buena flama.
- Llevar a cepario y colocar luz.

4.3.6.4 MANTENIMIENTO Y SEMBRADO DE CEPAS (TUBOS).

- Recibir agua salada en filtros bobinados de 1 μ m.
- Pasarla por equipo Ultravioleta.
- Filtrar el agua en mangas de 1 μ m en un envase adecuado.
- Incorporar 0.5 ml de lejía por cada litro de agua salada.
- Declorinar con tiosulfato a 30 ppm.
- Comprobar con ortotolodine.
- Filtrar con papel filtro de 0.45 μ m en matraz Kitasato con ayuda de una bomba de vacío.
- Se sigue el procedimiento anterior pero ahora con papel filtro de 0.2 μ m.
- El agua filtrada es depositada en Matraces Erlenmeyer de 2 Lt. de capacidad los cuales son esterilizados en la autoclave a 125°C a 1 bar de presión por 30 minutos.
- Agregar nutrientes (F/2 MEDIO GUILLARD & RYTHER 1962, GUILLARD 1965) según TABLA N° 01.
- Vaciar en matraces Erlenmeyer de 500 ml de capacidad.

- Esterilizar en autoclave los medios a 125°C a 1 bar de presión por 30 minutos.
- Adicionar vitaminas en la campana de siembra.
- Sembrar los tubos a un nivel de 10ml en la campana de siembra.
- Prender las luces UV de la campana por una hora.
- Dejar reposar por una hora.
- Observar las muestras de microalgas (inoculos) a sembrar.
- Agregar inóculo junto a un mechero bunsen con buena flama.
- Rotular con el nombre de la especie y fecha de siembra.
- Llevar a cepario y colocar luz.

4.3.7 DETERMINACION DE DENSIDAD POBLACIONAL

4.3.7.1 UTILIZACION DEL HEMATOCITOMETRO O CAMARA NEUBAUER.

- Recolectar en viales aproximadamente de 10 a 20 ml del cultivo de microalgas a contar.
- Adicionar de 2 a 3 gotas de lugol para los cultivos de flagelados para así detener su movimiento.
- Agitar para homogenizar la muestra.
- Colocar el cubre objeto.
- Con una pipeta Pasteur, sacar 1 ml de muestra e introducir una gota por el borde del cubre objeto.
- Ver que la muestra colocada sea uniforme sin burbujas u otros elementos extraños.
- Dejar de 1 a 2 minutos para que las microalgas se estabilicen.
- Usando un contador, realizar el conteo de las microalgas en los 5 cuadrantes, 4 en las esquinas y 1 en el centro.

- Se cuenta en los 2 campos, luego se saca un promedio.
- Para conocer la densidad, el promedio obtenido se multiplica por 50000.
- Esto nos da el número de microalgas por mililitro.

4.3.8 ELABORACION DE NUTRIENTES

4.3.8.1 PARA EL F/2 MEDIO GUILLARD & RYTHER 1962, GUILLARD 1975.

- Verificar que los químicos se encuentren a la temperatura, humedad y luz que se recomienda para su almacenaje.
- Se realiza el pesado de los químicos en una balanza analítica según tabla N° 01.
- Se diluye con agua destilada y homogenizar en un agitador magnético si es posible.
- Colocar en frascos contenedores, rotulados y si el químico es afectado por la luz, usar frascos color ámbar.
- Refrigerar a 7 °C.

4.3.8.2 OTROS A USAR (ABONOS FOLIARES)

Es utilizado para cultivos masivos (tanques mayores de 400 Lt), son los químicos Bayfolan (liquido) y Biofolka (granulado) que son utilizados en la agricultura, se realiza la dilución con agua destilada según rotulo del envase.

V. BENEFICIOS

El laboratorio de producción de microalgas del Centro de Acuicultura La Arena (CALA), perteneciente al Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES); trabaja en el proceso de producción de alimento vivo (microalgas), el cual va a ser entregado al área de producción de larvas de conchas de abanico (*Argopecten purpuratus*) para la alimentación de éstas, en las diferentes etapas de su crecimiento en el Hatchery hasta el momento que son enviadas al medio natural. La producción de microalgas como único alimento para las larvas, aporta los requerimientos de proteínas, carbohidratos, lípidos y micronutrientes que son necesarios en la dietas de las larvas de *Argopecten purpuratus*.

Así mismo se alimenta a los reproductores que se tiene en el Hatchery antes de cada desove.

El laboratorio de Producción de Microalgas del CALA, da capacitación a alumnos de distintas universidades del Perú que vienen a realizar Cursos de Entrenamiento; asesoramiento a empresas privadas que se encuentran en nuestras región; interesadas en ingresar a la actividad de maricultura; donde se explican los diferentes procesos de producción del Centro de Acuicultura.

Se proporciona cepas y reactivos necesarios para la producción, al Centro de Acuicultura de Morro Sama (Tacna) de acuerdo a sus requerimientos de producción.

A través de profesionales del CALA, se brinda asesoramiento al Centro de Acuicultura Morro Sama - FONDEPES, con la finalidad de implementar el Área de Microalgas y producir el alimento para las post-larvas de

“concha de abanico” que son enviadas de este Centro en el marco del Proyecto de Fijación Remota.

VI. PROBLEMAS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS

1. Energía eléctrica.
2. Temperatura adecuada.
3. Tiempo y procedencia de cepas.
4. Implementación de equipos adecuados.
5. Condiciones oceanográficas del mar.

DIAGRAMA DE FLUJO DE LA PRODUCCION DE MICROALGAS (SISTEMA BATCH).

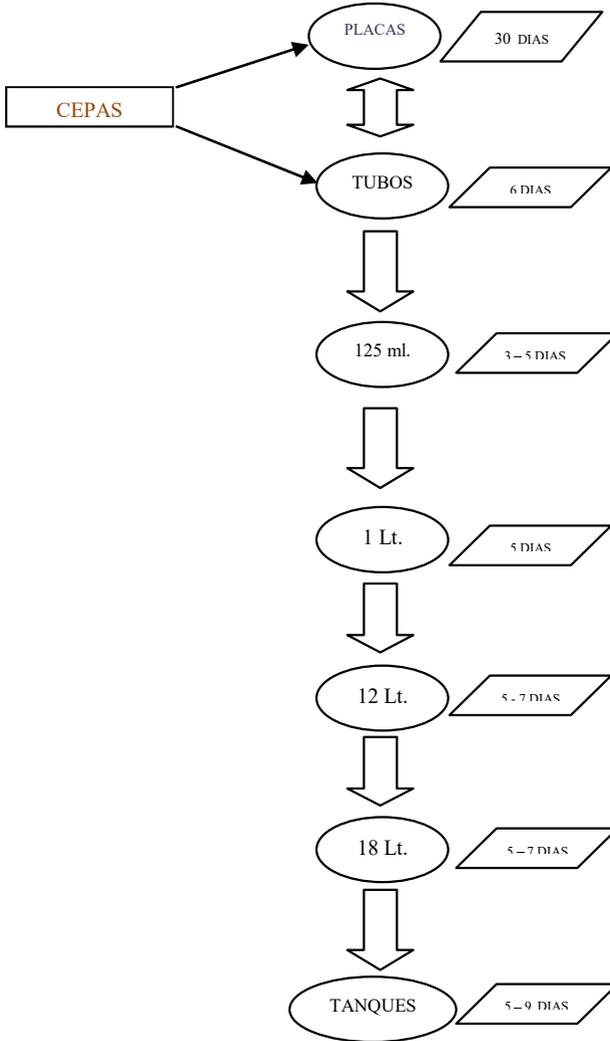


TABLA N° 01

MEDIO F/2

Para 1 litro de Agua destilada.

Cantidad a usar	Composición	Preparación de Nutrientes
1.0 ml	NaNO ₃	75.0 gr/Lt
1.0 ml	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	5.0 gr/Lt
1.0 ml	Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30.0 gr/Lt + 5ml de HCl
1.0 ml	F/2 Solución de metales trazas	
1.0 ml	F/2 Solución de Vitaminas	
2.0 ml	Tris	250.0 gr/Lt +147.5 ml de HCl

F/2 Solución de Metales Trazas

(Guillard & Rither 1962, Guillard 1975)

Para un volumen de 950 mililitros de agua destilada.

Cantidad a usar	Composición	Solución Stock
3.15 gr	FeCl ₃ .6H ₂ O	
4.36 gr	Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	
1.0 ml	CuSO ₄ .5H ₂ O	9.8 gr/Lt
1.0 ml	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	6.3 gr/Lt
1.0 ml	ZnSO ₄ .7H ₂ O	22.0 gr/Lt
1.0 ml	CoCl ₂ .6H ₂ O	10.0 gr/Lt
1.0 ml	MnCl ₂ .4H ₂ O	180.0 gr/Lt

Llevar a un volumen final de 1 litro con agua destilada.

F/2 Solución de Vitaminas.

(Guillard & Rither 1962, Guillard 1975)

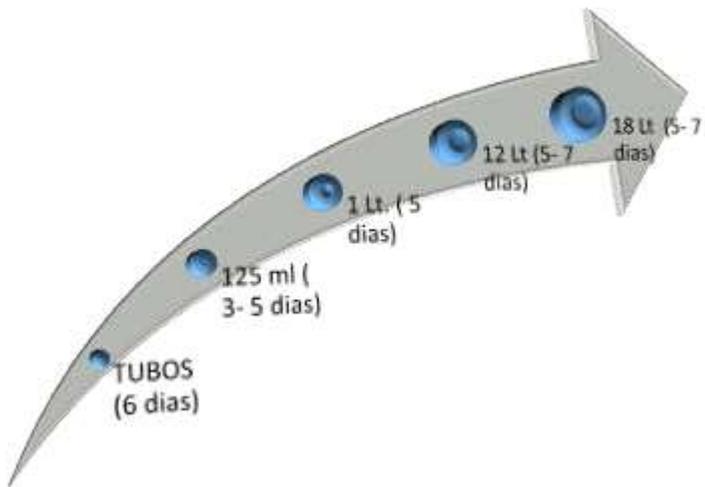
Cantidad a usar	Composición	Solución Stock
1.0 ml	Cyanocobalamina (B12)	1.0 gr/Lt
10.0 ml	Biotina	0.1 gr/Lt
0.2 gr	Thiamina HCl	

Autoclavar (excepto las vitaminas), luego refrigerar.

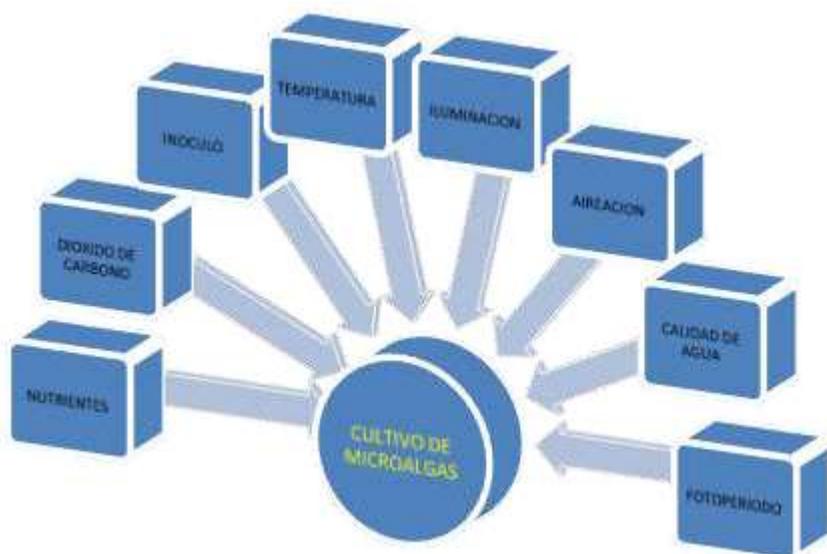
ETAPAS DEL CULTIVO DE MICROALGAS

CULTIVO INICIAL		CULTIVO INTERMEDIO			CULTIVO MASIVO
Tubos	Matraces de 125 ml	Matraces de 1.0 Lt.	Botellas de 12 Lt.	Botellas de 18 Lt.	Tanque de 450 Lt.
UV					
AUTOCLAVE					
FILTRADO A 1 MICRA					
FILTRADO A 0.2 MICRAS					
CLORINACION					
		CON AIREACION			
			CON CO2		

DIAS DE CULTIVO PARA LOS DIFERENTES NIVELES EN EL SISTEMA BATCH DEL CALA

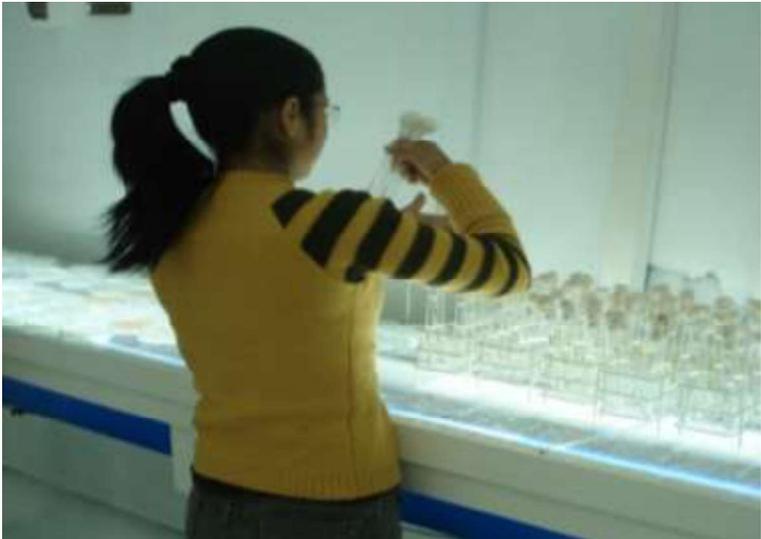


**REQUERIMIENTOS MINIMOS PARA EL
PROCESO DE CULTIVO DE MICROALGAS**





Sembrado de cepas en tubos (medio liquido)



Agitando cepas en medio liquido de las 4 sp microalgas



Cultivo inicial de microalgas nivel 125 ml.



Cultivo Intermedio de 4 sp microalgas (Nivel 1 Lt.)



Cultivo final de 4 sp microalgas nivel 18 lts. (ambiente controlado)



Cultivo final de 4 sp microalgas nivel 18 lts. (ambiente semi controlado)



Cultivo masivo de microalgas



Evaluación de densidades y condición de 4 sp microalgas



Esterilización en seco de materiales para cultivo (tapones de gasa y algodón)



Agua de mar filtrada y esterilizada (nivel inicial)