

589.364
A 189
1994 c.2

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL INNOVATIVA PARA CULTIVO DE SPIRULINA EN AMBIENTES SEMI-ÁRIDOS

FONTEC N° 94-0336

BIBLIOTECA CORFO

EMPRESA : ACUACULTIVOS BIONOR LTDA.
ENTIDAD EJECUTORA : ACUACULTIVOS BIONOR LTDA.

DICIEMBRE - 1995

589.364
A 189
1994 c.2.

TITULO DEL PROYECTO : METODOLOGÍA EXPERIMENTAL
INNOVATIVA PARA CULTIVOS
DE SPIRULINA EN AMBIENTES
SEMI-ÁRIDOS.

CÓDIGO DEL PROYECTO : 94 - 0336

RAZÓN SOCIAL EMPRESA : ACUACULTIVOS BIONOR LTDA.

ENTIDAD EJECUTORA : ACUACULTIVOS BIONOR LTDA.

JEFE PROYECTO : GUILLERMO NÚÑEZ MONTECINOS
MÉDICO VETERINARIO

JEFE TÉCNICO : ALEJANDRO BRICEÑO TAPIA
TÉCNICO PESQUERO

COSTO TOTAL DEL PROYECTO : \$ 43.329.883

APORTE FONTEC : \$ 24.866.122

APORTE BIONOR LTDA. : \$ 18.463.761

LUGAR : EL MOLLE, VALLE DE ELQUI,
COMUNA DE VICUÑA,
PROVINCIA DE ELQUI,
IV REGIÓN, COQUIMBO.

INDICE

	PÁGINA
1. RESUMEN	5
2. EXPOSICIÓN DEL PROBLEMA	9
2.1. Objetivos Técnicos	10
2.2. Innovación Propuesta	10
3. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO	11
3.1. Concepción e Implementación de la Innovación.	11
3.1.1. Diseño Innovativo de las Piscinas o Biorreactores.	11
3.1.2. Diseño de los Mezcladores Estáticos.	16
3.1.3. Construcción de Piscinas ó Biorreactores.	23
3.1.4. Instalación de Mezcladores	23
3.1.5. Preparación del Medio de Cultivo e Inoculación.	23
3.2. Desarrollo Experimental y Evaluación Estadística.	24
3.2.1. Control y Registro de Mediciones.	24
3.2.2. Evaluación y Sistematización del Proyecto.	26
4. RESULTADOS	28
4.1. Análisis Estadístico de Resultados.	29
4.2. Modelo Matemático para Mezclado.	31
4.3. Conclusiones.	32
5. IMPACTOS DEL PROYECTO	34
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

	PÁGINA
7. ANEXOS	37
7.1. Anexo I	38
- Variables(Densidad Óptica, Temperatura, pH), máximas y mínimas por piscina y por mes.	
- Gráficos	
7.2. Anexo II	44
- Tablas de Análisis Estadístico de Variables : Densidad Óptica, Temperatura y pH.	

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL PARA CULTIVO DE SPIRULINA EN AMBIENTES SEMI-ARIDOS

1. RESUMEN.

Acuacultivos Bionor Ltda., es una sociedad de responsabilidad limitada, que tiene como giro el desarrollo de actividades en el sector pesquero y acuícola.

La Empresa está orientada principalmente a la explotación de cultivos acuáticos de interés comercial y de alta rentabilidad. Actualmente, la empresa está desarrollando con éxito el cultivo comercial de Spirulina para consumo humano, encontrándose en estudio una serie de inversiones para el año 1996, con el fin de ampliar dicho cultivo y producir Spirulina de óptima calidad, en volúmenes que permitan su exportación. Esta proyección se fundamenta en el éxito obtenido en las investigaciones desarrolladas por sus profesionales en materia de manejo y aumento de la productividad de los biorreactores ó piscinas y a las ventajas que ofrece la zona donde está ubicada.

UBICACIÓN DE LA PLANTA:

La Planta, se encuentra ubicada a 32 Kms al Este de la ciudad de La Serena y a 16 kilómetros de distancia del Observatorio Astronómico Interamericano de Cerro Tololo, en la localidad de El Molle, al interior del Valle de Elqui. En este lugar, de acuerdo a termo fotografía satélital, se dan condiciones de microclima, con un elevado promedio de irradiación fotosintéticamente activa, lo cual favorece enormemente el desarrollo de éstas microalgas.

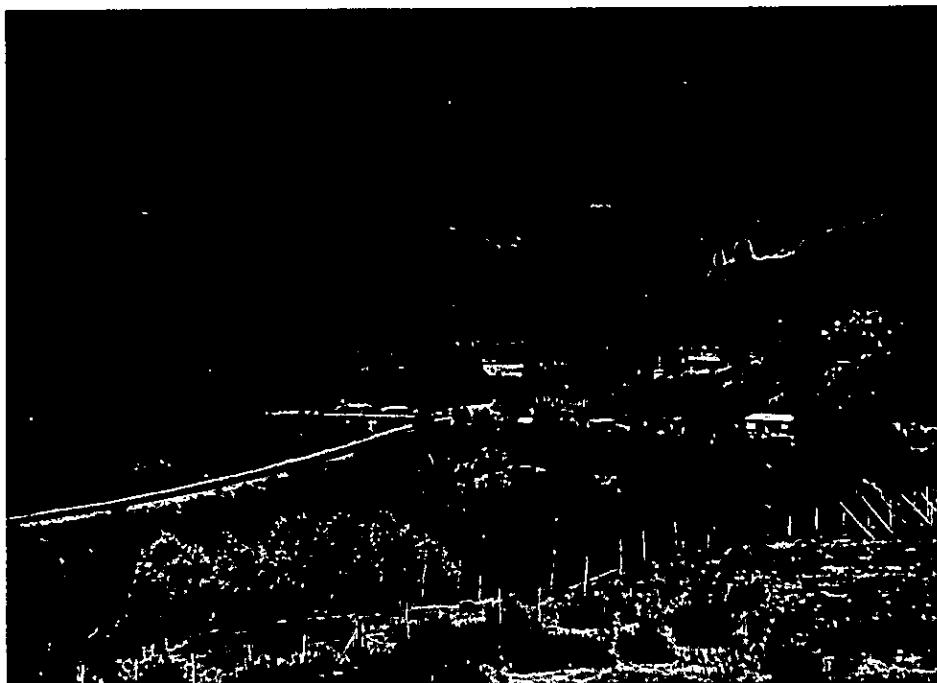
El Molle es un lugar de fácil acceso, libre de contaminación y polución ambiental, con abundantes napas de aguas subterráneas de excelente calidad, necesarias para el desarrollo de este tipo de cultivos sin riesgo de contaminación.

CONDICIONES CLIMÁTICAS DE PRODUCCIÓN:

Medio Ambiente	:	Libre de Contaminación
Clima	:	Semi - Arido (seco)
Temperatura media en verano	:	30° C ± 3°C
Temperatura media en invierno	:	12° C ± 6°C
Pluviometría	:	30 milímetros anuales
Días despejados, alta radiación	:	340 días/año (93%)

SISTEMA DE CULTIVO UTILIZADO:

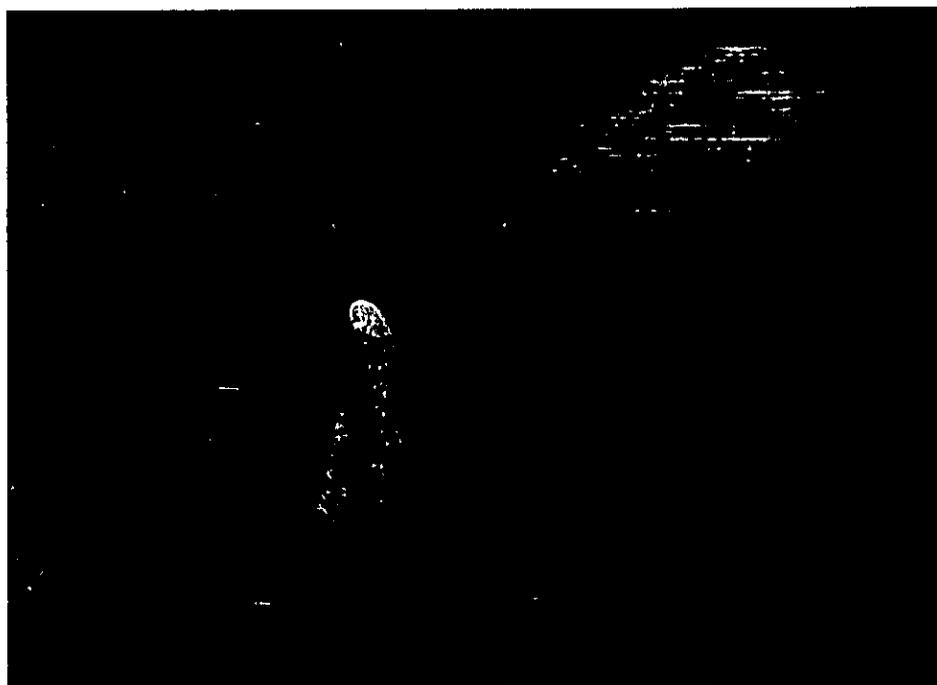
La producción de Spirulina se desarrolla en piscinas ó biorreactores de 300 mt² c/u, con doble canal, cubiertos, para lograr un ambiente controlado y evitar contaminación con insectos, cuerpos extraños o partículas sólidas en suspensión. Se utiliza medio de cultivo Zarrouk Modificado preparado con aguas certificadas como aptas para el consumo humano, provenientes de pozos de captación de aguas subterráneas, propios.



Valle de Elqui, sector donde se encuentra ubicada la Planta Productiva de Acuacultivos Bionor Ltda.



Vista interior de un biorreactor cubierto, en funcionamiento.



Vista en la que se puede apreciar la coloración y velocidad de movimiento del medio de cultivo.

PROYECTO TECNOLÓGICO:

Acuacultivos Bionor Ltda., ante las expectativas que ofrece el cultivo de Spirulina con fines comerciales y ante la importancia que tiene para el aumento de la producción el proceso de fotosíntesis, desarrolló este proyecto de cultivo de Spirulina adecuando y modificando tecnología usada en otros países para aplicarla al cultivo de esta microalga en zonas semiáridas, específicamente en el Valle de Elqui. El proyecto consideró además el desarrollo de mezcladores estáticos para optimizar el proceso de fotosíntesis.

Los objetivos perseguidos estuvieron orientados a diseñar una piscina ó biorreactor de bajo costo, fácil de operar, factible de ser utilizado en zonas semiáridas y a mejorar el sistema de mezclado del medio de cultivo existente en las piscinas, para así, óptimizar el proceso de fotosíntesis y lograr aumentar la productividad.

IMPACTOS TÉCNICOS Y ECONÓMICOS:

La Empresa logró demostrar la factibilidad de desarrollar comercialmente el cultivo de la microalga Spirulina en el Valle de Elqui y sustituir importaciones. En el campo técnico, logró demostrar experimentalmente en biorreactores productivos, la eficiencia de un mezclador estático, diseñado por sus profesionales para mejorar el proceso de fotosíntesis, con el consiguiente aumento de la productividad.

Los mayores conocimientos adquiridos por los profesionales durante el desarrollo del Proyecto, permitiran, a corto plazo, realizar las inversiones necesarias para ampliar las instalaciones y aumentar la capacidad productiva de la Empresa, permitiendo así, abordar en mejor forma el mercado interno y externo.

2. EXPOSICIÓN DEL PROBLEMA.

La Spirulina es una microalga verde azulada con forma helicoidal, que en la actualidad, cobra especial interés para la alimentación humana dado su elevado porcentaje de proteínas de excelente calidad (60 a 70%) y a su gran contenido de vitaminas y minerales.

Las experiencias conocidas en el país sobre cultivo de microalgas no han sido muy exitosas, dada la falta de experiencia en el desarrollo industrial de este tipo de cultivos y a la falta de asesoría tecnológica adecuada.

Experiencias internacionales muestran que es posible desarrollar este tipo de cultivos en forma comercial, logrando niveles de producción que hacen económicamente atractivo este tipo de cultivos, en la medida que existe un adecuado diseño de los biorreactores y los factores ambientales como luminosidad, temperatura y radiación solar son adecuados.

Cultivos experimentales de Spirulina, en pequeña escala, fueron desarrollados con éxito al interior del Valle de Elqui por profesionales incorporados a la empresa Bionor Ltda. Ésto, motivó al equipo de investigadores a diseñar nuevas experiencias para aumentar sus conocimientos en el tema, cobrando especial interés, la búsqueda de una mayor eficiencia en los biorreactores ó piscinas, ya sea, aumentando sus dimensiones ó mejorando el proceso de mezclado del medio de cultivo.

Un buen mezclado, permite que todas todas las microalgas tengan acceso en algún momento, a la radiación solar y puedan realizar el proceso de fotosíntesis en buena forma. Es conocido que el mezclado no es muy eficiente en biorreactores ó piscinas impulsados por paletas, ya que se produce un flujo laminar sin renovación de capas, restando la posibilidad de las células que se encuentran en los segmentos inferiores de la columna de agua, de tomar contacto con la luz solar.

2.1. OBJETIVOS TÉCNICOS:

- Optimizar el proceso de fotosíntesis incorporando elementos mecánicos estáticos para favorecer el mezclado y con ello aumentar la productividad de los biorreactores.
- Diseñar modelos de mezcladores eficientes y de bajo costo, para ser utilizados en el cultivo de Spirulina.
- Analizar el comportamiento productivo de los biorreactores en estudio con respecto al de control.
- Evaluar estadísticamente las innovaciones tecnológicas en términos de eficiencia y productividad.
- Demostrar la factibilidad de desarrollar cultivos de Spirulina en la IV Región y sustituir importaciones.
- Sistematizar las experiencias acumuladas.

2.2. INNOVACIÓN PROPUESTA:

Se planteó la hipótesis de mejoramiento de la producción de Spirulina mediante una mejora en el proceso de mezclado. Los primeros análisis y experiencias en el tema indicaron que, por un lado, se debía introducir modificaciones menores en el diseño de los biorreactores y por otro lado, se debían usar elementos que garantizaran un buen mezclado de las células en las distintas etapas del proceso de fotosíntesis y de multiplicación.

3. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO

Para el desarrollo de la experiencia se planificó un conjunto de actividades, agrupadas en dos fases: Concepción e Implementación de la Innovación y Desarrollo Experimental y Análisis Estadístico, donde cada fase se desarrollo en dos etapas.

3.1. CONCEPCIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE LA INNOVACIÓN

3.1.1. Diseño Innovativo de las Piscinas o Biorreactores.

En esta etapa se analizaron las formas, dimensiones, materiales de construcción y mecanismos internos y externos, impulsores del medio de cultivo existente en cada piscina.

Se efectuaron reuniones de trabajo, las que tuvieron como resultado la elección de piscinas tipo Race-Way, a las que se les efectuaron algunas modificaciones:

- Estrechamiento de la sección del conducto vehicular del fluido, para lograr el efecto del principio de Venturi.
- Cabezales de concreto de menor tamaño.
- Mayor velocidad de giro de las paletas impulsoras(de 18 r.p.m. a 28 r.p.m.).
- Instalación de sistemas tipo ventana para mejorar el control de la temperatura.

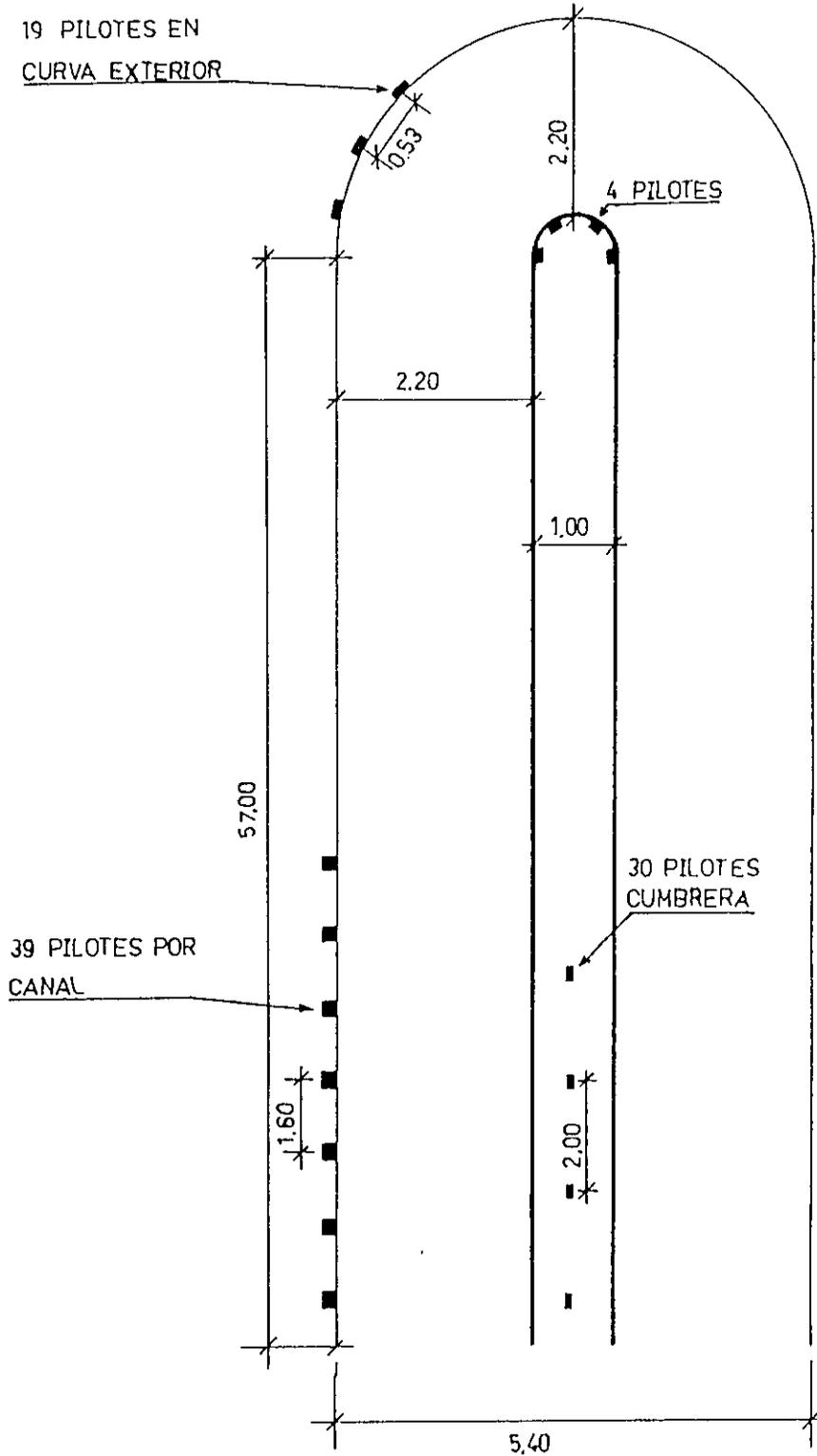
En las experiencias se utilizaron 5 piscinas iguales: una de control y cuatro con diferentes tipos de mezcladores.

**DIMENSIONES Y CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS
DE CADA PISCINA O BIORREACTOR.**

Largo cabezal delantero	: 6 metros concreto
Largo cabezal trasero	: 3 metros concreto
Ancho canales contenedores	: 2,2 metros
Ancho canal central	: 1,0 metros
Ancho total	: 5,40 metros
Largo total	: 66 metros
Altura contenedores	: 0,45 metros
Volumen de agua utilizado	: 40 metros
Altura columna de agua	: 10 cmts.
Espesor plástico Pecc (negro)	: 0,5 mm, 2,80 de ancho
Dimensión y espesor polietileno UV:	0,15 micras 2,00 mt ancho
Motorreductor	: 1 HP ; 0,75 KW; 28 r.p.m.
Espesor acrílico paleta	: 6 mm transparente.

ESQUEMA BIORREACTOR

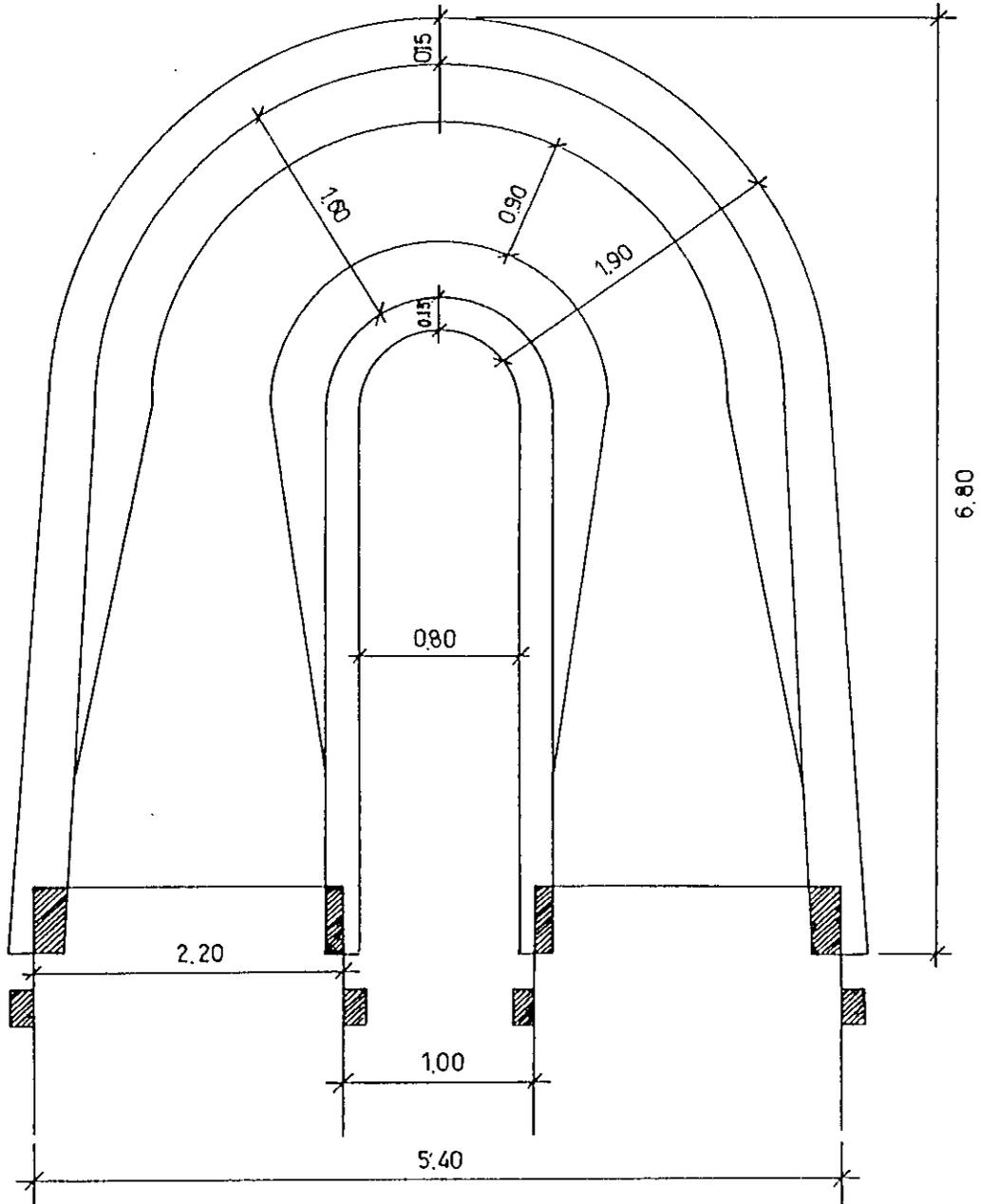
ESTRUCTURA PISCINA



NOTAS: EL LARGO TOTAL DE LA PISCINA INCLUIDO EL CABEZAL DE CONCRETO ES DE 66 MTS.

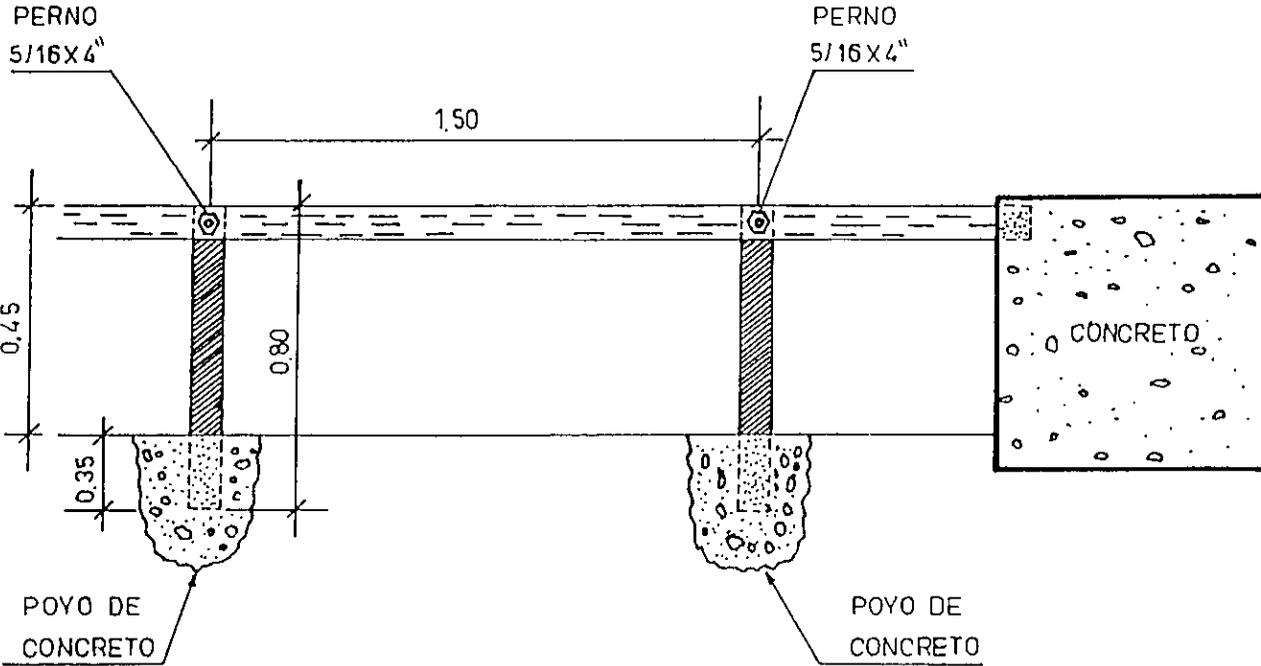
ESQUEMA BIORREACTOR

CABEZAL



ESQUEMA BIORREACTOR

DETALLE ESTRUCTURA



3.1.2. Diseño de Mezcladores Estáticos.

Durante este período, se realizaron varias sesiones de trabajo, logrando establecer, previo estudio del comportamiento del fluido, el diseño de los elementos de turbulencia y su ubicación.

El mezclado de la biomasa, en el caso de la producción de Spirulina, debe garantizar que los primeros factores que afectan la producción se vean favorecidos: la exposición a la luz y la disponibilidad de nutrientes.

Se sabe también (J.Baker, Chem, Eng. Progress, pags. 32 y 38, junio 1991) que los mezcladores sin movimiento (Motionless Mixers) son los mas adecuados para procesos como el de la producción de Spirulina.

Estos mezcladores no rompen las células, tienen una baja perdida de carga, producen un flujo adecuado, simplifican la operación y mantención de la Planta y pueden llegar a ser de bajo costo.

Existe una amplia gama de mezcladores sin movimiento para diversos fines. En el caso de este Proyecto se debe identificar uno para fluidos de baja viscosidad y que produzcan un mezclado vertical (perpendicular al flujo), que garantice el intercambio de las capas del fondo con la superficie, manteniendo así una buena proporción entre el tiempo de exposición a la luz y la fase oscura de la fotosíntesis, (Fig.1).

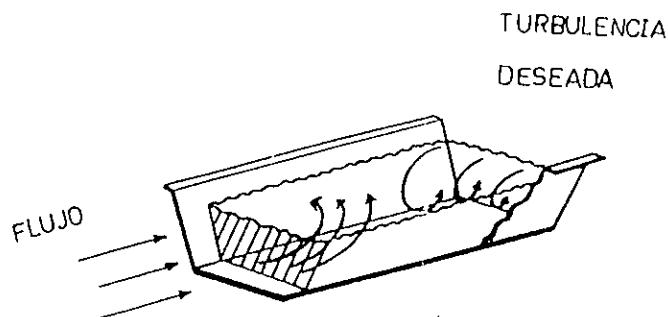


Figura 1.- Turbulencia Deseada.

Se debe considerar además, que en las paredes del canal, se producen esfuerzos de corte que retardan el flujo, por lo que se debe favorecer el mezclado transversal, (Fig.2).

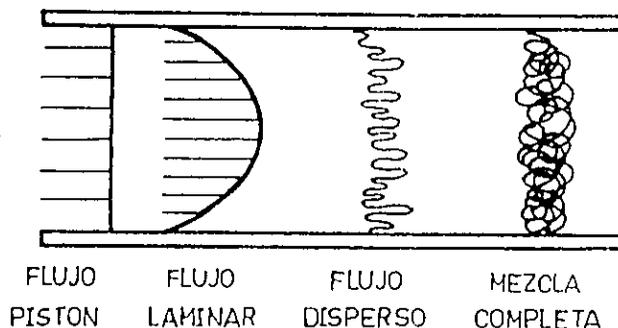


Figura 2.- Diferentes Tipos de Flujo.

Considerando las características de impulsión del fluido (un conjunto de aspas a revolución constante a lo ancho del canal) se estima -a priori- que el flujo debería ser de tipo disperso.

Para calificar y cuantificar el tipo de flujo, se estimó conveniente realizar un "estudio experimental de tiempos de residencia" (DTR) a partir del cual se pudo determinar el llamado coeficiente de dispersión (D) y que representa de manera simplificada el tipo de flujo, entre los extremos flujo pistón ($D = 0$) y mezcla completa ($D = \infty$).

Los experimentos preliminares realizados en uno de los reactores reales construidos durante el Proyecto, indicaron que la dispersión es pequeña pero que hay importantes zonas muertas o estancadas, y algunas zonas de menor recirculación de fluido. Las zonas muertas, están presentes principalmente en las paredes, fondo del canal, en la recirculación de las curvas y en las cercanías de las paletas de impulsión, aguas arriba.

En base a los antecedentes de la distribución de tiempo de residencia (DTR) realizada, y a información encontrada en la literatura, se diseñaron cuatro mezcladores estáticos (Fig.3). En el diseño de cada mezclador se dió importancia a la mejora de los factores de mezclado.

Tipo 1 : Favorece la renovación de capas inferiores y superiores.

Tipo 2 : Favorece la renovación mas intensa de capas y algo de mezclado transversal.

TIPO 3: Favorece la renovación de capas y disminución de espacios muertos.

Tipo 4 : Produce una mezcla perfecta en sentido vertical.

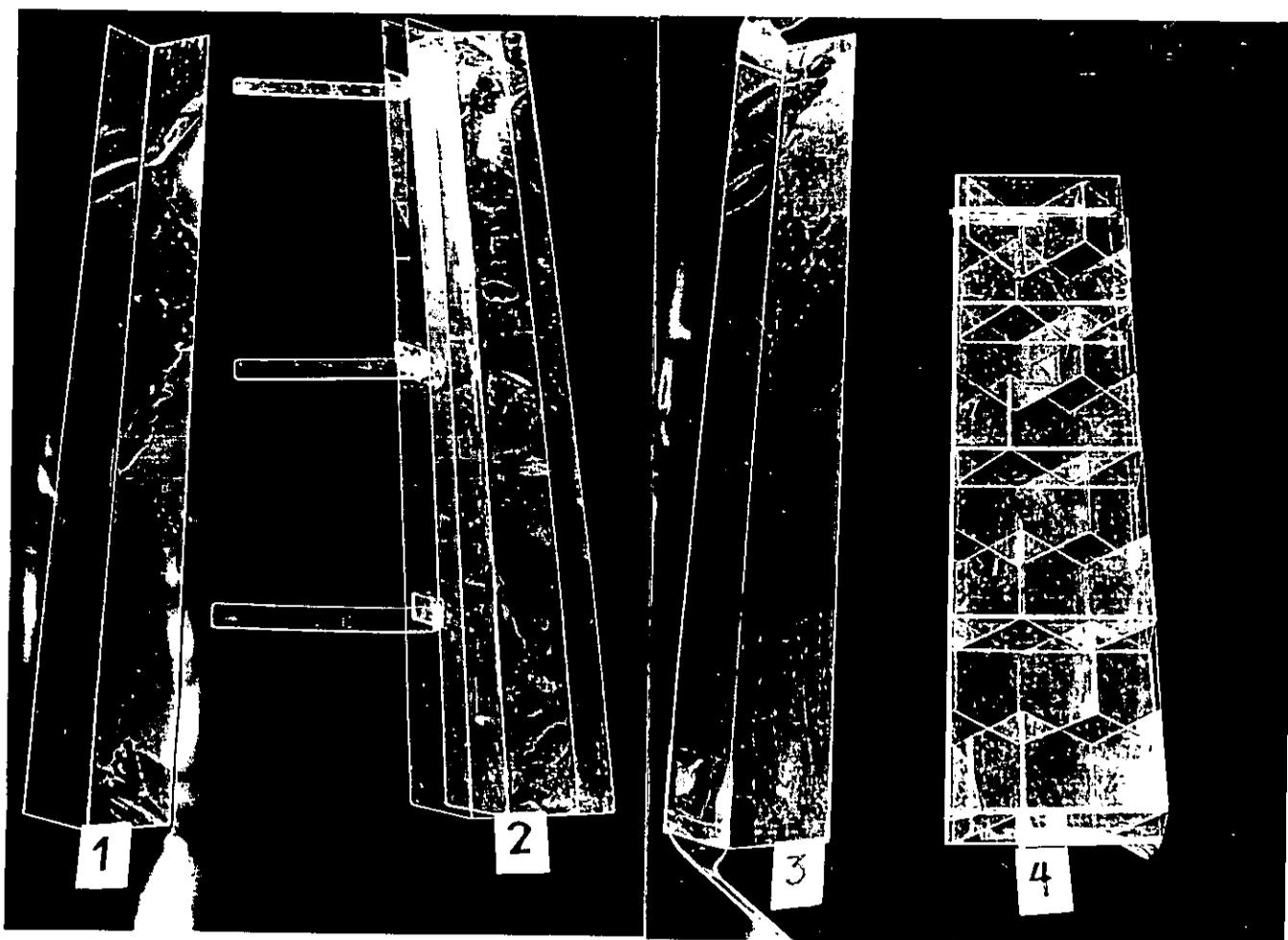
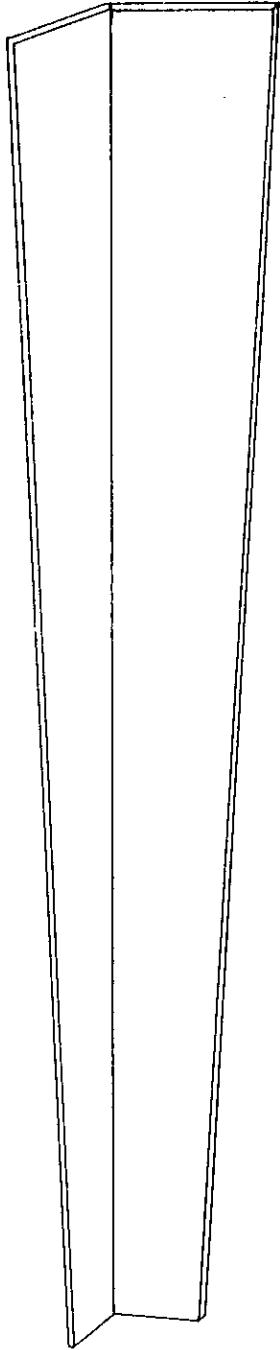


Figura 3.- Mezcladores estáticos utilizados en el proyecto, debidamente identificados.

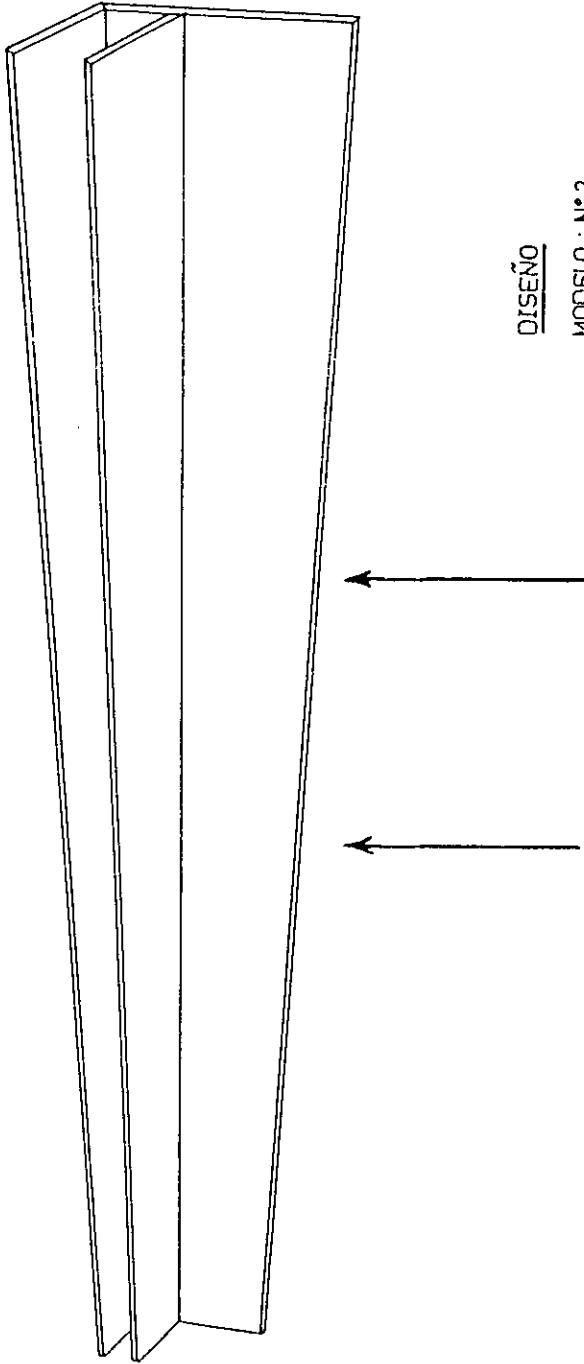


DISEÑO

MODELO: N° 1

MATERIAL: ACRILICO 6 MM.

ESCALA : 1:20

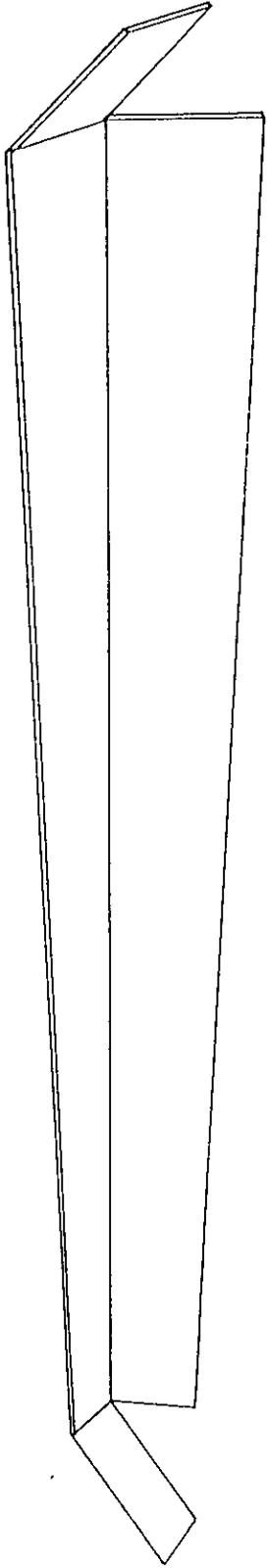


DISEÑO

MODELO : N° 2

MATERIAL: ACRILICO 6 MM

ESCALA : 1:20



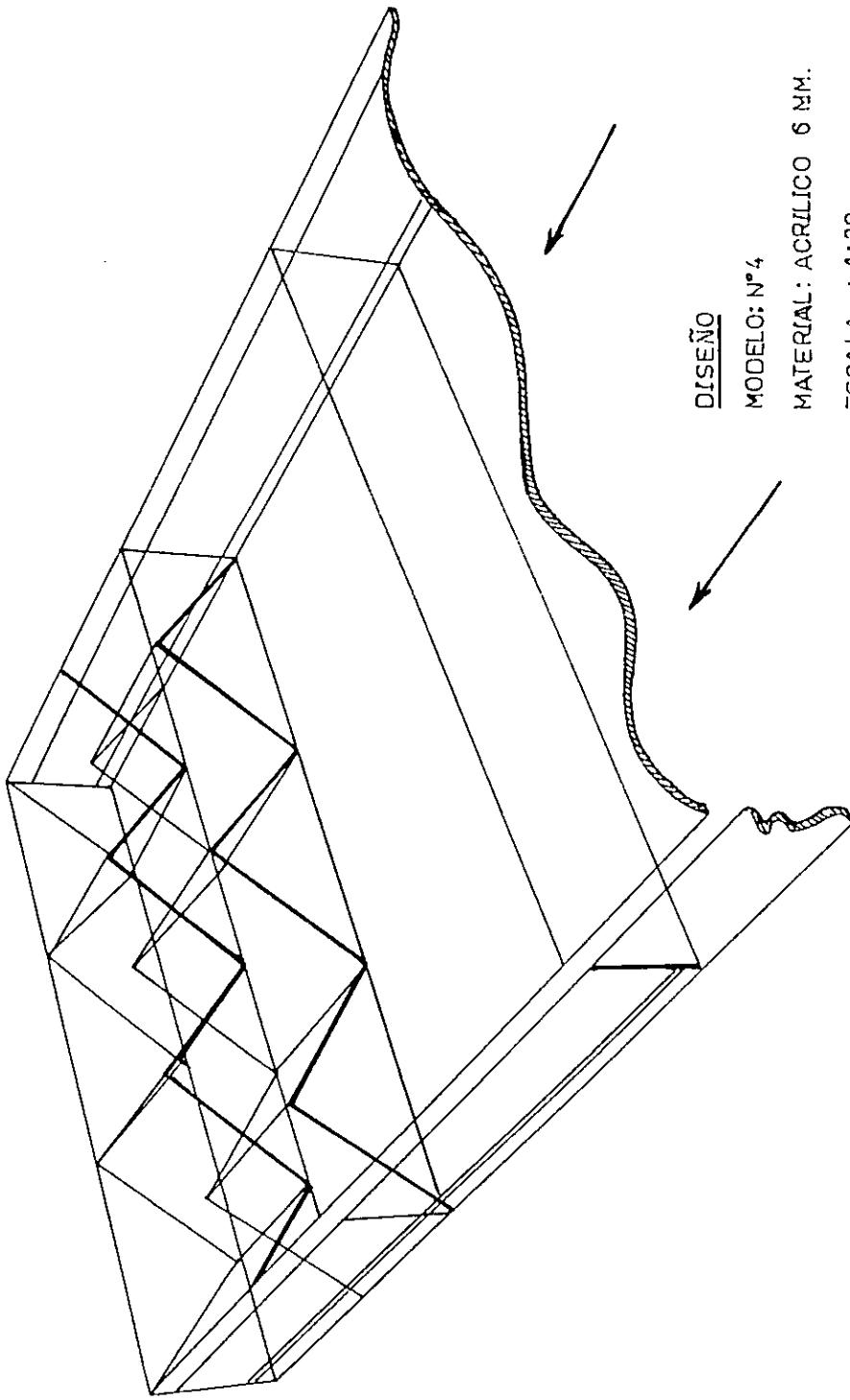
DISEÑO

MODELO : N°3

MATERIAL : ACRILICO 6 MM.

ESCALA : 1:20





DISEÑO

MODELO: N° 4

MATERIAL: ACRILICO 6 MM.

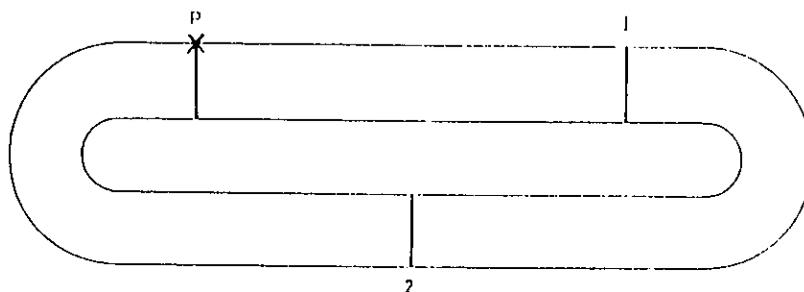
ESCALA : 1:20

3.1.3. Construcción de Piscinas ó Biorreactores.

En ésta etapa, se construyeron los Biorreactores experimentales de acuerdo a los diseños establecidos, fueron cubiertos para disminuir la evaporación y evitar la contaminación a través de insectos y polvo, utilizando para ello, una lámina de polietileno tratado con filtro UV.

3.1.4. Instalación de Mezcladores.

Los diferentes modelos de mezcladores fueron instalados en los biorreactores a una distancia de 44 mts. y 88 mts. de distancia del sistema de agitación, que por sus características, por si solo produce un eficiente mezclado y la consiguiente turbulencia (Fig.4).



PISCINA DE PRODUCCION DE SPIRULINA

P= PALETAS DE AGITACION

1Y2: UBICACION DE MEZCLADORES

Figura 4.- Ubicación de Zonas de Turbulencia.

Se consideró que con esta disposición de los mezcladores, el flujo sería alterado en tres sectores de la piscina, dando la posibilidad, a que todas las células en mayor o menor grado fuesen expuestas a la luz solar.

3.1.5. Preparación de Medio de Cultivo e Inoculación.

Una vez terminada la construcción de los biorreactores, se procedió a preparar el medio de cultivo, para posteriormente proceder a inocular los biorreactores con cepas de Spirulina mantenida por Bionor Ltda.

MEDIO DE CULTIVO UTILIZADO (ZARROUK).

Elemento	gr/lt
Na HCO ₃	16,80
Na NO ₃	2,50
K SO ₄	1,00
E.D.T.A	0,08
K ₂ HPO ₄	0,50
Fe SO ₄	0,10
Ca Cl ₂	0,04
Mg SO ₄	0,20
Na Cl	1,00

Inoculado los biorreactores, se familiarizó al personal durante 8 semanas con los procesos, equipos y procedimientos a utilizar, con el fin de minimizar la posibilidad de error humano.

3.2. DESARROLLO EXPERIMENTAL Y EVALUACIÓN ESTADÍSTICA.

3.2.1. Control y Registro de mediciones.

Previo a la obtención de registros de temperatura, densidad óptica, pH, oxígeno disuelto y luminosidad, se estandarizaron las cinco piscinas en cuanto a la altura de la columna de agua (20 cm) y a la concentración de microalgas 0.300 a 0.500 nm (densidad óptica).

Se tomaron muestras de 100 ml dos veces al día, a las 9:00 A.M. y 17:00 P.M., para efectuar los análisis correspondientes.

Los equipos utilizados son los que a continuación se indican:

- Temperatura : Termómetro digital YSI modelo 58
Escala : -50 a 45°C
Precisión : +/- 0.30°C
- Densidad óptica : Espectrofotómetro Spectronic 20 D
Escala : 340 nm a 950 nm
Precisión : 2.5 nm

- pH : Medidor pH Orion modelo 399 A/F
Escala : 0 a 14
Precisión : +/- 0.02
- Oxígeno disuelto : Oxigenómetro YSI modelo 58
Escala : 0 a 20.0 mg/L
Precisión : +/- 0.03 mg/L
- Luminosidad : Luxómetro Lunasix 3
Escala : 0 a 350.000 lux
- Conductividad : Conductímetro HANNA
Escala : 100 a 19900 ms/cm
Precisión : +/- 2%

Las mediciones se efectuaron durante un año (Diciembre 1994 a Noviembre 1995). Diversos tipos de gráficos dan cuenta de los principales resultados (Anexo I). El Gráfico 1, muestra variaciones en la densidad óptica, como se sabe, ésta es proporcional a la cantidad de Spirulina en suspensión.

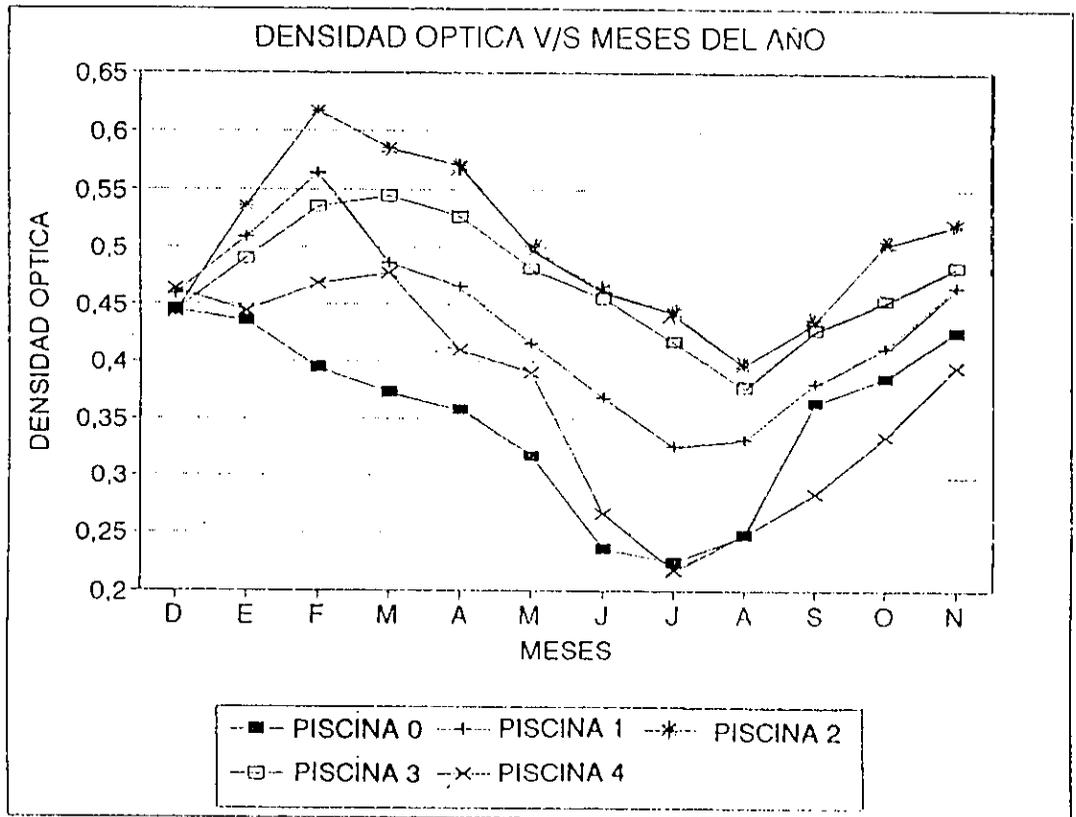


Gráfico 1.- Variaciones en la densidad óptica, según modelo de mezclador utilizado. La piscina 0, es el control. Las piscinas 1 a 4 poseen distintos tipos de mezcladores diseñados en el proyecto.

3.2.2. Evaluación y Sistematización del Proyecto.

El análisis de datos indicó, que las variables que presentan mayor incidencia sobre la densidad óptica son la eficiencia de mezclado, la temperatura y el pH. Éstas fueron las variables consideradas en el análisis y discusión final de los resultados.

CARTA GANTT PROYECTO N° 94 - 0336

METODOLOGIA EXPERIMENTAL INNOVATIVA PARA CULTIVO DE SPRILLINA EN AMBIENTES SEMIABRIDOS																			
ETAPAS Y ACTIVIDADES	JULIO MES 1	AGOSTO MES 2	SEPTIEMBRE MES 3	OCTUBRE MES 4	NOVIEMBRE MES 5	DICIEMBRE MES 6	ENERO MES 7	FEBRERO MES 8	MARZO MES 9	ABRIL MES 10	MAYO MES 11	JUNIO MES 12	JULIO MES 13	AGOSTO MES 14	SEPTIEMBRE MES 15	OCTUBRE MES 16	NOVIEMBRE MES 17	DICIEMBRE MES 18	
ETAPA A: DISEÑO INNOVATIVO																			
VISITAS A TERRENO	X																		
REUNIONES DE TRABAJO	X																		
ETAPA B: MONTAJE E IMPLEMENTACION																			
ADICIONAMIENTO A TERRENO		X																	
ADQUISICION EQUIPOS, INSTRUMENTOS		X																	
MULTIPLICACION DE CEPAS			X																
COMERCIALIZACION ELEMENTOS TURBULENCIA		X																	
CONTRATACION DE PERSONAL DE APOYO		X																	
CONSTRUCCION DE BIOPREACTORES		X																	
IMPLEMENTACION DE BIOPREACTORES			X																
ETAPA C. CONTROL, REGISTRO DE DATOS																			
INOCULACION DE BIOPREACTORES						X													
REGISTRO DE DATOS					X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
INFORMES TRIMESTRALES INTERNOS					X														
ANALISIS DE CALIDAD SPRILLINA					X														
REUNIONES EQUIPO DE TRABAJO			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ETAPA D. EVALUACION Y SISTEMATIZACION																			
ANALISIS DE DATOS EXPERIMENTALES									X										X
ENTREGA DE INFORMES A FONTEC												X							X

4. RESULTADOS

De acuerdo al análisis de varianza realizado a la información recopilada, se calcularon los coeficientes de correlación para la densidad óptica (Y) de cada piscina en función de la Temperatura (T) y el pH, generando las siguientes ecuaciones:

Piscina 0	$Y = 0,41794 + 0,01729 T - 0,05824 \text{ pH}$
Piscina 1	$Y = 0,57170 + 0,28530 T + 0,05740 \text{ pH}$
Piscina 2	$Y = 0,87257 + 0,02720 T + 0,04516 \text{ pH}$
Piscina 3	$Y = 1,03125 + 0,02605 T + 0,06025 \text{ pH}$
Piscina 4	$Y = 0,14157 + 0,02731 T - 0,03568 \text{ pH}$

Analizando el Gráfico 4, Densidad Óptica v/s Piscina (Anexo I), el mayor promedio de densidad óptica se logró en la piscina 3, para un rango de temperaturas entre 31,9°C y 32,7°C. Con respecto al pH, la piscina 3 es la de mayor promedio, 10,71 - 10,97.

Según el Gráfico 2, Densidad Óptica v/s Mes (Anexo I), se puede observar que la tendencia a lograr mayor productividad de la Spirulina, medido mediante la densidad óptica, es en el mes de febrero, para decaer significativamente hacia los meses de Invierno y posteriormente producir el incremento a medida que se acerca la Primavera. (Gráfico 2,3 y 4, Anexo I).

De acuerdo a la productividad de la Spirulina, el comportamiento de las piscinas tiene el siguiente orden, de mayor a menor: Piscina 2,3,1,4 y 0.

Finalmente, de acuerdo a los resultados analizados, la mejor concentración de Spirulina se obtuvo en la piscina 2. Según estos antecedentes, la temperatura y el pH, si bien es cierto, tienen influencia en el proceso, especialmente la temperatura, dicha influencia no es significativa. Esto se debe a que todas las piscinas están sometidas a las mismas condiciones ambientales y de nutrientes. Luego, la mayor producción de Spirulina, está ligada al efecto de eficiencia de mezclado producido por la agitación homogénea del fluido en la piscina.

Por otro lado, la temperatura en las diferentes piscinas, se mantuvo en rangos similares (32-33°C), excepto en la piscina 1 donde las máximas temperaturas alcanzaron ocasionalmente los 33.8°C. Sin embargo, los resultados muestran que este ocasional aumento de temperatura no tiene mayor incidencia en la producción de Spirulina, siendo el factor más importante, el mezclado (Gráfico 5, Anexo I).

El comportamiento de la piscina 4, puede ser atribuido a la menor velocidad del fluido, producida por el tipo de mezclador utilizado en ella, el cual genera una mayor pérdida de carga.

4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS

De la Tabla 1 (Anexo II) de análisis de varianza de dos factores, se observa que la estacionalidad incide significativamente en el comportamiento de la producción de la biomasa de Spirulina, como también depende de la innovación tecnológica de cada piscina y tipo de mezclador utilizado.

Con respecto al clima, Tabla 2 (Anexo II), se deduce que el comportamiento esperado para el conjunto de piscinas, es análogo para el período Verano y Otoño, presentando diferencias significativas con respecto a Invierno y Primavera. Esto se puede verificar visualmente en los Gráficos 3 y 5 (Anexo I), por estacionalidad y por mes, respectivamente.

Del análisis múltiple, Tabla 3 (Anexo II), se observa que las innovaciones introducidas en cada piscina producen un mejoramiento significativo respecto a la piscina control o piloto (piscina 0), exceptuando la piscina 4.

De la Tabla 4 (Anexo II), análisis multifactorial, se observa que el F calculado de Fisher para el factor mes y piscina a un nivel de confianza de 95% es altamente significativo, dado que el estadígrafo es muy superior a la unidad.

Del análisis para el factor mes, de éstos cálculos estadísticos, se deduce que el mes de actividad productiva influye directamente en el rendimiento de cada piscina. Se puede destacar que no hay diferencia significativa en el rendimiento de las piscinas en los meses de mayor producción, Tablas 5 y 6 (Anexo II).

Con respecto al análisis de rango múltiple para las piscinas, se deduce que existen claramente dos pares de piscinas que no presentan diferencias significativas: piscina 0 y 4; piscinas 2 y 3, pero analizando el comportamiento productivo (Gráfico 4), se observa claramente que la piscina 2 tiene el mayor rendimiento, mientras que las piscinas 0 y 4 tienen el mas bajo rendimiento productivo.

De la Tabla 8 (Anexo II), análisis de varianza para Temperatura con factores Mes y Piscina, se observa que con 95 % de confianza, el factor que influye significativamente en el nivel de la densidad óptica en la capa fótica, en el mes en que la piscina esta produciendo, en el microclima del Valle de Elqui. El efecto piscina no es significativo.

Del análisis de rango múltiple, Tabla 9 (Anexo II), se aprecia que las piscinas 1 y 2 presentan diferencias significativas en el comportamiento de producción de Spirulina, medido indirectamente a través de la densidad óptica.

Visualmente, se pueden ver las tendencias en Gráficos 1 y 2 (Anexo I), respectivamente, además en Tablas 10 y 11 (Anexo II), la variación de la temperatura en los meses 1-5, 2-5, 6-7, 6-11, 6-12, 7-11, 8-9, 8-10, 9-10, no presentan diferencias significativas en su intervalo de variación.

El análisis de varianza, Tabla 12 (Anexo II), indica que influye sólo el factor mes en el pH, el efecto piscina es insignificante, de acuerdo a la distribución F.

La Tabla 13 (Anexo II) análisis de rango múltiple, respalda tal situación al no denotar estadística significativa. No así, la Tabla 14 y 15 (Anexo II), entregan para el factor mes, diferencias significativas especialmente al comparar los primeros cuatro meses con los restantes.

De este análisis, se puede concluir que la producción de Spirulina manifestada por la densidad óptica, puede ser representada en función de la temperatura F del pH como:

$$y = a + b \cdot T + c \cdot \text{pH}$$

Los parámetros a, b y c son característicos de cada piscina. Para el caso de piscinas con agitadores estáticos, el parámetro "a" es negativo. "b" varía de 0.026 a 0.029 y "c" varía de -0,035 a + 0:060.. Debe destacarse que este modelo para y es 11,5 (que corresponde a los rangos de trabajo)

4.2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA EL MEZCLADO

De los estudios realizados, dos aspectos son de especial importancia al analizar los resultados, por un lado la cunтификаción de "anomalías del mezclado" (representada por espacios estancados, recirculación de fluido y desviaciones de flujo) y por otro, la producción de Spirulina representada por la variable densidad óptica medida a lo largo del período del proyecto.

Las "anomalías de mezclado" son cuantificadas a través de la Distribución de Tiempos de Residencia (DTR). de acuerdo a las experiencias y a información de la literatura, un buen modelo para representar la DTR es una extensión del modelo de Wolf y Resnick (1963) y que considera como parámetros la eficiencia en el mezclado (μ), el retardo en la respuesta (recirculación y espacios muertos (ϵ)) y el acercamiento o alejamiento de flujo pistón (N), además del tiempo medio de residencia (Valderrama y Yañez, 1990).

$$E(t) = \left[\frac{\mu}{\tau} \right]^N * \frac{(t-N)^{N-1}}{(N-1)!} * \exp \left[\frac{\mu}{\tau} (t-N\epsilon) \right]$$

Este modelo ha sido probado con ensayos preliminares en las piscinas de producción de Spirulina. Los valores usuales de los parámetros del modelo son :

$$N = 3-8, \quad \mu = 1-5 \quad \text{y} \quad \epsilon/\tau = 0.2-0.8.$$

4.3. CONCLUSIONES

- 1) La Spirulina puede ser cultivada en forma industrial en la IV Región, Valle de Elqui, con la tecnología adecuada.
- 2) Los experimentos de Distribución de Tiempos de Residencia han sido determinantes en la definición de las "anomalías" de mezclado presentes en las piscinas de producción de Spirulina. Las principales anomalías detectadas son la "eficiencia del mezclado" (renovación de capas en forma vertical) y los espacios muertos (zonas de estancamiento en las paredes de los biorreactores).
- 3) Es posible disminuir las anomalías de mezclado con la introducción de mezcladores estáticos, diseñados especialmente para los biorreactores de Spirulina.
- 4) La variable más significativa en la producción de Spirulina es la "calidad" del mezclado (manteniendo la temperatura y el pH en rangos aceptables y conocidos, con una disponibilidad de nutrientes adecuados). Los parámetros de mezclado (y que definen finalmente la productividad de Spirulina) dependen principalmente del tipo de mezcladores usados en el proceso.
- 5) El mezclado estático más eficiente es aquel que combina en forma adecuada, el mezclado vertical y transversal (Modelo 2), y disminuye los espacios muertos ubicados en las paredes de las piscinas (Modelo 3).
- 6) La zona donde se desarrolló la experiencia muestra condiciones óptimas en cuanto a luminosidad natural. Se desprende entonces, que la luminosidad no tuvo influencia crítica en la producción de Spirulina, en los diferentes biorreactores ó piscinas utilizados en la experiencia. Se observa, en todo caso, una disminución en la producción de Spirulina en los meses de Otoño e Invierno. Éste resultado, es esperado de acuerdo a antecedentes mencionados en la literatura, que indican que la producción de Spirulina es influenciada por la estacionalidad (variaciones en la luminosidad y en la temperatura).

- 7) Un modelo lineal para la producción de Spirulina (Y):
 $Y = a + b \cdot T + c \text{ pH}$, es adecuado para la representación y correlación de datos experimentales.
- 8) Un modelo generalizado de mezcla de tres parámetros es adecuado para representar la DTR de las piscinas y cuantificar la calidad del mezclado:

$$E(t) = \left[\frac{\eta}{\tau} \right]^N * \frac{(t - N\epsilon)^{N-1}}{(N-1)!} * \exp \left[-\frac{\eta}{\tau} (t - N\epsilon) \right]$$

τ = Tiempo medio de residencia (tiempo medio ocupado por el fluido en una circulación a la piscina).

η = Eficiencia en el mezclado

ϵ = Retardo en la respuesta ($\epsilon = 0$ es retardo y recirculación nula).

N = Alejamiento del flujo pistón ($N=00$ es flujo pistón).

5. IMPACTOS DEL PROYECTO

Los conocimientos obtenidos por los profesionales de la Sociedad Acuacultivos BIONOR LTDA., durante el desarrollo del proyecto tanto, en la búsqueda de mejores diseños para los biorreactores, así como también en el diseño de elementos mezcladores estáticos para mejorar el proceso de fotosíntesis, permitirán a Bionor Ltda., emprender un escalamiento productivo en condiciones más seguras, ya que muchos de los antecedentes logrados eran desconocidos debido a la escasa información existente sobre Cultivo Industrial de Spirulina en zonas semiáridas.

Los resultados más significativos para el futuro crecimiento de la Empresa han sido:

- Diseño de un Biorreactor que responde a los requerimientos de un cultivo industrial de Spirulina, utilizando materiales nacionales y de bajo costo.
- Diseño de un mezclador estático económico que mejora el proceso de fotosíntesis, aumentando la productividad en forma significativa.
- Desarrollo de un mercado creciente para el producto Spirulina, sustituyendo importaciones y con grandes proyecciones en el mediano plazo, especialmente en operaciones de comercio exterior.

Los resultados permiten a la Empresa, iniciar una segunda etapa que involucra significativas inversiones a formalizar en el corto plazo, orientadas a ampliar sus instalaciones y capacidad productiva con el fin de aumentar su presencia en el país y desarrollar el mercado externo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYALA, F. Y R. BRAVO (1982), An improved cheap culture medium for the blue-green microalgas *Spirulina*. *European J. Appl. Microbiol Biotechnmol.* 15: 181-199.
- AYALA F. Y R. BRAVO (1984). Producción de *Spirulina* máxima en líquidos percolados de relleno sanitario. *Mens. Asoc. Latinoam. acuicult.* 5 (3): 459-463.
- BOROWITZKA A. Y BOROWITZKA (1988). *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press 470.
- BURNETT, J.H. (1976), Funtion of Carotenoids others than in Photosynthesis En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment*. Ed by Goodwn T.W. Academic Press (London) Ltda. 225-261.
- CARRA, P. and C. HEOCHA (1976): *Algal Biliproteins and Phycobilins*. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment*. Ed. Goodwn T. W. Academic Press (London) Ltda. 328-376.
- DURANT-CHASTEL, H. 1980. Productios and use of *Spirulina* in Mexico. En : *Algae Biomass: Production and Use*. Ed. G. Shelef, C.J. Soeder, Elseiver North Hooland, Biochemical Press. 852 pp.
- DURANT-CHASTEL, H. 1977, *The Spirulina Algae*. European Seminar on Biological Solar Energy Conversion System. Grenoble-Autrans, France.
- FAUCHER, O., B. COUAPAL and A. LEDUY (1979). Utilization of Seawater-urea as Culture Medium for *Spirulina* máxima *Canadian Journal Microbiology* 25: 752-759.
- HUM, H Y S. WICKS (1980). *Introduction and guide to the Marine Blue-Green Algal*. A. Wiley-Interscience Publ. U.S.A. 194 p.
- KOSARIK, N., H.T. INGUGEN and M.A. BERGOUGNOU (1974). Growth of *Spirulina maxima* Algae in Effluent from Secondary Waste-Water Treatment Plant. *Biotechnology and Bioengineering XVI*: 881-896.

- LHENINGER, H. (1980). Bioquímica: Las Bases moleculares de la estructura y función celular. celular. N 2da. Ed. Omega 599-628.
- MYERS, J. (1953). The Biology of Algal: A. Brief Summary En: Algal Culture From Laboratory to Pilot Plant. Carnegie Inst. Publ. N 600 Washington D.C. 31-36.
- MAURICE HASSEN. (1982). La Spirulina un sorprendente suplemento dietético natural. Edaf Mexicana, S.A. 74 pags.
- RAYMOND, J. (1963). Plankton and Productivity in the Oceans: Phytoplankton. Second Ed. Vol. 1489 pp. Pergamon Press.
- RILEY, J. and R.R.CHESTER (1971). Introduction to Marine Chemistry Academic Press Inc.(London).465 pp.
- RHEE, Y. y I. GOTHAM (1981). The effect of environmental factor on phytoplankton growth: Temperature and interaction of temperature with nutrient limitation. Limnol. Oceanogr. 24 (4): 635-648.
- STRICKLAND, J. (1965). Production of Organic Matter in the Primary, Stages of the Marine Food chain. En: Chemical Oceanographic. Ed>Riley and Skirrow Bol. 1. p. 447-610. Academic Press.
- TORNABENE, T., T. BOURNE, S. RAZIUDDIN and A. BEN-AMOTZ. (1985). Lipid and Polysaccharide constituents of cyanobacterium *Spirulina platensis* (Cynophyceae, Nostocales). Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 22: 121-125.
- VONSHAK, A., A. ABELIOVICH, S. BOUSSIBA, S. ARADAND, A. RICHMOND (1982). Production of *Spirulina* Biomass: Effects of environmental Factor and Population Density. Biomass 2 : 175-185.
- VALDERRAMA J.O. y M.A. YANEZ. "Application of a New Model for the Residence Time Distribution in Packed Beds During Trickle Flow". Chem. Eng. & Technol., 62 (3), 246 - 247 (1990).
- WOLF D. y W RESMICK, " Residence time distribution in Real sistem" I&ec Fund., 2 (4), 287-293 (1963).

7. ANEXOS

7.1. ANEXO I

- Variables (Densidad Óptica, Temperatura, pH), máximas y mínimas por piscina y por mes.
- Gráficos de Variables Analizadas.

7.2. ANEXO II

- Tablas de Análisis Estadístico de Variables :
Densidad Óptica, Temperatura y pH.

ANEXO I

- Variables Densidad Óptica, Temperatura y pH, Mínimas y Máximas por Piscina y por Mes.
- Gráficos de las diferentes Variables Controladas.

VARIABLES DENSIDAD ÓPTICA, TEMPERATURA Y pH,
MÍNIMAS Y MÁXIMAS POR PISCINA Y POR MES.

DOPT. MIN	DOPT. MAX	PISCINA
0,3237268	0,3761066	PISCINA 0
0,4055601	0,4579399	PISCINA 1
0,4745601	0,5269399	PISCINA 2
0,4435601	0,4959399	PISCINA 3
0,3404768	0,3928566	PISCINA 4

TEMP. MIN	TEMP. MAX	PISCINA
32,194849	32,963485	PISCINA 0
32,629015	33,797651	PISCINA 1
31,948182	32,716918	PISCINA 2
32,240682	33,009318	PISCINA 3
32,238182	33,008818	PISCINA 4

PH MAX	PH MIN	PISCINA
10,695592	10,951074	PISCINA 0
10,613926	10,869408	PISCINA 1
10,715592	10,971074	PISCINA 2
10,688092	10,943574	PISCINA 3
10,598092	10,853574	PISCINA 4

DOPT. MIN	DOPT. MAX	MES
0,416662	0,464538	DICIEMBRE
0,447662	0,515538	ENERO
0,481662	0,549538	FEBRERO
0,459162	0,527338	MARZO
0,431062	0,498938	ABRIL
0,387062	0,434938	MAYO
0,323862	0,391738	JUNIO
0,291462	0,359338	JULIO
0,284262	0,352138	AGOSTO
0,344462	0,412338	SEPTIEMB
0,384062	0,451938	OCTUBRE
0,423862	0,491738	NOVIEMBR

TEMP. MIN	TEMP. MAX	MES
32,742617	33,933383	DICIEMBRE
33,592617	34,783383	ENERO
37,102617	38,293383	FEBRERO
34,444617	35,635383	MARZO
32,808617	33,998383	ABRIL
31,602617	32,783383	MAYO
30,882617	32,073383	JUNIO
29,648617	30,839383	JULIO
29,168617	30,357383	AGOSTO
29,842617	31,033383	SEPTIEMB
30,878617	32,069383	OCTUBRE
31,756617	32,947383	NOVIEMBR

PH MIN	PH MAX	MES
9,504105	9,899895	DICIEMBRE
10,172105	10,567895	ENERO
10,462105	10,857895	FEBRERO
10,030105	10,425895	MARZO
10,882105	11,277895	ABRIL
10,862105	11,257895	MAYO
10,862105	11,257895	JUNIO
10,822105	11,217895	JULIO
10,842105	11,237895	AGOSTO
10,882105	11,277895	SEPTIEMB
10,842105	11,237895	OCTUBRE
10,942105	11,337895	NOVIEMBR

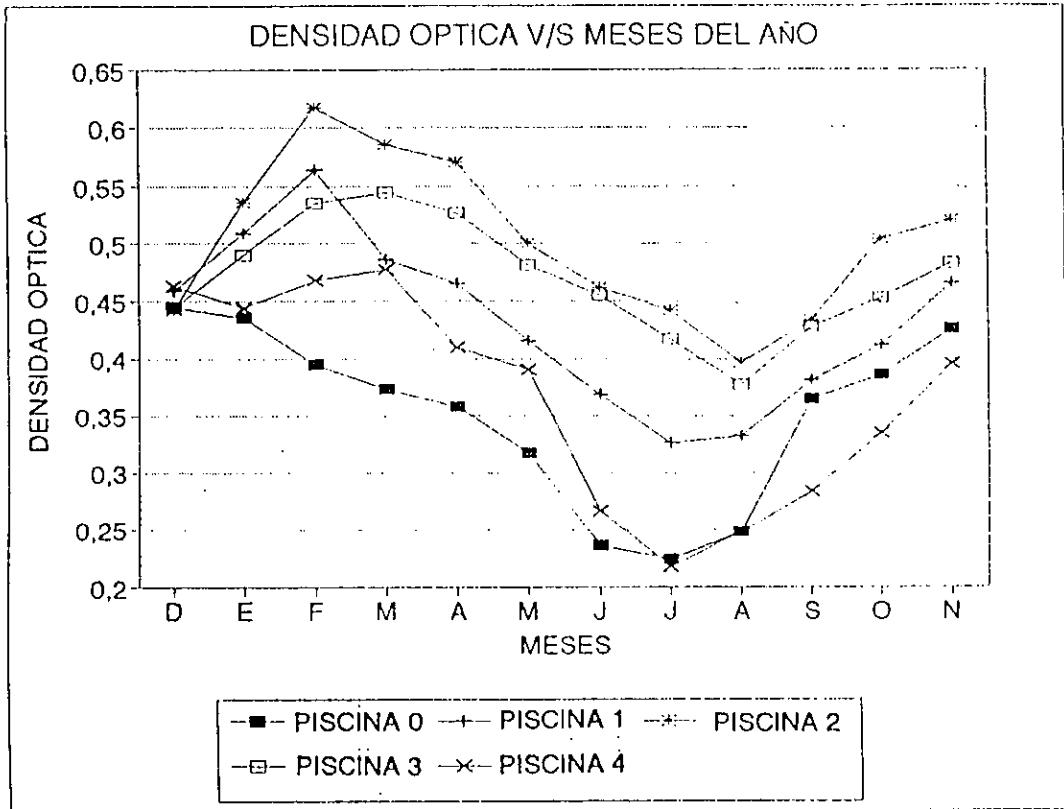


GRÁFICO 1

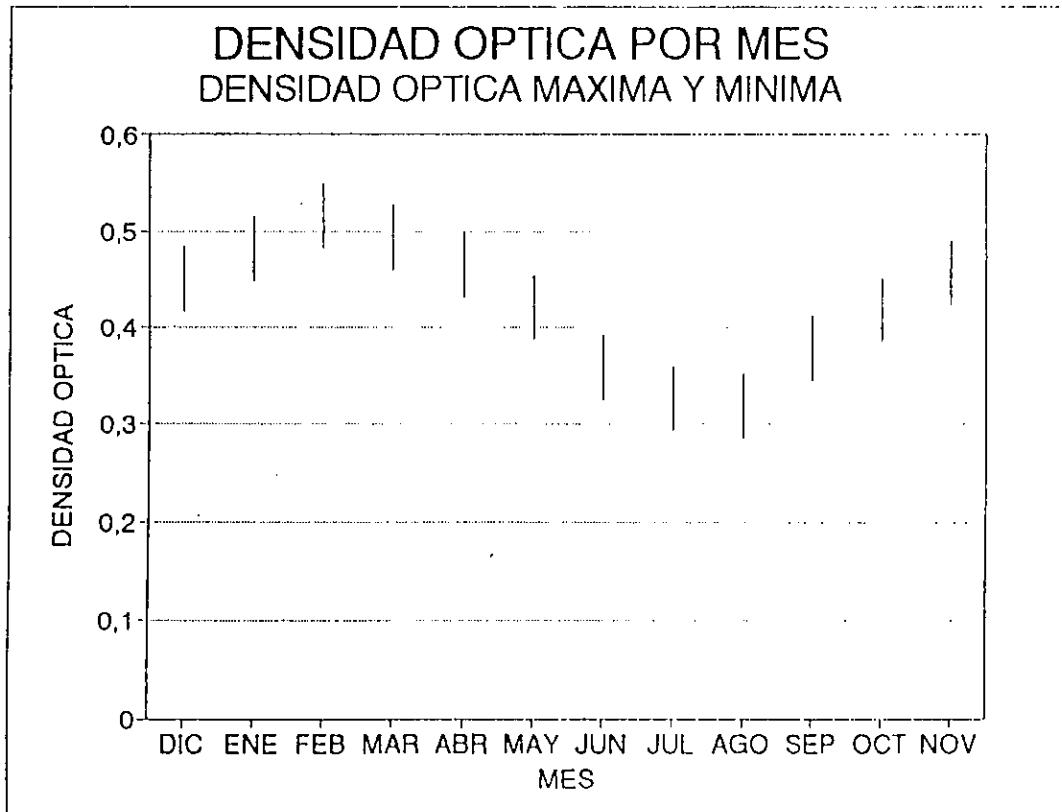


GRÁFICO 2

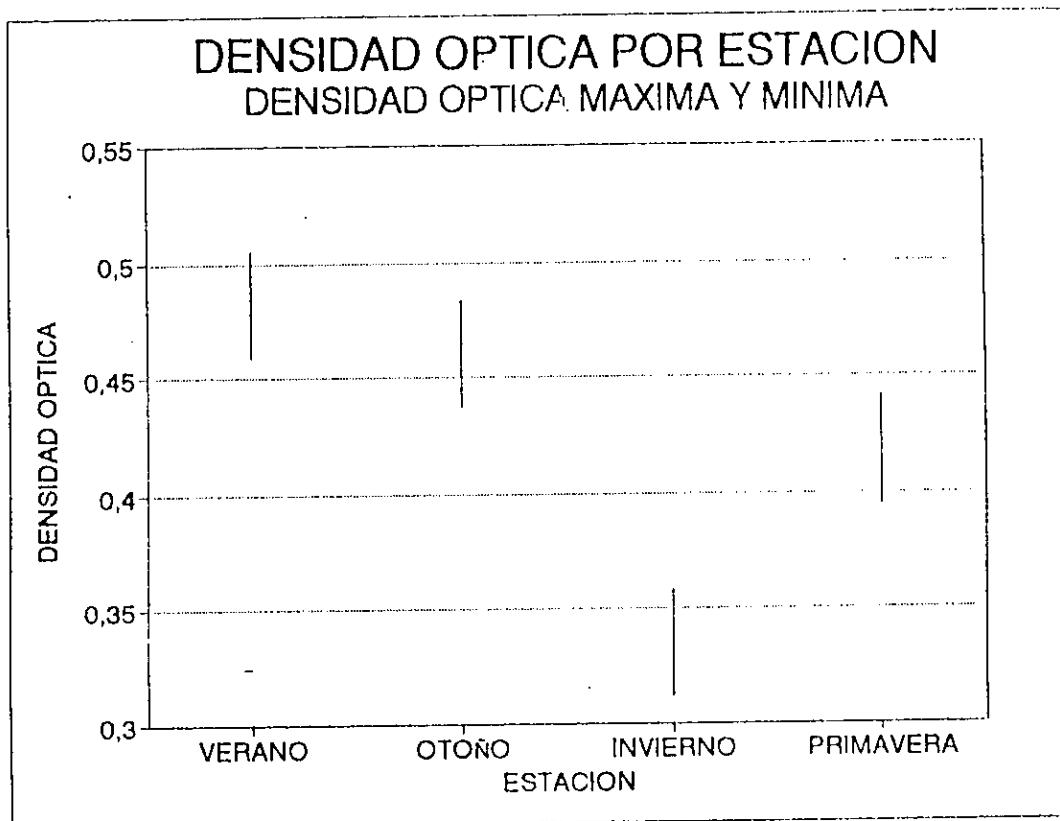


GRÁFICO 3

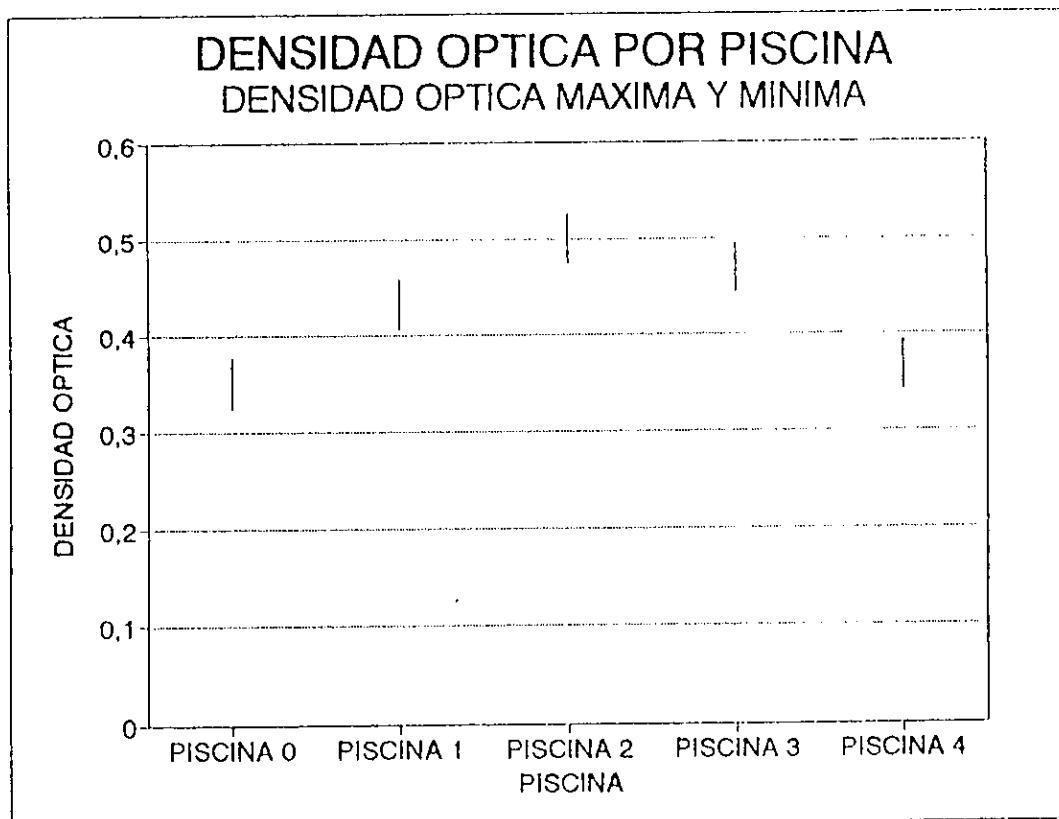


GRÁFICO 4

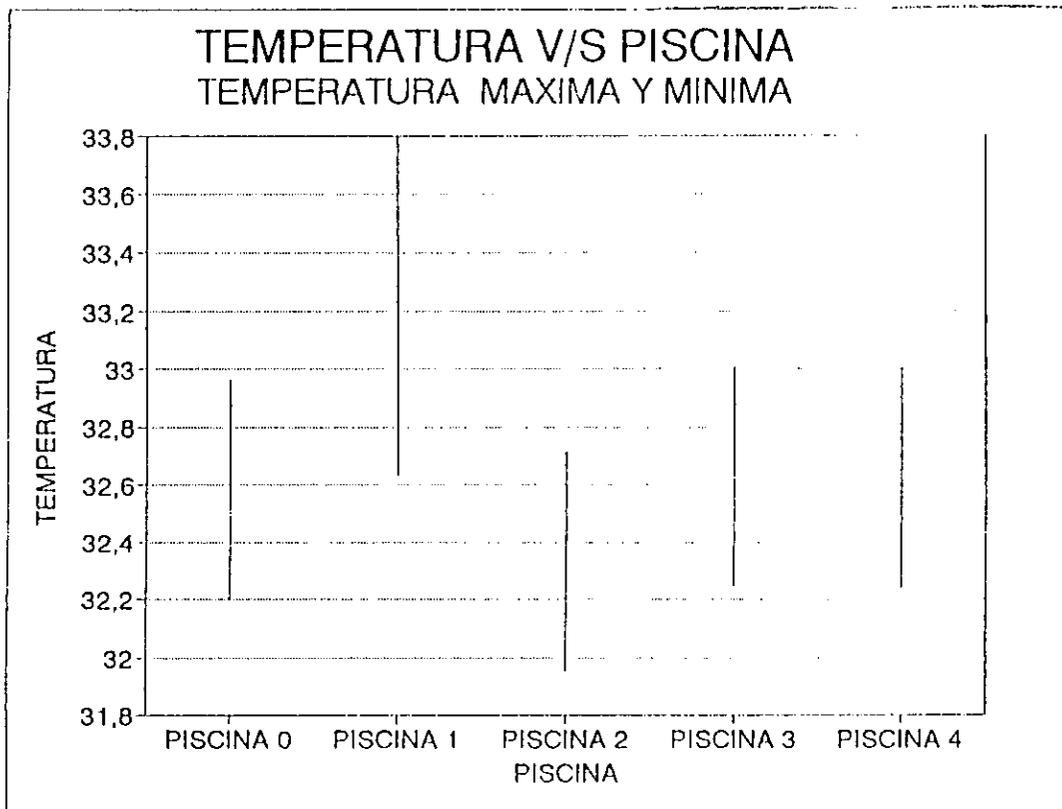


GRÁFICO 5

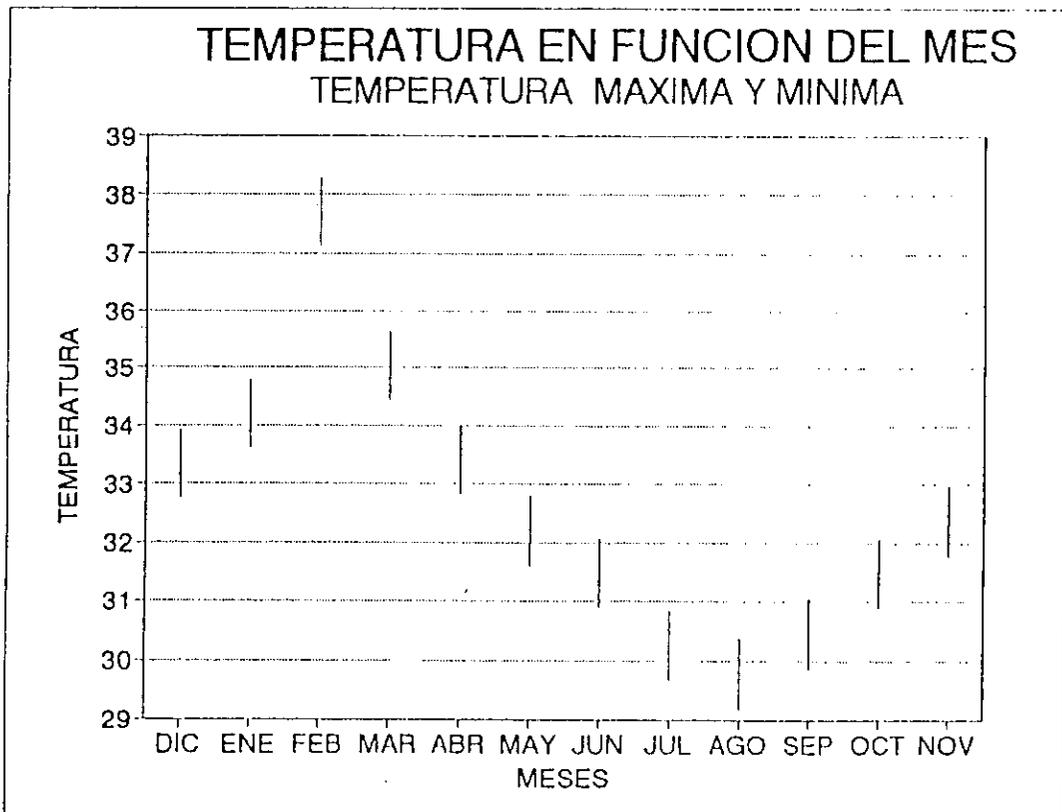


GRÁFICO 6

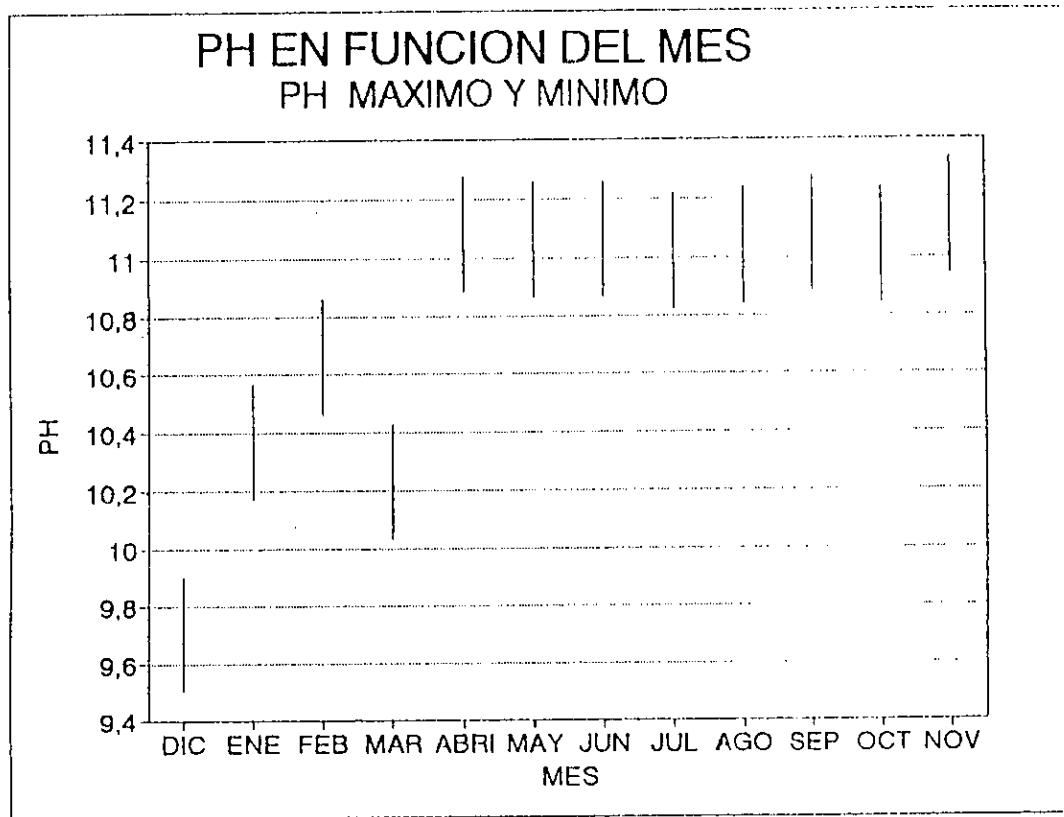


GRÁFICO 7

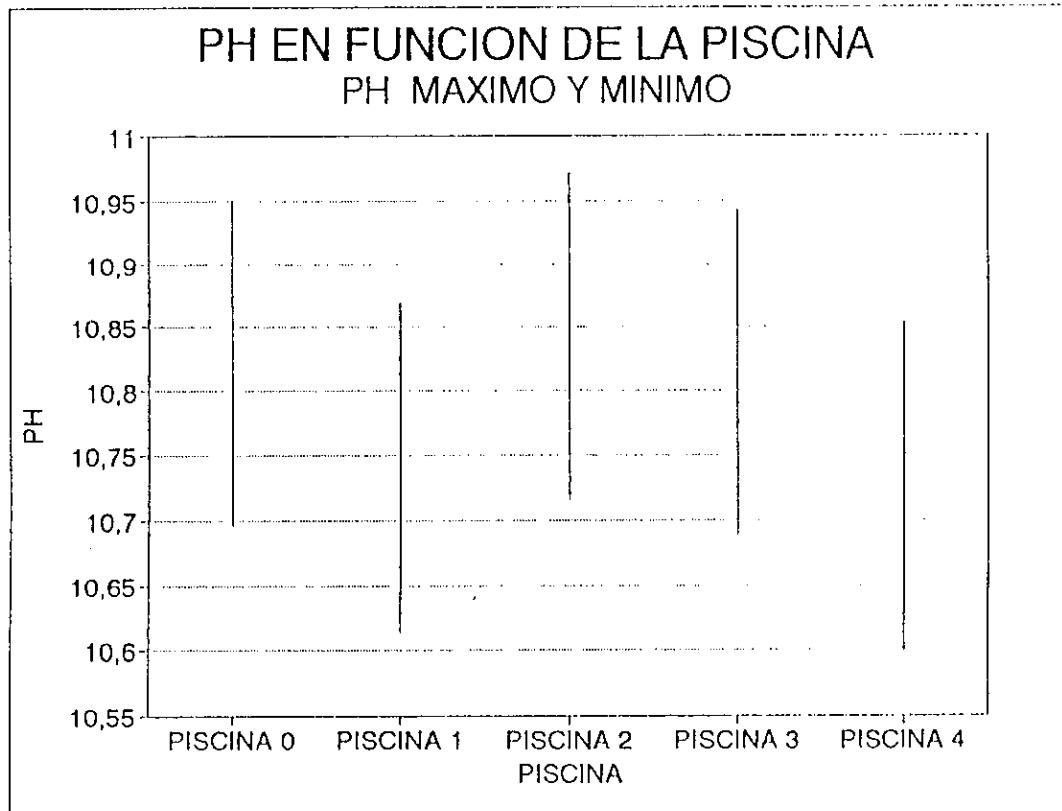


GRÁFICO 8

ANEXO II

- Tablas de Análisis Estadístico de Variables,
Densidad Óptica, Temperatura y pH.

ELECTRÓNICA CORFO

VARIABLE DENSIDAD ÓPTICA

Analysis of Variance for PISCLIMA.densiop - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:PISCLIMA.clima	.1926427	3	.0642142	31.548	.0000
B:PISCLIMA.piscina	.2003561	4	.0500890	24.608	.0000
RESIDUAL	.1058430	52	.0020354		
TOTAL (CORRECTED)	.4988417	59			

0 missing values have been excluded.
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for PISCLIMA.densiop

Level	Count	Average	Std. Error	95 Percent Confidence for mean	
GRAND MEAN	60	.4239333	.0058244	.4122431	.4356236
A:PISCLIMA.clima					
1	15	.4830000	.0116489	.4596195	.5063805
2	15	.4602000	.0116489	.4368195	.4835805
3	15	.3344667	.0116489	.3110862	.3578472
4	15	.4180667	.0116489	.3946862	.4414472
B:PISCLIMA.piscina					
0	12	.3507500	.0130238	.3246098	.3768902
1	12	.4317500	.0130238	.4056098	.4578902
2	12	.5007500	.0130238	.4746098	.5268902
3	12	.4697500	.0130238	.4436098	.4958902
4	12	.3666667	.0130238	.3405265	.3928069

TABLA 1

Multiple range analysis for PISCLIMA.densiop by PISCLIMA.clima

Method: 95 Percent LSD			
Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
3	15	.3344667	X
4	15	.4180667	X
2	15	.4602000	X
1	15	.4830000	X
contrast		difference	+/- limits
1 - 2		0.02280	0.03307
1 - 3		0.14853	0.03307 *
1 - 4		0.06493	0.03307 *
2 - 3		0.12573	0.03307 *
2 - 4		0.04213	0.03307 *
3 - 4		-0.08360	0.03307 *

* denotes a statistically significant difference.

TABLA 2

Multiple range analysis for PISCLIMA.densiop by PISCLIMA.piscina

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	12	.3507500	X
4	12	.3666667	X
1	12	.4317500	X
3	12	.4697500	X
2	12	.5007500	X

contrast	difference	+/-	limits
0 - 1	-0.08100		0.03697 *
0 - 2	-0.15000		0.03697 *
0 - 3	-0.11900		0.03697 *
0 - 4	-0.01592		0.03697
1 - 2	-0.06900		0.03697 *
1 - 3	-0.03800		0.03697 *
1 - 4	0.06508		0.03697 *
2 - 3	0.03100		0.03697
2 - 4	0.13408		0.03697 *
3 - 4	0.10308		0.03697 *

TABLA 3 * denotes a statistically significant difference.

Analysis of Variance for RESUMPIS.densiop - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:RESUMPIS.mes	.2373791	11	.0215799	15.227	.0000
B:RESUMPIS.piscina	.1996104	4	.0499026	35.212	.0000
RESIDUAL	.0623572	44	.0014172		
TOTAL (CORRECTED)	.4993467	59			

0 missing values have been excluded.
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for RESUMPIS.densiop

Level	Count	Average	Std. Error	95 Percent Confidence for mean	
GRAND MEAN	60	.4235667	.0048601	.4137696	.4333637
A:RESUMPIS.mes					
1	5	.4506000	.0168357	.4166620	.4845380
2	5	.4816000	.0168357	.4476620	.5155380
3	5	.5156000	.0168357	.4816620	.5495380
4	5	.4934000	.0168357	.4594620	.5273380
5	5	.4650000	.0168357	.4310620	.4989380
6	5	.4210000	.0168357	.3870620	.4549380
7	5	.3578000	.0168357	.3238620	.3917380
8	5	.3254000	.0168357	.2914620	.3593380
9	5	.3182000	.0168357	.2842620	.3521380
10	5	.3784000	.0168357	.3444620	.4123380
11	5	.4180000	.0168357	.3840620	.4519380
12	5	.4578000	.0168357	.4238620	.4917380
B:RESUMPIS.piscina					
0	12	.3502500	.0108674	.3283431	.3721569
1	12	.4312500	.0108674	.4093431	.4531569
2	12	.4999167	.0108674	.4780098	.5218235
3	12	.4697500	.0108674	.4478431	.4916569
4	12	.3666667	.0108674	.3447598	.3885735

TABLA 4

Multiple range analysis for RESUMPIS.densiop by RESUMPIS.mes

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
9	5	.3182000	X
8	5	.3254000	X
7	5	.3578000	XX
10	5	.3784000	XX
11	5	.4180000	XX
6	5	.4210000	XX
1	5	.4506000	XX
12	5	.4578000	XX
5	5	.4650000	XX
2	5	.4816000	XX
4	5	.4934000	XX
3	5	.5156000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.03100		0.04800
1 - 3	-0.06500		0.04800 *
1 - 4	-0.04280		0.04800
1 - 5	-0.01440		0.04800
1 - 6	0.02960		0.04800
1 - 7	0.09280		0.04800 *
1 - 8	0.12520		0.04800 *
1 - 9	0.13240		0.04800 *
1 - 10	0.07220		0.04800 *
1 - 11	0.03260		0.04800
1 - 12	-0.00720		0.04800
2 - 3	-0.03400		0.04800
2 - 4	-0.01180		0.04800
2 - 5	0.01660		0.04800
2 - 6	0.06060		0.04800 *
2 - 7	0.12380		0.04800 *
2 - 8	0.15620		0.04800 *
2 - 9	0.16340		0.04800 *
2 - 10	0.10320		0.04800 *
2 - 11	0.06360		0.04800 *
2 - 12	0.02380		0.04800
3 - 4	0.02220		0.04800
3 - 5	0.05060		0.04800 *
3 - 6	0.09460		0.04800 *
3 - 7	0.15780		0.04800 *
3 - 8	0.19020		0.04800 *
3 - 9	0.19740		0.04800 *
3 - 10	0.13720		0.04800 *
3 - 11	0.09760		0.04800 *
3 - 12	0.05780		0.04800 *
4 - 5	0.02840		0.04800

TABLA 5

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
4 - 6		0.07240	0.04800 *
4 - 7		0.13560	0.04800 *
4 - 8		0.16800	0.04800 *
4 - 9		0.17520	0.04800 *
4 - 10		0.11500	0.04800 *
4 - 11		0.07540	0.04800 *
4 - 12		0.03560	0.04800
5 - 6		0.04400	0.04800
5 - 7		0.10720	0.04800 *
5 - 8		0.13960	0.04800 *
5 - 9		0.14680	0.04800 *
5 - 10		0.08660	0.04800 *
5 - 11		0.04700	0.04800
5 - 12		0.00720	0.04800
6 - 7		0.06320	0.04800 *
6 - 8		0.09560	0.04800 *
6 - 9		0.10280	0.04800 *
6 - 10		0.04260	0.04800
6 - 11		0.00300	0.04800
6 - 12		-0.03680	0.04800
7 - 8		0.03240	0.04800
7 - 9		0.03960	0.04800
7 - 10		-0.02060	0.04800
7 - 11		-0.06020	0.04800 *
7 - 12		-0.10000	0.04800 *
8 - 9		0.00720	0.04800
8 - 10		-0.05300	0.04800 *
8 - 11		-0.09260	0.04800 *
8 - 12		-0.13240	0.04800 *
9 - 10		-0.06020	0.04800 *
9 - 11		-0.09980	0.04800 *
9 - 12		-0.13960	0.04800 *
10 - 11		-0.03960	0.04800
10 - 12		-0.07940	0.04800 *
11 - 12		-0.03980	0.04800

* denotes a statistically significant difference.

TABLA 6

Multiple range analysis for RESUMPIS.densioip by RESUMPIS.piscina

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	12	.3502500	X
4	12	.3666667	X
1	12	.4312500	X
3	12	.4697500	X
2	12	.4999167	X

contrast	difference	+/-	limits
0 - 1	-0.08100		0.03098 *
0 - 2	-0.14967		0.03098 *
0 - 3	-0.11950		0.03098 *
0 - 4	-0.01642		0.03098
1 - 2	-0.06867		0.03098 *
1 - 3	-0.03850		0.03098 *
1 - 4	0.06458		0.03098 *
2 - 3	0.03017		0.03098
2 - 4	0.13325		0.03098 *
3 - 4	0.10308		0.03098 *

* denotes a statistically significant difference.

TABLA 7

VARIABLE TEMPERATURA

Analysis of Variance for TEMPERAT.TEMPERAT - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:TEMPERAT.MES	283.35409	11	25.759462	59.058	.0000
B:TEMPERAT.PISCINA	2.05618	4	.714044	1.637	.1819
RESIDUAL	19.191423	44	.4361687		
TOTAL (CORRECTED)	305.40169	59			

0 missing values have been excluded.
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for TEMPERAT.TEMPERAT

Level	Count	Average	Std. Error	95 Percent Confidence for mean	
GRAND MEAN	60	32.634500	.0852612	32.462628	32.806372
A:TEMPERAT.MES					
1	5	33.338000	.2953536	32.742617	33.933383
2	5	34.188000	.2953536	33.592617	34.783383
3	5	37.698000	.2953536	37.102617	38.293383
4	5	35.040000	.2953536	34.444617	35.635383
5	5	33.404000	.2953536	32.808617	33.999383
6	5	32.198000	.2953536	31.602617	32.793383
7	5	31.478000	.2953536	30.882617	32.073383
8	5	30.244000	.2953536	29.648617	30.839383
9	5	29.762000	.2953536	29.166617	30.357383
10	5	30.438000	.2953536	29.842617	31.033383
11	5	31.474000	.2953536	30.878617	32.069383
12	5	32.352000	.2953536	31.756617	32.947383
B:TEMPERAT.PISCINA					
0	12	32.579167	.1906499	32.194849	32.963485
1	12	33.013333	.1906499	32.629015	33.397651
2	12	32.332500	.1906499	31.948182	32.716818
3	12	32.625000	.1906499	32.240682	33.009318
4	12	32.622500	.1906499	32.238182	33.006818

TABLA 8

Multiple range analysis for TEMPERAT.TEMPERAT by TEMPERAT.PISCINA

Method: 95 Percent LSD			
Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
2	12	32.332500	X
0	12	32.579167	XX
4	12	32.622500	XX
3	12	32.625000	XX
1	12	33.013333	X
contrast		difference	+/- limits
0 - 1		-0.43417	0.54351
0 - 2		0.24667	0.54351
0 - 3		-0.04583	0.54351
0 - 4		-0.04333	0.54351
1 - 2		0.68083	0.54351 *
1 - 3		0.38333	0.54351
1 - 4		0.39083	0.54351
2 - 3		-0.29250	0.54351
2 - 4		-0.29000	0.54351
3 - 4		0.00250	0.54351

* denotes a statistically significant difference.

TABLA 9

Multiple range analysis for TEMPERAT.TEMPERAT by TEMPERAT.MES

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
9	5	29.762000	X
8	5	30.244000	X
10	5	30.438000	X
11	5	31.474000	X
7	5	31.478000	X
6	5	32.198000	XX
12	5	32.352000	X
1	5	33.338000	X
5	5	33.404000	XX
2	5	34.188000	X
4	5	35.040000	X
3	5	37.698000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.85000		0.84200 *
1 - 3	-4.36000		0.84200 *
1 - 4	-1.70200		0.84200 *
1 - 5	-0.06600		0.84200
1 - 6	1.14000		0.84200 *
1 - 7	1.86000		0.84200 *
1 - 8	3.09400		0.84200 *
1 - 9	3.57600		0.84200 *
1 - 10	2.90000		0.84200 *
1 - 11	1.86400		0.84200 *
1 - 12	0.98600		0.84200 *
2 - 3	-3.51000		0.84200 *
2 - 4	-0.85200		0.84200 *
2 - 5	0.78400		0.84200
2 - 6	1.99000		0.84200 *
2 - 7	2.71000		0.84200 *
2 - 8	3.94400		0.84200 *
2 - 9	4.42600		0.84200 *
2 - 10	3.75000		0.84200 *
2 - 11	2.71400		0.84200 *
2 - 12	1.83600		0.84200 *
3 - 4	2.65800		0.84200 *
3 - 5	4.29400		0.84200 *
3 - 6	5.50000		0.84200 *
3 - 7	6.22000		0.84200 *
3 - 8	7.45400		0.84200 *
3 - 9	7.93600		0.84200 *
3 - 10	7.26000		0.84200 *
3 - 11	6.22400		0.84200 *
3 - 12	5.34600		0.84200 *
4 - 5	1.63600		0.84200 *
4 - 6	2.84200		0.84200 *
4 - 7	3.56200		0.84200 *
4 - 8	4.79600		0.84200 *
4 - 9	5.27800		0.84200 *
4 - 10	4.60200		0.84200 *
4 - 11	3.56600		0.84200 *
4 - 12	2.68800		0.84200 *
5 - 6	1.20600		0.84200 *
5 - 7	1.92600		0.84200 *
5 - 8	3.16000		0.84200 *
5 - 9	3.64200		0.84200 *
5 - 10	2.96600		0.84200 *
5 - 11	1.93000		0.84200 *
5 - 12	1.05200		0.84200 *
6 - 7	0.72000		0.84200

TABLA 10

Multiple range analysis for TEMPERAT.TEMPERAT by TEMPERAT.MES

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
6	- 8	1.95400	0.84200 *
6	- 9	2.43600	0.84200 *
6	- 10	1.76000	0.84200 *
6	- 11	0.72400	0.84200
6	- 12	-0.15400	0.84200
7	- 8	1.23400	0.84200 *
7	- 9	1.71600	0.84200 *
7	- 10	1.04000	0.84200 *
7	- 11	0.00400	0.84200
7	- 12	-0.87400	0.84200 *
8	- 9	0.48200	0.84200
8	- 10	-0.19400	0.84200
8	- 11	-1.23000	0.84200 *
8	- 12	-2.10800	0.84200 *
9	- 10	-0.67600	0.84200
9	- 11	-1.71200	0.84200 *
9	- 12	-2.59000	0.84200 *
10	- 11	-1.03600	0.84200 *
10	- 12	-1.91400	0.84200 *
11	- 12	-0.87800	0.84200 *

* denotes a statistically significant difference.

TABLA 11

VARIABLE pH

Analysis of Variance for PH.ph - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:PH.mes	11.536440	11	1.0487673	21.764	.0000
B:PH.piscina	.132917	4	.0332292	.690	.6031
RESIDUAL	2.1202433	44	.0481873		
TOTAL (CORRECTED)	13.789600	59			

0 missing values have been excluded.
All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for PH.ph

Level	Count	Average	Std. Error	95 Percent Confidence for mean	
GRAND MEAN	60	10.790000	.0283394	10.732873	10.847127
A:PH.mes					
1	5	9.702000	.0981706	9.504105	9.899895
2	5	10.370000	.0981706	10.172105	10.567895
3	5	10.660000	.0981706	10.462105	10.857895
4	5	10.228000	.0981706	10.030105	10.425895
5	5	11.080000	.0981706	10.882105	11.277895
6	5	11.060000	.0981706	10.862105	11.257895
7	5	11.060000	.0981706	10.862105	11.257895
8	5	11.020000	.0981706	10.822105	11.217895
9	5	11.040000	.0981706	10.842105	11.237895
10	5	11.080000	.0981706	10.882105	11.277895
11	5	11.040000	.0981706	10.842105	11.237895
12	5	11.140000	.0981706	10.942105	11.337895
B:PH.piscina					
0	12	10.823333	.0633689	10.695592	10.951074
1	12	10.741667	.0633689	10.613926	10.869408
2	12	10.843333	.0633689	10.715592	10.971074
3	12	10.815833	.0633689	10.688092	10.943574
4	12	10.725833	.0633689	10.598092	10.853574

TABLA 12

Multiple range analysis for PH.ph by PH.piscina

Method: 95 Percent LSD					
Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups		
4	12	10.725833	X		
1	12	10.741667	X		
3	12	10.815833	X		
0	12	10.823333	X		
2	12	10.843333	X		
contrast			difference	+/-	limits
0 - 1			0.08167		0.18065
0 - 2			-0.02000		0.18065
0 - 3			0.00750		0.18065
0 - 4			0.09750		0.18065
1 - 2			-0.10167		0.18065
1 - 3			-0.07417		0.18065
1 - 4			0.01583		0.18065
2 - 3			0.02750		0.18065
2 - 4			0.11750		0.18065
3 - 4			0.09000		0.18065

TABLA 13 * denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for PH.ph by PH.mes

Method: 95 Percent LSD

Level Count LS Mean Homogeneous Groups

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1	5	9.702000	X
4	5	10.228000	X
2	5	10.370000	X
3	5	10.660000	X
8	5	11.020000	X
9	5	11.040000	X
11	5	11.040000	X
7	5	11.060000	X
6	5	11.060000	X
5	5	11.080000	X
10	5	11.080000	X
12	5	11.140000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.66800		0.27987 *
1 - 3	-0.95800		0.27987 *
1 - 4	-0.52600		0.27987 *
1 - 5	-1.37800		0.27987 *
1 - 6	-1.35800		0.27987 *
1 - 7	-1.35800		0.27987 *
1 - 8	-1.31800		0.27987 *
1 - 9	-1.33800		0.27987 *
1 - 10	-1.37800		0.27987 *
1 - 11	-1.33800		0.27987 *
1 - 12	-1.43800		0.27987 *
2 - 3	-0.29000		0.27987 *
2 - 4	0.14200		0.27987
2 - 5	-0.71000		0.27987 *
2 - 6	-0.69000		0.27987 *
2 - 7	-0.69000		0.27987 *
2 - 8	-0.65000		0.27987 *
2 - 9	-0.67000		0.27987 *
2 - 10	-0.71000		0.27987 *
2 - 11	-0.67000		0.27987 *
2 - 12	-0.77000		0.27987 *
3 - 4	0.43200		0.27987 *
3 - 5	-0.42000		0.27987 *
3 - 6	-0.40000		0.27987 *
3 - 7	-0.40000		0.27987 *
3 - 8	-0.36000		0.27987 *
3 - 9	-0.38000		0.27987 *
3 - 10	-0.42000		0.27987 *
3 - 11	-0.38000		0.27987 *
3 - 12	-0.48000		0.27987 *
4 - 5	-0.85200		0.27987 *
4 - 6	-0.83200		0.27987 *
4 - 7	-0.83200		0.27987 *
4 - 8	-0.79200		0.27987 *
4 - 9	-0.81200		0.27987 *
4 - 10	-0.85200		0.27987 *
4 - 11	-0.81200		0.27987 *
4 - 12	-0.91200		0.27987 *
5 - 6	0.02000		0.27987
5 - 7	0.02000		0.27987
5 - 8	0.06000		0.27987
5 - 9	0.04000		0.27987
5 - 10	0.00000		0.27987
5 - 11	0.04000		0.27987
5 - 12	-0.06000		0.27987
6 - 7	0.00000		0.27987

TABLA 14

Multiple range analysis for PH.ph by PH.mes

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
6	- 8	0.04000	0.27987
6	- 9	0.02000	0.27987
6	- 10	-0.02000	0.27987
6	- 11	0.02000	0.27987
6	- 12	-0.08000	0.27987
7	- 8	0.04000	0.27987
7	- 9	0.02000	0.27987
7	- 10	-0.02000	0.27987
7	- 11	0.02000	0.27987
7	- 12	-0.08000	0.27987
8	- 9	-0.02000	0.27987
8	- 10	-0.06000	0.27987
8	- 11	-0.02000	0.27987
8	- 12	-0.12000	0.27987
9	- 10	-0.04000	0.27987
9	- 11	0.00000	0.27987
9	- 12	-0.10000	0.27987
10	- 11	0.04000	0.27987
10	- 12	-0.06000	0.27987
11	- 12	-0.10000	0.27987

TABLA 15 * denotes a statistically significant difference.