

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



“Efecto de la concentración de Sanguaza (obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas) en el crecimiento poblacional y en el contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio”

PRESENTADO POR:

Bach. Calderón Cárdenas, Lidsay Melissa

Bach. Chávez Estrada, Patricia del Carmen

ASESOR:

Dr. Juan Fernando Merino Moya

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ
2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



“Efecto de la concentración de Sanguaza (obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas) en el crecimiento poblacional y en el contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

PRESENTADO POR:

Bach. Calderón Cárdenas, Lidsay Melissa

Bach. Chávez Estrada, Patricia del Carmen

REVISADO POR:



Dr. Merino Moya, Juan Fernando

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



“Efecto de la concentración de Sanguaza (obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas) en el crecimiento poblacional y en el contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

PRESENTADO POR:

Bach. Calderón Cárdenas, Lidsay Melissa

Bach. Chávez Estrada, Patricia del Carmen

**APROBADO POR EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR LOS SEÑORES
MIEMBROS DEL JURADO**

Dr. Carlos Azañero Díaz
Presidente

Dr. Fernando Merino Moya
Integrante

M.Sc.. Sorayda Mendoza Espinoza
Integrante

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Aula Multimedia Edopiso Facultad de Ciencias, siendo las 18:00 horas del día 13 de Junio del 2019 dando cumplimiento a la Resolución N° 100-2019-UNS-FC se reunió el Jurado Evaluador presidido por Dr. Carlos Azañero Diaz teniendo como miembros a M.sc Sorayda Mendoza Espinoza (secretario) (a), y Dr. Fernando Merino Moya (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biologo Acuicultor realizado por el, (la), (los) tesista (as) Lidsay Melissa Calderón Cardenas (Cód. 0622010) y Patricia del Carmen Chavez Estrada (Cód. 002206)

....., quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: "Efecto de la Concentración de Sanguaza obtenida del Procesamiento Primario artesanal de especies hidrobiológicas en el crecimiento poblacional y contenidos de Lípidos de Scenedesmus acutus en condiciones del laboratorio"

Terminada la sustentación, el, (la), (los) tesista (as)s respondió (ieron) a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como MUY BUENO asignándole un calificativo de (diecisiete) 17 puntos, según artículo 103° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, vigente (Resolución N° 492-2017-CU -R-UNS)

Siendo las 19:30 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad


Nombre: Carlos Azañero Diaz
Presidente


Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza
Secretario


Nombre: Fernando Merino Moya
Integrante

Distribución: Integrantes J.C 63, tesistas 62 y archivo (02).





Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: **Melissa Calderón Cárdenas**
Título del ejercicio: **Informe de tesis 2019-Calderon**
Título de la entrega: **Informe de tesis 2019-Calderón**
Nombre del archivo: **Tesis-Calderon_para_turnitin.docx**
Tamaño del archivo: **1.73M**
Total páginas: **34**
Total de palabras: **6,216**
Total de caracteres: **33,657**
Fecha de entrega: **06-ago-2019 11:59a.m. (UTC-0500)**
Identificador de la entrega: **1158116402**

RESUMEN

Con el fin de aprovechar la capacidad de inhibición heterocítica de las micorrizas, se evaluó el efecto de la concentración de esporas obtenidas del procesamiento ancestral de especies hidrobiológicas en el crecimiento poblacional y contenido férrico de *Stenandrium acutum*, en condiciones de laboratorio. Se utilizaron diferentes dosis (0 mL, 10 mL, y 100 mL) de esporas como tratamiento experimental y Ouland 22 como tratamiento control. Donde se obtuvo mayor crecimiento poblacional de *S. acutum* ($p < 0.05$) el tratamiento con 10 mL de esporas presentó un promedio de 18.52×10^7 uct/ml y una tasa de crecimiento poblacional (μ) de 0.550, mientras que el tratamiento con 100 mL de esporas se logró un promedio de 17.80×10^7 uct/ml y una tasa de crecimiento poblacional de 0.340 día⁻¹, esto a partir del cuarto día de cultivo ($p < 0.05$). Se evidenció el menor tiempo de duplicación (TD) en *S. acutum*, en los tratamientos de 10 mL con 1.283 día y 100 mL de esporas con 1.260 día.

El mayor contenido férrico porcentual se observó en el tratamiento con dosis de 100 mL de esporas (27.29%), seguido del tratamiento con 100 mL de esporas (26.82%) y significativamente menor ($p < 0.05$) con el tratamiento con 100 mL de esporas (21.79%). De lo observado anteriormente se concluyó que el mejor tratamiento para el crecimiento poblacional y contenido férrico de *S. acutum* es el tratamiento de 100 mL de esporas.

PALABRAS CLAVES: Crecimiento, *Stenandrium acutum*, férrico, esporas.

DEDICATORIA

A mis padres, Sebastián y Ana, por su sacrificio, paciencia y apoyo incondicional, gracias por enseñarme hacer constante y a luchar por alcanzar mis objetivos.

A mis hermanos porque de alguna manera siempre me han apoyado, gracias por confiar en mí, por sus consejos que me han servido para seguir adelante.

Lidsay Melissa Calderón Cárdenas.

A Dios porque guía cada uno de mis pasos.
A mi Madre por ser la fuerza que me alienta a seguir luchando para concretar mis sueños.

Patricia Del Carmen Chávez Estrada

AGRADECIMIENTO

A Dios, por habernos dado fuerza y valor para culminar con esta etapa de nuestra vida profesional.

A nuestros profesores de la Escuela de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa, por sus enseñanzas, orientaciones y voluntad para compartir sus experiencias profesionales, destacando no solo sus labores como profesionales sino también su gran calidad humana.

A nuestro asesor el Dr. Juan Fernando Merino Moya por toda su colaboración brindada, no solo en la elaboración de nuestro trabajo sino también en toda nuestra formación profesional.

Nuestro cordial agradecimiento a la Sra. Maribel, encargada del laboratorio de ciencias, por sus consejos y apoyo a resolver cualquier inquietud.

Las Autoras

INDICE GENERAL

Páginas

RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
I. INTRODUCCION	14
II. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1. Localización del experimento	18
2.2. Características de la muestra de <i>S. acutus</i>	18
2.3. Preparación de los medios de cultivo	18
2.3.1. Medio Guillard	18
2.3.2. Medio Sanguaza	20
2.4. Preparación de las unidades experimentales	22
2.4.1. Tratamiento de agua cultivo	22
2.5. Diseño experimental	22
2.6. Parámetros físicos y químicos de los cultivos <i>S. acutus</i>	23
2.7. Determinación del crecimiento Poblacional de <i>S. acutus</i>	23
2.8. Determinación de Lípidos de <i>S. acutus</i>	23
2.9. Determinación de la biomasa de <i>S. acutus</i>	25
2.10. Análisis Estadístico	25
III. RESULTADOS	26
3.1. Crecimiento poblacional de <i>S. acutus</i>	26
3.2. Tasa de Crecimiento y Tiempo de duplicación poblacional de <i>S. acutus</i>	28
3.3. Contenido de lípidos en <i>S. acutus</i>	30
3.4. Parámetros físicos y químicos de los cultivo de <i>S. acutus</i>	32
3.4.1. Temperatura	32
3.4.2. pH	33
IV. DISCUSION	34
V. CONCLUSIONES	40
VI. RECOMENDACIONES	41
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
VIII. ANEXOS	48

LISTA DE TABLAS

Páginas

Tabla 1. Composición química del medio Guillard f/2	19
Tabla 2. Contenido de Nitrógeno y Fosforo (mg/L) de sanguaza utilizados en el cultivo de <i>S. acutus</i> .	19
Tabla 3. Composición de la sanguaza utilizada en el experimento	20
Tabla 4. Diseño experimental para la evaluación del efecto de concentración de sanguaza en cultivos de <i>S. acutus</i> .	22
Tabla 5. Densidad celular ($\times 10^6$ cel mL ⁻¹) de <i>S. acutus</i> Cultivado con el medio f/2 Guillard (control) y con tres concentraciones de sanguaza. T1: 5 ml, T2: 10 ml y T3: 15ml.	27
Tabla 6. Tasa de Crecimiento por día (μ) y Tiempo de Duplicación Diaria (TD) de <i>S. acutus</i> Cultivados con el medio f/2 Guillard (control) y con tres concentraciones de sanguaza.	29
Tabla 7. Contenido de lípidos de <i>S. acutus</i> dosificadas con tres concentraciones de sanguaza al cuarto día de cultivo	30

LISTA DE FIGURAS	Páginas
Figura 1. Flujograma del Tratamiento de Sanguaza	21
Figura 2. Cultivo de <i>S. acutus</i> con Sanguaza.	26
Figura 3. Curvas del crecimiento poblacional de <i>S. acutus</i> Cultivado dosificadas con tres concentraciones de sanguaza	28
Figura 4. Valores de μ y TD de los cultivos de <i>S. acutus</i> dosificados con sanguaza.	29
Figura 5. Porcentaje de lípidos en <i>S. acutus</i> dosificadas con tres concentraciones de sanguaza al cuarto día de cultivo.	30
Figura 6. Biomasa de lípidos en <i>S. acutus</i> dosificadas con tres concentraciones de sanguaza al cuarto día de cultivo.	31
Figura 7. Variación diaria de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) de los cultivos de <i>S. acutus</i> dosificados con sanguaza (ml.L^{-1}).	32
Figura 8. Variación del pH promedio de los cultivos de <i>S. acutus</i> dosificados con sanguaza (ml.L^{-1}).	33

ANEXOS	Páginas
Anexo 1: Muestra de Sanguaza del muelle “La Caleta”.	48
Anexo 2: Preparación de materiales para el cultivo	48
Anexo 3: Extracción del sobrenadante de la Sanguaza.	49
Anexo 4: Muestras de Sanguaza en la centrifugadora.	49
Anexo 5: Proceso de obtención de los lípidos del cultivo de <i>S. acutus</i> .	50
Anexo 6: Promedios de μ (día ⁻¹) y TD (día) en el cuarto día de cultivo de <i>S. acutus</i>	50
Anexo 7: Promedios para el conteo celular (cel.ml ¹) de <i>S. acutus</i>	51
Anexo 8: Contenido de Lípidos en el cuarto día de cultivo de <i>S. acutus</i> .	52
Anexo 9: Variaciones de la temperatura en el cultivo de <i>S. acutus</i> .	53
Anexo 10: Variaciones del pH en el cultivo de <i>S. acutus</i> .	53
Anexo 11: Cuadro estadístico de la densidad poblacional de <i>s. acutus</i>	54

RESUMEN

Con el fin de aprovechar la capacidad de nutrición heterotrófica de las microalgas, se evaluó el efecto de la concentración de sanguaza obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas en el crecimiento poblacional y contenido lipídico de *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio. Se utilizaron diferentes dosis (5 mL⁻¹, 10 mL⁻¹ y 15 mL⁻¹) de sanguaza como tratamiento experimental y Guillard f/2 como tratamiento control. Donde se obtuvo mayor crecimiento poblacional de *S. acutus* ($p < 0,05$); el tratamiento con 15 mL/L de sanguaza presentó un promedio de $18,52 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ y una tasa de crecimiento poblacional ($p < 0,05$) de 0,550; mientras que el tratamiento con 10 mL⁻¹ de sanguaza se logró un promedio de $17,80 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ y una tasa de crecimiento poblacional de 0,540 día⁻¹, esto a partir del cuarto día de cultivo ($p < 0,05$). Se evidenció el menor tiempo de duplicación (TD) en *S. acutus*, en los tratamientos de 10 mL⁻¹ con 1,283 día y 15 mL⁻¹ de sanguaza con 1,260 día. El mayor contenido lipídico porcentual se observó en el tratamiento con dosis de 5 mL⁻¹ de sanguaza (27,20%), seguido del tratamiento con 10 mL⁻¹ de sanguaza (26,90%); y significativamente menor ($p < 0,05$) con el tratamiento con 15 mL⁻¹ de sanguaza (23,79%). De lo observado anteriormente se concluyó que el mejor tratamiento para el crecimiento poblacional y contenido lipídico de *S. acutus* es el tratamiento de 10 mL⁻¹ de sanguaza.

PALABRAS CLAVES: Crecimiento, *Scenedesmus acutus*, lípidos, sanguaza.

ABSTRACT

In order to take advantage of the heterotrophic nutrition capacity of the microalgae, the effect of the concentration of sanguaza obtained from the artisan processing of hydrobiological species on the population growth and lipid content of *Scenedesmus acutus* was evaluated in laboratory conditions. Different doses (5 mL^{-1} , 10 mL^{-1} and 15 mL^{-1}) of sanguaza were used as experimental treatment and Guillard f / 2 as control treatment. Where the highest population growth of *S. acutus* was obtained ($p < 0.05$); the treatment with $15 \text{ mL} / \text{L}$ of sanguaza presented an average of $18.52 \times 10^6 \text{ cel. mL}^{-1}$ and a population growth rate ($p < 0.05$) of 0.550 ; while the treatment with 10 mL^{-1} of sanguaza was achieved an average of $17.80 \times 10^6 \text{ cel. mL}^{-1}$ and a population growth rate of 0.540 day^{-1} , this from the fourth day of cultivation ($p < 0.05$). The shortest time of duplication (TD) in *S. acutus* was evidenced, in the treatments of 10 mL^{-1} with 1,283 days and 15 mL^{-1} of blood loss with 1,260 days.

The highest percentage lipid content was observed in the treatment with 5 mL^{-1} dose of sanguaza (27.20%), followed by treatment with 10 mL^{-1} of sanguaza (26.90%); and significantly lower ($p < 0.05$) with treatment with 15 mL^{-1} of sanguaza (23.79%). From the previously observed, it was concluded that the best treatment for the population growth and lipid content of *S. acutus* is the treatment of 10 mL^{-1} of sanguaza.

KEY WORDS: Growth, *Scenedesmus acutus*, Lipids, sanguaza.

I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas constituyen una de las formas de vida más antiguas sobre la Tierra, siendo las cianobacterias las que cuentan con un registro fósil de aproximadamente 3500 millones de años (Seckbach & Oren, 2007). “Estas microalgas son microorganismos fotosintéticos que pueden crecer de manera autotrófica o heterotrófica” (Chopint *et al.*, 2001). Además, son capaces de transformar la energía luminosa en energía química (Bertoldi *et al.*, 2008). También son consideradas alimentos funcionales, influenciando en la salud humana y animal, gracias a su alto contenido de proteínas, vitaminas, minerales, carbohidratos, lípidos, y ácidos grasos poliinsaturados (Omega 3 y omega 6), y antioxidantes (carotenos) (Quevedo *et al.*, 2008).

Durante los últimos años, las microalgas vienen siendo objeto de investigación debido a los diversos usos que estas representan en la elaboración de dietas en acuicultura, además estos microorganismos son esenciales en las primeras fases de desarrollo de la mayoría de especies tales como *Argopecten purpuratus*, *Cyprinus carpio*, *Chirostoma humboldtianum* por ser fuente de ácidos grasos insaturados, minerales, pigmentos, enzimas, aceites esenciales, antibióticos y otros metabolitos biológicamente activos (Bermejo *et al.*, 2002).

El crecimiento de la biomasa algal está influenciada por parámetros físicos – químicos, destacando entre ellos la temperatura, salinidad, pH, nutrientes (Contreras-Flores *et al.*, 2003), cuyos rangos varían de acuerdo a la especie. Otra característica importante de las microalgas es que son altamente eficientes en la fijación de CO₂ y utilización de la energía solar para producir biomasa. Las microalgas pueden acumular metales y transformarlos en formas menos peligrosas, y por consiguiente, estos vegetales pueden ofrecer una alternativa a los métodos convencionales para la biorremediación de efluentes pesqueros (Chopint *et al.*, 2001). Algunas microalgas como *Scenedesmus*, poseen niveles de aminoácidos esenciales superiores al patrón de la FAO con niveles de proteína entre 25 y 65% convirtiéndose en una atractiva fuente de proteína (Quevedo *et al.*, 2007; Visentainer *et al.*, 2005; Méndez, 2003).

El género *Scenedesmus*, perteneciente a la división *Chlorophyta*, clase *Chlorophyceae*, familia *Scenedesmaceae* (Guiry & Guiry, 2013); está compuesto de algas coloniales de amplia distribución, encontrándose tanto en ambientes naturales como en artificiales; sin embargo, se pueden encontrar en cuerpos acuáticos en proceso de eutrofización o altamente eutrofizados, constituyendo el género dominante, exhibiendo una gran plasticidad fenotípica conforme el organismo se adapta a las condiciones ambientales (Trainor, 1998). Por lo que *Scenedesmus* es una especie de fácil cultivo, empleada no sólo en estudios para la producción de biodiesel, sino también para la mitigación de CO₂ y la biorremediación de aguas residuales (May, 2015).

Los medios de cultivo, es un factor importante para la producción de microalgas, que a la vez se clasifican en definidos y naturales. Los medios de cultivo definidos “son aquellos que se les conoce la naturaleza y la concentración de cada uno de sus componentes y son usados a escala de laboratorio, lo cual permite determinar requerimientos específicos para el crecimiento algal” (Running *et al.*, 1994)., en este caso tenemos al “medio Guillard f/2 que demuestra ser eficiente para un gran número de microalgas” (Torretera & Tacon, 1989); no obstante dentro de las desventajas, este medio “es poco factible en la producción de microalgas a gran escala debido al elevado costo de los reactivos químicos de grado analítico de pureza que se necesitan para enriquecer el agua usada en los cultivos algales” (Martínez, 2003).

Con la finalidad de disminuir costos de producción, se recurren a medios naturales preparados con fertilizantes agrícolas como urea, cloruro de potasio, etc., estos son aportantes de macronutrientes como Nitrógeno, fósforo, potasio; también se encuentran subproductos agrícolas como la melaza, y extractos orgánicos como los provenientes de la industria pesquera, acuícola, avícola, entre otros (Hernández *et al.*, 2003), en la industria pesquera existe la sanguaza un extracto orgánico constituido de agua, sólidos solubles, sólidos insolubles y aceite, que se produce por la pérdida de frescura del pescado en la embarcación y en las pozas (Nuñez, 2014).

En el pasado, la sanguaza se consideraba un deshecho y simplemente se vertía al mar. Más recientemente las plantas harineras están re introduciendo la misma al proceso productivo, reduciendo con ello su descarga de residuos, recuperando materia prima perdida y aumentando

ganancias (Mueller-volimer et al. 1998). “En este contexto, el desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del medio ambiente, a la reutilización de los residuos y a la generación de energías limpias de bajo costo se ha tornado indispensable” (Hernandez-perez & Labbe, 2014).

Existen investigaciones como las Leal *et al.*, (2004) y Vera *et al.*(2006) en las que utilizaron residuos pesqueros como medio de cultivo obteniendo una tasa de crecimiento de 0.659 día^{-1} con sanguaza diluida al 4,56% en el cultivo de *Tetraselmis suecica*. Sin embargo, Silva *et al.*, (2011), reporta que el uso de sanguaza a diferentes diluciones del 2.5% y 5.0% en el cultivo de *Tetraselmis suecica*, presentaron mayores tasas de crecimiento de 0.023 cel.h^{-1} y 0.053 cel.h^{-1} , respectivamente.

Arias *et al.*, (2013), demostraron la capacidad de *Scenedesmus sp.* para utilizar los nutrientes, orgánicos e inorgánicos, presentes en las aguas residuales y tolerar concentraciones elevadas de CO_2 de diversas fuentes de carbono orgánico (glucosa, acetato, glicerol, fructosa, etc.). Así mismo Andrade *et al.*, (2009) demostraron mayor crecimiento de *Scenedesmus sp.* cultivadas con aguas residuales de pesquería (piel, cabezas, colas y vísceras) ($8,05 \pm 0,55 \times 10^6 \text{ cel.ml}^{-1}$) y menor crecimiento con Nitrofoska foliar (fertilizante vegetal) ($7,39 \pm 0,18 \times 10^6 \text{ cel.ml}^{-1}$).

Los lípidos son un conjunto de biomoléculas estructural y funcionalmente diversas que se caracterizan por su insolubilidad en agua y su afinidad a solventes orgánicos. Químicamente, los lípidos son moléculas hidrofóbicas originadas a partir de la condensación nucleofílica de cetoacil tioésteres (ácidos grasos, glicerolípidos, glicerofosfolípidos, sacarolípidos, y policétidos), o la condensación electrofílica de unidades de isopreno (esteroles y prenoles) (Fahy *et al.*, 2005).

Las microalgas crecen abundantemente en ambientes ricos en nutrientes y se reproducen con rapidez, sintetizando principalmente lípidos de membrana, especialmente del cloroplasto (Schenk *et al.*, 2008). En medios de cultivo es posible modificar la concentración y composición de lípidos mediante la optimización de parámetros de crecimiento como nivel de

nitrógeno, intensidad luminosa, temperatura, salinidad, concentración de CO₂ y método de cosecha (Brennan & Owende, 2010).

Aprovechando la capacidad de nutrición autotrófica de las microalgas, es posible elaborar un medio de cultivo alternativo que contribuya al incremento de biomasa y lípidos de *S. acutus*, y a su vez a la mitigación del impacto ambiental, por lo que se plantea el siguiente problema:

¿Cuál será el efecto de la concentración de sanguaza obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas, en el crecimiento poblacional y contenido lipídico de *S. acutus*, en condiciones de laboratorio?

El objetivo general fue evaluar el efecto de tres concentraciones de sanguaza en el crecimiento poblacional y contenido lipídico de *S. acutus*, en condiciones de laboratorio, y los objetivos específicos fueron los siguientes:

- Determinar el efecto de las concentraciones de sanguaza (5mL⁻¹, 10mL⁻¹ y 15mL⁻¹), obtenidas del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas en el crecimiento poblacional de *S. acutus*, en condiciones de laboratorio.
- Determinar el efecto de las concentraciones de sanguaza (5mL⁻¹, 10mL⁻¹ y 15mL⁻¹), obtenidas del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas en el contenido de lípidos de *S. acutus*, en condiciones de laboratorio.

Como hipótesis del trabajo experimental, consideramos sí utilizamos la sanguaza obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas, en concentraciones de 5mL⁻¹, 10mL⁻¹ y 15mL⁻¹ en cultivos de *S. acutus*, se obtendrá mayor crecimiento poblacional y de contenido lipídico con dosis de 10ml/L.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización del experimento

El experimento fue desarrollado en el laboratorio de Cultivos y Especies Auxiliares de la Facultad de Ciencia, de la Escuela Académica Profesional de Biología en Acuicultura, de la Universidad Nacional Del Santa del distrito de Nuevo Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Ancash- Perú.

2.2. Característica de la muestra de *S. acutus*

Se utilizó la microalga *S. acutus* proporcionada por el Laboratorio de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa.

Se mantuvo en medio Guillard, utilizando 2 botellas plásticas con 2.5 L de volumen efectivo para cada una (anexo 2). La iluminación, se mantuvo con el uso de 2 fluorescentes de 40 Watts cada uno, colocados a 15 cm de distancia. La aireación y agitación fue constante, mediante el uso de un blower de ½ HP con una tasa de flujo de 200 ml.min⁻¹

2.3. Preparación de los Medios de Cultivo

2.3.1. Medio Guillard

El medio de cultivo Guillard f/2 (Guillard, 1975) es considerado estándar (Tabla 1), y se utilizó para mantener el inóculo de *S. acutus* y como tratamiento control. La cantidad de inóculo utilizado fue de 1mL⁻¹.

Tabla 1. Composición química del medio Guillard f/2.

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN (g ^l ⁻¹)
Nutrientes Mayores:	
NaNO ₃	75,0
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	5,0
Na ₂ SiO ₃ 9H ₂ O	30.0 (+5,0ml HCL)
NH ₄ CL	26,5
Micronutrientes:	
Na ₂ EDTA	4,36
FeCl ₃ 6H ₂ O	3,15
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,01
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,022
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,01
MnCl ₂ 4H ₂ O	0,18
Na ₂ MnO ₄ 2H ₂ O	0,006
Vitaminas :	
Tiamina	0,0001
Biotina	0,5
Cyanocobalimina	0,5

Mediante la dilución de la sanguaza se obtuvo el aporte nitrógeno y fosforo (Tabla 3), dichos aportes se compararon con los aportes del medio Guillard.

Tabla 2. Contenido de Nitrógeno y Fosforo (mg/L) de sanguaza utilizados en el cultivo de *S. acutus*.

Nutrientes (mg.L ⁻¹)	Guillard f/2	sanguaza (ml.L ⁻¹)		
		5	10	15
Nitrógeno	12.35	0.29	0.59	0.89
Fosforo	1.12	0.48	0.96	1,44

2.3.2 Medio Sanguaza

La sanguaza procedió del Desembarcadero Pesquero Artesanal de Chimbote. Durante la recolección de esta se utilizaron guantes quirúrgicos, con el uso de una jarra plástica de 1L se agregó sanguaza en el balde hasta la capacidad de 8L de volumen efectivo (anexo 1). Dicho contenido se transportó hacia el Laboratorio de cultivo de especies auxiliares en la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Del Santa.

Se filtró la sanguaza con un tamiz de 75 μm , y se colocaron en 5 frascos de vidrio con 500 ml de volumen cada uno, estos frascos se colocaron en una autoclave con el fin de esterilizar el contenido durante 3h.

Las muestras de sanguaza se enfriaron a temperatura ambiente y luego refrigerada a 5 °C por 24 horas, con la finalidad de sedimentar las muestras (anexo 3). Se centrifugó el sobrenadante obtenido a 6000 rpm durante 10 minutos (anexo 4). Luego se dosificaron los cultivos a diferentes concentraciones de 5mL^{-1} , 10mL^{-1} y 15mL^{-1} (Fig1).

Se realizaron análisis químicos y biológicos a las muestras de sanguaza centrifugada, en el laboratorio Corporación de laboratorios de Ensayos clínicos, Biológicos e Industriales “COLECBI” SAC, las cuales se observan en la tabla N° 3.

Tabla 3. Composición de la sanguaza utilizada en el experimento.

NUTRIENTE	CONCENTRACIÓN (mg.L^{-1})	MÉTODO
Nitrógeno	59,36	UNE-EN ISO 5983-2 Parte 2 Dic. 2006
Fosforo	96.10	Espectrofotométrico APHA (2005)
Potasio	371.82	Espectrofotométrico, HACH 8049
Grasas	10 220	NMX-AA-005-SCFI-2000



Figura 1. Flujograma del tratamiento de sanguaza.

2.4. Preparación de las unidades experimentales

Se utilizaron 12 botellas plásticas de 1500 ml de volumen total, con un aforo de 1000 ml. Se adicionaron cantidades iguales de inóculo de *S. acutus*, completando con agua potable previamente tratada y sanguaza. Todos los cultivos iniciaron con una densidad poblacional de 2×10^6 cel. ml⁻¹.

Se empleó el método de estímulo creciente con 3 grupos experimentales y un grupo control, cada uno con tres repeticiones (tabla 4).

2.4.1. Tratamiento del agua de cultivo:

Se utilizó agua potable hervida durante 15 min, tanto para los tratamientos como para el control, con la finalidad de eliminar la presencia de microorganismos que puedan interferir con el crecimiento del cultivo de *Scenedesmus acutus*.

Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se dosificó de acuerdo a la concentración del tratamiento y del control.

2.5. Diseño Experimental

Se utilizó el método de estímulo creciente con 3 grupos experimentales y un grupo control, cada uno con tres repeticiones (tabla 4):

Tabla 4: Diseño experimental para la evaluación del efecto de concentración de sanguaza en cultivos de *S. acutus*.

Tratamientos	Repeticiones	Especificaciones
T1	R1,R2,R3	Medio de cultivo con 5ml de sanguaza
T2	R1,R2,R3	Medio de cultivo con 10ml de sanguaza.
T3	R1,R2,R3	Medio de cultivo con 15ml de sanguaza
TC	R1,R2,R3	Medio de cultivo con Guillard f/2

2.6. Parámetros físicos y químicos del cultivo *S. acutus*

Se monitoreó diariamente la temperatura utilizando un termómetro digital marca Boeco con sensibilidad de $\pm 0,1$ °C, y el pH con pH-metro digital marca Oakton con $\pm 0,01$ de sensibilidad, los cuales se destacan en el anexo 9 y anexo 10.

2.7. Determinación del Crecimiento Poblacional de *S. acutus*

Se realizó cuantificación diaria de los cultivos algales, para determinar el crecimiento poblacional de dichos, las muestras se extrajeron con una pipeta de 1ml, y contabilizadas con la cámara Neubauer y un microscopio binocular marca “Motic BA200”.

Con los datos obtenidos del máximo crecimiento se graficaron las curvas de crecimiento poblacional, la tasa de crecimiento específico (μ) y el tiempo de duplicación diaria (TD), (Guillard 1973).

$$\mu = \frac{\ln(N_f/N_o)}{T_f - T_o} \quad T = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Donde:

N_o = Número inicial de células

N_f = Número final de células

T_o = tiempo inicial

T_f = tiempo final

μ = Constante de crecimiento

TD= tiempo de duplicación

2.8. Determinación de Lípidos de *S. acutus*

Se utilizó fotolorimetría al inicio y final de los ensayos, basándonos en la metodología de Blight & Dyer (1959) para la extracción de los lípidos, y su concentración según Marsh & Weinstenn (1966).

Para la extracción de los lípidos se utilizaron muestras de 10 ml cada uno de los cultivos centrifugados a 10 000 rpm por 10 min., luego secados en estufa a 45°C

durante 24 h (anexo 5). Luego se agregó 3 ml de solución de metanol-cloroformo (2:1) y refrigeradas a 5°C durante 24 h. Posteriormente se adicionó 3 ml de agua destilada y se centrifugó a 6000 rpm durante 10 minutos.

Luego se retiró la capa superior, el sedimento secó a 80°C y se adicionó 2 ml de ácido sulfúrico concentrado (98%) y calentado a 200°C por 1 h. y enfriado a temperatura ambiente. Las lecturas fotométricas se realizaron con espectrofotómetro Tumer Barstead Internacional con celdas de cuarzo y con longitud de onda de 375 nm.

La concentración de lípidos totales se estimó en curvas de calibración utilizando colesterol y/o aceite de oliva.

Lípidos en porcentaje (P):

$$L (\%) = \frac{\left(\left(\frac{\text{Absorbancia}}{P} \right) \times V \right)}{M} \times 100$$

V: Volumen de muestra analizada (10 ml).

M: Peso seco (mg) en 10 ml de cultivo.

P: Promedio de pendientes de curvas de calibración con aceite de Oliva y/o colesterol (4,4052).

Lípidos en biomasa (LB):

$$LB (mg L^{-1}) = \frac{L \times B}{100}$$

Donde:

L: Porcentaje lípidos (%).

B: Biomasa seca (mg L⁻¹).

2.9. Determinación de la biomasa de *S. acutus*

Para determinar la concentración de los lípidos totales en biomasa (mg L^{-1}) de los cultivos de *S. acutus*, se centrifugó 2ml de suspensión microalgal por cada tratamiento, se retiró el sobrenadante y se secaron en estufa a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 6 h, luego a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min y enfriado por 1h.

El peso se determinó mediante una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg. Los datos obtenidos se reemplazaron en las siguientes fórmulas:

$$\text{Biomasa microalgal (mg L}^{-1}\text{)} = ((\text{Pf} - \text{Pi})/4) \times 1000$$

Dónde:

Pi: Peso inicial

Pf: Peso final (tubo +muestra) (mg)

$$\text{Biomasa de lípidos (g L}^{-1}\text{)} = (\text{biomasa microalgal} \times \% \text{Lípidos})/100$$

Dónde:

Biomasa microalgal: Peso de microalgas en un litro (mgL^{-1})

2.10. Análisis Estadístico

Los ensayos fueron verificados estadísticamente para las tasas de crecimiento de la microalga *S. acutus* aplicando análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación de los promedios de Tukey, usando el programa SPSS versión 20 para Windows 7 para establecer diferencias entre promedios, con un nivel de significancia de 0.05.

III. RESULTADOS

3.1. Crecimiento Poblacional de *S. acutus*.

Los ensayos iniciaron con densidades poblacionales promedio significativamente similares ($p > 0,05$) de $2,05 \times 10^6$ cél.ml⁻¹, evidenciándose crecimiento durante los 7 días de cultivo. (Tabla 5, figura 3)

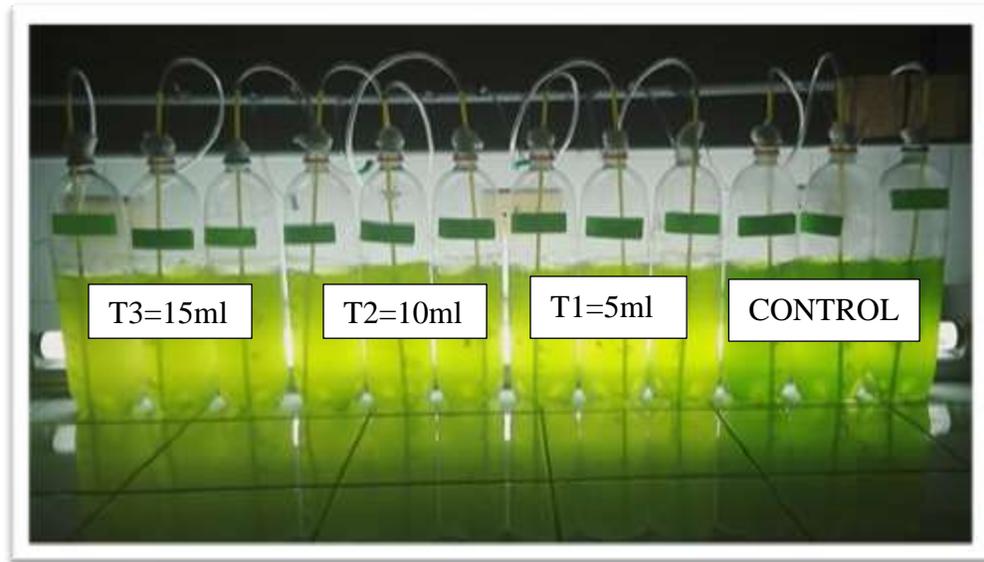


Figura 2. Cultivo de *S. acutus* con Sanguaza.

Desde el día uno los cultivos algales dosificados con sanguaza mostraron incrementos significativamente mayores ($p < 0,05$) que el grupo control, con valores de $3,53 \times 10^6$ cél.ml⁻¹, $3,70 \times 10^6$ cél.ml⁻¹ y $3,75 \times 10^6$ cél.ml⁻¹ para los tres tratamientos, mientras que el control fue menor ($p < 0,05$) con $3,15 \times 10^6$ cél.ml⁻¹ en el día 1.

A partir de segundo día la dosificación a 10 ml L⁻¹ de sanguaza, mostró un incremento de biomasa algal de $9,97 \times 10^6$ cél.ml⁻¹, seguido de los tratamientos con 5 mL⁻¹ y 15 mL⁻¹ de sanguaza con $8,40 \times 10^6$ cél.ml⁻¹, y $8,93 \times 10^6$ cél.ml⁻¹, respectivamente. Sin embargo la biomasa algal del grupo control fue menor ($p < 0,05$) con $6,10 \times 10^6$ cél.ml⁻¹.

TABLA 5. Densidad celular ($\times 10^6$ cel.ml⁻¹) de *S. acutus* Cultivado con el medio f/2 Guillard (control) y con tres concentraciones de sanguaza. T1: 5 ml, T2: 10 ml y T3: 15ml

DÍA DE CULTIVO	CONTROL	Tratamientos (mL ⁻¹)		
		5	10	15
0	2,05 ±0,00a	2,05 ±0,00a	2,05 ±0,00a	2,05 ±0,00a
1	3,15 ±0,10b	3,53 ±0,19a	3,70 ±0,15a	3,75 ±0,13a
2	6,10 ±0,23c	8,40 ±0,30b	9,97 ±0,13a	8,93 ±0,20b
3	11,05 ±0,25c	12,23 ±0,24b	15,18 ±0,40a	15,62 ±0,38a
4	15,02 ±0,26b	14,03 ±0,38b	17,80 ±0,53a	18,52 ±0,40a
5	16,22 ±0,35b	13,83 ±0,08c	18,25 ±0,31a	18,68 ±0,28a
6	18,33 ±0,37b	14,12 ±0,18c	19,03 ±0,18a	18,85 ±0,23ab
7	19,42 ±0,28a	13,77 ±0,26c	18,43 ±0,23b	19,12 ±0,30ab

Los cultivos dosificados con 10 y 15 mL⁻¹ de sanguaza mostraron crecimiento de la biomasa algal con tendencias similares y mayores a los de 5mL⁻¹ y controles. (Fig. 4 y tabla 5); mientras que las dosificaciones con 5mL⁻¹ de sanguaza presentaron menores crecimientos algales desde el día 3 (12,23 $\times 10^6$ cel.mL⁻¹) alcanzando los menores valores al final de los ensayos con 14,12 $\times 10^6$ cel.ml⁻¹ y 13,77 $\times 10^6$ cel.ml⁻¹ en el día 6 y 7 respectivamente.

Al final del experimento, las densidades de la biomasa algal fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) estuvieron en el grupo control y 15 mL⁻¹ de sanguaza con 19,42 $\times 10^6$ cel.ml⁻¹ y 19,12 $\times 10^6$ cel.ml⁻¹, respectivamente, y esta última fue similar ($p > 0,05$) al dosificado con 10 mL⁻¹ de sanguaza con 18,43 $\times 10^6$ cel.ml⁻¹; mientras, el menor ($p < 0,05$) el tratamiento estuvo con 5 mL⁻¹ de sanguaza con 13,77 $\times 10^6$ cel.ml⁻¹.

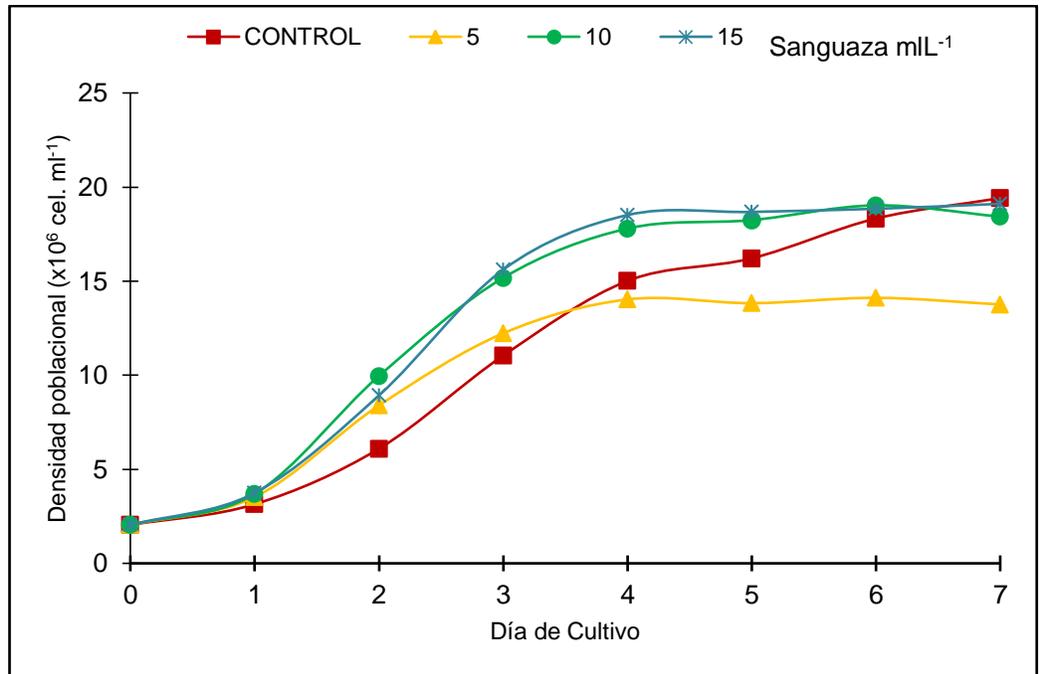


Figura 3. Curvas del crecimiento poblacional de *S. Acutus* Cultivado dosificadas con tres concentraciones de sanguaza.

3.2. Tasa de Crecimiento y Tiempo de duplicación poblacional de *S. acutus*

En la Tabla 6 y figura 4, se muestra la tasa de crecimiento (μ) y el tiempo de duplicación (TD) poblacional en los cultivos de *S. acutus* dosificados con sanguaza y el grupo control, que fueron calculados entre el inicio y el cuarto día de cultivo (anexo 7).

Tabla 6. Tasa de Crecimiento por día (μ) y Tiempo de Duplicación Diaria (TD) de *S. acutus* Cultivados con el medio f/2 Guillard (control) y con tres concentraciones de sanguaza.

PARÁMETRO	CONTROL	Tratamientos (mL ⁻¹)		
		5	10	15
N0	2,05 ±0,00	2,05 ±0,00	2,05 ±0,00	2,05 ±0,00
Nf	15,02 ±0,26	14,03 ±0,38	17,80 ±0,53	18,52 ±0,40
Día	4	4	4	4
μ (día ⁻¹)	0,498 ±0,005b	0,481 ±0,007c	0,540 ±0,008a	0,550 ±0,005a
TD (día)	1,392 ±0,013b	1,442 ±0,020c	1,283 ±0,018a	1,260 ±0,012a

Para el día cuatro, la tasa de crecimiento algal (μ) de *S. acutus* presentó los mayores valores significativos ($p < 0,05$) con 10 y 15 mL⁻¹ de sanguaza con 0,540 día⁻¹ y 0,550 día⁻¹, respectivamente; seguido del control con 0,498 día⁻¹; y con 5 mL⁻¹ de sanguaza con 0,481 día⁻¹, asimismo el TD fueron significativamente menores ($p < 0,05$) en los de 10 mL⁻¹ y 15 mL⁻¹ de sanguaza con 1,283 día⁻¹ y 1,260 día⁻¹, respectivamente; seguido del control con 1,392 día⁻¹ y 5 mL⁻¹ de sanguaza con 1,442 día⁻¹.

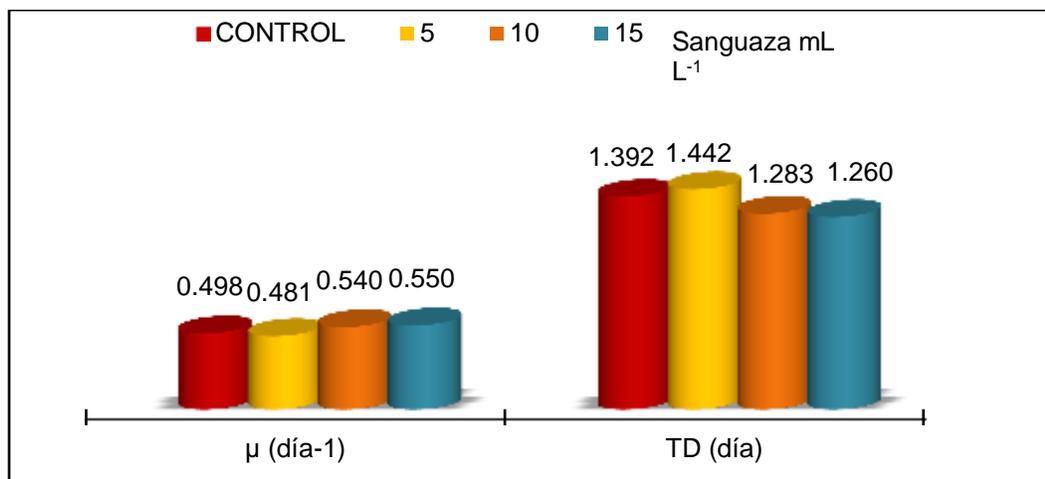


Figura 4. Valores de μ y TD de los cultivos de *S. acutus* dosificados con sanguaza.

3.3. Contenido de lípidos en *S. acutus*

En la Tabla 7 y figura 7 y 8, se representan los promedios del contenido de lípidos en porcentaje (%) y biomasa (mgL^{-1}) de *S. acutus* al cuarto día de cultivo con los 3 tratamientos de sanguaza y un grupo control (f/2 Guillard), los mayores promedios significativos ($p < 0,05$) se determinaron en los tratamientos dosificados con 5 mL^{-1} y 10 mL^{-1} de sanguaza con 27.20% y 26.90 %, respectivamente; seguido del dosificado con 15 mL^{-1} de sanguaza (23,79 %); y en el grupo control (22,76 %) (anexo 8).

Tabla 7. Contenido de lípidos de *S. acutus* dosificadas con tres concentraciones de sanguaza al cuarto día de cultivo.

PARÁMETROS	Sanguaza (mL^{-1})			
	CONTROL	5	10	15
Biomasa (mgL^{-1})	352,3 ±6,1b	329,0 ±9,0b	417,3 ±12,1a	434,0 ±9,5a
Lípidos (%)	22,76 ±0,40c	27,20 ±0,35a	26,90 ±0,16a	23,79 ±0,56b
Lípidos (mgL^{-1})	80,2 ±2,8b	78,3 ±4,0b	112,3 ±3,9a	118,1 ±4,1a

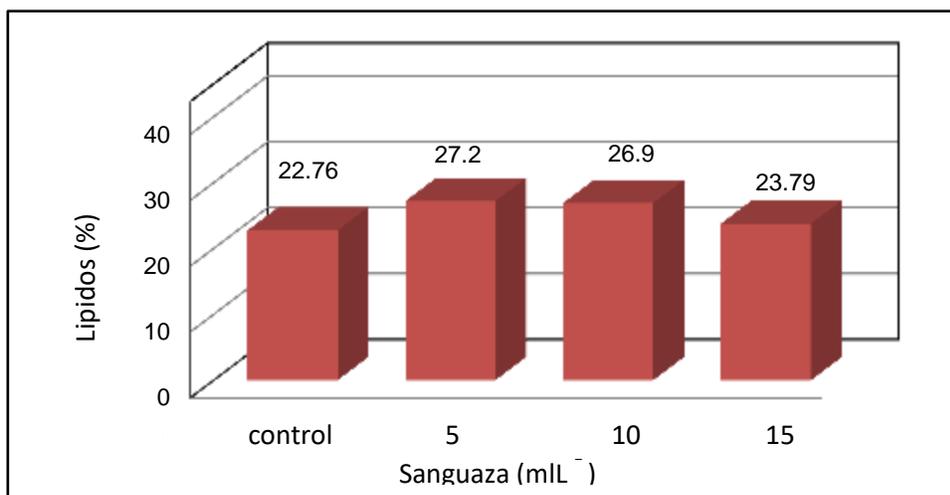


Figura 5. Porcentaje de lípidos en *S. acutus* dosificadas con tres concentraciones de sanguaza al cuarto día de cultivo.

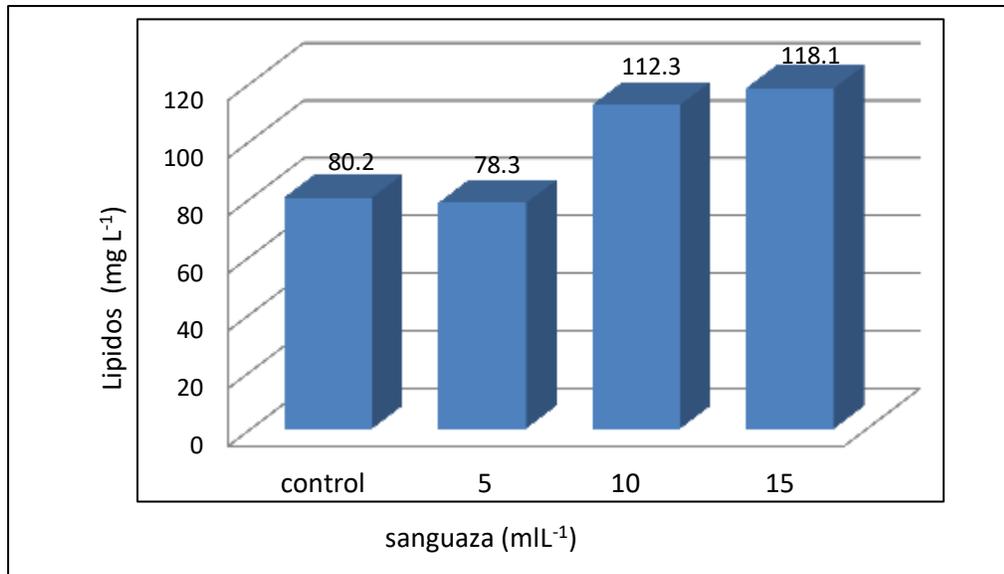


Figura 6. Biomasa de lípidos en *S. acutus* dosificadas con tres concentraciones de sanguaza al cuarto día de cultivo.

Asimismo la biomasa de lípidos (mgL⁻¹) al cuarto día de cultivo, presentaron los mayores promedios significativos ($p < 0,05$) en los tratamientos dosificados con 10 mL⁻¹ y 15 mL⁻¹ de sanguaza con 112,3 mgL⁻¹ y 118,1 mgL⁻¹, respectivamente; y los menores en el grupo control (80,2 mgL⁻¹) y con 5 mL⁻¹ (78,3 mgL⁻¹) de sanguaza.

3.4. Parámetros físicos y químicos de los cultivos de *S. acutus*

3.4.1. Temperatura

La temperatura en los cultivos algales de *S. acutus* varió entre 26,7 °C (día 5) y 27,8 °C (día 7) durante el experimento (Fig. 2)

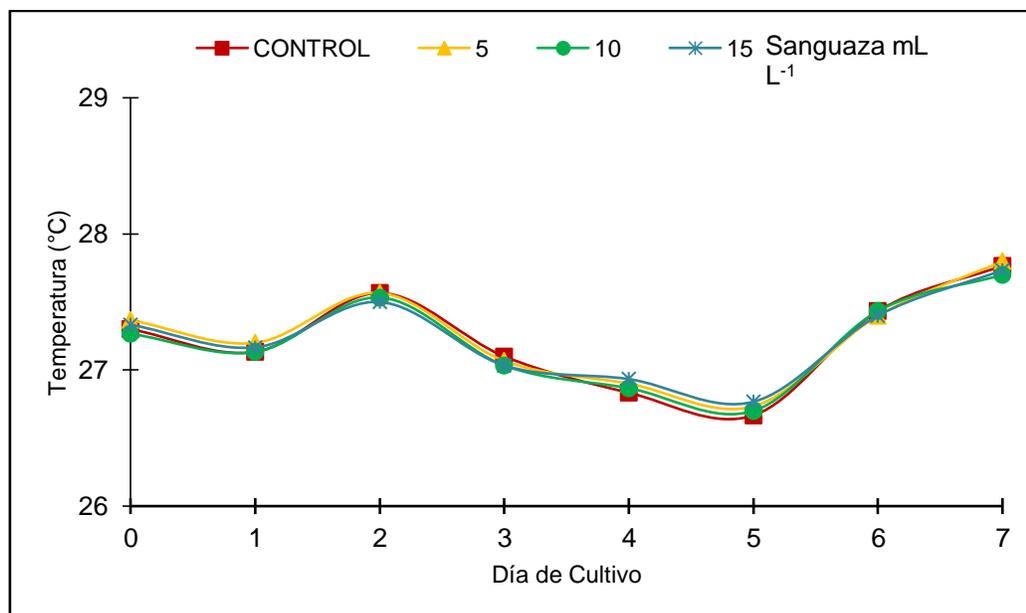


Figura 7. Variación diaria de temperatura (°C) de los cultivos de *S. acutus* dosificados con sanguaza (mL⁻¹).

3.4.2. pH

Los parámetros de pH promedio en los cultivos de *S. acutus*, se representa en la Fig. 3. Observándose que el pH en los cultivos con medio sanguaza se encontraban entre 7,47 unid. A 9,08 unid.

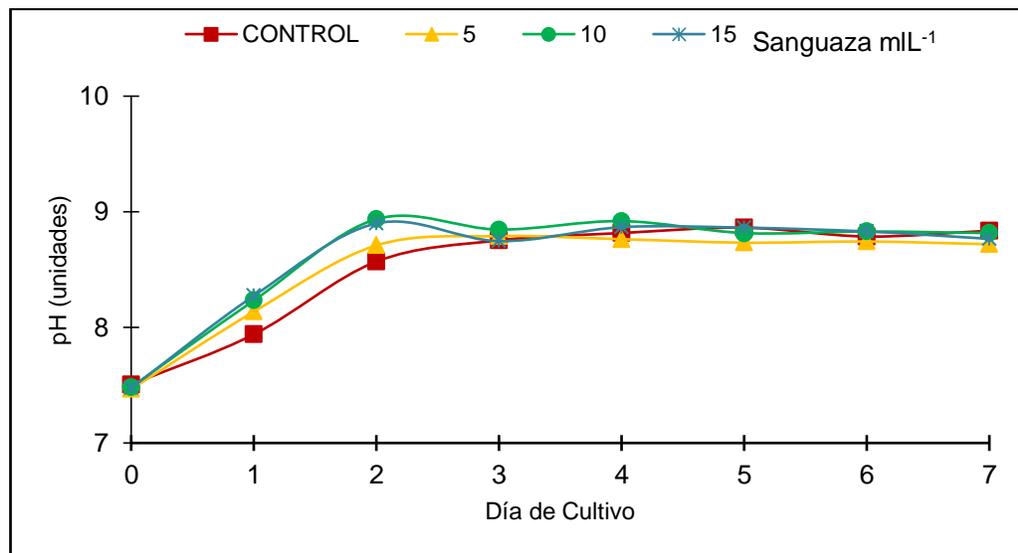


Figura 8. Variación del pH promedio de los cultivos de *S. acutus* dosificados con sanguaza (mL⁻¹).

A partir del segundo día hasta el séptimo día el nivel de pH se mantuvo constante para los 3 tratamientos e inclusive para el grupo control

IV. DISCUSIÓN

“Las microalgas poseen un papel importante en la transformación de la materia orgánica e inorgánica de las aguas residuales, en biomasa, y el agua tratada puede utilizarse para riego” (Shelef & Oron, 1978).

Las aguas residuales son ricas en todo tipo de compuestos que permiten sostener el metabolismo de ciertos microorganismos fotosintéticos; esta es la base de la depuración, donde la digestión aerobia de la materia orgánica mediada por bacterias se mantiene gracias al oxígeno producido por las microalgas, las cuales incorporan los compuestos residuales de la oxidación generando un proceso depurativo eficaz. (Riquelme & Avendaño, 2003)

Las microalgas necesitan ciertas condiciones para su normal crecimiento, entre ellas se encuentran condiciones químicas como la presencia de nutrientes (nitrógeno, fósforo, azufre y silicio), la salinidad y el pH del medio de cultivo; además de condiciones físicas como temperatura e intensidad luminosa; sin embargo, “para que este tipo de microorganismos produzca una cantidad significativa de metabolitos secundarios, como los lípidos, se necesita controlar los factores mencionados anteriormente” (Bolaños y Martínez, 2013).

Chacón *et al.*, (2004) “demostraron que *Scenedesmus sp* se adapta muy bien a condiciones ambientales no controladas de temperatura ($26\pm 6^{\circ}\text{C}$) e iluminación natural”, lo mencionado por los autores se corrobora en la presente investigación en donde las temperaturas presentaron variaciones entre $26.6 - 27.8^{\circ}\text{C}$ (figura 2), cuyos resultados no alteraron el efecto del medio sanguaza sobre el crecimiento algal.

Con respecto al pH en cultivo de *Scenedesmus* Tamayo (2012), indica que “el pH óptimo de dicho cultivo se encuentra alrededor de $7.2 - 7.7$ y que si este disminuye en rangos de 3 a 4, podría ser letal para el cultivo”. En referencia a lo expuesto por el autor, los resultados del pH se acercaron mucho a los obtenidos durante la

investigación cuyos resultados para los cultivos experimentales fueron 7.4 a 8.9 (figura 3); lo cual no afectó en el crecimiento poblacional ni el contenido lipídico de *S. acutus* cultivadas con medio sanguaza.

“El crecimiento poblacional indica la asimilación de nutrientes que en cultivos heterotróficos, *Scenedesmus* sp puede utilizar diferentes fuentes nitrogenadas como efluentes pesqueros, municipales, entre otros; asimismo puede metabolizar aminoácidos y vitaminas que le permiten sintetizar ácidos grasos poliinsaturados” (Bold & Wynne, 1985).

En tal sentido el crecimiento poblacional de *S. acutus*, Ugalde, (2011), sugiere que los “nutrientes en las microalgas son esenciales para el correcto desarrollo y crecimiento celular, asimismo el nitrógeno es un importante componente para el crecimiento de las microalgas que puede ser incorporado a través de amonio o nitratos disueltos en el medio”. “Usualmente el requerimiento de nitrógeno es de 0,1 a 0,14 en fracción másica” (Posten & Schaub, 2009)

En referencia a lo expuesto por el autor, durante la investigación se determinó que la sanguaza utilizada contenía $59,36\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Nitrógeno (N), $96,10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fósforo (P) y $371,82\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Potasio (K) (Tabla 3), lo que posiblemente aprovechó *S. acutus* en el tratamiento con 15 mL^{-1} de dosis de medio sanguaza, permitiendo mayores densidades poblacionales $18,52\pm 0,40 \times 10^6\text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$, que resultó ser significativamente iguales al tratamiento con 10mL^{-1} de dosis de medio sanguaza con $17,80\pm 0,53 \times 10^6\text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ al cuarto día de cultivo (Figura 5). Al final del experimento, las densidades de biomasa algal fueron significativamente mayores en el tratamiento control y 15mL^{-1} de sanguaza, y el menor en los tratamientos con 5 y 10 mL^{-1} sanguaza, iniciando la fase de declinación del crecimiento para estos tratamientos.

No obstante, Andrade *et al.*, (2009) cultivaron *Scenedesmus* sp. en agua residual de pesquería (piel, cabezas, colas y vísceras) demostrando óptimos crecimientos con $8.05\pm 0.55 \times 10^6\text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ a comparación del uso de un fertilizante vegetal que presentó crecimiento poblacional de $7.39 \pm 0.18 \times 10^6\text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$. Sin embargo los resultados de la

investigación fueron superiores a los obtenidos por los autores antes mencionados e inclusive superiores a los resultados obtenidos por Charity *et al.* (2009) para *Scenedesmus sp.*, quienes obtuvieron 8.05×10^6 cel.ml⁻¹ utilizando residuos pesqueros. Por otro lado los resultados de la investigación también se compararon con los obtenidos por Briceño (2012) quien trabajó con *Tetraselmis suecica* con una densidad celular de 1.082×10^6 cel.ml⁻¹ a una concentración de 60 mL⁻¹ de residuos de pescado, resultando que el crecimiento poblacional de *Scenedesmus* de la presente investigación también fueron superiores a los que citó el autor, por tanto se puede afirmar que el medio sanguaza aporta nutrientes asimilables que podrían ser muy bien aprovechados por *S. acutus*, quienes presentaron mayor crecimiento algal a mayor concentración de nitrógeno; lográndose afirmar que existe la posibilidad que el uso de sanguaza como medio de cultivo puede reemplazar a aquellos medios tradicionales formulados con sustancias químicamente puras o con productos de uso agrícola, lográndose reducir algunos costos como en la compra de insumos químicos, inclusive se podría ayudar a la mitigación del impacto ambiental.

Al considerar que la tasa de crecimiento (u) debe considerar su relación inversa con el tiempo de duplicación diaria (TD), de tal manera que la tasa de crecimiento sea mayor a la densidad microalgal (cel.ml⁻¹). Durante los ensayos, se observó que con dosis de 15mL⁻¹ (0,550 día⁻¹) y 10mL⁻¹ (0,540 día⁻¹) de sanguaza, se obtuvieron mejores tasas de crecimiento (u); mientras que el TD fueron menores para los tratamientos con 15mL⁻¹ y 10mL⁻¹ (1,260 día ; 1,283 día (tabla 5), esto se podría referir posiblemente a las afirmaciones de Arredondo & Voltolina (2007), quienes señalan que “la presencia de nutrientes fácilmente asimilables por las microalgas favorecen el crecimiento rápido en un medio de cultivo no limitante y en condiciones adecuadas”. Por lo que podemos afirmar que el medio sanguaza presenta nutrientes como nitrógeno orgánico que son fácilmente asimilables por *S. acutus*, alcanzando mayores crecimientos en los cuatro primeros días de cultivo, superando al tratamiento con medio Guillard que presenta nitrógeno inorgánico.

Por otro lado el tiempo de duplicación microalgal de la presente investigación fue menor (0.498 día⁻¹) al reportado por Ortega-Salas & Reyes-Bustamante (2012) quienes indicaron que el cultivo en *Scenedesmus quadricauda* con medio Guillard f/2 presentó un valor máximo de 0,72 día⁻¹.

“La acumulación de lípidos en las microalgas depende de diversos factores, entre ellos, el régimen de cultivo” (Perez - Garcia *et al.*, 2011). La acumulación de lípidos en las células microalgales están asociadas con el crecimiento poblacional, y el contenido de lípidos está relacionado con el contenido de nitrógeno; en tal sentido Cobos *et al.*, (2016) reportaron una menor producción de biomasa y un mayor porcentaje de lípidos totales en *Ankistrodesmus sp.*, *Ankistrodesmus nannoselene* y *Scenedesmus sp.*, cultivadas en medios sin nitrógeno, así mismo encontraron que *Ankistrodesmus sp.* fue la especie que alcanzó mayor densidad microalgal (15,7 x 10⁶ células/ml) en medios de cultivo con nitrógeno, con respecto al medio de cultivo sin nitrógeno.

Esta situación fue corroborado por Beopoulos *et al.* (2009), quienes consideran que “el agotamiento de nitrógeno puede detener la división celular y continuando el metabolismo del carbono que conlleva a una mayor producción de lípidos”.

Los resultados de la presente investigación coinciden con lo anteriormente mencionado puesto las dosis con 5mL⁻¹, 10mL⁻¹ y 15mL⁻¹ de sanguaza contenían 0.29mgL⁻¹; 0.59mgL⁻¹ y 0.89mgL⁻¹ de nitrógeno, permitiendo obtener mayores porcentajes lipídicos a partir del cuarto día de cultivo (tabla 5), los cultivos de *S. acutus* dosificados con 5mL⁻¹ de medio sanguaza, conteniendo menor aporte de nitrógeno (0.29mgL⁻¹) presentaron mayor porcentaje de lípidos (27.20%) con respecto a los tratamientos de 10 y 15 mL⁻¹ con (0.59 y 0.89 mgL⁻¹ de nitrógeno) donde se obtuvieron 26.90% y 23.79% de lípidos respectivamente; el porcentaje lipídico en el grupo control fue de 22.76 % con una mayor concentración de nitrógeno (12.35 mgL⁻¹) (tabla 7, figura 5 y 6).

Por otro lado “las investigaciones realizadas para inducir la síntesis de lípidos a pequeña escala, concuerdan que bajo condiciones limitantes de nitrógeno se reduce el crecimiento, mientras que existe una gran variación en el contenido de lípidos y su perfil de ácidos grasos” (Arias *et al.*, 2013); sin embargo, la gran desventaja es “la limitación de nutrientes (N, K, P) o el estrés fisiológico requerido para la acumulación de lípidos en la célula está asociado con la reducción del proceso de división celular y la baja velocidad de crecimiento” (Ratledge, 2002), es decir, “la presencia de nitrógeno promueve altas velocidades de crecimiento y bajo contenido lipídico, mientras que la deficiencia de nitrógeno reduce la velocidad de crecimiento y aumenta el contenido de lípidos” (Cheng *et al.*, 2010), esto se observó en los trabajos realizados por Mandal & Mallick, (2009); Xin *et al.*, (2010c); Arias *et al.*, (2011b); Lin *et al.*, (2012), donde la limitación combinada de nutrientes favoreció la acumulación de lípidos en algunas especies del género *Scenedesmus*, que en condiciones normales de cultivo contienen entre 9 % - 21 % de lípidos. Aunque Rodolfi *et al.*,(2009), observaron que la disminución en el contenido de nitrógeno no afectó la acumulación de lípidos de *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* Sin embargo Chisti, (2007), afirma que “el contenido lipídico en microalgas se puede controlar en función de las condiciones de cultivo y limitación de nutrientes especialmente nitrógeno”. Charity *et al.*, (2009) obtuvieron el 2.47% de lípidos en *Scenedesmus sp.* y por otro lado Hernandez-Reyes *et al.*, (2009), obtuvieron porcentajes de lípidos de 7,2% y 8,4%, para *Scenedesmus sp.* y *S. incrassatulus*, dichos autores utilizaron como medio de cultivo los residuos pesqueros.

Es conocido, que “las microalgas pueden variar su composición bioquímica dependiendo de la fase de crecimiento en que se encuentren debido a los cambios fisiológicos a las que están sometidas” (Brown *et al.*, 1997).

No obstante, mientras que con dosis de 15 ml L⁻¹ y 10 mL⁻¹ de sanguaza se obtuvo 23.79 % y 26,90% de lípidos, con dosis de 5 mL⁻¹ de sanguaza se obtuvo 27.20 % de lípidos; el porcentaje lipídico en el grupo control fue de 22.76 % con una mayor concentración de nitrógeno (12.35 mgL⁻¹); dichos resultados se obtuvieron al 4 día de cultivo, cuando las microalgas alcanzaron su máximo crecimiento exponencial. Arias

et al., (2013) han observado que el contenido de lípidos es mayor en la fase estacionaria de crecimiento que en la fase exponencial. En “células de *Nannochloropsis oculata* en un medio limitado de nitrógeno se encontró que la acumulación de lípidos al pasar de la fase logarítmica a la estacionaria aumentó significativamente del 30,8 % al 50,4 %” (Chiu *et al.*, 2009), observándose que los mayores porcentajes de lípidos se relaciona con la fase final del cultivo, con crecimiento cero pero con activa producción de lípidos.

En cuanto a la coloración del medio de cultivo de los tratamientos con dosificaciones de 5, 10 y 15 mL⁻¹ de sanguaza se observó diferencias con respecto al grupo control (Figura 4) y fue más notorio a partir del cuarto día de cultivo, la coloración verde amarillenta en los tratamientos con sanguaza, y verde oscuro a los cultivos con Guillard, podría deberse a la acumulación de lípidos en las microalgas dosificadas con sanguaza, Cobos *et al.*, 2015, también notaron cambio de coloración en medios de cultivo sin nitrógeno a partir del segundo día de cultivo, posiblemente se debe a lo confirmando por Millan & Fernández (2011) quienes observaron “cambio de coloración en el medio de cultivo y aumento del tamaño celular en medios de cultivo con pocos nitratos”.

Alva *et al.*, (2013) “sostienen que el uso de aguas residuales municipales es una alternativa viable para disminuir los costos de producción de lípidos por el ahorro de agua y nutrientes (N, P, K)”. Asimismo el uso de sanguaza obtenida del aprovechamiento artesanal, posibilita la generación de lípidos de cultivos de *S. acutus*, reduciendo los costos de producción y estableciendo una alternativa eficiente para la reducción de residuos pesqueros coadyudando a la mitigación de impacto ambiental.

V. CONCLUSIONES

- ✓ El mayor crecimiento poblacional de *S. acutus* al cuarto día de cultivo ($p < 0,05$), se obtuvieron en tratamientos con 15 mL^{-1} de sanguaza con valor de $18,52 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$, y el menor crecimiento poblacional ($p < 0,05$) se encontró en el tratamiento con 5 mL^{-1} con $14,03 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$.

- ✓ La mayor tasa de crecimiento poblacional de *S. acutus* al cuarto día de cultivo se obtuvo en los tratamientos dosificados con 15 mL^{-1} de sanguaza, ($0,550 \text{ día}^{-1}$) y la de 5 mL^{-1} ($0,481 \text{ día}^{-1}$), asimismo el TD fueron menores en las dosificaciones con 15 mL^{-1} de sanguaza ($1,260 \text{ día}^{-1}$) y el mayor TD fue con 5 mL^{-1} de sanguaza ($1,442 \text{ día}^{-1}$).

- ✓ El mayor contenido en el porcentaje de lípidos para *S. acutus* al cuarto día de cultivo, se obtuvo en el tratamiento dosificado 5 mL^{-1} de sanguaza (27,20%) seguido del tratamiento con 10 mL^{-1} de sanguaza (26,90%); y significativamente menor ($p < 0,05$) con el tratamiento con 15 mL^{-1} de sanguaza (23,79%).

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar económicamente los costos para la producción del cultivo algal de *S. acutus* utilizando la sanguaza como medio de cultivo.
- Evaluar las variaciones diarias de contenido de Nitrógeno en los cultivos de *S. acutus* dosificados con sanguaza, para establecer a que concentración logran su máximo crecimiento.
- Realizar estudios bioquímicos relacionados con la identificación de las rutas metabólicas que participan en la formación y concentración de lípidos intracelular.
- Hacer el mismo trabajo experimental realizando la extracción de lípidos en las diferentes fases de crecimiento.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, C.; A. Vera; C. Cárdenas & E. Morales. 2009. Biomass production of microalgae *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Rev. Tec. Ing. Univ. Zulia*. 32(2):126-134.
- Alva, M.S. De, V.M. Luna-Pabello, E. Cadena, & E. Ortíz. 2013. Green microalga *Scenedesmus acutus* grown on municipal wastewater to couple nutrient removal with lipid accumulation for biodiesel production. *Bioresource Technology* 146: 744-748. DOI: 10.1016/j. biortech.2013.07.061. Álvarez, M.; Zarco, J. 1989. Lipids in Microalgae. A review I. *Biochemistry. Grasas y Aceites* 40(2): 118-145.
- Álvarez, M. 1989. Lipids in Microalgae. A review II. *Environment. Grasas y Aceites* 40(3): 213-223.
- Arias Martha, Martínez Alfredo, Olivia Rosa.2013. Producción De Biodiesel A Partir De Microalgas: Parámetros Del Cultivo Que Afectan La Producción De Lípidos. Ciudad de México, D.F., México.
- Arias, P., Martínez, R. & Cañizares, V. 2013. Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos. *Acta Biológica Colombiana*, vol. 18, núm. 1, 2013, pp. 43-68.
- Arredondo, V. B. & D. Voltolina, 2007. Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. *Métodos y herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal*. Cap. 2
- Bermejo, R.; Álvarez P.; Acien, F.; Molina, G. 2002. Recovery of pure N-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. *Journal of Biotechnology*. 93:73-85.
- Birch, M. Un ensayo controlado aleatorio de la oferta dietética temprana de cadena larga polyunsaturated ácidos grasos y el desarrollo mental de plazo lactantes. *Dev. Med Child Neurol* .2000; 42(3):174-81.
- Birch, M. La lactancia maternay el desarrollo visual óptimo. *Pediatr Ophtamol Estrabismo*.1993; 30:33-38.
- Bolaños, S. & G. Martínez. 2013. Producción de lípidos a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*. : *Implementación y evaluación de un fotobiorreactor a escala de*

laboratorio para la obtención de lípidos a partir de la microalga Chlorella vulgaris (utex 1803): 245-354.

- Bold, H. & Wynne, M. 1985. Introduction to the Algae. New Jersey: Prentice Hall. USA.
- BROWN, M. R., JEFFREY, S. W., VOLKMAN, J. K. & DUNSTAN, G. A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151: 315-331.
- Capa, W. (2010). *Biología y tecnología de microalgas*. Edit. CONCYTEC. Lima-Peru 181pp.
- Chacón, C., Andrade, C y Morales, E. 2004. "Producción de Biomasa de la Microalga *Scenedesmus* sp. en Cultivo Masivo y a Cielo Abierto". X Jornadas Nacionales de Investigación Científica. Maracaibo, Estado Zulia. Venezuela, 115pp.
- Cheng, L. H., Lv, J. M., Xu, X. H., Zhang, L. y Chen, H. L. 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresource Technology*. 101(17): 6797–6804.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25(3): 294-306.
- CHIU SY, KAO CY, TSAI MT, ONG SC, CHEN CH, LIN CS. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresour Technol*. 2009;100(2):833-838
- Cobos, M., Paredes J. y J. Castro (2016) Inducción de la producción de lípidos totales en microalgas sometidas a estrés nutritivo. *Acta biol. Colomb.*, Volumen 21, Número 1, p. 17-26, 2016. ISSN electrónico 1900-1649. ISSN impreso 0120-548X.
- Coll-Morales, J. 1983. *Acuicultura Marina Animal*. Mundi-Prensa, Madrid. España.
- Converti A., Casazza A., Ortiz E., Perego P., Borghi M. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chem Eng Process*. 2009;48(6):1146-1151.
- Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H., Glass, C., Merrill, A., Murphy, R., Raetz, C., Russell, D., Seyama, Y., Shaw, W., Shimizu, T., Spener, F., van Meer, G., VanNieuwenhze, M., White, S., Witztum, J., and Dennis, E. (2005). A comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid Res.*, 46(5): 839–861.
- FAO. Crónica FAO. <http://es.news.yahoo.com/04092006/4/cronica-fao-mitad-pescado-consume-mundo-procede-acuicultura-segun-fao.html>. Consulta en línea 10 de Septiembre de 2006^a

- FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura: más datos importantes. Sala de prensa http://www.fao.org/newsroom/eS/news/2005/100095/article_100100es.html. Consulta en línea 11 de Septiembre de 2006b
- González D. & Marín M. 2005. Obtención de ensilados biológicos a partir de los desechos del procesamiento de sardinas. *Revista Científica, FCV-LUZ* 15(6): 560-567.
- Guiry, M. & Guiry, G. (2013). Algaebase. world-wide electronic publication. http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=36404.
- Harel M, Koven W, Lein I, Yoav B, Behrens P, Stubblefield J, Zohar Y y Place A. 2002. Advanced DHA, EPA and ArA enrichments materials for marine aquaculture using single cells heterotrophs. *Aquaculture* 213, 347-362.
- Hernandez-Perez, A. & J. Labbe.2014. Microalga, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* Vol. 49, N°2: 157-173.
- H. Mendoza*, C. Molina Cedres, A. de la Jara, L. Nordström, K. Freijanes y L. Carmona.2008.Variación cuantitativa y cualitativa de la composición en ácidos grasos de *Cryptocodinium cohnii* en condiciones de supresión de nitrógeno. Instituto Tecnológico de Canarias. Playa de Pozo Izquierdo, s/n 35119, Lucía de Tirajana, Las Palmas, España.
- Hinzpeter I, Shene C y Massa L. 2006. Alternativas biotecnológicas para la producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3. *Grasas Aceites* 57 (3) 336-342.
- Hoffman, L. C.; Casey, N. H.; Prinsloo, J. F. 1993. A Further Investigation into the Fatty Acid Composition of the Lipids of the African Catfish (*Clarias gariepinus*). *The South African Journal of Food Science and Nutrition* 5, 41-42.
- Huang GH, Chen F, Wei D, Zhang X, Chen G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Appl Energy*. 2010; 87(1):38-46.
- Hu Q., Sommerfeld M., Jarcis E., Ghirardi M., Posewitz M., Seibert M. Microalgal triacylglycerols as feed stocks for biofuels production: perspectives and advances. *Plant J*. 2008; 54(4):621-639.
- J. Colombo, K.N. Kannass, D.J. Shaddy, S. Kundurthi, J.M. Maikranz, C.J. Anderson, O.M. Blaga, S.E. Carlson, Maternal DHA and the development of attention in infancy and toddlerhood, *Child Dev*. 75 (2004) 1254–1267.
- J.L. Daniels, M.P. Longnecker, A.S. Rowland, J. Golding.the ALSPAC StudyTeam, Fish in

- take during pregnancy and early cognitive development of offspring, *Epidemiology* 15 (2004).
- Kim M., Park J., Park C., Kim S., Jeune K., Chang M. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine waste water. *Bioresour Technol* 2007; 98: 2220 – 2228.
- Khalid, Q.; Saeed, A.; Hameed, A. 1968. The Fatty Acid Composition of Edible Marine Fish Oils. *The Journal of the American Oil Chemists Society* 45,247-249.
- Knothe G., Dunn R., Bagby M. 1997. Biodiesel: the use of vegetable oil and their derivatives as alternative diesel fuels. *ACS Symp Ser.* 666: 172-208.
- Lardon L., Helias A., Sialve B., Steyer J., Bernard O. Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae. *Environ Sci Technol.* 2009;43(17):6475-6481.
- Makrides, M. et al. Effect of maternal DHA supplementation on breast milk composition. *Europ J Clin Nutri.* 1996; 50:352-357.
- Mandal C., Ghosh-Choudhury T., Yoneda T., Choudhury G., Ghosh-Choudhury N. Fish oil prevents breast cancer cell metastasis to bone. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 402:602-7.
- Mata T., Martins A., Caetano N. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sust Energ Rev.* 2010; 14 (1):217-232.
- May E. 2015. Cultivo de la microalga *Scenedesmus* sp. en un fotobiorreactor acoplado a un sistema de recuperación de biomasa (tesis maestría). Centro de investigación científica de Yucatán, A. C.
- Méndez M. 2003. Evaluación de la remoción de fósforo y nitrógeno de aguas residuales por el alga *Chlorella* sp. *Revista Clon:*2: 42-46.
- Meng X., Yang J., Xu X., Zhang L., Nie Q., Xian M. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renew Energ,* 2009;34(1):1-5.
- Miao X, Wu Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresour Technol.* 2006; 97 (6):841-846.
- Mora, R., Moronta, R., Ortega J., Morales, E. 2005. Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. *Ciencia Completa:* 1-9.
- Molina Grima E, Belarbi EH, Fernández FGA, Robles Medina A y Chisti Y. 2003. Recovery

- of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol. Adv.* 20, 491-515.
- Mueller_Volimer, J., A. Bimbo, F. Basurco & Egocheaga L. 1998. Incremento de ganancias y reduccion de residuos en la industria de harina de pescado mediante practicas de manejo preventivo. pag. 1-93.
- Muller-Feuga A. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *J. Appl. Phycol.* 12, 527-534.
- Núñez A. 2015. Recuperación de sólidos del agua de cola por coagulación-floculación y cuantificación de histamina (tesis de pregrado). Universidad Agraria la Molina. Lima.
- Otero A., García D. & Fabregas J. 1997. Factors controlling eico-sapentaenoic acid production in semicontinuous cultures of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 9: 465-469.
- Park, J.B.K.- Craggs, R.J. & Shilton, A. N. 2010. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* (102), 35-42.
- Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., de Bashan, L. E., and Bashan, Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Res.*, 45(1): 11–36.
- Posten C., Schaub G. Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels - A process view. *J. Biotechnol.* 2009;142(1):64-69.
- Pulz O y Cross W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65, 635-648.
- Radmer RJ y Parker BC. 1994. Commercial applications of algae: opportunities and constraints. *J. Appl. Phycol.* 6, 93-98. Sargent J, Bell G, McEvoy L, Toucher D y Estévez A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191-199.
- Ratledge, C. 2002. Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. *Biochemical Society Transactions.* 30(6): 1047–1050.
- Richmond A, Hu Q. 2013. *Handbook of Microalgae Culture Applied Phycology and Biotechnology.* 2 ed. USA: Editorial Wiley-Blackwell; p. 116-117.

- Riquelme, C. & R. Avendaño (2003): Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural.*, 76: 725-736.
- RODOLFI L, CHINI G, BASSI N, PADOVANI G, BIONDI N, BONINI G, et al. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol Bioeng.* 102(1):100-112.
- Rodríguez, L; Juscamaita, J. Vargas, J. 2007. Efecto del medio EM-Bokashi en el cultivo de la microalga marina *Tetraselmis suecica* K. *Ecología Aplicada* 6: 111-116.
- Rodriguez C, Pérez JA, Badia P, Izquierdo MS, Fernández Palacios H y Hernández L. 1998. The n-3 highly unsaturated fatty acids requirements of gilthead seabream (*Spaurus aurata* L.) larvae when using an appropriate DHA/EPA ratio in the diet. *Aquaculture.* 169,9-23.
- Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussnug, J. H., Posten, C., Kruse, O., and Hankamer, B. (2008). Second Generation Biofuels: High-Eciency Microalgae for Biodiesel Production. *Bioenerg. Res.*, 1(1): 20–43.
- Shelef, G.; R. Moraine and G. Oron (1978): Photosynthetic biomass production from sewage. *Arch. Hydrobiol. Ergebn. Limnol.*, 11: 3-14.
- Silva, J; Vásquez, V; Merino, F. 2011. Producción de biomasa de *Tetraselmis suecica* empleando agua de mar con sanguaza.
- Soderberg, M. Composición de ácidos grasos de los fosfolípidos cerebrales en el envejecimiento y en la enfermedad de Alzheimer. *Lípidos.* 1991; 26:421-425.
- Tamayo V. Maria, 2012, Estudio sobre el modelado y control de las condiciones óptimas de cultivo de microalgas en fotobiorreactores para producción de biodiesel, tesis de máster en informática industrial posgrado en informática.
- Trainor, F. R. 1998. Biological aspects of *Scenedesmus* (Chlorophyceae) - phenotypic plasticity, volume 117 of *Nova Hedwigia*. J. Cramer, Berlin.
- Visentainer J, De Souza N, Makoto M, Hayashi C, Franco M. 2005. Influence of diets enriched with flaxseed oil on the α -linolenico, eicosapentanoic and docosahexaenoico fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem:* 90: 557-560.
- VyasAp, VermaJI, Subrahmanyam N. A review on fame production processes. *Fuel.* 2010; 89(1):1-9.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Muestra de Sanguaza del muelle “La Caleta”



ANEXO 2: Preparación de materiales para el cultivo.



ANEXO 3: Extracción del sobrenadante de la Sanguaza.



ANEXO 4: Muestras de Sanguaza en la centrifugadora.



ANEXO 5. Proceso de obtención de los lípidos del cultivo de *S. acutus*.



ANEXO 6: Promedios de μ (día^{-1}) y TD (día) en el cuarto día de cultivo de *S. acutus*

PARÁMETRO	CONTROL			Sanguaza (ml L^{-1})								
				5			10			15		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
N0	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05
Nf	14,80	15,30	14,95	14,05	13,65	14,40	17,30	18,35	17,75	18,55	18,10	18,90
Día	4			4			4			4		
μ (día^{-1})	0,494	0,503	0,497	0,481	0,474	0,487	0,533	0,548	0,540	0,551	0,545	0,555
TD (día)	1,403	1,378	1,395	1,441	1,462	1,423	1,300	1,265	1,284	1,258	1,272	1,249

ANEXO 7: Promedios para el conteo celular (cel.ml¹) de *S. acutus*

DÍA DE CULTIVO	CONTROL			Sanguaza (ml L ⁻¹)								
				5			10			15		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05	2,05
1	3,15	3,25	3,05	3,75	3,40	3,45	3,55	3,85	3,70	3,70	3,90	3,65
2	6,35	6,05	5,90	8,05	8,60	8,55	10,10	9,95	9,85	8,90	9,15	8,75
3	11,05	11,30	10,80	12,50	12,15	12,05	15,60	15,15	14,80	15,70	15,95	15,20
4	14,80	15,30	14,95	14,05	13,65	14,40	17,30	18,35	17,75	18,55	18,10	18,90
5	15,85	16,55	16,25	13,85	13,75	13,90	18,35	18,50	17,90	18,70	18,40	18,95
6	18,05	18,20	18,75	14,10	13,95	14,30	19,05	19,20	18,85	18,90	18,60	19,05
7	19,40	19,15	19,70	13,70	13,55	14,05	18,65	18,45	18,20	19,15	18,80	19,40

ANEXO 8: Contenido de Lípidos en el cuarto día de cultivo de *S. acutus*.

PARÁMETROS	Sanguaza (ml L ⁻¹)											
	CONTROL			5			10			15		
Biomasa (mg x10mL⁻¹)	3,47	3,59	3,51	3,29	3,20	3,38	4,06	4,30	4,16	4,35	4,24	4,43
Biomasa (mg L⁻¹)	347,00	359,00	351,00	329,00	320,00	338,00	406,00	430,00	416,00	435,00	424,00	443,00
Absorbancia	0,343	0,367	0,350	0,520	0,502	0,538	0,479	0,513	0,492	0,346	0,327	0,362
Lípidos (%)	22,44	23,21	22,64	27,14	26,88	27,57	26,78	27,08	26,85	23,87	23,20	24,31
Lípidos (mg L⁻¹)	77,9	83,3	79,5	78,5	74,2	82,2	108,7	116,4	111,7	118,1	114,0	122,1

ANEXO 9: Variaciones de la temperatura en el cultivo de *S. acutus*.

DÍA DE CULTIVO	CONTROL	Sanguaza (mL ⁻¹)		
		5	10	15
0	27,3 ±0,1a	27,4 ±0,1a	27,3 ±0,1a	27,3 ±0,1a
1	27,1 ±0,1a	27,2 ±0,1a	27,1 ±0,1a	27,2 ±0,1a
2	27,6 ±0,2a	27,6 ±0,1a	27,5 ±0,2a	27,5 ±0,1a
3	27,1 ±0,1a	27,1 ±0,1a	27,0 ±0,1a	27,0 ±0,2a
4	26,8 ±0,1a	26,9 ±0,1a	26,9 ±0,1a	26,9 ±0,1a
5	26,7 ±0,1a	26,7 ±0,1a	26,7 ±0,2a	26,8 ±0,1a
6	27,4 ±0,1a	27,4 ±0,1a	27,4 ±0,2a	27,4 ±0,1a
7	27,8 ±0,1a	27,8 ±0,1a	27,7 ±0,1a	27,7 ±0,1a

ANEXO 10; Variaciones del pH en el cultivo de *S. acutus*

DÍA DE CULTIVO	CONTROL	Sanguaza (ml L ⁻¹)		
		5	10	15
0	7,51 ±0,03a	7,47 ±0,07a	7,48 ±0,03a	7,48 ±0,07a
1	7,94 ±0,11b	8,14 ±0,09ab	8,23 ±0,10a	8,27 ±0,12a
2	8,57 ±0,09a	8,71 ±0,16a	8,94 ±0,12a	8,90 ±0,21a
3	8,75 ±0,13a	8,79 ±0,08a	8,85 ±0,09a	8,75 ±0,17a
4	8,82 ±0,12a	8,76 ±0,13a	8,92 ±0,04a	8,87 ±0,10a
5	8,86 ±0,05a	8,73 ±0,05b	8,82 ±0,06ab	8,86 ±0,03a
6	8,79 ±0,07a	8,74 ±0,16a	8,83 ±0,10a	8,83 ±0,17a
7	8,84 ±0,11a	8,72 ±0,15a	8,82 ±0,08a	8,77 ±0,20a

ANEXO 11: Cuadro estadístico de la densidad poblacional de *s. acutus*

		Descriptivos							
		N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
						Límite inferior	Límite superior		
D0	Control	3	2,0500	0,00000	0,00000	2,0500	2,0500	2,05	2,05
	5,0 mL	3	2,0500	0,00000	0,00000	2,0500	2,0500	2,05	2,05
	10,0 mL	3	2,0500	0,00000	0,00000	2,0500	2,0500	2,05	2,05
	15,0 mL	3	2,0500	0,00000	0,00000	2,0500	2,0500	2,05	2,05
	Total	12	2,0500	0,00000	0,00000	2,0500	2,0500	2,05	2,05
D1	Control	3	3,1500	0,10000	0,05774	2,9016	3,3984	3,05	3,25
	5,0 mL	3	3,5333	0,18930	0,10929	3,0631	4,0036	3,40	3,75
	10,0 mL	3	3,7000	0,15000	0,08660	3,3274	4,0726	3,55	3,85
	15,0 mL	3	3,7500	0,13229	0,07638	3,4214	4,0786	3,65	3,90
	Total	12	3,5333	0,27579	0,07961	3,3581	3,7086	3,05	3,90
D2	Control	3	6,1000	0,22913	0,13229	5,5308	6,6692	5,90	6,35
	5,0 mL	3	8,4000	0,30414	0,17559	7,6445	9,1555	8,05	8,60
	10,0 mL	3	9,9667	0,12583	0,07265	9,6541	10,2792	9,85	10,10
	15,0 mL	3	8,9333	0,20207	0,11667	8,4314	9,4353	8,75	9,15
	Total	12	8,3500	1,49119	0,43047	7,4025	9,2975	5,90	10,10
D3	Control	3	11,0500	0,25000	0,14434	10,4290	11,6710	10,80	11,30
	5,0 mL	3	12,2333	0,23629	0,13642	11,6464	12,8203	12,05	12,50
	10,0 mL	3	15,1833	0,40104	0,23154	14,1871	16,1796	14,80	15,60
	15,0 mL	3	15,6167	0,38188	0,22048	14,6680	16,5653	15,20	15,95

	Total	12	13,520 8	2,03620	0,58780	12,2271	14,8146	10,80	15,95
D4	Contro 1	3	15,016 7	0,25658	0,14814	14,3793	15,6540	14,80	15,30
	5,0 mL	3	14,033 3	0,37528	0,21667	13,1011	14,9656	13,65	14,40
	10,0 mL	3	17,800 0	0,52678	0,30414	16,4914	19,1086	17,30	18,35
	15,0 mL	3	18,516 7	0,40104	0,23154	17,5204	19,5129	18,10	18,90
	Total	12	16,341 7	1,97977	0,57151	15,0838	17,5995	13,65	18,90
D5	Contro 1	3	16,216 7	0,35119	0,20276	15,3443	17,0891	15,85	16,55
	5,0 mL	3	13,833 3	0,07638	0,04410	13,6436	14,0231	13,75	13,90
	10,0 mL	3	18,250 0	0,31225	0,18028	17,4743	19,0257	17,90	18,50
	15,0 mL	3	18,683 3	0,27538	0,15899	17,9993	19,3674	18,40	18,95
	Total	12	16,745 8	2,02130	0,58350	15,4616	18,0301	13,75	18,95
D6	Contro 1	3	18,333 3	0,36856	0,21279	17,4178	19,2489	18,05	18,75
	5,0 mL	3	14,116 7	0,17559	0,10138	13,6805	14,5529	13,95	14,30
	10,0 mL	3	19,033 3	0,17559	0,10138	18,5971	19,4695	18,85	19,20
	15,0 mL	3	18,850 0	0,22913	0,13229	18,2808	19,4192	18,60	19,05
	Total	12	17,583 3	2,11835	0,61152	16,2374	18,9293	13,95	19,20
D7	Contro 1	3	19,416 7	0,27538	0,15899	18,7326	20,1007	19,15	19,70
	5,0 mL	3	13,766 7	0,25658	0,14814	13,1293	14,4040	13,55	14,05
	10,0 mL	3	18,433 3	0,22546	0,13017	17,8733	18,9934	18,20	18,65
	15,0 mL	3	19,116 7	0,30139	0,17401	18,3680	19,8654	18,80	19,40
	Total	12	17,683 3	2,40174	0,69332	16,1573	19,2093	13,55	19,70



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES

“COLECBI” S.A.C.

REGISTRADO EN LA DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICAS Y DESARROLLO PESQUERO - PRODUCE

INFORME DE ENSAYO N° 20180510-020

Pág. 1 de 1

SOLICITADO POR: LIDSAY MELISSA CALDERÓN CÁRDENAS.
DIRECCION: El Acero Mz D Lote 20 Chimbote.
PRODUCTO DECLARADO: SANGUAZA
CANTIDAD DE MUESTRA: 01 muestra.
PRESENTACION DE LA MUESTRA: En frasco de plástico con tapa.
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-05-10
FECHA DE INICIO DEL ENSAYO: 2018-05-10
FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO: 2018-05-11
CONDICIÓN DE LA MUESTRA: En buen estado.
ENSAYOS REALIZADOS EN: Laboratorio Físico Químico.
CODIGO COLECBI: 55 180610-9

RESULTADOS

Table with 2 columns: ENSAYOS and MUESTRA. Rows include Nitrogeno (mg/L) with value 50.36 and Grasa (mg/L) with value 10.220.

METODOLOGIA EMPLEADA

Nitrogeno: UNE-EN ISO 5683-2 Parte 2 Dic. 2006.
Grasa: NMX-AA-005-SCFI-2000

NOTA:

- Muestra recepcionada en Laboratorios COLECBI S.A.C.
Informe de ensayo emitido en base a resultados realizados por COLECBI S.A.C.
Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra ensayada.
Estos resultados de ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Fecha de Emisión: Nuevo Chimbote, Mayo 12 del 2018.

GVR/jms

A. Gustavo Velgas Ramos
Gerente de Laboratorios
C.B.E. 305
COLECBI S.A.C.

LC-MP-HRIE
Rev. 04
Fecha 2015-11-30

PROHIBIDA LA REPRODUCCION TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME SIN LA AUTORIZACION ESCRITA DE COLECBI S.A.C.

Urb. Buenos Aires-Mz. A-Lt. 7 - I Etapa - Nuevo Chimbote - Telefax: 043-310752
Nextel: 839*2893 - RPM # 902995 - Apartado 127
e-mail: colecibi@speedy.com.pe / medioambiente_colecibi@speedy.com.pe
Web: www.colecibi.com

Informe de tesis 2019-Calderón

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS



Excluir citas: Apagado Excluir coincidencias: < 5%

Excluir bibliografía: Activo