

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÌNSULA SANTA ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**



**“DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD Y DENSIDAD CELULAR DE  
*TETRASELMIS* SP PARA SU USO BAJO DOS CONDICIONES DE  
LABORATORIO”**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGA**

SHARON NICOLE LÓPEZ ARIAS

TUTORA

MARIA HERMINIA CORNEJO RODRIGUEZ, PH. D

LA LIBERTAD - ECUADOR

2022

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA SANTA ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**“DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD Y DENSIDAD CELULAR DE  
TETRASELMIS SP PARA SU USO BAJO DOS CONDICIONES DE  
LABORATORIO”**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Previa a la obtención del Título de:**

**BIÓLOGA**

**AUTORA**

**SHARON NICOLE LOPEZ ARIAS**

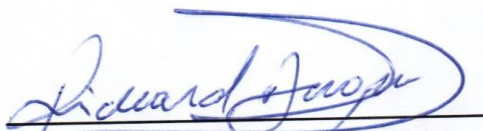
**TUTORA**

**MARIA HERMINIA CORNEJO RODRIGUEZ, PH. D**

**LA LIBERTAD - ECUADOR**

**2022**

# TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Blgo. Richard Duque Marín, Mgt

DECANO

FACULTAD CIENCIAS DEL MAR



Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.

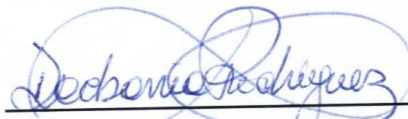
DIRECTOR

CARRERA DE BIOLOGÍA



Blga. Maria Herminia Cornejo Rodriguez, Ph. D

DOCENTE TUTOR



Blga. Dadsania Rodriguez Moreira, Mgt

DOCENTE DE ÁREA

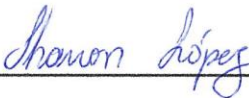


Abg. Víctor Coronel Ortiz, M. Sc.

SECRETARIO GENERAL-PROCURADOR

## DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por hechos, ideas y resultados expuestos en este trabajo de investigación, me corresponde exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

  
\_\_\_\_\_

SHARON NICOLE LÓPEZ ARIAS

C.I. 2000111308

## **DEDICATORIA**

A Dios por permitirme cristalizar mi anhelo.

A mis padres y familia que con amor me guiaron por el sendero de la superación.

## **AGRADECIMIENTO**

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar el proceso de formación profesional.

Al Laboratorio “Ciaprolarcam S.A” por darme la oportunidad de realizar el Trabajo de Titulación.

Agradecer a mi tutora de tesis María Herminia Cornejo Rodríguez porque con sus ideas científicas profesionales orientaron mi trabajo.

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>1. RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>7</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>13</b>
<b>4. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>15</b>
<b>5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>15</b>
<b>6. HIPÓTESIS.....</b>	<b>16</b>
<b>7. MARCO TEORICO.....</b>	<b>17</b>
<b>8. METODOLOGÍA.....</b>	<b>27</b>
<b>9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
<b>10. DISCUSIONES, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>35</b>
<b>11. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>38</b>
<b>12. ANEXOS.....</b>	<b>45</b>

# ÍNDICE DE GRÁFICOS

Pág.

**Figura 1.** Modelo propuesto para toma de registro experimental. **Fuente:** (Autor, 2022).....28

**Figura 2.** Ecuaciones resultantes para Elemento 1 y Elemento 2 para toma de registro experimental. **Fuente:** (Autor, 2022).....34



# ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

**Tabla #1.** Distribución de pesos por fases y complementos

29

## GLOSARIO Y SIMBOLOGÍA

<i>Tetraselmis sp</i>	Microalga marina parte de fitoplancton.
<b>Biocombustible</b>	Conjunto de biomasa que permite combustión.
<b>Probiótico</b>	Suplemento bactericida de ayuda alimentaria.
<b>Lípido</b>	Moléculas ácidos grasos.
<b>gl</b>	Grados de libertad.
<b>Sig.</b>	Resultado de estadístico de prueba.

## **ABREVIATURAS**

CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbón
S	Soluciones
p_value	valor 'Sig.' o estadístico de prueba

# 1. RESUMEN

Hoy en día se presenta la necesidad de la búsqueda de fuentes alternas de energía, que reemplacen a los combustibles fósiles, dado que estos constituyen uno de los principales generadores de contaminación. En este estudio se analiza calidad y densidad celular de *Tetraselmis* sp para su uso como biocombustible bajo condiciones de laboratorio. Adicionalmente, se describe la microalga bajo experimentación de laboratorio, destacándose la importancia de su uso. Así también se evalúa el comportamiento de los distintos cultivos de *Tetraselmis* sp y se determina la calidad su cultivo a través de análisis de crecimiento y de su valor nutritivo en lípidos. Se propone un modelo metódico de enfoque de diseño experimentación en laboratorio del tipo académico, fases de preparación de soluciones en función del análisis de cultivo, proteínas, densidad celular. La principal conclusión es la necesidad de manejar equipos más especializados, por el cual, un laboratorio común o de prácticas académicas para analizar con mayores muestras su incidencia estadística y composición de químicos, por tal, no se efectuó de manera eficiente la toma del cultivo.

Palabras Claves: Lípidos, pH, proteínas, microalga, nutricional.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las microalgas han despertado un gran interés por ser microorganismos fotosintéticos con rápido crecimiento; las células se duplican en un periodo de 1 a 15 días. Éstas poseen un elevado contenido lipídico y usan menos área para su cultivo que otros organismos. Al mismo tiempo, constituyen una fuente de alimento esencial en el desarrollo de moluscos bivalvos marinos (e. g. almejas, ostras, machas, conchas de abanico), etapas larvales de algunos gasterópodos marinos (e. g. abalones, caracoles, lapas), equinoideos (e. g. erizos de mar, estrellas), además de larvas de varias especies de peces marinos, crustáceos y para el propio zooplancton como consumidores primarios (Lavens, 1996). En la industria acuícola nacional se han observado deficiencias para satisfacer la alta demanda de microalgas, en términos de calidad y densidad de los cultivos (Arguello & Mora, 2019). Por lo que ésta producción de alimento vivo requiere de nutrientes químicamente puros, lo cual tiene un costo elevado en acuicultura intensiva o semi-intensiva, principalmente en la fase de laboratorio o “*hatchery*”. Con estas consideraciones, se han desarrollado varias técnicas de bajo costo, que plantean incluso, el uso de fertilizantes agrícolas en la producción de microalgas a fin de cumplir con el perfil nutricional adecuado (Uribe, 1994).

Estos organismos eucariotas fotosintéticos (incluyendo las cianobacterias de células procariotas, López-Padrón et al., 2020), que viven en el agua o en ambiente húmedos, se las han utilizado a lo largo de los años como parte de la alimentación humana y animal, además del uso en diversos sectores industriales (Hernández

Peres & Labbe, 2014; Delgado Tejera, 2020). Se aprovecha de estos organismos, las proteínas, vitaminas y otros suplementos nutritivos y se las emplean en simbiosis con las bacterias para la remoción de fosfatos y nitratos de aguas residuales, como biofertilizantes (Mora et al., 2005; citados por (Silva, Vásquez, & Merino, 2011); métodos eficientes que garantizan la cantidad y calidad de la producción para la continuidad del sistema (Band, 1999).

Entre estos factores nutricionales, el nitrógeno es considerado uno de los nutrientes más críticos para el crecimiento, ya que es un constituyente de todas las proteínas estructurales y funcionales tales como péptidos, enzimas, clorofilas, moléculas de transferencia de energía y materiales genéticos en las células de algas. Oscanoa (2020), comenta que la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo afecta considerablemente tanto la tasa de crecimiento celular como la composición bioquímica de las microalgas, y numerosos estudios han demostrado que cuando el nitrógeno es limitado en el medio de cultivo, las microalgas ralentizan la tasa de crecimiento celular y aumentan su contenido de lípidos o carbohidratos, reduciendo la síntesis de proteínas.

Por otro lado, el uso de microalgas para la producción de biodiésel simboliza una técnica interesante, dado a su alto contenido lipídico y a su perfil de ácidos grasos. No obstante, la falta del desarrollo de tecnologías genera una reducción del costo de fabricación a un estimado de 5.8 USD kg<sup>-1</sup> (Castillo, et al., 2017). En este sentido, entre las características de la *Tetraselmis* como microalga potencial para su uso como combustible se han encontrado las siguientes: alimento en acuicultura

por su alto valor alimenticio, buena digestibilidad, buen perfil de aminoácidos (Montoya & Acosta, 2021). Este es uno de los sustratos más empleados en acuicultura gracias a sus aportes nutricionales, principalmente desde el punto de vista proteico, además de que registra un alto potencial como probiótico, un alto contenido de vitamina E. Zare (2018) señala que constituye una fuente de vitaminas para consumo humano y animal.

El actual estudio, se enfoca en analizar la calidad y densidad celular de la especie *Tetraselmis* sp. necesaria para su uso como biocombustible, bajo condiciones de laboratorio. Para ello, la metodología que se utilizará se basa en la limitación de nitrógeno, así como también la adición de sales.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las microalgas han recibido un interés creciente como recurso de biocombustible en respuesta a la creciente crisis energética, el agotamiento de los combustibles fósiles y el cambio climático (Garatachia, 2018). Se han propuesto microorganismos como materia prima para la producción de compuestos bioactivos, incluidos  $\beta$ -caroteno, pigmentos de ficobilina, ácidos grasos (FA) y aminoácidos. Entre estos, las microalgas se pueden utilizar en el proceso de biorrefinería para producir productos de alto valor, que pueden aumentar las oportunidades y posibilidades para varias industrias (Venegas & Hernández, 2018); Delgado Tejera, 2020).

Los sistemas de cultivo de microalgas a gran escala generalmente se clasifican como sistemas cerrados, ya que están completamente encerrados dentro del recipiente llamado fotobiorreactor (PBR), o sistemas abiertos, que están directamente expuestos al ambiente exterior. La biomasa de microalgas se ha venido produciendo principalmente mediante PBR o sistemas de canalización abierta (ORS) para la producción en masa (Gómez, 2020). Estos últimos incluyen la aplicabilidad de varios diseños estructurales, el control conveniente de las condiciones de cultivo, la prevención de la contaminación biológica y la alta productividad de la biomasa. Sin embargo, requieren altos costos operativos, costos de inversión de capital y mantenimiento de dispositivos, y puede ser difícil expandir las instalaciones. Es así como, Hinojosa (2012) afirma que las técnicas eficaces y sostenibles de cultivo de algas son esenciales para la producción en masa de la microalga marina *Tetraselmis* sp. para su uso como biocombustible y variedad de coproductos.

Este grupo biológico ha llamado mucho la atención mundial, ya que algunas de las microalgas son ricas más en ácidos grasos saturados y monoinsaturados, que otras. Es así como, además de generar una enorme biomasa a través de bajos aportes de nutrientes comerciales, es esencial integrar la producción factible de biocombustibles con muchos productos afines (Carrera, 2020). No obstante, hay que considerar en estos procesos que las comunidades litosféricas afectan el crecimiento y el metabolismo de las microalgas a través de diversas interacciones alelo químicas y de nutrientes; por lo tanto, su potencial para afectar la cantidad y



calidad tanto de la biomasa como de los bio productos es significativo (Rodríguez, 2020).

Morales (2020), en el caso de *Tetraselmis striata*, menciona un número significativo de estudios sobre las condiciones óptimas necesarias para lograr un mayor crecimiento, entre ellos, un factor que a menudo se pasa por alto y que podría desempeñar un papel fundamental en todo el proceso de producción de biocombustibles de microalgas. Éstas son las comunidades bacterianas asociadas con las microalgas productoras de biocombustibles. Previamente, los estudios han revelado que las bacterias contribuyen sustancialmente al crecimiento del fitoplancton, resaltado por la simbiosis algas-bacterias (Morales, 2020). En otras palabras, las bacterias podrían proporcionar una gama más amplia de sustancias, por ejemplo, compuestos específicos como nutrientes y vitaminas como sustancias promotoras del crecimiento además del producto respiratorio como el CO<sub>2</sub>. Por lo tanto, dichas bacterias añadidas pueden aumentar las tasas de crecimiento de microalgas y mejorar los rendimientos metabólicos a través de la síntesis de compuestos que promueven el crecimiento (Venegas & Hernández, 2018).

Los biocombustibles a partir de microalgas aún no son comercialmente viables, y su uso en un futuro próximo sigue siendo motivo de controversia. Se deben superar varios obstáculos para la comercialización mediante avances de investigación clave, incluida la selección de cepas, la mejora del contenido de lípidos, el diseño de sistemas de cultivo y la cosecha de cultivos de microalgas (Castillo, et al., 2017). Entre estos se ha observado que el crecimiento de las microalgas se ve afectado e

influenciado por las condiciones de cultivo, como la intensidad de la luz, la limitación de nutrientes, la temperatura, el pH, la concentración de CO<sub>2</sub> y la salinidad (Moronta, Mora, & Morales, 2006).

El cultivo de microalgas es el aspecto más costoso y técnicamente desafiante de todas las operaciones de un criadero. El costo de producir alimentos de microalgas oscila entre \$100 y \$400 por kilogramo seco (\$45 a \$180 por libra), de biomasa de microalgas. Este proceso representa, por ejemplo, alrededor del 40 por ciento del costo de criar semillas de bivalvos hasta una longitud de caparazón de 5 mm en un criadero en tierra o estanques con iluminación natural (Carrera, 2020). Algunos criaderos usan una combinación de los dos. Los sistemas intensivos para interiores son costosos y laboriosos, pero son más confiables y productivos (en relación con los requisitos de espacio), que los sistemas para exteriores. Los estanques abiertos y los canales también son más propensos a la contaminación biológica u otros problemas de calidad del agua (Carrera, 2020).

Por todo lo mencionado, el problema de investigación es ante la falta de mayor experimentación del uso la microalga *Tetraselmis* sp como biocombustible ocasiona costos elevados ante la necesidad de nuevos métodos de formulación.

Adicionalmente a lo prescrito, la pregunta de investigación es ¿de que manera la microalga *Tetraselmis* sp se usa como biocombustible dentro de su experimentación en laboratorio?

## 4. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial se buscan procesos alternativos de producción de bajo impacto en el ambiente, y esto también se considera fundamental para el manejo de las condiciones de laboratorio y, dentro de este mismo contexto, costos de producción reducido (Van, Monroy, & Saer, 2018). Como respuesta a lo anterior, las microalgas marinas tienen un gran potencial como materia prima para biocombustibles, como el biodiesel y el bioetanol. No obstante, la producción de biocombustibles y biomasa de microalgas se ve afectada por una variedad de factores fisicoquímicos, como los nutrientes, el suministro de luz, la temperatura, el pH y la salinidad (Jiménez & Castillo, 2021).

Entre las microalgas, se ha considerado a *Tetraselmis* sp., la cual se caracteriza por una velocidad específica de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ) tiempo de generación (TG), fase lag ( $\lambda$ ) y crecimiento máximo ( $a$ ), lo que la convierte en una especie importante para cultivos intensivos en condiciones de laboratorio. Estas microalgas tienen una enorme trascendencia nutricional y económica para los consumidores de plancton que necesitan de energía para sus procesos de reproducción y, en la cría artificial de organismos comerciales, a gran escala para la alimentación de los primeros estadios larvales (Silva, Vásquez, & Merino, 2011).

El cultivo de la microalga *Tetraselmis* sp a escala experimental, mejora el aprovechando de diferentes nutrientes, bajo un control de su calidad y densidad, lo cual incrementa su valor como alimento vivo y su alto aporte proteico proporciona un elevado contenido nutricional para peces, crustáceos y moluscos (Jiménez,

2016). No obstante, desarrollar altas concentraciones de microalgas de buena calidad puede ser económicamente costoso, impidiendo que pequeñas y medianas organizaciones, aporten al desarrollo de la industria acuícola, por lo que se crea la necesidad de alternativas que permitan a estas entidades intensificar sus cultivos de microalgas, sin tener que invertir un elevado capital económico.

La disminución de costos de producción a través del incremento de nutrientes de menor costo y buena calidad, obtenidos a través de procesos técnicos y puros, contribuiría y mejoraría la eficiencia de los laboratorios, asegurando al mismo tiempo una permanente e inmediata disponibilidad de los cultivos estables de alta calidad. Cabe inducir, que el crecimiento microalgas y la incorporación de nutrientes no siguen una relación simple, siendo dependientes de factores tales como las concentraciones, tasas de difusión, especies, entre otros. A causa de la importante variabilidad de estos factores, las concentraciones de nutrientes aportadas para el crecimiento y desarrollo microalgas han variado considerablemente.

Para alcanzar una productividad máxima, en cultivos microalgas masivos se han sugerido, por ejemplo, concentraciones óptimas entre 2 y 619 mg de N por litro (Eyster, 1967), entre otros procesos. En este sentido surge la necesidad de incrementar las investigaciones en el mejoramiento o búsqueda de alternativas en cuanto al manejo de los parámetros de producción de microalgas.

Hipótesis de investigación: La calidad y densidad celular de la microalga *Tetraselmis* sp permite su uso como biocombustible bajo condiciones de laboratorio

Hipótesis alternativa: La calidad y densidad celular de la microalga *Tetraselmis* sp no permite su uso como biocombustible bajo condiciones de laboratorio

## **5. OBJETIVO**

### **5.1. Objetivo General**

Analizar calidad y densidad celular de *Tetraselmis* sp para su uso nutricional bajo 2 condiciones de laboratorio.

### **5.2. Objetivos Específicos**

- Describir a la microalga bajo experimentación de laboratorio y la importancia de su uso.
- Determinar la calidad del cultivo de la microalga en base a su crecimiento y de su valor nutritivo en lípidos, carbohidratos y proteínas a través de diferentes parámetros cinéticos.
- Detallar los parámetros de calidad del cultivo y las propiedades de la cepa que permitan su utilización en los laboratorios.

## **6. HIPÓTESIS**

H0: La densidad y calidad de lípidos *Tetraselmis* sp variará dependiendo de la formulación de las dietas.

## 7. MARCO TEORICO

Las microalgas son organismos microscópicos que se encuentran tanto en agua de mar como en agua dulce. Se pueden clasificar como microorganismos eucariotas o cianobacterias procariotas (algas verdeazuladas), con más de 25.000 especies que ya se encuentran aisladas e identificadas. Estos microorganismos realizan la fotosíntesis, un importante mecanismo natural para reducir la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico. Las microalgas también se caracterizan por un tiempo de generación corto, multiplicándose exponencialmente en condiciones ambientales favorables, en función de las fuentes de energía y carbono utilizadas para su metabolismo. Estas pueden crecer de tres formas diferentes: autotrofia, heterotrofia y mixotrofia (Acién Fernández, Fernández Sevilla, & Molina Grima, 2018).

En el crecimiento autótrofo, las microalgas producen la materia orgánica y la energía necesarias mediante el uso de CO<sub>2</sub> como fuente de carbono y la luz solar como fuente de energía. El cultivo autótrofo se realiza principalmente en sistemas de estanques abiertos y fotobiorreactores cerrados. Mientras que en el crecimiento heterótrofo, los compuestos orgánicos se utilizan como fuentes de energía y carbono, siendo la fuente de carbono más utilizada la glucosa; sin embargo, algunas microalgas pueden crecer con glicerol. En el caso del metabolismo mixotrófico, este consiste en un régimen de crecimiento de dos etapas, con una primera etapa heterótrofa que ocurre cuando el contenido de carbono orgánico es alto y una segunda etapa autotrófica, que comienza con la inducción de la fotosíntesis, lo que ocurre generalmente cuando el contenido de carbono orgánico es bajo.

Este método puede ser ventajoso en ciclos naturales de luz y oscuridad, donde las microalgas pueden crecer mediante autotrofia y heterotrofia en condiciones óptimas. Usando luz y carbono orgánico como fuente de energía, CO<sub>2</sub> y carbono orgánico como fuente de carbono, las microalgas pueden aprovechar las mejores partes de ambos métodos:

- La mayor desventaja del crecimiento autótrofo, es decir, la necesidad de una fuente de luz puede ser superada.
- La producción de CO<sub>2</sub> que ocurre en el crecimiento heterótrofo puede reducirse significativamente.
- Se pueden obtener mayores productividades de biomasa, contenidos de lípidos y acumulación de pigmentos (Carrera, Velasco, & Barreto-Hernández, 2018).

En base a los requisitos nutricionales, los cultivos de microalgas se pueden aplicar para la captura de CO<sub>2</sub> de la atmósfera o para las emisiones de gases de combustión, así como también, para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales. Además, el uso de la biomasa de microalgas tiene varias aplicaciones, desde la bioenergía hasta la creación de productos farmacéuticos, siendo algunos tipos de microalgas utilizadas para la nutrición humana y animal (Delgado Tejera 2020). Es importante recalcar que las microalgas son capaces de acumular altas cantidades de lípidos que pueden ser utilizados para la producción de biodiesel, con propiedades que cumplen con los estándares de la mayoría de los países desarrollados (Sacristan de Alba, 2014).

Después de la extracción de ácidos grasos, los residuos de biomasa se pueden utilizar para la producción de biopetróleo, biocrudo, etanol y metano. Al presentar



un alto contenido de carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales esenciales, la biomasa de microalgas aparece como un recurso valioso para aplicaciones de alimentación humana y animal. También tienen una amplia aplicación en cosmética y productos farmacéuticos, siendo utilizadas como fuente de aminoácidos esenciales, antioxidantes, pigmentos y vitaminas (Hernández-Pérez & Labbé 2014). Finalmente, las microalgas excretan sustancias que pueden influir en el crecimiento y desarrollo de las plantas: incluyen factores que promueven el crecimiento, vitaminas, aminoácidos, polipéptidos, polímeros y sustancias antibacterianas y antifúngicas (Delgado Tejera, 2020).

### **“Historia” de la utilización de algas**

Las microalgas fueron utilizadas como alimento en civilizaciones antiguas como los aztecas en México, quienes usaban cultivos de *Arthrospira* (*Spirulina*) máxima, una Cyanophyceae, para preparar un tipo de pastel llamado Tecuitlatl. Los nativos de Chad (país de África central) utilizaron la misma especie de microalga para preparar un alimento denominado dihe (Vázquez Neri, Jaramillo Gómez, & Clemente Marroquín, 2018).

Mientras que Chisti (2020), menciona que el *Nostoc flagelliforme* se ha utilizado como alimento durante más de 2000 años en China; denominado fa-cai, que significa cabello vegetal. Los primeros estudios científicos sobre las microalgas comenzaron a finales del siglo XIX, cuando el microbiólogo Beijerinck, naturalista y microbiólogo botánico neerlandés, en 1890, consiguió cultivar cultivos puros de

*Chlorella vulgaris*. Este logro permitió el uso de microalgas con fines de investigación, como la investigación de la fotosíntesis (Castillo, y otros, 2017).

Bassham y Calvin (1950) mencionan que Melvin y su equipo en Berkeley (California, Estados Unidos), ya en los '50 identificaron el ciclo de asimilación fotosintética del CO<sub>2</sub>, el llamado ciclo de Calvin, usando cultivos de *Chlorella pyrenoidosa* y aplicando CO<sub>2</sub> marcado con <sup>14</sup>C en pulsos muy cortos de fotoasimilación, por la que el profesor Calvin recibió el premio Nobel de Química de 1961. Del mismo autor, la investigación sobre la producción de lípidos a partir de microalgas como materia prima para biocombustibles comenzó en Göttingen, Alemania, en el transcurso de la Segunda Guerra Mundial, poco después de que otros países mostraran interés en el cultivo de microalgas para una serie de aplicaciones.

Los experimentos sobre el potencial de las microalgas para el tratamiento de aguas residuales y la producción de energía comenzaron en la década de 1950, con el desarrollo de sistemas cerrados de producción de microalgas, el cual se inició en la década de 1960 con miras a su uso en misiones espaciales. Tras la crisis del petróleo de 1973, se pusieron en marcha numerosos programas de investigación sobre energías renovables para la sustitución de combustibles fósiles, incluidos programas sobre producción de biocombustibles líquidos y gaseosos a partir de microalgas (Gómez, González, Pérez, & Vargas-Machuca, 2020).

## **Importancia de las microalgas**

Alrededor del mundo se ha aprendido a apreciar la importancia de los árboles en términos de secuestro de carbono, pero tendemos a pasar por alto las dos terceras partes de nuestro planeta que están cubiertas por agua. Los mares y océanos están llenos de organismos que son igualmente vitales para los ciclos de vida en la tierra, sin embargo, debido a que individualmente las microalgas son menos visibles a simple vista que las plantas terrestres, son ignorados en gran medida (Buch, 2020).

Las microalgas, que no deben confundirse con las macroalgas (algas marinas), las primeras son enormemente abundantes en los mares, lagos de agua dulce y ríos. Estos diminutos organismos son productores primarios importantes en el planeta, actuando como fábricas de biomasa que utilizan la luz solar a través del proceso de fotosíntesis para convertir moléculas inorgánicas como el dióxido de carbono, nutrientes y agua; en proteínas, grasas y carbohidratos, además de una serie de otros compuestos orgánicos que les ayudan a crecer y sobrevivir. Sustentan toda la vida en los océanos y tasas de renovación altas, contribuyen a alrededor del 50% de la producción primaria del planeta.

Un grupo común de las microalgas son las diatomeas, con unas 20.000 especies, cuentan con paredes celulares bellamente intrincadas, parecidas a copos de nieve, hechas de vidrio: éstas son consideradas como joyas de la naturaleza. Otro grupo común son los cocolitóforos, cubiertos de elaboradas placas de tiza de carbonato de calcio parecidas a “frisbees”. Durante el período Cretácico, enormes floraciones de cocolitóforos formaron los acantilados blancos de Dover (localizado en el estrecho

que separa Reino Unido de Francia). Como las microalgas no tienen raíces, hojas ni tallos, utilizan el dióxido de carbono y los nutrientes de manera más eficiente que las plantas terrestres, lo que les permitió crecer más rápidamente. Se pueden cultivar y cosechar con relativa facilidad para producir cultivos de biomasa que se pueden utilizar como alimento o como bioenergía. La biomasa de algas también contiene una gama amplia de moléculas útiles que se pueden utilizar en bioplásticos, biocombustibles, productos sanitarios, cosméticos e ingredientes alimentarios (Gómez, González, Pérez, & Vargas-Machuca, 2020).

Dentro del consumo sostenible por el cual se realiza gracias al biocombustible, este se relaciona con la sostenibilidad, por tal, los autores Schröder et al. (2021), comentaron que para lograr un equilibrio sostenible, se debe trabajar hacia una economía circular que elimine los desechos y la contaminación, mantenga los materiales en circulación y regenere la naturaleza (pág. 27). Es decir, es necesario descartar el modelo lineal existente (Cortés García, 2020) (ver 0), que ha llevado a ciclos generales desequilibrados, del mismo efecto hacia el consumo desmesurado de los nutrientes, que del mismo provoca deficiencias.

Dentro de este mismo contexto cabe señalar que los agricultores, la industria alimentaria y las empresas de aguas residuales recurren cada vez más a la Digestión Anaeróbica (DA) para procesar sus desechos. La DA es un proceso natural en el que las bacterias en grandes tanques llamados digestores, estos se alimentan de desechos orgánicos como aguas residuales, desechos de alimentos, estiércol y otros. Con ello, logran producir biogás rico en carbono e hidrógeno, que se puede capturar

y utilizar para generar energía renovable, electricidad y calor (Ortiz Dongo, 2020). Por tal, una evidencia de uso sustentable de recursos a partir de cultivos.

El componente de nitrógeno de los desechos orgánicos se retiene en un líquido espeso llamado digestato, que los agricultores pueden devolver a la tierra como fertilizante. Del mismo, preferiblemente en los fertilizantes sintéticos (Marín, 2019). Sin embargo, a medida que la industria DA se ha expandido, el aumento de la producción y el retorno de digestato a la tierra plantea un riesgo de contaminación por nutrientes, lo que ha traído como consecuencia especialmente en áreas del Reino Unido y Europa con la restricción por la Directiva sobre nitratos (Mérida, 2020). Del mismo se describe el reúso de desechos sólidos y su importancia dentro de la agricultura, como tal, la iniciativa de generarlo en otros estudios.

Castellanos, González-Peralta y Pinzón-Torres (2018) describen a la industria de producción de microalgas aún está en sus inicios, la capacidad de producir una nueva fuente de proteína sin los problemas asociados con la carne y la soya es muy atractiva; poder cultivar microalgas cerca de donde los agricultores las utilizarán en la alimentación animal, producto del mismo, ofrece una ventaja distintiva. Un gran desafío resulta el uso esta tecnología para su desarrollo a plena escala de trabajo (Velázquez Castro, 2018).

En comparación con las microalgas cultivadas con nutrientes inorgánicos más ampliamente disponibles, las microalgas cultivadas con digestato tienen un contenido más alto de proteínas, con niveles de proteínas de hasta aproximadamente el 80 % de la biomasa total producida, el contenido más alto de proteínas que en la

carne y los productos de soya con el doble del contenido. Actualmente, alrededor del 75% de la cosecha mundial de soja se utiliza como fuente de proteína en la alimentación animal y, al igual que la producción de carne; está bajo escrutinio por su papel en la deforestación, especialmente en Brasil y Argentina (Martínez, 2020).

En el Reino Unido, por ejemplo, hasta ahora se han centrado en el desarrollo y la utilización de dos microalgas verdes comunes de agua dulce, *Chlorella* y *Scenedesmus*. Ambas especies contienen altos niveles de proteína, y aún se están explorando innumerables moléculas para obtener beneficios para la salud. Existen decenas de miles de otras especies variadas de formas y funciones, que aún no se han explorado. Las microalgas tienen un gran potencial para ayudar a reducir los problemas .

Para Valencia-Bautista et al. (2022) mencionan que el rápido crecimiento de la población mundial aumenta continuamente la demanda de combustibles energéticos, esto conduce a un punto de agotamiento debido a la propia naturaleza insostenible del combustible, además de ser no renovable (pág. 4). Por lo tanto, los biocombustibles son una oportunidad creciente en todo el mundo como alternativa a los combustibles fósiles; algunos países desarrollados ya están produciendo biocombustibles a nivel comercial.

Los biocombustibles como el biodiesel y el bioetanol están demostrando ser excelentes combustibles alternativos y se pueden producir a partir de varios recursos de biomasa, como cultivos alimentarios, desechos de cultivos o frutas, partes leñosas de plantas, basura y algas (Lúcia García, 2018). Las características

ventajas de los biocombustibles producidos a partir de biomasa son la capacidad de renovación y una contribución significativamente menor a la contaminación ambiental y al calentamiento global.

La emisión de gases de efecto invernadero principalmente CO<sub>2</sub> por la quema de combustibles fósiles son la principal causa del calentamiento global. Los biocombustibles, incluidos los combustibles de algas, tienen niveles de oxígeno del 10% al 45% y niveles muy bajos de emisión de azufre, mientras que los combustibles a base de petróleo no tienen niveles de oxígeno con una alta emisión de azufre (Lozano Duran & Ortiz Martinez, 2019). Estos biocombustibles son combustibles no contaminantes, disponibles localmente, accesibles, sostenibles y fiables obtenidos de fuentes renovables. Siendo a base de microalgas son ecológicos, no tóxicos y con un gran potencial para fijar el CO<sub>2</sub> global.

El CO<sub>2</sub> constituye el 50% del peso seco de la biomasa de algas, siendo la selección y desarrollo de ésta biomasa, una fase crucial y limitadora de costes en la generación de biocombustibles, para ajustar y optimizar la estructura y el coste de la energía. La selección de biomasa para la producción de biocombustibles también está directamente relacionada con las emisiones de gases de efecto invernadero y la sostenibilidad ambiental y económica. Muchos países de Asia, Europa y América han iniciado la industrialización de la bioenergía a partir de la biomasa de microalgas (Laura Huaman, 2021). Dentro de este mismo contexto se destaca que las microalgas son organismos fotosintéticos de rápido crecimiento que tienen el potencial de transformar del 9 al 10 % de la energía solar en biomasa con un

rendimiento teórico de alrededor de 77 g/biomasa/m<sup>2</sup>/día, lo que equivale a unas 280 ton/ha/año (Chasquibol Calongos, 2021). En el cultivo a gran escala, este rendimiento es menor tanto en el sistema de cultivo al aire libre como en el interior. En los fotobiorreactores, el rendimiento real es menor debido a la pérdida de radiación activa absorbida.

Para el campo de biorrefinería los investigadores Kafarov & González Delgado (2012) busca la extracción de lípidos (3g de biomasa), por el cual, se conceptualiza mediante un procesos que cuyas entradas son biomasa y etanol para finalmente extraer gas purificado y desperdicio (págs. 114-115). Del mismo autor, la eficiencia obtenida de los lípidos es de 3.7, 3.9, 9.8 para 4, 6 y 8 horas respectivamente en relación a la biomasa realizado a partir de tratamiento industrial.

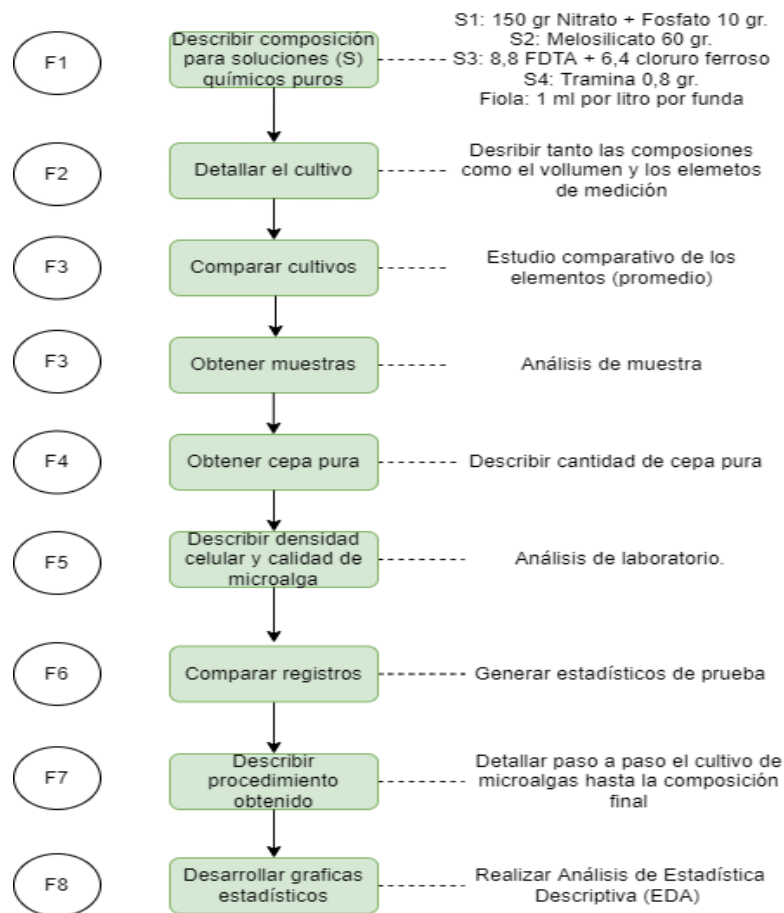


## **8. METODOLOGÍA**

Siendo el objetivo específico la descripción de la microalga en su fase de crecimiento. En el presente estudio de enfoque de diseño experimental, corresponde al desarrollo de las distintas fórmulas para experimentación, dentro de laboratorio (los materiales se adjuntan en Anexo 3). Este trabajo de investigación se realizó en la Provincia de Santa Elena en el laboratorio de la comuna de Monteverde.

### **Modelo propuesto**

A continuación, (Figura 1), se describe el proceso de toma de datos y planteamiento de muestras requeridas; desde la descripción de la composición para soluciones químicas puras, hasta el desarrollo del análisis estadístico.



**Figura 1.** Modelo propuesto para toma de registro experimental.

Nota. La fase que contiene se refiere a una iteración por el cual se realiza según sea la necesidad hasta obtener muestras idóneas.

Para la descripción de estadísticas descriptas se consideró para los elementos 1 y 2 identificadas en fases anterior (Anexo 6), se desarrolló un análisis de relación estadística a través de un modelamiento de ecuación lineal para ambos elementos a través de programación de SPSS v.25 (Anexo 7)..

## 9. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

De acuerdo al modelo planteado, a continuación, se detalla cada una de las fases:

### F1 – Descripción de la composición para soluciones (S) químicos puros

De acuerdo a S de químicos puros planteados en el modelo previsto. A continuación, se considera la siguiente composición (Tabla 1).

**Tabla #1.** Distribución de pesos por fases y complementos

Fase 1	
Compuesto	Gramaje
Nitrato de Sodio	200
Fosfato de Sodio	20
Metasilicato de Sodio	80
Cloruro Férrico	63
EDTA	8,8
Fase 2	
Nitrato de Sodio	300
Fosfato de Sodio	20
Metasilicato de Sodio	160
Cloruro Férrico	6,3
EDTA	8,8
Vitaminas	
Thamina	20
Biotena	0,5
B12	0,5

### F2 – Detalle del cultivo

En cuanto al detalle de cultivo se consideró el registro de una muestra en relación a envases de 150 mL. En base a los elementos de fundas, fiolas y tubos.

### F3 – Comparación de cultivos

Dentro del análisis comparativo, se realizó el cálculo del promedio de los datos obtenidos a partir del registro de observación (ver Anexo 4).

Resultados del mismo, para los tres elementos:

- Fundas: 488.125 (al/ml).

- Fiolas 2 Litros: 828.333 (al/ml)
- Tubos: N/A

### **F3 – Comparación la muestra**

En base a los cultivos, se obtuvo las muestras más representativas, por el cual, considerados a seleccionar para él envió posterior a laboratorio para la realización del respectivo análisis.

### **F4 – Cepa pura**

A partir de las muestras se obtuvo 4 cepas puras, soluciones por los cuales descritas en la fase anterior. Por tal, estas muestras de cepa pura se llevaron a laboratorio para su posterior estudio.

### **F5 – Describir densidad celular y calidad de microalga**

Al retorno del estudio de laboratorio, se describió en la Ficha de Observación ilustrada como adjunta en Anexo 5.

En referencia al análisis de espectrofotometría del centro Analyticals laboratory (2022) se identificó el valor de densidad de cultivo a través del presente análisis de laboratorio, para  $n = 4$  es de  $< 11.30$  (mg/Kg) sin presencia de elementos anormales para la solución de “Alimentos para larvas”. Sin embargo, se identificó que no existe retención de proteínas como lípidos dentro del cultivo. En otras palabras, la larva en sí no permite la captación eficiente de tanto proteínas y como lípidos respectivamente.

Adicionalmente, se estipuló tanto la temperatura como el grado de humedad de las muestras ilustrados. Razón del mismo para las presentes muestras son:  $25.8$  (° C) y  $64,1$  (%) respectivamente.

## **F6 – Comparación de registros**

Para la comparación de registros se realizó el siguiente agrupamiento denominado Elemento 1, registrado en Anexo 6.

A continuación, se describió el nivel de significancia gracias al estadístico de prueba Kolmogórov-Smirnov para conocer si la distribución parte o no de una distribución normal.

Resultado del mismo (Anexo 6) un estadístico promedio de .260 (n=3)

Para el siguiente agrupamiento se considera elemento 2 ilustrado en Anexo 6.

En uso de la misma prueba estadística del anterior elemento, se describe lo siguiente (Anexo 6) con el mismo estadístico promedio de .260 (n=6) ilustrado en el primer elemento

## **F7 – Describir procedimiento obtenido**

Una vez realizado todos los procesos de acuerdo al modelo se describe una a una las fases de experimentación:

### **Fertilización**

Para la primera, tercera y cuarta solución, se aplicó 1 ml por litro de solvente; para 2 litros 2 ml de solución. En ese orden respectivamente.

Una vez obtenida las soluciones se agitó los envases para homogenizar los químicos correctamente.

### **Proceso de siembra de tubos en fiola**

Para Fiola (2 litros)

- Se mandó 5 tubos TM o TW, del mismo registrarlo en ficha correspondiente (ver 0)
- Se colocó 5 tubos con fiolas de 2 litros
- Se colocó papel aluminio sobre el embudo de la botella (considerar la sujeción del papel aluminio)
- Una vez colocado el anteco se procedió a realizar 2 perforaciones para evitar la concentración de humedad.
- Se registró día, mes y hora de la colocación de la anterior solución (Ver Anexo 4).
- Paso seguido, se coloca tubo y sorbete para ser colocados en el proceso de aireación

### **Clorinización del agua**

- Se colocó agua en recipiente hasta llenarlo
- Se colocó 10 ml de Cloro
- Se añadió fisiolfato para eliminar el cloro con 12 ml respectivamente
- Se colocó Fiola de 200 ml en un tubo
- Se añadió Fiola de un litro en conjunto con 5 tubos de solución
- Siembra a botellón de 2 litros
- Se procedió a siembra la fiola a los otros botellones con la capacidad de 1800 ml
- Se colocó papel aluminio en los dos tubos. Además, provocar aireación.
- Siembra en tubos de sepas por la cámara de flujo
- Se colocó alcohol en los guantes, para pasar por calor.
- Se colocó tubos los cables en la gradilla.
- Se flamio los tubos antes de colocar en las cepas.
- Se ubicó una pipeta de 10 ml.
- Se procedió a recopilar el agua tratada, fertilizada y esterilizada.
- Se trasvasó el agua tratada con la pipeta y se coloca 20 ml de agua a los tubos
- Se recolectó un tubo de muestra, para destapar y flamearlos respectivamente.
- Se colocó entre 2 a 2,5 la cepa dentro de los tubos<sup>1</sup>
- Una vez completados los tubos con las cepas se sellan cuidadosamente.

### **Proceso de Carboys**

- Se procedió a llenar con agua de mar el envase.
- Se procedió a poner las fundas con los respectivos tachos y correspondientemente llenar hasta 18 L de agua de mar.
- Se colocó 10 ml de cloro en las fundas.
- Se trasladó a las fundas con el cloro hacia la aeración
- Se procedió a realizar un pequeño agujero<sup>2</sup> a la funda casis al inicio para colocar sorbete en tubo para aeración.

---

<sup>1</sup> Nota: Por seguridad, no se succionan el sedimento de la cepa

<sup>2</sup> Nota: Se fertilizan los nutrientes por la razón de que ya van directamente al elemento de la funda.

### **Siembra de Fiolas a Carbuys (Fundas)**

- Se desclorinó las fundas con 11 ml de tiosulfato.
- Se multiplicó para sacar mililitros, de ellos 11 por 10 fundas. Es decir, un total de 110 mililitros.
- Se colocó el trío sulfato con un frasco de 110 ml para poder ser observado por una pipeta. Los 11 ml requeridos para colocarlo en la funda.
- Después del proceso de descolonización se deja actuar por una hora, el fisolfato.

### **Nutrientes para las fundas**

- Se agregó a los nutrientes dependiendo las fundas. Que para este caso son 15. De ello, 15 ml. aplicar 45 ml a las fundas directamente. Del mismo debe ser nutrientes 1,3,4,2.
- La solución número 2, se coloca al último, correspondiendo a los demás nutrientes (Fertilización).

### **Siembra de fiolas a fundas**

- Se procedió a poner el nutriente 1, 3 y 4 con embudo a 45 ml.
- Se colocó la solución 2, 15 ml por cada funda.
- Como paso siguiente se colocó la funda con alga hacia las fundas. Con la cantidad de 600 ml en todas las fundas.

### **Preparación de Tiosulfato**

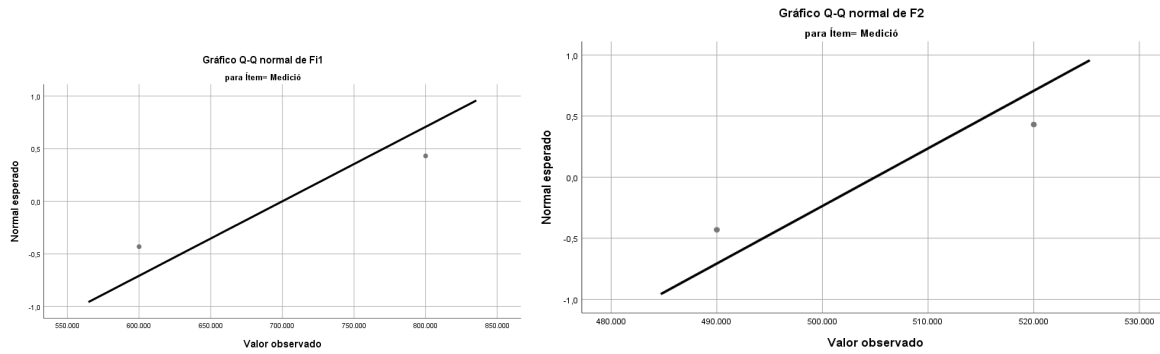
- Se consideró 100 g. de Tiosulfato con agua dulce.
- Además, 100 g en 500 ml de agua dulce.

En resumen, En función de la experimentación y práctica de laboratorio se describió las siguientes fases (1) Fertilización; (2) Proceso de Carbuys; (3) Siembra de Fiolas a Carbuys (Fundas); (4) Siembra de fiolas a fundas; (5) Preparación de Tiosulfato. De los mismos obtenidos por el modelo propuesto en este estudio.

### **F8 – Desarrollo de gráficas estadísticas.**

Del mismo, para Elemento 1 se describió una función ecuación lineal de crecimiento. Adicionalmente, el mismo análisis se tiene un  $R^2$  de 0,6716 en variable 'Fundas'.

Para el Elemento 2 se describe el mismo comportamiento de crecimiento, pero con una correlación  $R^2$  de 0,9994.



**Figura 2.** Ecuaciones resultantes para Elemento 1 y Elemento 2 para toma de registro experimental.



## 10. DISCUSIÓN

Dentro de los principales resultados, propiamente la densidad celular este permite el paso o circulación de otros elementos. Del mismo, se identifica una solución normal sin presencia de otras bacterias o similares. Para la investigación de García Gutiérrez (2018) logró un resultado de 23,4 ng/mg (equivalente a mg/kg para el mismo considerado como una acumulación alta dentro del análisis de densidad celular (pág. 18). Por tal, para la presente investigación resultando un valor de menor valía. En relación al resultado se considera un valor de concentración regular de consumo, sin embargo, se comprende por una humedad relativa por el cual en materia de laboratorio se considera óptimo. Sin embargo, no presentó tanto proteínas como lípidos, para este hallazgo es necesario analizar la dieta al cultivo como tal el alimento a larvas.

En cuanto al procedimiento, propuesto se determinó seis procedimientos químicos, de los mismos: (1) Fertilización; (2) Proceso de Carboys; (3) Siembra de Fiolas a Carboys (Fundas) Nutrientes para las fundas; (4) Siembra de fiolas a fundas; (5) Preparación de Tiosulfato. Del mismo, para los primeros procesos fertilización y siembra de fiolas, Lodeiros y Lovatelli (2019) describen al procedimiento por el cual se tiene que describir un protocolo de siembra de microalgas (p. 18). Por tal, si en efecto se desarrolló un procedimiento se requiere de un protocolo formal adicionado una ficha de observación y control dentro de la práctica de laboratorio. Dentro de los registros de laboratorio, para el Elemento 1 (Fundas 2 litros) se identificó una correlación de  $R^2$  0,6716 , correlación débil. En otras palabras, valores dispersos con gran variabilidad. A diferencia del Elemento 2 (Fundas) donde la correlación 0,9994, por tal grado fuerte  $R^2$ .

## 11. CONCLUSIONES

- Bajo la experimentación propuesta del análisis, no se detectó la presencia de proteínas y lípidos, se identificó ciertas falencias en cuanto a la experimentación al tener muestras no representativas, además de cálculo de nuevos escenarios a partir de concentraciones descritas previamente. Sin embargo, la densidad celular permitió el paso de elementos biológicos, aunque la dieta de cultivo no permitió la presencia de proteínas.
- La microalga de experimentación propiamente *Tetraselmis* sp, microalga marina, permite una mejor experimentación en cuanto a tiempo y velocidad de generación como de crecimiento respectivamente. Del mismo, por investigaciones revisadas considerado apto para su uso en laboratorio.
- La calidad de cultivo dentro de la densidad celular como resultado de análisis de experimentación (n = 4) es de < 11.30 (mg/Kg) permitiendo el paso de elementos biológicos sin la presencia de anomalías.
- Los parámetros de calidad para el cultivo se considera temperatura de 24 a 26 °C (ambiente) y humedad en relación a 64 a 66 %; ambas valoraciones aproximadas producto de la presente experimentación. Además, de la toma de la muestra mayor a cuatro cepas. Del mismo, en las propiedades de la cepa requeridas para el uso de biocombustible es necesario revisar la capacidad de retención de proteínas, sin presencia de elementos anormales y cultivo apto de transporte de lípidos.

## 12. RECOMENDACIONES

- Generar nuevos escenarios de concentraciones químicas de acuerdo a lo descrito en el proceso de obtención de alimento dentro del cultivo, para este estudio propiamente Fase 1, Fase 2 y vitaminas. Adicionalmente, generar una ficha de observación preestablecida como un formato de soporte de archivo documental.
- 
- La permanencia de mayores muestras representativas en cuanto a su valor de correlación posibilita una mejor asimilación de valores de obtención de datos con menores variaciones y como tal una posible alimentación de cultivos a larvas.
- De las fases de experimentación detalladas, se recomienda generar mayor revisión en (1) Fertilización y (4) Siembra de fiolas a fundas con un protocolo más rígido en cuanto a medición y obtención de datos.
- Finalmente, se recomienda seguir el modelo de seguimiento propuesto para todo el proceso metodológico con las mejoras antes mencionadas. Además del hallazgo de los coeficientes de correlación para Elemento 1 (Fundas 2 litros) R2 0,6716 y Elemento 2 (Fundas) 0,9994 respectivamente, se requieren de mayores muestras de experimentación a distintos escenarios, por tal, distintos componentes químicos.

## 13. BIBLIOGRAFÍA

- Acién Fernández, F. G., Fernández Sevilla, J. M., & Molina Grima, E. (2018). Contribución de las microalgas al desarrollo de la bioeconomía. *Mediterráneo Económico*, 309-332.
- Analyticals laboratory. (2022). *Informe de Resultados*.
- Arguello, W., & Mora, J. (2019). *Alternativa para la intensificación a bajo costo en el cultivo de microalgas*. [Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral]. DSpace Principal, Guayaquil. Obtenido de <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/48136>
- Band, S. C. (1999). *Efecto de la composición bioquímica de Ciencias del mar*. La Paz: Centro Indisciplinado de Ciencias Marinas.
- Barraza, R. H., Pérez, A. M., González, M. L., Ortega, J., Ahmed Tadeo, M. R., Zúñiga, M., & Perez, M. (2020). Uso de microalgas como constituyentes parciales del alimento balanceado para engorda de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biotecnia*, 135-141.
- Benson, A. A., & Calvin, M. (1950). Carbon dioxide fixation by green plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 1(1), 25-42.
- Buch, T. (2020). *Desarrollo y ecopolítica: los grandes debates de la tecnología, el ambiente y la sociedad*. Lenguaje claro Editora.
- Carrera. (2020). *Potencial de las microalgas bentónicas nativas del Caribe colombiano para ser cultivadas y usadas como alimento vivo en acuicultura*. [Tesis de Posgrado. Universidad del Magdalena]. Repositorio Institucional Universidad del Magdalena. Obtenido de <http://repositorio.unimagdalena.edu.co/handle/123456789/4752>
- Carrera, S., Velasco, L. A., & Barreto-Hernández, A. (2018). Potencial de microalgas bentónicas del Mar Caribe como alimento en maricultura. *Revista de biología marina y oceanografía*, 321-333.

- Castellanos, I. C., González-Peralta, K., & Pinzón-Torres, S. J. (2018). Microalgas como alternativa sostenible para la producción de biodiesel. *Revista Ontare*.
- Castillo, O. S., Torres-Badajoz, S. G., Núñez-Colín, C. A., Peña-Caballero, V., Herrera Méndez, C. H., & Rodríguez-Núñez, J. R. (2017). Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas. *Hidrobiológica*, 337-352.
- Castillo, O., Torres, S., Nuñez, C., Peña, V., Herrera, C., & Rosríguez, J. (2017). Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas. *Revista Hidrobiológica*, 27(3), 15.
- Chasquibol Calongos, S. D. (2021). *Revisión de las técnicas de producción de biocombustibles a partir de microalgas*. [Tesis de Pregrado. Universidad Cesar Vallejo]. Repositorio Institucional Universidad Cesar Vallejo, Lima. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12692/60819>
- Chisti. (2020). *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*. Academic Press.
- Cortés García, F. J. (2020). *La economía circular. Ideas claves para la comprensión de un nuevo modelo de gestión de los recursos económicos*. Santiago: Universidad Autónoma de Chile.
- Delgado Tejera, C. (2020). *Uso de microalgas en la industria farmacéutica*. [Tesis de grado. Universidade de La Laguna]. RIULL Repositorio Institucional. Obtenido de <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/21691>
- Eyster, C. (1967). *Mineral nutrient requirements of Chlorella sorokiniana in*. Texas: USAF, School of Aerospace Medicine.
- Galindo, L. A., Rivas, A. C., Melendez, J. P., & Mayorquín, N. (marzo de 2020). Alternativas microbiológicas para la remediación de suelos y aguas contaminados con fertilizantes nitrogenados. *Scientia et Technica*, 25(1), 172-183.

- Garatachia, M. (2018). *Comparación de dos cultivos de microalgas en el fuent residual acuícola para para la producción de bioetanol a partr de biomasa.* . México: ITBOCA.
- García Gutiérrez, M. (2018). *Acumulación y transferencia de contaminantes emergentes en una cadena trófica.* [Trabajo de fin de maestrado. Universidade da Coruaña], Coruña. Obtenido de <http://hdl.handle.net/2183/20328>
- Gómez. (2020). Cultivo polialgal (Chaetoceros gracilis, Chlorella sp. y Tetraselmis chuii) en medios nutritivos no convencionales. SABER. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente.*
- Gómez, M. D., González, J. R., Pérez, C. G., & Vargas-Machuca, J. A. (2020). FICORREMIEDIACIÓN DE AGUAS RESIDUALES URBANAS DE PEQUEÑOS MUNICIPIOS CON MICROALGAS. *Revista Científica ECOCIENCIA*, 1-27.
- Hernández, A. (2020). Aislamiento y cultivo de microalgas bentónicas del caribe colombiano bajo diferentes condiciones de temperatura. *Intropica.*
- Hinojosa, M. (2012). *EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CO2 EN EL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE TRES MICROALGAS EN CONDICIONES DE FOTOBIOREACTOR.* México: Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C.
- Jiménez. (2016). *Aislamiento y caracterización bioquímica de microalgas de Baja California como alternativas para la producción de Lípidos.* México: CICESE.
- Jiménez, M., & Castillo, A. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Revista Scientia Agropecuaria.* vol. 12. num. 2, 16.
- Kafarov, V., & González Delgado, Á. D. (2012). Diseño y ajuste de métodos acoplados de extracción de aceite de microalgas para el desarrollo de una topología de biorefinería. *PROSPECTIVA*, 10(1), 113-123. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4962/496250733013.pdf>

- Laura Huaman, J. I. (2021). *Modelamiento matemático para la optimización de los factores que influyen en la producción de biomasa de spirulina (Arthrospira platensis) como una alternativa de mitigación de la contaminación del aire por fijación de CO2 atmosférico*. [Tesis de Posgrado. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Repositorio Institucional de la UNSA. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12773/12720>
- Lavens, P. &. (1996). *Manual on the Production and Use of*. Roma: FAO Fisheries Technical Paper.
- Lodeiros, C., & Lovatelli, A. (2019). *Producción de semillas de la ostra perla Pinctada imbricata. Un manual práctico*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura.
- López-Elías, J., García, N., Jiménez, L. & Huerta,. (2009). *Crecimiento de la diatomea Thalassiosira pseudonana en cultivos estáticos con iluminación continua y fotoperiodo a diferentes salinidades*. Biotecnia, 11 (1), 11-18.
- López-Padrón , I., Martínez-González, L., Pérez-Domínguez, G., Reyes-Guerrero, Y., Núñez-Vásquez, M., & Cabrera-Rodríguez, J. (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *La Habana*, 4(1), 1-20.
- Lorenzo, M. (2020). *Efecto del contaminante bisfenol A a distintas temperaturas, sobre la microalga marina Tetraselmis suecica*. [Trabajo de grado. Universidade Da Coruña]. Repositorio Universidade Da Coruña.
- Lozano Duran, C. A., & Ortiz Martinez, K. (2019). *Evaluación de la producción de lípidos a partir de la micro alga scenedesmus sp certificada y scenedesmus sp (nativa) en diferentes condiciones de cultivo para la producción de biodiesel*. [Tesis de Pregrado. Universidad Santo Tomas]. Repositorio Institucional Universidad Santo Tomas. Obtenido de <http://hdl.handle.net/11634/16994>

- Lúcia García, E. (2018). *Diseño de un reactor biológico para la producción de biobutano*. [Trabajo de grado. Universidad de Cádiz]. Repositorio Universidad de Cádiz. Obtenido de <https://rodin.uca.es/handle/10498/20043>
- Marín, D. J. (2019). Impacto del uso de biofertilizantes a base de residuos orgánicos en los suelos. *Conciencia Tecnológica*(58), 47-50. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=94461547008>
- Martínez, M. (2020). *Interacción de Fusarium en trigo y cebada bajo condiciones de temperatura actuales y proyectadas a futuro*. [Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata]. Repositorio institucional de la UNLP. Obtenido de <https://doi.org/10.35537/10915/91246>
- Mérida, L. G. (2020). Microalgas para el manejo de aguas residuales, actualidad y perspectivas. *AGROBIOLOGÍA*.
- Montoya, C., & Acosta, A. (2021). Crecimiento de *Tetraselmis* sp. empleando fertilizantes como medio de cultivo. *Revista ION*. vol, 34. num. 2, 12.
- Morales, A. (2020). Changes in mortality rates during the larval stage of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the basis of algal (*Chaetoceros calcitrans* or *Tetraselmis suecica*) food density. *Ecosistemas*.
- Moronta, R., Mora, R., & Morales, E. (2006). Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(1), 9.
- Ortiz Dongo, L. F. (2020). Efecto del tipo de estiércol y frecuencia de aireación (Volteo) en el comportamiento del proceso de compostaje. [Tesis de grado. Universidad La Molina]. *Repositorio* . Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4430>
- Oscanoa, H. (2020). Impacto del CO<sub>2</sub> sobre la densidad celular en seis cepas de microalgas marinas. *Revista Ion*.



- Piña, P. (2020). Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. . *Revista de Investigaciones Marinas*.
- Rodríguez, L. (2020). Efecto del medio em-bokashi en el cultivo de la microalga *Marina tetraselmis suecica* k. *Ecología Aplicada*. Obtenido de <https://redalyc.org/pdf/341/34160213.pdf>
- Romero, Y. (2020). Efecto tóxico del cadmio sobre microalgas aisladas del nororiente de Venezuela. *Interciencia*.
- Schröder, P., Albaladejo, M., Ribas, P. A., MacEwen, M., Tilkanen, J., & Ambiente, M. (2021). *La economía circular en América Latina y el Caribe*. Chatham House. Obtenido de <https://www.chathamhouse.org/sites/default/files/2021-01/2021-01-13-spanish-circular-economy-schroder-et-al.pdf>.
- Silva, B. J., Vásquez, V. V., & Merino, M. F. (2011). Producción de biomasa de *Tetraselmis suecica* empleando agua de mar con sanguaza. *Scientia Agropecuaria*, 2(211), 13-23.
- Silva, J., Vásquez, V., & Merino, F. (2011). Producción de biomasa de *Tetraselmis suecica* empleando agua de mar con sanguaza. *Revista Scientia Agropecuaria*, 2(1), 12.
- Uribe, T. E. (1994). *Cultivo de microalgas*. Chile: FACIMAR- UCN. 95-137.
- Valencia-Bautista, E. L., Angulo-Guerrero, R. J., Farfán-Bone, J. M., Verá-Lozano, C. J., A.-C. I., & Orobio-Arboleda, T. J. (2022). Una revisión del suministro de energía renovable y las tecnologías de eficiencia energética. *Polo del Conocimiento*, 7(4).
- Vallejo, C. (2021). Crecimiento de *Tetraselmis sp.* empleando fertilizante como medio de cultivo. *Dialnet*, 34(2). Obtenido de <https://doi.org/10.18273/revion.v34n2-2021005>
- Van, B., Monroy, N., & Saer, A. (2018). *Producción más limpia: Paradigma de gestión ambiental. Primera edición*. Colombia: Universidad de los Andes.
- Vázquez Neri, Y. G., Jaramillo Gómez, M. F., & Clemente Marroquín, B. (2018). *Centro de producción de microalga spirulina en Hermosillo, Sonora, México*. [Tesis de grado.

Universidad de Sonora]. Repositorio UNISON, Sonora. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12984/2582>

Velázquez Castro, J. A. (2018). Agricultura multifuncional: relevancia para el turismo en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1494-1507. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342018000701494&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342018000701494&script=sci_arttext)

Venegas, J., & Hernández, R. (2018). *Potencial biotecnológico de microalgas en zonas áridas*. Bogotá: SENA Regional Guajira.

Zare, J. (2018). *Uso de ensilado a base de residuos de trucha arcoíris como fertilizante orgánico para producción de microalga marina Tetraselmis*. [Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional Universidad Nacional Agraria La Molina. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12996/3706>

## 14. ANEXOS

### ANEXO 1. CICLO DE LA ECONOMÍA CONVENCIONAL



Fuente: (Cortés García, 2020)

## ANEXO 2. REGISTRO DE OBSERVACIÓN

### Fundas

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
F1	470.000	Verificado
F2	465.000	N/A
F3	500.000	N/A
F4	510.000	N/A
F5	495.000	N/A
F6	475.000	N/A
F7	500.000	N/A
F8	490.000	N/A

### Fiolas 2 litros

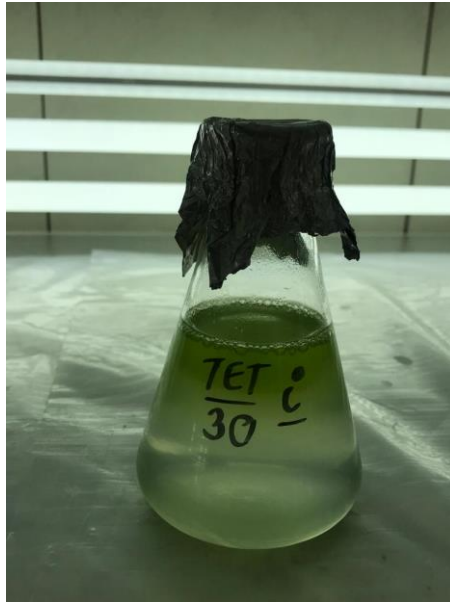
<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
Fi1	780.000	N/A
Fi2	800.000	N/A
Fi3	810.000	N/A
Fi4	890.000	N/A
Fi5	795.000	N/A
Fi6	895.000	N/A

### Tubos

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
1	N/A	Verificado
2	N/A	Verificado
3	N/A	Verificado
4	N/A	Verificado
5	N/A	Verificado
6	N/A	Verificado

## ANEXO 3. MATERIALES

Fuente de cultivo



Matraz



Vaso de precipitados



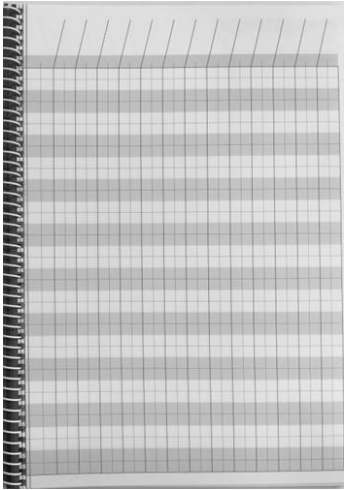
Ficha de toma de registro de datos

Registro: ____		
_____		
Ítem	Medición ( )	Nota
_1		
_2		
Registro: ____		
_____		
Ítem	Medición ( )	Nota
_1		
_2		
Registro: ____		
_____		
Ítem	Medición ( )	Nota
_1		
_2		

Tetras



Registro de Observación



Computadora tipo laptop



Guantes



Cámara (celular)



Lápiz y borrador





Cámara de Neubauer



Muestras



Microscopio



## ANEXO 4. REGISTRO DIARIO (CONTEO DE ALGAS)

Registro 31/07

Fiolas 2 litros

---

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
Fi1	600.000	N/A
Fi2	620.000	N/A
Fi3	800.000	N/A
Fi4	800.000	N/A

---

Fundas

---

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
F1	510.000	N/A
F2	520.000	N/A
F3	500.000	N/A
F4	498.000	N/A
F5	500.000	N/A
F6	505.000	N/A

---

Conteo de fundas 01/08

Fundas

---

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
Tw1	500.000	N/A
Tw2	479.000	N/A
Tw3	480.000	N/A
Tw4	501.000	N/A
Tw5	489.000	N/A
Tw6	458.000	N/A

---

Fiolas 2 litros

---

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
Fi1	800.000	N/A
Fi2	800.000	N/A
Fi3	800.000	N/A

---

Tubos

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
T1	N/A	Verificado
T2	N/A	Verificado
T3	N/A	Verificado
T4	N/A	Verificado
T5	N/A	Verificado
T6	N/A	Verificado

Revisión Conteo Algas Carboys 02/08

Fundas

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
F1	510.000	N/A
F2	490.000	N/A
F3	510.000	N/A
F4	490.000	N/A
F5	495.000	N/A
F6	495.000	N/A

Fundas (3 días)

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
F1	395.000	N/A
F2	375.000	N/A
F3	400.000	N/A
F4	295.000	N/A
F5	350.000	N/A
F6	400.000	N/A

Tubos

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
T1	N/A	Verificado
T2	N/A	Verificado

T3	N/A	Verificado
T4	N/A	Verificado
T5	N/A	Verificado
T6	N/A	Verificado

TW-29 F 26 – 23

Fundas 1

Ítem	Medición (al/ml)	Nota
F1	475.000	Verificado
F2	400.000	N/A
F3	490.000	N/A
F4	500.500	N/A
F5	500.000	N/A
F6	495.000	N/A

Fundas 2

Ítem	Medición (al/ml)	Nota
F1	395.000	Verificado
F2	400.000	N/A
F3	375.000	N/A
F4	300.000	N/A
F5	350.000	N/A
F6	355.000	N/A

Fiolas 2 litros

Ítem	Medición (al/ml)	Nota
Fi1	810.000	N/A
Fi2	800.000	N/A
Fi3	850.000	N/A
Fi4	795.000	N/A
Fi5	810.000	N/A
Fi6	7855.000	N/A

Tubos

---

<b>Ítem</b>	<b>Medición (al/ml)</b>	<b>Nota</b>
1	N/A	Verificado
2	N/A	Verificado
3	N/A	Verificado
4	N/A	Verificado
5	N/A	Verificado
6	N/A	Verificado

---

## ANEXO 5. INFORME DE RESULTADOS - CALIDAD CELULAR

DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Alimento para larvas		Cantidad	Aprox. 150 mL		
No. de muestras	1 (n=4)		Lote	N/A		
Presentación	Frasco plástico		Fecha de recepción	22 de julio del 2022		
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente		Fecha de colecta de muestra	N.A.		
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	25.8		Humedad (%)	64.1		
Fecha de Inicio de Análisis	23 de julio del 2022					
Fecha de Finalización del análisis	26 de julio del 2022					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidad	Límite de cuantificación
Alimento para larvas	UBA-33319-1	Proteína	AOAC 984.13 (Volumetría)	N.D.	%	-
		Lípidos	Folch Modificado (Gravimetría)	N.D.	%	-
		Carbohidratos	Clegg-Antrone (1956) (Espectrofotometría)	<11.30	mg/Kg	-

## ANEXO 6. COMPENDIO DE REGISTROS PARA ANÁLISIS

### Registro – Elemento 1

Fundas 2 litros	Ítem	Fi1	Fi2	Fi3	Fi4
Registro 1	Medición (al/ml)	600.000	620.000	800.000	800.000
Registro 2	Medición (al/ml)	800.000	800.000	800.000	0

### Registro – Elemento 2

Fundas	Ítem	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	Medición (al/ml)	510.000	520.000	500.000	498.000	500.000	505.000
2	Medición (al/ml)	510.000	490.000	510.000	490.000	495.000	495.000

### Compendio de registros para análisis prueba de normalidad – Elemento 1

Ítem	Descripción	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
		Estadístico	gl	Sig.
Fi1	Medición	,260	2	.
Fi2	Medición	,260	2	.
Fi3	Medición	.	2	.
Fi4	Medición	,260	2	.

*Nota.* a. Corrección de significación de Lilliefors. Análisis recopilado a través de SPSS v.25. P\_value este al ser menor a 0,05 ( $p < 0,05$ ) la distribución de los datos parte de otra distribución diferente a la normal.

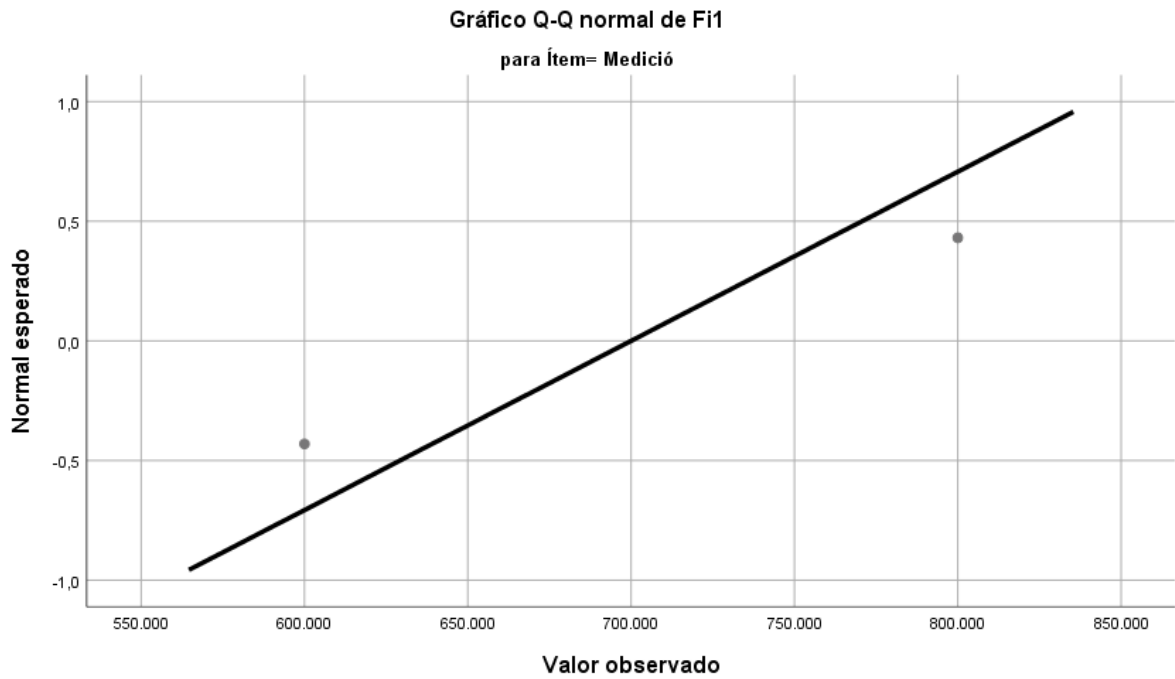
### Compendio de registros para análisis prueba de normalidad – Elemento 2

Ítem	Descripción	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
		Estadístico	gl	Sig.
F1	Medición	.	2	.
F2	Medición	,260	2	.
F3	Medición	,260	2	.
F4	Medición	,260	2	.
F5	Medición	,260	2	.
F6	Medición	,260	2	.

*Nota.* a. Corrección de significación de Lilliefors. Análisis recopilado a través de SPSS v.25. P\_value < 0,05 del mismo no parte de una distribución normal.

## ANEXO 7. COMPENDIO DE REGISTROS PARA ANÁLISIS

### Elemento 1



### Elemento 2

