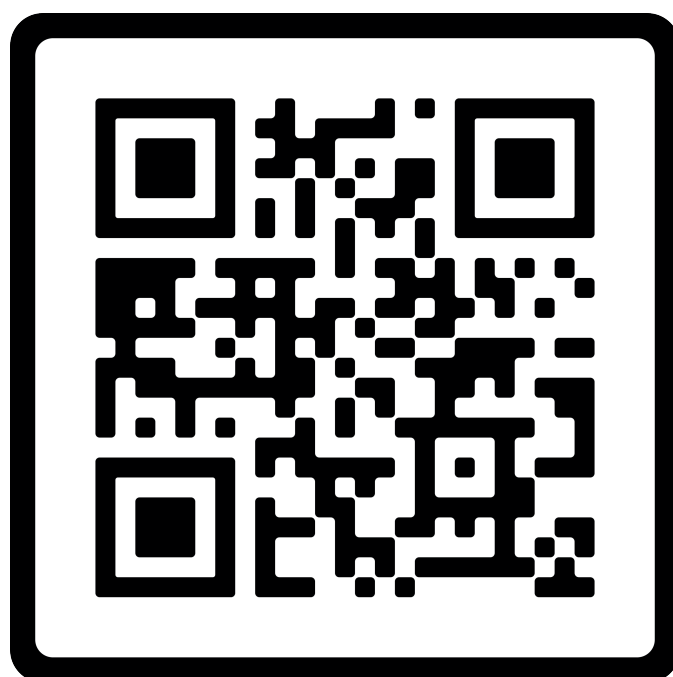




Valoración de tres microalgas autóctonas a escala experimental para biomasa como potencial aporte a la producción de biodiesel

Sheda Méndez Ancca
Hebert Hernan SotoGonzales
Marco Alexis Vera Zúñiga
Victor Yana Mamani

Cada libro de Colección Tinta & Pluma es evaluado para su publicación mediante el sistema de dictaminación doble ciego por especialistas en la materia. Lo invitamos a ver el proceso de dictaminación de este libro transparentado en nuestra plataforma.



Ediciones Tinta & Pluma se especializa en la publicación de conocimiento científico en español e inglés en soporte de libro digital en las áreas de humanidades, ciencias sociales y ciencias exactas. Guía su criterio de publicación cumpliendo con las prácticas internacionales: dictaminación, comités y ética editorial, acceso abierto, medición del impacto de la publicación, difusión, distribución impresa y digital, transparencia editorial e indexación internacional.

**Valoracion de tres microalgas autóctonas a
escala experimental para biomasa como potencial
aporte a la producción de biodiesel**

Valoración de tres microalgas autóctonas a escala experimental para biomasa como potencial aporte a la producción de biodiesel

Autores

Sheda Méndez Ancca

Hebert Hernan SotoGonzales

Marco Alexis Vera Zúñiga

Victor Yana Mamani

Primera edición: Tinta&Pluma 2022

Diseño de portada: Alfredo González Bores

Tinta&Pluma 2022, Guayaquil, Ecuador, Urbanización Puerto Azul, Mz 20 Villa 12,
fitogonzal@gmail.com

<https://editorialtintaypluma.com/index.php/etp/index>

DOI: <https://doi.org/10.53887/etp.vi>

ISBN: 978-9942-7049-6-2



Obra revisada previamente por la modalidad doble par ciego, en caso de requerir información sobre el proceso comunicarse con la editorial.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio (electrónico, mecánico, fotocopia, grabación u otros), sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de autor, bajo las sanciones establecidas por la ley. El contenido de esta publicación puede ser reproducido citando la fuente.

El trabajo publicado expresa exclusivamente la opinión de los autores, de manera que no compromete el pensamiento ni la responsabilidad de la editorial

Prologo

La investigación se realizó en la Universidad Nacional de Moquegua, Provincia de Ilo durante el 2017. La finalidad primordial fue la obtención de biomasa a partir de las especies de microalgas *Chlorella vulgaris*, *Tetraselmis estriata*, y *Nannocloropsis oculata*, objetivo que se ha logrado bajo las condiciones de cultivo siguientes, en la fase inicial e intermedia con fotoperiodo de 16:08, intensidad de luz de 3000 lux, temperatura ambiente 21 °C, temperatura de cultivo de 19.99 °C, pH de 8.7, oxígeno de 8.125 mg/L, salinidad de 33.0 ups; en la fase masiva con fotoperiodo 16:08, con una intensidad de luz de 3800 lux, temperatura ambiente 24 °C, temperatura de cultivo de 20.5 °C, pH de 9.5; oxígeno de 7.8 mg/l, salinidad de 33.1 ups. Observándose que la máxima concentración celular fue alcanzada, por la cepa *Nannocloropsis oculata* con un promedio de 8.41×10^7 cel/ml al cuarto día de cultivo; Asimismo, se obtuvo para *Chlorella vulgaris* una biomasa de 146.08 g, mayor en comparación con las otras especies, presentando diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%; también la especie *Chlorella vulgaris* presenta mayor contenido de ácidos grasos saturados 65.77%, en comparación con *Nannocloropsis oculata* que alcanza 42.31%. Por lo que, *Chlorella vulgaris* presenta mayores ventajas para la producción de biodiesel. En consecuencia, *Chlorella vulgaris* puede ser una microalga con potencial para la producción de biodiesel y otros usos.

Palabras clave: microalgas locais, biodiesel, densidade do cultivo, biomasa

Introducción

El trabajo de investigación tuvo por objetivo producir y evaluar tres especies de microalgas a escala experimental para la obtención de biomasa como insumo potencial para la elaboración de biodiesel, debido a que en la actualidad; el área energética enfrenta dos grandes problemas: la disminución de las reservas petroleras y la contaminación por la quema de los combustibles fósiles, Fernández-Linares, Montiel-Montoya, Millán-Oropeza, & Badillo-Corona, (2012), situación que demanda desarrollar tecnologías sustentables, renovables que permitan cubrir la demanda energética de las actividades antropogénicas Balat & Balat (2010), siendo una opción promisoría el biodiesel; biocombustible producido a partir de aceites oleaginosos de plantas (Garibay, Vásquez, Sánchez, Serrano, & Martínez, 2009), y de microalgas (Cobos, Castro, & Cerdeira, 2014).

En la investigación participó también IMARPE – Instituto del Mar del Perú, instituto de investigación que preveo cepas de microalgas y agua de mar filtrada y esterilizada. Además, la evidencia empírica se basa en los trabajos de laboratorio desde la siembra de cepas, obtención de inóculos y trabajos de laboratorio hasta la obtención de lípidos. El uso de microalgas para la producción de biodiesel ha surgido como una opción atractiva, debido a que presentan mayor eficiencia fotosintética, son más eficaces en la asimilación de CO₂ y otros nutrientes con respecto a las plantas, acumulan entre 20 y 80% de triglicéridos (Chisti, 2011), no requieren tierras cultivables, demandan menor consumo de agua renovable y pueden cultivarse en agua salobre (Amaro et al., 2011; Chisti, 2007; Demirbas, 2009).

El proceso de producción de biodiesel a partir de microalgas requiere de la producción de biomasa de microalgas rica en lípidos, los aceites son extraídos a partir de la pasta o biomasa de microalgas, y después transformados en biodiesel y glicerol, mediante la reacción de transesterificación (alcalina, ácida o enzimática) (Chisti 2008; Schenk et al. 2008).

La generación de biomasa a partir de microalgas y la extracción de aceite para la producción de biodiesel ha sido estudiada y evaluada de manera muy extensa en los sistemas abiertos raceway ponds. Los Raceways son sistemas menos caros que los fotobiorreactores debido a su menor coste de construcción y operación, aunque la producción de biomasa también es menor (Fernández-Linares et al., 2012).

Las energías renovables se definen según la Comisión Nacional para el Ahorro de Energía (CONAE) como formas de energía que tienen una fuente prácticamente inagotable con respecto al tiempo de vida de un ser humano en el planeta, y cuyo aprovechamiento es técnicamente viable. Dentro de estos tipos de energía se encuentran: la solar, la eólica (viento), la hidráulica, la biomasa (materia orgánica), la geotérmica (calor de las capas internas de la tierra) y la energía oceánica, principalmente. La biomasa, es el término genérico que se refiere al conjunto de la materia biológicamente renovable (árboles, cultivos), de la que se puede obtener biocombustibles como el biodiesel, obtenido de aceites de plantas o algas, y el bioetanol. Actualmente hay un gran interés por la producción de

grandes cantidades de este como alternativa a los combustibles fósiles en todo el mundo.

En el 2007, el gobierno peruano aprobó reglamentaciones que establecían una mezcla obligatoria de 2% de biodiesel en el Diesel para el 2009, y 5% para el 2011. Además, se estableció una mezcla obligatoria de 7,8% de etanol en la gasolina a partir del año 2010. Para cumplir con esta obligatoriedad de consumo, el Perú ha visto incrementadas sus áreas de cultivo de insumos para biocombustibles como la palma aceitera, la jatropha o piñon y la canola (para biodiesel); y la caña de azúcar y caña brava (para etanol) (Dammert 2009). Las microalgas presentan características atractivas para la obtención de biodiesel, tales como su elevada eficiencia fotosintética, su capacidad de crecer tanto en aguas marinas, dulces, residuales y salobres, así como su velocidad de crecimiento relativamente alta (Garibay 2012); superando en productividad de biodiesel con 12,000 L/ha/año, frente a Palma (5,950), Jatropha (1,892), Colza (1,190), Girasol (952) y Soya (446) (Schenk 2008). Productividad atribuida al aprovechamiento de la luz solar, nutrientes disueltos en el agua de mar y CO₂; incluso el secuestro de este último podría ayudar sustancialmente al ambiente; otra ventaja estaría constituida por la no competencia directa por terrenos agrícolas y el escaso requerimiento de grandes cantidades de agua dulce (Serrano 2012).

El objetivo de este trabajo es reportar datos relativos a la productividad de la biomasa, cantidad de lípidos y los perfiles de ácidos grasos de tres especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*, así como proporcionar una descripción específica de las cepas estudiadas de microalgas oleaginosas de alta eficiencia como insumo potencial en la producción de lípidos para la elaboración de biodiesel en la Provincia de Ilo.

La necesidad de desarrollar alternativas energéticas se ha incrementado debido a la crisis energética mundial y a los problemas ambientales ocasionados por el uso de los recursos. El uso del carbón y petróleo no sólo significa el consumo de recursos no sustentables, sino que también aumentan las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) responsables del calentamiento global. Cuando se quema un combustible fósil se está enviando a la atmósfera dióxido de carbono (CO₂) que había estado secuestrado por millones de años en yacimientos, aumentando su concentración en la atmósfera. La utilización de biocombustibles puede reducir considerablemente la emisión de CO₂, debido a que la fotosíntesis implicada en la producción de biomasa, absorbe el CO₂ de la atmósfera.

El Perú presenta mejores condiciones para producir etanol que biodiesel, por lo que este último contribuiría en forma limitada a la soberanía energética; sin embargo, la tendencia es que haya mayor demanda de biodiesel (ASCS 2009). Sumado a ello, es sabido que, el uso de plantaciones agrícolas para la producción de biocombustibles presenta una serie de desventajas y cuestionamientos, ya que el destino de las materias primas usadas para este fin debería priorizarse para alimentación humana, como el uso de los recursos suelo y agua dulce para su cultivo; por lo tanto, es evidente que el impacto negativo social y ambiental es altísimo.

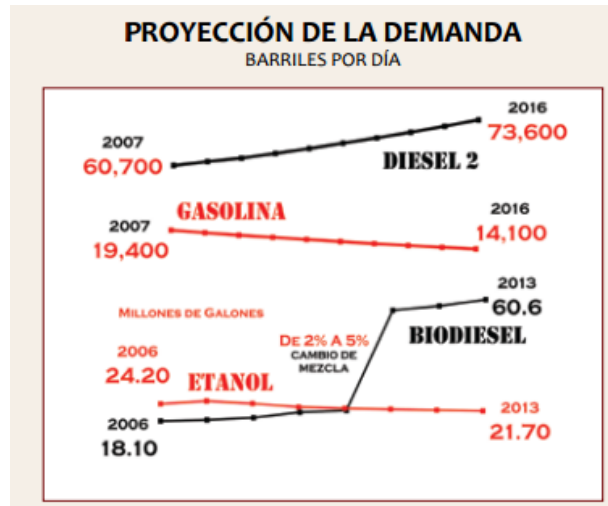


Figura 1: Proyección de la demanda de combustible en el Perú
Fuente: (ASCS 2009)

Para lograr la obtención de biodiesel a partir de microalgas por las ventajas comparativas que presentan; es necesario superar algunos retos en una primera etapa, tales como contar con microalgas cuyo contenido lipídico sea significativamente superior al 30% (Serrano, 2012), sean factibles de ser cultivadas en grandes cantidades, que presenten velocidades de crecimiento rápido, adaptadas a las condiciones ambientales locales, en lo posible aprovechen el CO₂ como fuente de energía para la producción de la biomasa rica en lípidos.

El presente trabajo responde a la siguiente pregunta general:

¿Qué beneficios se desprenden de la producción de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*, aprovechando su uso potencial como materia prima en la obtención de biodiesel a escala experimental en la provincia de Ilo?

La producción de microalgas oleaginosas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*, a escala experimental, como fuente de energía constituye una fuente de materia prima para su uso potencial en la obtención de biodiesel en la provincia de Ilo durante.

Producir y evaluar tres especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*, a escala experimental para la obtención de biomasa como insumo potencial en lípidos para la elaboración de biodiesel en la Provincia de Ilo.

Cultivar, producir y escalar inóculos de tres especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*, hasta lograr el cultivo masivo.

Determinar el crecimiento de tres especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*.

Obtener biomasa de tres especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*.

Determinar el perfil lipídico de tres especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata*.

Microalgas

Las microalgas son un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares, que se localizan en hábitats diversos tales como aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo. Su biodiversidad es tal, que se han estudiado cerca de 30000 especies, siendo las algas verdes y las diatomeas las más estudiadas para aplicaciones biotecnológicas. (Garibay et al, 2009).

Según Uribe (1992), las microalgas, son un grupo variado de plantas que poseen una amplia diversidad de tamaños, pigmentación, bajo nivel de especialización celular. Son típicamente acuáticas y vive fijas a un sustrato o flotando libremente en el plancton.

Las microalgas constituyen el alimento natural de bivalvos y la base esencial de la cadena trófica acuática (Benemann 1992), soportan la producción de la pesquería de recursos renovables de 100 x 106 t/año (Muller 2000).

Especies de microalgas

Según Bioplant (2010), es importante tener en cuenta que algunos autores sostienen que existen unas 50 000 especies de microalgas, mientras otros sostienen que existe más de 100 000. Como referencia indicar que aproximadamente el 80% de la producción industrial actual de microalgas está basada en el cultivo de únicamente 3-5 especies

Consideraciones a tener en cuenta para la elección de una microalga a cultivar:

Producción volumétrica total

Tolerancia térmica

Resistencia a condiciones de cultivo adversas

Multi -utilidad

Menor adherencia al material del fotobiorreactor

Clasificación taxonómica

Nannochloropsis oculata

Nannochloropsis son algas marinas unicelulares de flotación libre, con células subsférica, 2-4, micras del diámetro. O cilíndrica, 3-4 x 1.5 micras. Cloroplasto parietal amarillo - verde; pigmentos típicamente eustigmatophycean (Antia & Cheng, 1982)

Nannochloropsis es un género de algas que comprende 6 especies conocidas. El género en la clasificación taxonómica actual fue denominado por primera vez por Hibberd (1981). Las especies se han sabido sobre todo del ambiente marino, pero también ocurren en agua fresca y salobre (Hibberd, 1981).

Nannochloropsis se considera un alga prometedora para aplicaciones industriales debido a su capacidad de acumular altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados. Sukenik (1989); Boussiba (1987). Además, presenta características prometedoras que pueden permitir la manipulación genética dirigida al mejoramiento genético de las cepas oleaginosas actuales. Varias especies de Nannochloropsis de hecho son transfectables y ha habido evidencia de que algunas cepas son capaces de realizar la recombinación homóloga. Actualmente se utiliza principalmente como una fuente de alimentos ricos en energía para larvas de peces y rotíferos. Sin embargo, ha suscitado un creciente interés para la investigación de la producción de biocombustibles a partir de organismos fotosintéticos

Dominio: Eukaryota

Reino: Chromista

Phylum: Ochrophyta

Clase: Eustigmatophyceae

Orden: Eustigmatales

Familia: Monodopsidaceae

Género: Nannochloropsis

Fuente: Hibberd, (1981)

Chlorella vulgaris

El nombre *Chlorella* proviene del griego Chloros, que significa verde, y el latín ella, que significa cosa pequeña. Su color es un verde fuerte gracias a su elevado contenido de clorofila, su capacidad fotosintética se multiplica rápidamente requiriendo CO₂, agua, luz solar y minerales (Alvear et al, 2011)

La *Chlorella* forma parte del género de algas verdes unicelulares de agua dulce del filo Chlorophyta de las cuales existen 30 especies según clasificación botánica. Poseen una forma esférica con un tamaño aproximado de 2-10 µm de diámetro y se encuentran en lagos y pantanos por todo el mundo formando aproximadamente el 90% del plancton de agua dulce. (Alvear et al, 2011; Moronta et al, 2006).

Reino: Protista

División; Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlorococcales

Familia: Oocystaceae

Género: *Chlorella*

Especie: *Vulgaris*

Fuente: Aldave, (1989) *Tetraselmis striata*

Tetraselmis es un género de fitoplancton de algas verdes dentro del orden de Chlorodendrales, y se caracterizan por su intenso cloroplasto de color verde, sus cuerpos celulares flagelados, la presencia de un pirenoide en el cloroplasto y una pared de escala producida, usualmente miden usualmente 10 µm de largo x 14 µm de ancho. (Norris et al, 1980; Becker et al, 1994).

Las especies dentro de este género se encuentran en ecosistemas marinos y de agua dulce en todo el mundo; su rango de hábitat está limitado principalmente por

la profundidad del agua debido a su naturaleza fotosintética. Norris et al, (1980). Por lo tanto, viven en diversos ambientes acuáticos si hay suficientes nutrientes y luz disponible para la actividad fotosintética neta. Las especies de *Tetraselmis* han demostrado ser útiles tanto para la investigación como para la industria. Las especies de *Tetraselmis* se han estudiado para entender las tasas de crecimiento del plancton Norris et al. (1980); Arora et al, (2015). Además, muchas especies están actualmente siendo examinadas para su uso como biocombustibles debido a su alto contenido de lípidos. (Mercedes et al. 2012)

Reino: Protista

División: Chlorophyta

Clase: Chlorodentrophyceae

Orden: Chlorodendrales

Género: *Tetraselmis*

Especie: *Tetraselmis striata*

Fuente: Hibberd, (1981)

Etapas de la producción de algas

Etapas en la producción de algas. Las cepas (250 ml o menos) siguen aisladas bajo luz y clima controlados (baja temperatura) y sólo se emplean cuando es necesario inocular. Ni se airean ni se añade dióxido de carbono. Los inóculos (inicial) (250 ml a 4 L en volumen) crecen rápidamente durante un período de 7 a 14 días a temperaturas e intensidad de luz más elevada con un aporte de aire enriquecido con dióxido de carbono. Cuando están listos, una pequeña proporción del volumen se emplea para iniciar nuevos inóculos y la porción principal para comenzar un cultivo a escala intermedia. Los cultivos intermedios (normalmente de entre 4 L y 20 L en volumen) pueden emplearse como alimento para las larvas o para iniciar un cultivo a gran escala. Los cultivos a gran escala (masivos) suelen ser de un mínimo de 50 l y ser mayores en volumen (FAO, 2006).

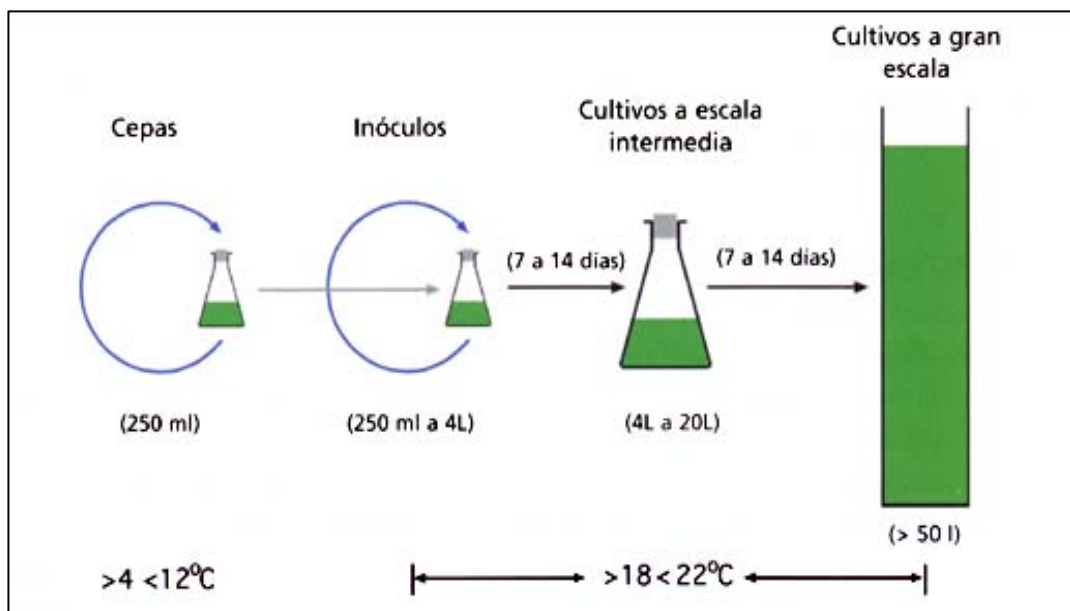


Figura 2: Fases de escalamiento de cultivo de microalgas

Fuente: FAO, (2006)

Cultivo y producción de inóculos de microalgas

Los inóculos son cultivos se desarrollan para crear inóculos que se emplearán para iniciar cultivos de mayor volumen para la producción de alimentos. Se prepara una línea de cultivos de inóculos a partir de las cepas de las especies requeridas. Los inóculos, al igual que las cepas, se pueden cultivar en matraces de ebullición de 500 ml en 250 ml de medio de cultivo. Se cultivan de 18 a 22 °C y a una distancia de 15-20 cm de las lámparas fluorescentes de 65 ó 80 W, proporcionando un nivel de iluminación de la superficie de cultivo de 4 750 a 5 250 lux (figura abajo). Los cultivos de inóculos suelen airearse con una mezcla de aire ó dióxido de carbono (CO₂). Los inóculos se cultivan durante períodos variables de tiempo antes de su uso. En el caso de las especies de diatomeas, que tienen intervalos generacionales cortos, este período dura entre 3 y 5 días y para la mayoría de las algas flageladas dura entre 7 y 14 días. Cuando ya está listo para usar, el inóculo se replica utilizando técnicas estériles. Se transfiere de 20 a 50 ml (según la especie y la densidad de cultivo) a un cultivo fresco de 250 ml - para mantener la línea de cultivo de inóculos. El resto se emplea como inóculo para cultivos más grandes (de hasta 25 L de volumen) que se cultivarán para usarse como alimento o como paso intermedio del proceso de cultivo a mayor escala, donde a su vez actúan como inóculos para cultivos mucho mayores.



Figura 3: Instalaciones de mantenimiento de inóculos
Fuente: Elaboración propia

Cultivo de microalgas

Las formas de cultivo microalgal dependen de los requerimientos y exigencias de la calidad de los mismos según, las etapas en las que se desarrollan. Como lo mencionan Álvarez (1996) y Gonzales (2000), encontramos distintas formas de cultivo entre las que destacan:

Por su naturaleza: Los cultivos se pueden clasificar en:

Cultivo intensivo: Aquí los factores de crecimiento se mantienen bajo un sistema controlado, de tal manera que se pueda obtener una máxima respuesta en la producción.

Cultivo extensivo: En esta clase de cultivo sólo se controla las variables más accesibles en su manejo, tales como las características del medio nutritivo y la densidad del cultivo.

Por la forma de cosechar los cultivos: Se pueden clasificar en:

Cultivos continuos: La población algal, las características químicas del medio, la temperatura y finalmente la luz son mantenidas en un valor constante por períodos prolongados, procurando un flujo sostenido de requerimientos y de salida del producto.

Cultivos semi-continuos: Aquí se cosecha una parte de la producción y se renueva el volumen cosechado por medio de un medio nuevo.

Cultivos batch: Estos cultivos son intermitentes, se implementan de una sola vez y son cosechados completamente después de que la producción algal alcance un nivel apropiado, medido en productividad ($\text{cel.ml}^{-1} \text{ g.L}^{-1}$, g.m^{-2}). En el momento de la cosecha el cultivo debe estar en la fase exponencial, fase en la que la concentración celular alcanza su nivel máximo.

Por la pureza del cultivo: Estos se puede clasificar en:

Cultivos axénicos: Son cultivos libres de bacterias y estériles, para mantener la productividad por un período prolongado de tiempo. Estos cultivos son delicados y de cuidado. Requieren todo el tiempo de material estéril y asepsia.

Cultivos monoespecíficos (unialgales): Aquí la población de microalgas está parcialmente contaminada por una pequeña carga de bacterias. Estos cultivos crecen mejor que los anteriores ya que las bacterias excretan sustancias, como vitaminas, que favorecen el crecimiento microalgal, sin embargo, en altas concentraciones bacterianas se puede producir una inhibición del crecimiento celular.

Medios de cultivo

Uno de los obstáculos en la producción industrial de microalgas es la formulación y preparación de un medio de cultivo, química y económicamente apropiado. Los medios de cultivo utilizados para microalgas se pueden agrupar en tres categorías: medios completamente sintéticos, medios basados en aguas naturales enriquecidas con suplemento mineral y utilización de residuos o aguas residuales. Los medios de cultivo sintéticos pueden ser comerciales o prepararse en el laboratorio es conveniente que sean fáciles de hacer o reconstituir en el laboratorio y fáciles de conservar. (Gonzales Annabel. 2000).

El medio de cultivo utilizado en etapas de cepario e intermedio en el criadero es el Medio F/2 modificado (Guillard 1975) para Microalgas Marinas; ya que provee los requerimientos mínimos de las especies en cultivo, tales como agua, sales minerales (macro y micronutrientes) y factores de crecimiento (vitaminas);

mientras que en la etapa de cultivo masivo, se utiliza Proline F/2 Algae Food Part A y Part B y Metasilicato de sodio en el caso del cultivo masivo de diatomeas.

Cinética de crecimiento y densidad de microalgas

Fase de Ajuste y latencia

Se da la inoculación del medio con la microalga, esta se adapta a las condiciones establecidas. Esta fase puede durar de 1 a 3 días dependiendo del tamaño del inoculo. (Gonzales, 2000).

Fase de desarrollo Logarítmica o exponencial

El cultivo se ha adaptado a las condiciones. La división celular se incrementa en función del tiempo debido a que los nutrientes están siendo asimilados y el proceso de reproducción es activo. (Gonzales, 2000)

Fase declinación a la fase exponencial

El tiempo requerido para duplicar la población aumenta, reduciéndose la tasa de crecimiento ya que los nutrientes han sido consumidos, se produce un aumento en la concentración de metabolitos y una reducción de la actividad fotosintética por el incremento de la densidad de la población, reduciendo la disponibilidad de la luz. (Maldonado, 2014; Álvarez, 1994).

Fase Estacionaria

La densidad celular se mantiene constante por periodos más o menos prolongados. Esta fase es corta debido a que los nutrientes han sido consumidos. (Gonzales, 2000)

Fase de declinación o Muerte

Esta fase es causada por las condiciones desfavorables del ambiente, sobre el cultivo y el limitado suplemento de nutrientes o la contaminación por otros microorganismos oportunistas. (Rodríguez, 2006).

Biomasa

Se denomina biomasa a la materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía, aunque puede tener otros usos industriales, Velázquez (2006). La biomasa puede ser y son fuentes extraordinarias de energía. Fuentes naturales, fuentes renovables y, sobre todo, fuentes autóctonas (CONUEE, 2014).

Tecnología de producción de biomasa

Sistemas de cultivo

De acuerdo con Bioplant (2010), hay dos diseños básicos para la producción a gran escala de microalgas: sistemas abiertos y cerrados.

Sistema abierto

Consiste en realizar cultivos en aguas superficiales naturales como estanques, lagunas y lagos, circuito (raceway) de 20 a 50 cm de profundidad, permitiendo una difusión con la atmósfera para obtener CO₂ necesario para el crecimiento. (Maldonado, 2014).



Figura 4: Sistema tipo de cultivo tipo raceway
Fuente: Bioplant, 2010

Sistema cerrado (fotobiorreactores)

Basado en el cultivo en reactores transparentes, con distintas geometrías como tubulares, planas o cilíndricas. La principal ventaja es la facilidad de mantener un monocultivo lo que proporciona un producto de pureza para su procesado en la industria. (Maldonado, 2014; Ruiz, 2011).

Los sistemas cerrados, ofrecen numerosas ventajas tales como pérdidas mínimas de CO₂, riesgo reducido de contaminación, control y reproducibilidad de las condiciones de cultivo, ahorro de agua y nutrientes, menores requerimientos de superficie, flexibilidad de diseño, cortos periodos de producción y productividades considerablemente superiores. (Garibay et al, 2009).

Un fotobiorreactor es un biorreactor que incorpora algún tipo de fuente de luz para proporcionar una fuente de energía fotónica en el reactor (Chisti, 2007). Ya que estos sistemas son cerrados, el cultivo de microalgas no interactúa con los gases del medio ambiente evitando su contaminación.

En este sistema se introduce un medio de cultivo que proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento de las microalgas.

Los fotobiorreactores se construyen a partir de materiales transparentes con el fin de permitir el paso de la radiación lumínica necesaria para los procesos fotosintéticos que se dan en el interior. Pueden ser diseñados para que su iluminación sea por métodos artificiales, por luz solar o por ambas. (Piedrahita et al., 2012).

Los fotobiorreactores permiten establecer cultivos de alta densidad celular, 3 o más veces en comparación con los sistemas abiertos. Esto tiene ventajas como:

Facilidad para cosechar biomasa.

Mantenimiento del cultivo sin contaminación.

Mejor control de las condiciones de cultivo.

Menor inversión de capital en el fotobiorreactor.

Tipos de fotobiorreactores

Fotobiorreactores de placa plana

Los fotobiorreactores de placa plana han recibido mucha atención para el cultivo de microorganismos fotosintéticos debido a su amplia superficie de iluminación. Las bondades del diseño son su gran superficie de iluminación, buena capacidad para la movilización de las algas, alta productividad de biomasa, relativamente económica, fácil de limpiar, con poca acumulación de oxígeno. Aunque presenta aspectos negativos tales como el escalamiento lo hacen poco económico y hay dificultad para controlar la temperatura (Piedrahita et al., 2012).

Fotobiorreactores de columna de burbujas

Estos fotobiorreactores son compactos, de bajo costo, y fácil de operar. Por otra parte, son muy prometedores para el cultivo a gran escala para las microalgas. Las virtudes de este tipo de fotobiorreactor son la alta transferencia de masa, una buena mezcla, bajo consumo de energía, alto potencial de escalamiento, fácil de esterilizar y presenta una notable reducción de foto-inhibición. Las limitaciones son las pequeñas áreas de iluminación de superficie, su construcción requiere de materiales sofisticados, alto esfuerzo cortante de cultivos de microalgas, disminución del área de iluminación superficie sobre la extensión del fotobiorreactor (Piedrahita et al., 2012).

Fotobiorreactores tubulares

El fotobiorreactor tubular es uno de los más adecuados para cultivos en exteriores bajo la acción de la radiación solar. Consiste de colector solar, conformado de un arreglo de tubos rectos transparentes, generalmente de plástico o vidrio, cuya su función es capturar la mayor cantidad de luz solar posible para el cultivo microalgal presente en su interior (Piedrahita et al., 2012).

Potencial lipídico de las microalgas

Algunos géneros de microalgas, principalmente clorofíceas y diatomeas, son capaces de acumular una gran cantidad de lípidos, hasta un 80% del peso seco, pero en condiciones de estrés. Por tanto, acumulan lípidos cuando tienen limitada la posibilidad de dividirse, es decir, cuando no crecen.

ESPECIES	CONTENIDO DE ACEITES (% peso biomasa seca)
Chlorella sp.	28-32
Isochrysis sp.	25-35
Nannochloris sp.	20-35
Nannochloropsis sp.	31-68
Tetraselmis suecica	15-23

Tabla 1: Tabla de contenido de aceites de algunas especies de microalgas
Fuente: Bioplant, (2010)

Rendimiento de la biomasa

La composición del medio de cultivo y las condiciones de crecimiento de microalgas tienen un efecto importante en el rendimiento de biomasa y en el contenido de lípidos (Sims y Christenson, 2011). Se ha demostrado que la limitación de nitrógeno y fósforo, incrementan el contenido lipídico en microalgas (Beer et al., 2009; Scott et al., 2010).

Biodiesel

El biodiesel es un biocombustible líquido compuesto de alquil-ésteres de alcoholes de cadena corta como etanol y metanol, con ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de biomasa renovable: aceites vegetales, grasas animales y aceites de microalgas (Robles-Medina et al. 2009).

Metodología de obtención de biodiesel

La producción de biodiesel a partir de algas se divide en cuatro etapas diferenciadas. La primera, es el cultivo de las microalgas, origen de la obtención de biomasa algal, que será cosechada y en dependencia del método extractivo utilizado, desecada, constituyendo estas dos operaciones la segunda fase del proceso de producción. En tercer lugar, hay que considerar la extracción del aceite, donde son aplicables dos categorías de métodos distintas, procedimientos mecánicos o químicos. El cierre de la producción se realiza bajo la transesterificación de los lípidos, en términos comunes, la conversión del aceite en biodiesel (Rubianes 2011).

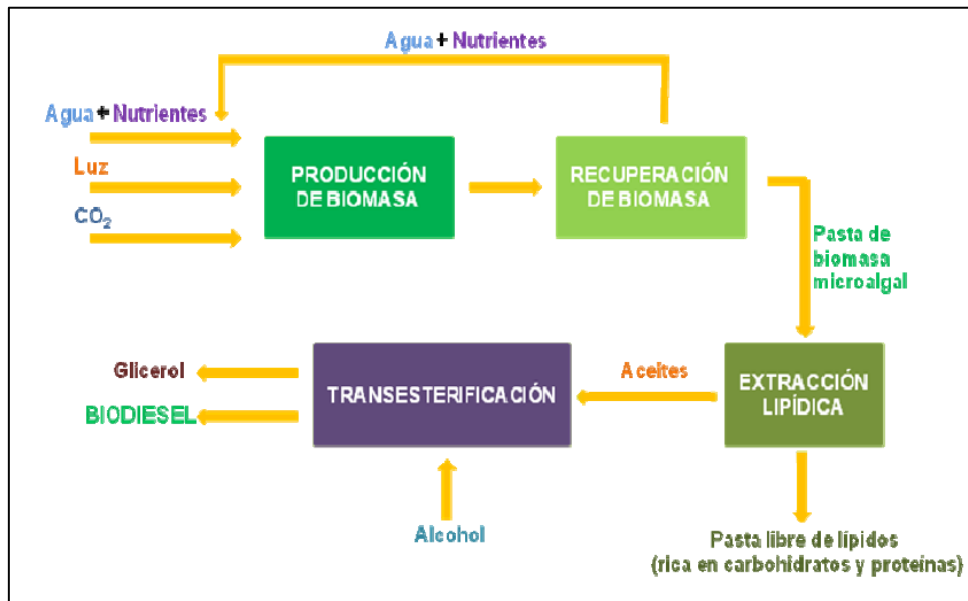


Figura 5: Esquema del proceso de producción de biodiesel

Fuente: (Garibay 2012)

Existen diversas metodologías para la producción de biodiesel, cuatro de ellas han sido estudiadas exhaustivamente: uso directo de aceites o mezclas de éstos con diesel fósil, micro emulsiones, pirólisis y transesterificación (Balat y Balat 2010; Garibay et al. 2009). De las cuatro técnicas, la conversión química o transesterificación de aceites es la solución más factible al problema de altas viscosidades (Balat 2011). La reacción de transesterificación llamada también alcoholisis, se basa en la reacción de moléculas de triglicéridos (el número de átomos de las cadenas está comprendido entre 15 y 23, siendo el más habitual de 18) con alcoholes de bajo peso molecular (metanol, etanol, propanol, butanol) para producir ésteres y glicerina (que puede ser utilizada en cosmética, alimentación, farmacia, etc.) (García y García, 2006) (Fig. 2).

Pueden cultivarse en dos tipos de sistema: abiertos y cerrados. En el caso de los sistemas abiertos, que pueden ser viveros o estanques, presentan el inconveniente de que las microalgas más oleaginosas que tardan más en crecer, pueden contaminarse con mayor facilidad y la pérdida de agua por evaporación constituye un tema pendiente. Mientras que los sistemas cerrados, como el caso de foto biorreactores, proporcionan a las microalgas un ambiente controlado para su crecimiento; sin embargo, los costos de producción son más elevados, que podrían reducirse si se colocan cerca de industrias que emitan gran cantidad de CO₂, con la finalidad de favorecer el secuestro de carbono y paralelamente un incremento en el crecimiento (Gonzales et al, 2011).

El mayor desafío está vinculado a disminuir los costos de producción, siendo determinante mejorar la tecnología para la extracción de lípidos, ya que los procesos de centrifugación obtienen bajas concentraciones de biomasa, siendo la floculación – sedimentación – flotación un proceso previo al centrifugado para reducir costos, teniendo en cuenta que lo que se busca es que la célula de la microalga secrete el lípido sin afectar su funcionalidad, tema que seguramente implica el mejoramiento genético de las microalgas destinadas para este fin; por consiguiente, el biocombustible obtenido a partir de microalgas ha pasado de ser

catalogado de tercera generación a segunda generación, ya que la fase incipiente de desarrollo ha ido evolucionando con las investigaciones desarrolladas hasta el momento.

Ámbito de estudio

El estudio se realizó durante el 2015 al 2017, las posiciones de coordenadas georreferenciadas fueron: latitud sur 17°36.092 y longitud oeste 71°20.437, la cual se encuentra ubicada en el Centro Poblado de Ciudad Jardín, Distrito de Pacocha, Provincia de Ilo, Departamento de Moquegua.

Tipo y diseño

El tipo de investigación es aplicada y el diseño experimental

Nivel de investigación

Explicativo

Variables en estudio

Variable independiente	Variable dependiente
Tipo de cepa	Concentración celular
	Cantidad de biomasa
	Cantidad de lípidos

Tabla 2 Variables en estudio
Fuente: Elaboración propia

Población

Las tres especies de microalgas cultivadas en el invernadero de la Universidad Nacional de Moquegua – Filial Ilo.

Muestra

Especies de microalgas, *Chlorella vulgaris*,

Nannochloropsis oculata, y *Tetraselmis striata*, cultivadas en fotobiorreactores verticales.

Diseño experimental

Se aplicaron tres tratamientos, cada uno con tres repeticiones, como se muestra en el cuadro siguiente:

TRATAMIENTO	REPETICIÓN 1	REPETICIÓN 2	REPETICIÓN 3
T 1	F -1	F -2	F -3
T 2	F -4	F -5	F -6
T 3	F -7	F -8	F -9

Tabla 3: Diseño experimental
Elaboración: Elaboración propia

T 1: Cepa 1 (*Chlorella vulgaris*) T 2: Cepa 2 (*Nannochloropsis oculata*)

T 3: Cepa 3 (*Tetraselmis striata*)

F1, F2, FN: fotobiorreactores de cultivo

Cultivo, producción y escalamiento de inóculos de microalgas, hasta cultivo masivo.

El Laboratorio Costero de Ilo del Instituto del Mar del Perú IMARPE, proveyó inóculos de las microalgas marinas *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, y *Tetraselmis striata* (muestras biológicas), posibilitando el cultivo de las especies en el invernadero de la Universidad Nacional de Moquegua filial Ilo, siguiendo el procedimiento que se detalla a continuación:

Esterilización del material y del agua de mar

En todas las etapas del proceso el material de vidrio se esterilizó en una dilución de jabón neutro en agua potable (1mL/L), durante 24 horas, para su posterior enjuague con abundante agua potable y finalmente con agua destilada. Posteriormente fue secado en la estufa a 150 °C, durante 30 minutos y almacenado en gavetas limpias. La entrada de los matraces de Erlenmeyer y probetas fue cubierta con papel aluminio, mientras que las pipetas y placas fueron envueltas con papel Kraft, para su posterior uso.

Las botellas de 7 L, garrafones de 20 L fueron lavados con detergente diluido y abundante agua potable a presión. Los difusores, filtros cunco y mangueras de silicona fueron remojadas en un recipiente que contenía agua potable con hipoclorito de sodio al 0.1% (1mL/1L) por 24 horas. Posteriormente, se enjuagaron y secaron.

Para el cultivo de microalgas, el IMARPE proporcionó agua de mar filtrada y esterilizada, que fue transportada desde su laboratorio hasta la filial Ilo de la Universidad Nacional de Moquegua.

El medio de cultivo utilizado en todas las etapas de cultivo de las microalgas, fue el F/2 Modificado Guillard (1975); FAO (2006).

QUÍMICOS		g/L
Macronutrientes	KNO ₃	75.00
	NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	5.65
Micronutrientes	EDTA Na ₂	4.360
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.150
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.010
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.022
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.010
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.180
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.006
Vitaminas	Cyanocobalamina	0.002
	Tiamina HCl	0.100
	Biotina	0.001

Tabla 4: Reactivos químicos para el cultivo de microalgas
Fuente: Guillard (1975); FAO.(2006).

Los insumos fueron pesados en una balanza de precisión de error 1.0 mg y sensibilidad de $d=0.1\text{mg.}$, marca A & D COMPANY LIMITED, modelo GR – 200.

Fase cepario

Las muestras biológicas de las tres especies de microalgas fueron proporcionadas por el IMARPE, mantenidas en medio líquido (contenidas en tubos de ensayo de 10 ml), se transfirieron 3 gotas de inóculo de la cepa antigua en tubos de 10 ml, utilizando una micropipeta estéril previamente flameada en el mechero y en condiciones de estricta asepsia.

Posteriormente fueron transferidas a un medio de cultivo sólido (Agar Agar) contenidos en placas Petri, proporcionándoles nutrientes, condiciones de iluminación constante y temperatura ($19 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), factores necesarios para su crecimiento (Zevallos, 2010).

Fase inicial

En esta fase el cultivo procedente del nivel cepario se escaló a matraces de 250 y 500 mL de capacidad, los cuales contenían 150 y 300 mL de agua de mar filtrada, esterilizada y enriquecida con fertilizante F/2 Modificado Guillard, 1975 (FAO. 2006), respectivamente.

En los matraces de 250 mL, se inocularon 50 mL de la especie de interés, flameando la boca del matraz en el momento del repique. Se rotularon colocando el nombre de la especie, fecha y se tapó con papel aluminio y papel Kraft con el propósito de evitar su contaminación. Luego, fueron colocados en la estantería bajo temperatura y luz constante, asimismo el cultivo en esta fase fue renovado cada cuatro días en razón del comportamiento de la curva de crecimiento de las especies.

En los matraces de 500 mL se inocularon 100 mL de la especie de interés provenientes de la producción obtenida en los matraces de 250 ml, flameando la boca del matraz en el momento del repique, teniendo cuidado de no transferir las células sedimentadas (concho). Se rotuló (nombre de la especie y fecha) e instaló un tapón provisto de un capilar para el suministro de aire luego fueron ubicados en estanterías con temperatura y luz constante. Su renovación dependió de la producción requerida y del comportamiento de la densidad de carga mostrada.

Fase de cultivo intermedio

Los cultivos de microalgas se desarrollaron en volúmenes que van desde 1 a 5 L. Estos se dispusieron en matraces de 1000 ml (con 800 ml de agua de mar esterilizada y enriquecida), en los cuales se adicionó 100 ml del inóculo de la especie de interés. Se rotularon y pusieron tapones y capilar para disponerlos en su estantería con temperatura y luz constante.

Las botellas de 5 L de capacidad, fueron “cebadas” con agua de mar esterilizada (3 repeticiones), para evitar la acumulación de residuos contenidos en el agua potable. En estas botellas se vertieron 4 L de agua de mar filtrada (1 μ), irradiada por UV y “envejecida”. Luego, se adicionó 1 ml de F/2 Modificado Guillard, 1975 (FAO. 2006), por cada litro de agua de mar esterilizada. Posteriormente se inocularon con cultivos procedentes de los matraces de 1L hasta completar el volumen de 5 L, luego se colocó las tapas y el capilar para el suministro de aire y se puso en estantería bajo temperatura y luz constante, registrándose diariamente la temperatura, intensidad lumínica y semanalmente el oxígeno disuelto, pH y salinidad.

Finalmente, el procedimiento precedente, se desarrolló en garrafones de 20 L en los cuales se adicionó 4/5 de agua de mar filtrada y esterilizada, 1/5 del inóculo proveniente de las botellas de 5 L y 1ml/L del nutriente bajo las mismas condiciones ambientales descritas en el cultivo precedente.

Cultivo y producción masiva de microalgas en invernadero.

Se desarrolló en el invernadero instalado en el campus de la Universidad Nacional de Moquegua filial Ilo, con inóculos provenientes del cultivo intermedio, bajo condiciones semi controladas, utilizando fotobiorreactores verticales con una capacidad de 160 L cada uno; los mismos que estuvieron compuestos por una estructura metálica con 08 bolsas de polietileno de 20L de capacidad cada uno (ver Fig. 6).

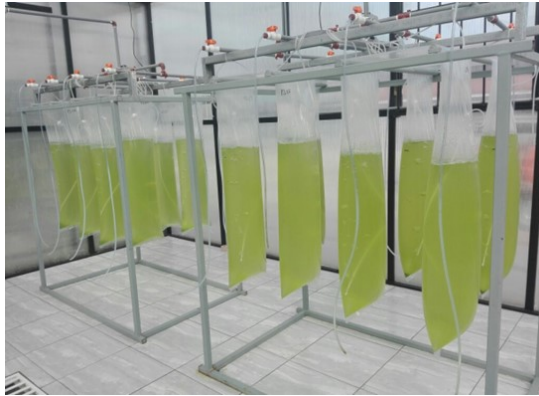


Figura 6: Fotobiorreactor vertical,
Fuente: Elaboración propia

Determinación del crecimiento de microalgas.

La velocidad de crecimiento y concentración celular de cada especie se determinó diariamente, sacando 1 ml. de muestra del cultivo de microalgas, y agregando 1 gota de Lugol, fueron observadas con la ayuda de un microscopio compuesto Micros Austria (10x), modelo MC20i, y el recuento celular se realizó con una cámara de Neubauer, los conteos diarios tuvieron 06 repeticiones por cada especie de microalga.

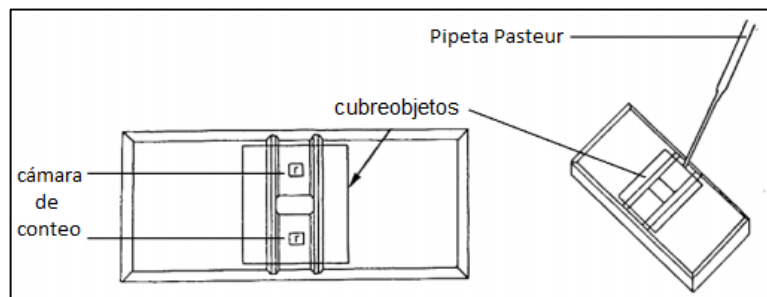


Figura 7: Cámara Neubauer
Fuente: Catalá (2013).

Antes de proceder al conteo en el microscopio se esperó tres minutos, para que las unidades algales se asienten debidamente, se realizó el conteo en el cuadrante central, en el área diagonal.

La densidad celular se determinó a través de la fórmula de Andersen (2005); Moheimani et al. (2013) y Liza, (2015):

$$\text{Densidad celular} = \text{Promedio} \times 5 \times 10000$$

Donde:

Densidad celular : Número de células en volumen (cel.mL-1)
Promedio : Media aritmética del recuento de cuadrantes.

Obtención de biomasa microalgal

Para este proceso se empleó una centrífuga separadora GEA Westfalia Separator, Gruop GmbH, modelo OTC 3-02-137, de limpieza manual, conectada a una bomba de succión; asegurando que la centrífuga trabaje a una velocidad promedio de salida de 100 L/h; culminado el tiempo de centrifugado, se retiró la biomasa húmeda con la ayuda de una espátula del cono receptor del cultivo y se colocó en placas Petri, esparciéndola de manera homogénea, formando una capa delgada no mayor a 1 cm de espesor, se cubrió con bolsas herméticas, etiquetadas y codificadas, y se conservarán en refrigeración por 24 horas. Posteriormente las muestras fueron liofilizadas, por un periodo de 48 horas; la biomasa seca fue homogenizada en morteros de porcelana, y almacenada en un desecador la biomasa embolsada, protegida de la humedad y la luz, para su posterior análisis. La calidad de la biomasa seca se comprueba, realizando la prueba de humedad, mediante el método de estufa de aire a 50 °C por 5 h hasta que el peso sea constante. El rango de humedad aceptable está entre 5 a 7%, procedimiento que se realizó utilizando la metodología de Aguilar et al. (2011).

Determinación del perfil lipídico de microalgas

La acumulación de lípidos totales en las microalgas por efecto de la influencia del tipo de cepa, fue analizada en dos fases la primera para determinar lípidos totales y la segunda para determinar el perfil lipídico o contenido de ácidos grasos.

En una primera fase para la extracción de lípidos totales a partir de biomasa seca microalgal, se procedió a pesar 50 mg. de microalga liofilizada en un tubo de vidrio de 15 ml (Tubo 1), adicionando 3 ml de una mezcla de solventes cloroformo: metanol (1:2). El tubo con muestra se colocó en un baño de agua con hielo, el cual fue sometido a ultrasonido durante 15 min. (3 ciclos). Se incubó el tubo por 24 h en refrigeración (4 °C) y protegió de la luz. El tubo con muestra en frío, se sometió a ultrasonido por 15 min (3 ciclos) más; posteriormente fue centrifugado a 5000 rpm por 20 min; la fase líquida se extrajo con una pipeta Pasteur y transfirió a un tubo de vidrio de 15 ml (Tubo 2). Se agregará 1,5 ml de cloroformo: metanol (1:2) a la biomasa residual y centrifugará nuevamente a 5000 rpm por 20 min. a 5 °C y recuperará el extracto en Tubo 2. Se agregará 2 mL de agua destilada al Tubo 2, que contiene el extracto y agitará con vortex. Será eliminado el exceso de agua de la capa superior y centrifugado a 5000 rpm por 10 min a 5 °C, separando la fase inferior formada de cloroformo y lípidos. Se agregó 1 ml de cloroformo y separó la fase inferior (cloroformo: lípido), introduciendo con cuidado una pipeta Pasteur y burbujeando aire hasta el fondo del tubo. La fase orgánica lipídica se colocó en un tubo seco de 10 ml (Tubo 3), previamente pesado y guardado en desecador. Se lavó la fase acuosa del Tubo 2 con 1 ml de cloroformo, mezclando con vortex y se centrifugó nuevamente a 5000 rpm durante 10 min., se recuperó la fase inferior lipídica y transfirió al Tubo 3. La fase lipídica (Tubo 3) fue secada con nitrógeno gaseoso dentro de una campana de extracción. Se colocó el Tubo 3 en desecador y pesó hasta obtener peso constante (Aguilar et al. 2011).

En una segunda fase, la obtención del perfil lipídico o tipo de ácidos grasos se obtuvo llevando la biomasa seca, en condiciones asépticas al laboratorio de biotecnología de la Universidad Católica Santa María de Arequipa, quienes aplicaron el método de cromatografía de gases.

Análisis estadístico

Los datos registrados fueron procesados en hojas de cálculo Excel para analizar las concentraciones, parámetros de crecimiento y factores abióticos en una base de datos para los análisis posteriores. Para comparar las concentraciones celulares, parámetros poblacionales y porcentajes de lípidos totales y perfil lipídico según las microalgas utilizadas se aplicó un Análisis de Varianza de una Vía (ANOVA, $p=0,05$) utilizando el software estadístico SPSS versión 21.0, previa comprobación de la normalidad de los datos y homocedasticidad de sus varianzas y posteriormente se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey o Duncan dependiendo del coeficiente de variabilidad.

Cultivo, producción y escalamiento de inóculos de microalgas, hasta cultivo masivo

En la fase Inicial e intermedia las especies de microalgas se cultivaron en matraces con volúmenes de 500 ml, 1L y 7L, el incremento de volumen de cultivo se desarrolló inoculando 10% del volumen total a alcanzar, con aireación constante, fotoperiodo 16:08, con una intensidad de luz de 3000 lux, temperatura ambiente 21 °C, temperatura de cultivo de 19.99 °C, pH de 8.7, oxígeno de 8.125 mg/L, salinidad de 33.0 ups, en promedio. Según Catalá (2013) una temperatura inferior a 16 °C ralentizará el crecimiento, mientras que una superior a 35 °C será letal para las especies de microalgas, siendo la temperatura óptima entre los 18 a 24 °C, salinidad de 20 a 24 ups, intensidad de luz de 2500 a 5000 lux y un pH de 8.2 a 8.7 (Franco, 2014). Y siendo que los parámetros de calidad de agua del cultivo se encuentran dentro de los rangos descritos por la literatura, se deduce que la presente investigación se ha desarrollado en condiciones óptimas de cultivo.

En estas fases *Nannochloropsis oculata*, alcanzó una máxima concentración celular de 9.13×10^7 cel/mL, en 4 días de cultivo; mientras que *Chlorella vulgaris* presentó una máxima concentración celular de 5.67×10^6 en 4 días de cultivo; y *Tetraselmis striata* mostró un menor crecimiento alcanzando una concentración celular de 4.55×10^6 en un tiempo en tres días, luego de los cuales ingreso abruptamente a la etapa de declinación y muerte. Resultados similares fueron obtenidos por Liza (2015), quién señaló que *Chlorella ellipsoidea* presentó una densidad celular de $5,28 \times 10^6$ cel/mL el día 9 del cultivo, mientras que *Tetraselmis striata* alcanzó una concentración celular de $1,21 \times 10^6$ cel/mL. el día 14.

Volúmen	C. vulgaris	T. striata	N. Oculata
0.5 L	5.67 x106	4.55 x106	9.13 x107
1 L	4.51 x106	2.25 x106	8.70 x107
7 L	2.02 x106	1.44 x106	6.73 x107
20 L	1.45 x106	1.48 x106	5.80 x107

Tabla 5: Concentración celular cultivo inicial e intermedio
Fuente: Elaboración propia

Además, en el cuadro anterior se puede observar que, *Nannochloropsis oculata* disminuye su concentración celular de 9.13×10^7 a 6.73×10^7 a medida que se escala la cepa a un nivel superior de volumen, el mismo comportamiento registran las otras cepas investigadas.

En la fase masiva las cepas de microalgas se cultivaron en fotobiorreactores de 20 L de capacidad, con aireación constante, fotoperiodo 16:08, con una intensidad de luz de 3800 lux, temperatura ambiente $24\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura de cultivo de $20.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH de 9.5, oxígeno de 7.8 mg/L, salinidad de 33.1 ups. En esta fase *Nannochloropsis oculata*, alcanzó una máxima concentración celular de 5.80×10^7 cel/mL; en 4 días de cultivo, mientras que *Chlorella vulgaris* presentó una máxima concentración celular de 1.45×10^6 en 4 días de cultivo y *Tetraselmis striata* mostró un menor crecimiento en menor tiempo, alcanzando una concentración celular de 1.48×10^6 en un tiempo en 3 días. Alcanzando mayor concentración celular fue *Nannochloropsis oculata*.

Crecimiento de las microalgas

Etapa inicial

Como se observa en la Fig. 9 en un volumen de cultivo de (0.5 ml), las microalgas alcanzaron su máximo crecimiento entre el tercer y cuarto día, mostrando la especie de microalga *Nannochloropsis oculata* concentraciones máximas medias de 9.13×10^7 cel/mL; *Tetraselmis striata* de 4.55×10^6 cel/mL y *Chlorella vulgaris* 5.67×10^6 cel/mL en condiciones controladas. Observándose que la especie *Nannochloropsis oculata* obtuvo mayor concentración en el cultivo.

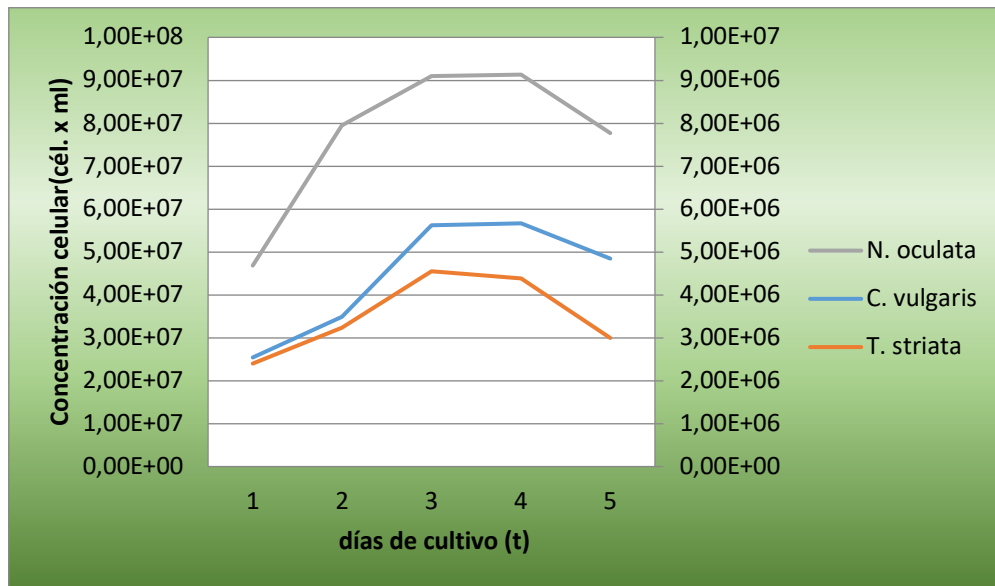


Figura 8: Curva comparativa de crecimiento microalgal, (500 ml) de cultivo
Fuente: Elaboración propia

En la Fig. 8, se aprecia que las microalgas alcanzan su máximo crecimiento promedio al tercer día de cultivo, momento en el que ingresan a la etapa estacionaria, para posteriormente declinar al cuarto día de cultivo.

Etapa intermedia

La etapa intermedia comprendió dos volúmenes de cultivo: un litro (1 L) y siete litros (7 L), observándose para el volumen de (1 L), que la especie de microalga *Nannocloropsis oculata* presentó concentraciones máximas medias de 8.70×10^7 cel/mL, seguida de la especie *Chlorella vulgaris* que alcanzó una concentración de 4.51×10^6 cel/mL y *Tetraselmis striata* con 2.25×10^6 cel/mL. Mostrándose claramente una mayor concentración de cultivo para la especie de microalga *Nannocloropsis oculata*, en esta etapa.

En la Fig. 9, posterior, se muestra la curva comparativa de crecimiento de las tres especies de microalgas *Nannocloropsis oculata*, *Chlorella vulgaris* y *Tetraselmis striata* cultivadas en un volumen de 1L.

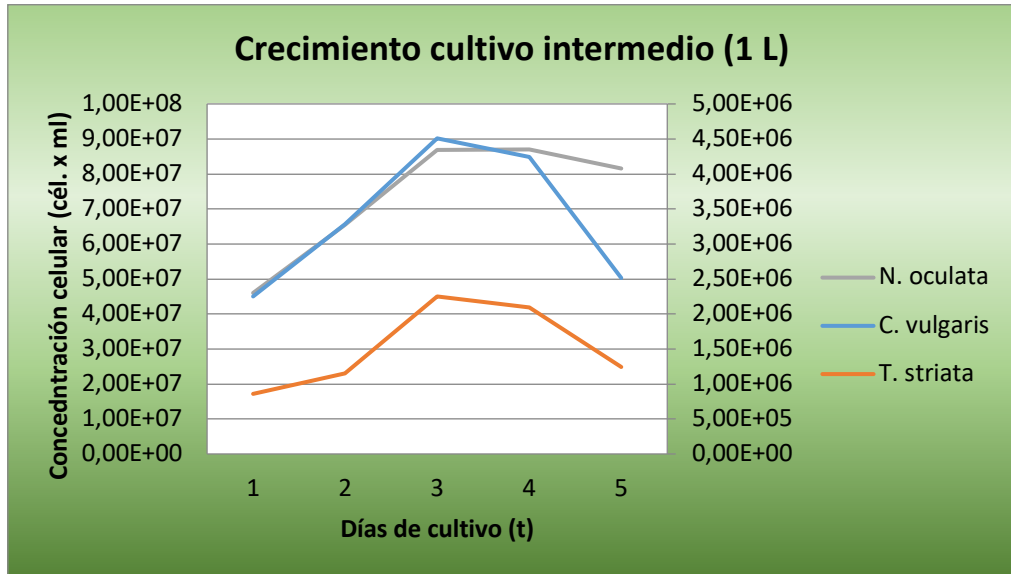


Figura 9: Curva comparativa de crecimiento microalgal, (1L) de cultivo
Fuente: Elaboración propia

Respecto del cultivo intermedio de (7 L) de volumen la especie de microalga *Nannocloropsis oculata* con una concentración celular de 6.73×10^7 cel/mL, supero ampliamente a la especie *Chlorella vulgaris* que alcanzó concentraciones máximas medias de 2.02×10^6 cel/mL; quedando en último lugar la especie de microalga *Tetraselmis striata* con 1.44×10^6 cel/mL, véase la Fig. 10, en la que se visualiza que las microalgas alcanzan su máximo crecimiento al tercer día de cultivo en las condiciones de calidad de agua descritas anteriormente.

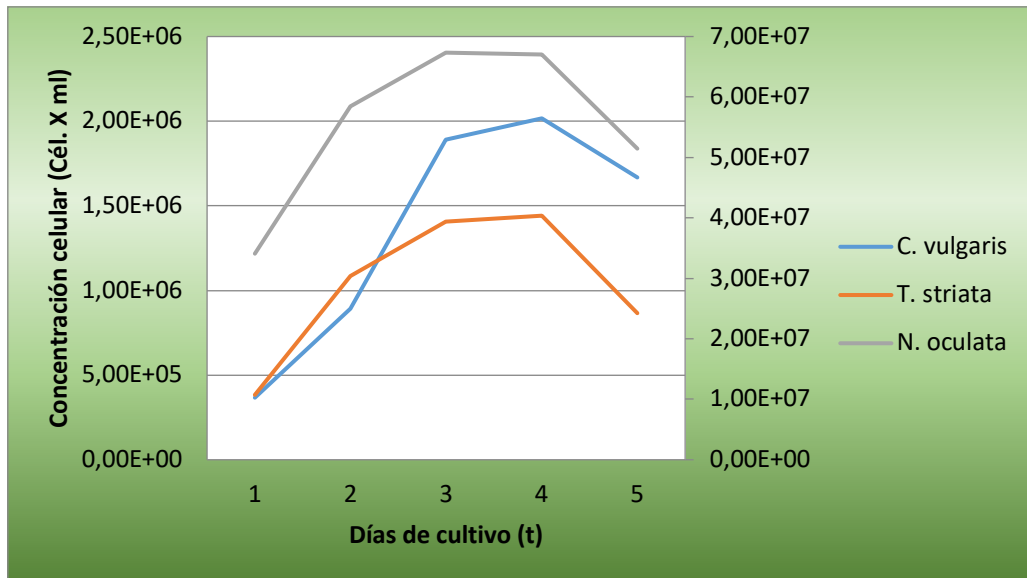


Figura 10: Curva comparativa de crecimiento microalgal, (7L) de cultivo
Fuente: Elaboración propia

En consecuencia, en la etapa de cultivo intermedia se obtuvo mayor concentración de cultivo con la especie *Nannocloropsis oculata*, siendo que, para el volumen de (1 L) la especie presentó concentraciones máximas medias de 8.70×10^7 cel/mL y para un volumen de (7 L) la especie de microalga alcanzó con una concentración celular de 6.73×10^7 cel/mL

Etapa masiva

En un volumen de cultivo de (20 L), las microalgas alcanzaron su máximo crecimiento entre el tercer y cuarto día, mostrando la especie de microalga *Nannocloropsis oculata* una concentración celular máxima media de 5.80×10^7 cel/mL; *Tetraselmis striata* de 1.48×10^6 cel/mL; y *Chlorella vulgaris* de 1.45×10^6 cel/mL; y *Nannocloropsis oculata* 5.80×10^7 cel/mL. Tal como se muestra en la Fig. 12.

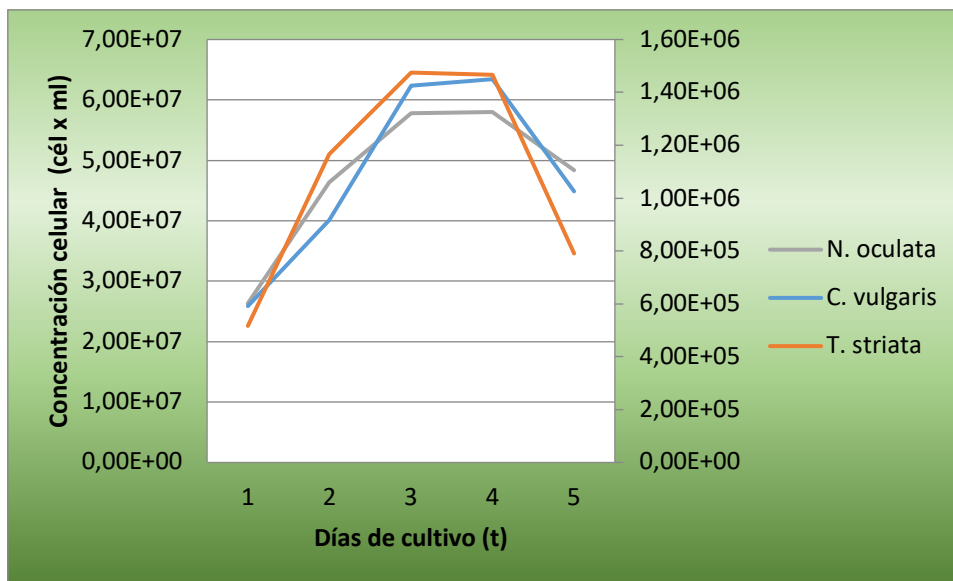


Figura 11: Crecimiento de microalgas en un volumen (20l) de cultivo
Fuente: Elaboración propia

Análisis de varianza para determinación de la concentración celular máxima al tercer día de evaluación

Los datos correspondientes a la determinación de la productividad alcanzada al tercer día de evaluación de la concentración celular en las diferentes etapas de escalamiento (etapa inicial – 500ml, etapa intermedia 1L y 7L y, etapa masiva 20 L), se presentan en el anexo 02.

Al realizar el análisis de varianza correspondiente bajo el diseño irrestricto al azar con una interacción de 2 factores (3 cepas x 4 volúmenes); se ha obtenido diferencias estadísticas altamente significativas para la interacción de los dos factores en estudio, lo que nos indica que hay interdependencia de estos factores para o durante los procesos de incremento de concentración celular.

Ante estos resultados se procederá a realizar el análisis de efectos simples para la interacción, dejándose de lado el análisis individual para cada factor, puesto que, la interacción cobra mayor interés.

El coeficiente de variabilidad obtenido fue de 5.5% valor que es bajo y por lo tanto da confiabilidad a los resultados obtenidos.

					Ft		
F de V	G.L.	S.C	C.M.	Fc	0.05	0.01	Sig.
epas (C)	2	15818273.22	7909136.61	9631.59	4.96	10.04	**
Volumen (V)	3	473530.44	157843.48	192.22	4.10	7.56	**
CxV	6	610239.22	101706.54	123.86	4.10	7.56	n.s.
Error	24	19708.00	821.17				
Total	35	16921750.89					
C.V.	5.5		Prom.	525.6			

Tabla 6: Análisis de varianza para concentración celular de microalgas
Fuente: Elaboración propia

Análisis de varianza para determinación de la concentración celular máxima al cuarto día de evaluación

Luego de realizado el análisis de varianza se encontró diferencia estadística altamente significativa entre el factor cepa de microalgas; en cambio para el factor volúmenes de agua y la interacción de los factores en estudio no se encontró diferencia estadística significativa. Dados los resultados encontrados, se procedió a realizar la prueba de DUNCAN al 1%.

El coeficiente de variabilidad determinado fue 18.4% el cual se encuentra dentro de los porcentajes aceptables, por consiguiente, los resultados obtenidos son confiables.

NÚMERO	TRATAMIENTO	PROMEDIO		SIGNIFICANCIA
1	N. oculata	8.41 107	X	a
2	C. vulgaris	3.44 106	X	b
3	T. striata	3.44 106	X	b

Tabla 7: Prueba de Duncan para el factor de estudio cepas de microalgas
Fuente: Elaboración propia

Los promedios obtenidos en el análisis de varianza, fueron multiplicados por 50000 porque es el área total de la cámara de Neubauer. Por lo que, los promedios en la tabla de DUNCAN se presentan en forma exponencial. Observándose que la máxima concentración celular fue alcanzada por la cepa *Nannocloropsis oculata* con un promedio de 8.41×10^7 cel/ml al cuarto día de cultivo, presentando diferencia estadística con respecto a las especies de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Tetraselmis striata* que lograron concentraciones celulares de 3.44×10^6 y 3.44×10^6

Obtención de biomasa microalgal

Tal como se mostró en la figura anterior, la etapa masiva del cultivo de microalgas, presentó su máxima concentración en el cuarto día cultivo, día en el que se centrifugó 140 L. de cultivo de cada especie de microalgas. Cuyos resultados se presenta en la tabla 10.

El análisis de varianza realizado a la biomasa de cepas de *Chlorella vulgaris*, *Tetraselmis striata*, *Nannocloropsis oculata* (tabla 8), podemos observar que los tratamientos estudiados, presentan diferencias estadísticas significativa. Estos resultados nos muestran que al menos uno de ellos logra incrementos estadísticos significativos en la biomasa.

El coeficiente de variabilidad determinado fue de 4.7%; considerado como aceptable y por tanto da confiabilidad a los resultados. Por lo que, se procederá a realizar la prueba de Duncan al 5% de probabilidad.

						Ft		S i g
F d e V T r a t	G . L .	S. C .	C . M .	F c	0 . 0 5	0 . 0 1		
	2	1 0 4 6. 2	5 2 3 . 1	1 2 . 7 3	8 . 3 3	1 9 . 0 2	*	
E r r o r T o t a l	6	2 4 6. 6	4 1 . 1					
	8	1 2 9 2. 7						
	C . V .	4. 7			P r o m .	1 3 5 . 3		

Tabla 8: Análisis de varianza para la obtención de biomasa microalgal
Fuente: Elaboración propia

Como se puede apreciar en el cuadro 9, los resultados de la prueba de DUNCAN nos indican que entre los tratamientos a base de *C. vulgaris* y *T. striata* con promedios de 146.1 y 139.2 g de biomasa no presentan diferencia estadística, sin embargo, estos dos tratamientos con respecto a *N. oculata* difieren estadísticamente.

NÚME RO	TRATAMIE NTO	PROME DIO	SIGNIFICAN CIA
1	<i>C. vulgaris</i>	146.1	a
2	<i>T. striata</i>	139.2	a
3	<i>N. oculata</i>	120.6	b

Tabla 9: Prueba de Duncan para la obtención de biomasa microalgal
Fuente: Elaboración propia

ESPECIE CULTIVADA	BIOMASA (g)	BIOMASA (g)	BIOMASA (g)	PROMEDIO DE BIOMASA (g)
<i>C. vulgaris</i>	148.02	146.08	144.13	146.08
<i>T. striata</i>	144.71	132.13	140.67	139.17
<i>N. oculata</i>	122.52	110.92	128.33	120.59

Tabla 10: Cantidad de biomasa (g) producida por especie de microalga agregar una columna con la concentración a la que se ha cosechado
R1: repetición 1, R2: repetición 2, R3: repetición.
Elaboración propia.

En el proceso se observó que la biomasa promedio obtenida para la especie *Chlorella vulgaris* fue de 146.08 g; para *Tetraselmis striata* de 139.17 g y para *Nannochloropsis oculata* de 120.59 g. de biomasa microalgal, deduciéndose que la especie que rinde mayor cantidad de biomasa es la microalga *Chlorella vulgaris* y la que rinde menor cantidad de biomasa es la especie de microalga *Nannochloropsis oculata* y siendo que este último resultado es contraproducente por cuanto en un inicio se esperaba que la microalga, *Nannochloropsis. oculata*, rindiera mayor cantidad de biomasa debido a las elevadas concentraciones celulares que presentó en las diferentes fases de cultivos (fase inicial, intermedia y masiva) de la investigación. Sin embargo, no ha sido así, quedando demostrado que la microalga *Chlorella vulgaris* tiene mayor rendimiento en biomasa microalgal llegando en promedio hasta 146.08 g, tal como se muestra en el (tabla 11).

ESPECIE CULTIVADA	PROMEDIO DE BIOMASA (g)
<i>C. vulgaris</i>	146.08
<i>T. striata</i>	139.17
<i>N. oculata</i>	120.59

Tabla 11: Promedio biomasa (g) por especie
Elaboración propia.

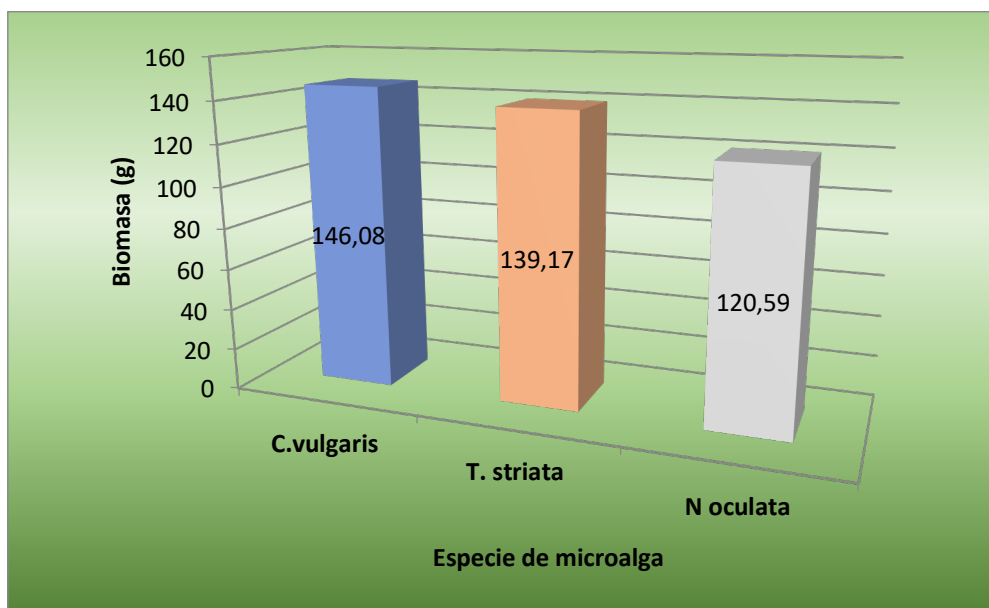


Figura 12: Promedio biomasa (g) producida por especie de microalga
Elaboración propia.

Relación biomasa microalgal y concentración celular

Es necesario desarrollar la relación inversa que existe entre la biomasa microalgal (g) y la concentración celular (cel/mL), para explicar la mayor productividad en biomasa 146.08 g, que presentó la especie *Chlorella vulgaris*, no obstante, que en las fases de cultivo tuvo menor concentración celular en comparación con las otras cepas cultivadas en las mismas condiciones. En razón de ello en el (cuadro 12) se compara la relación indicada, observándose que existe una relación inversa entre la biomasa y la concentración celular, es decir a mayor concentración celular menor es la productividad en biomasa. Produciendo mayor cantidad de biomasa la especie *Chlorella vulgaris*, por lo que esta especie puede ser una microalga con potencial para la producción de biodiesel.

ESPECIE CULTIVADA	BIOMASA (g)	CONCENTRACIÓN CELULAR (cel./mL)
<i>Chlorella vulgaris</i>	146.08	1,025,000.00
<i>Tetraselmis striata</i>	139.17	791,666.67
<i>Nannochloropsis oculata</i>	120.59	51,250,000.00

Tabla 12: Cantidad de biomasa producida (g) en relación a la concentración celular (cel/mL)

Fuente: Elaboración propia

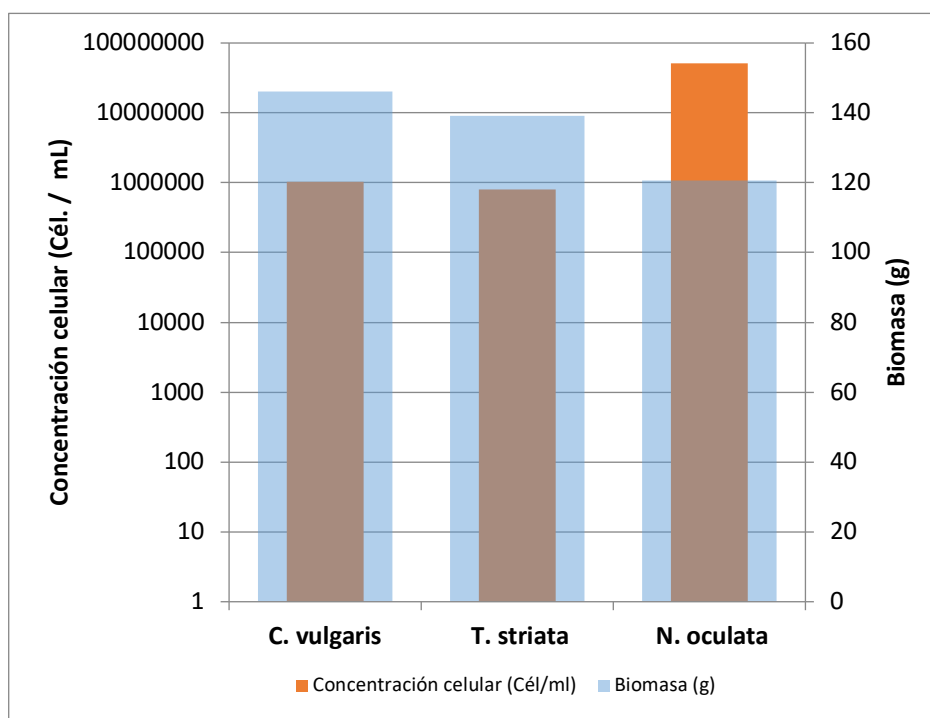


Figura 13: Promedio biomasa (g) producida por especie de microalga
Elaboración propia.

La (figura 13) muestra la relación inversa que existe entre el crecimiento celular (concentración celular) y la producción de biomasa y muestra que, la especie *Chlorella vulgaris* produjo mayor rendimiento en biomasa, 146.08 g, en comparación a las otras especies de microalgas.

Determinación del perfil lipídico de microalgas

La biomasa liofilizada de las tres especies de microalgas, permitió obtener la cantidad de ácidos grasos de cada especie, los resultados mostraron que la especie *Chlorella vulgaris* presentó la más alta cantidad de ácidos grasos saturados palmítico y oleico llegando a 30.48% y 35.29% respectivamente, requeridos para mejorar las propiedades del biocombustible según Brennan & Owende (2010); la especie *Nannochloropsis oculata* mostró porcentajes menores de ácidos grasos saturados llegando el ácido palmítico llegando 33.20% y el oleico 9.11%; mientras que *Tetraselmis striata*, mostró porcentajes más bajos para ácido palmítico 0.00%, para ácido oleico 5.14% y abundancia del ácido linolénico llegando a 24.85%, el ácido graso linolénico es el que más instauraciones contiene, disminuyendo la estabilidad para la oxidación del biodiesel, por lo que no es recomendable para su producción. Tejada, Henao, Alvear, & Castillo, (2015), tal como se muestra en el cuadro siguiente:

Tipo de ácido graso (%)	N. oculata	C. vulgaris	T. striata
Palmitic Acid ME (C 16:0)	33.20	30.48	0.00
Stearic Acid (octadecanoico) ME(C18:0)	2.02	0.80	0.00
Oleic Acid ME(C18:1n9c)	9.11	35.29	5.14
Linoleic Acid ME(C18:2n6c) omega 6	4.45	9.63	0.00
Linolenic Acid ME(C18:3n3) omega 3	3.44	18.18	24.85

Tabla 13: Composición de ácidos grasos micro algales

En cuadro 13, se muestra la composición de ácidos grasos de las especies estudiadas, en el mismo, se puede observar que las especies de microalgas *Nannocloropsis oculata* y *Chlorella vulgaris* presenta mayor cantidad de ácidos grasos saturados (palmítico, y oleico), que son los requeridos para la producción de biodiesel, según Brennan & Owende (2010) quienes menciona que los porcentajes mayores de ácido palmítico, ácidos grasos saturados mejoran las propiedades de poder calorífico, y estabilidad oxidativa del biocombustible. Además, se puede observar que, entre las dos especies de microalgas, *Chlorella vulgaris* presenta mayor contenido de ácidos grasos saturados 65.77%, en comparación con *Nannocloropsis oculata* que alcanza 42.31%. Por lo que, *Chlorella vulgaris* presenta mayores ventajas para la producción de biodiesel.

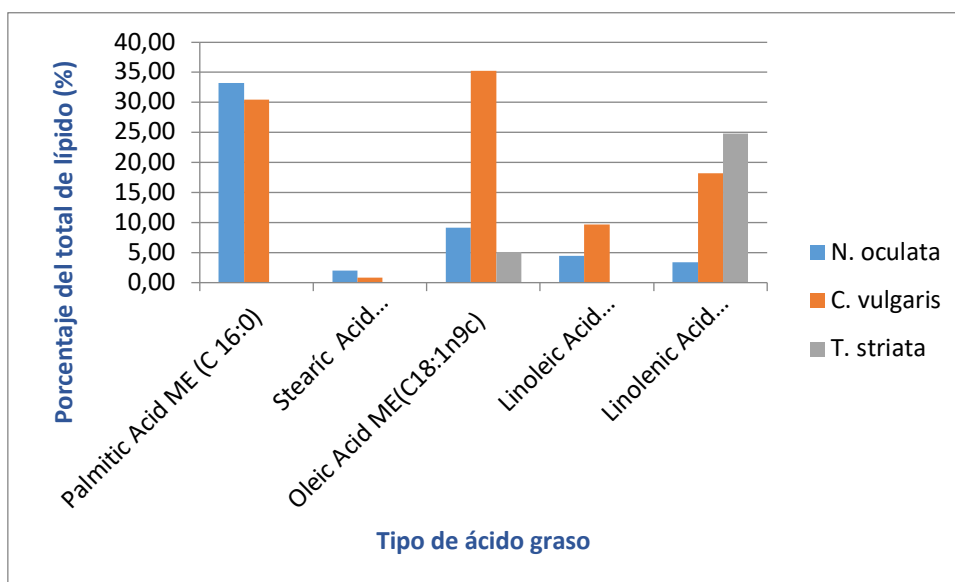


Figura 14: Perfil de ácidos grasos

Fuente: Elaboración propia

En la Fig. 14 se muestran los resultados del análisis de perfil lipídico por tipo de ácido graso, y se observa que la microalga *Chlorella vulgaris* presentó mayor contenido de ácidos grasos insaturados. Esta diferencia, junto con la mayor cantidad de biomasa obtenida por la *Chlorella vulgaris*, favorece la selección de esta especie para la producción de biodiésel.

Análisis estadístico

Los datos registrados fueron procesados en hojas de cálculo Excel para analizar las concentraciones, parámetros de crecimiento y factores abióticos en una base de datos para los análisis posteriores. Para comparar las concentraciones celulares, parámetros poblacionales y porcentajes de lípidos totales y perfil lipídico según las microalgas utilizadas se aplicó un Análisis de Varianza de una Vía (ANOVA, $p=0,05$) y, previa comprobación de la normalidad de los datos y homocedasticidad de sus varianzas y posteriormente se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey y Duncan dependiendo del coeficiente de variabilidad.

Conclusión

Se ha logrado el cultivo, producción y escalamiento de inóculos de microalgas hasta el cultivo masivo, en las condiciones de cultivo, promedio, siguientes: en la fase inicial e intermedia con fotoperiodo de 16:08, con una intensidad de luz de 3000 lux, temperatura ambiente 21 °C, temperatura de cultivo de 19.99 °C, pH de 8.7, oxígeno de 8.125 mg/L, salinidad de 33.0 ups, en promedio; y en la fase masiva con fotoperiodo 16:08, con una intensidad de luz de 3800 lux, temperatura ambiente 24 °C, temperatura de cultivo de 20.5 °C, pH de 9.5, oxígeno de 7.8 mg/L, salinidad de 33.1 ups.

Se observó que la máxima concentración celular fue alcanzada por la cepa *Nannochloropsis oculata* con un promedio de 8.41×10^7 cel/ml al cuarto día de cultivo, presentando diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%, con respecto a las especies de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Tetraselmis striata* que lograron concentraciones celulares, más bajas, de 3.44×10^6 y 3.44×10^6 respectivamente.

Se observó que la biomasa promedio obtenida para *Chlorella vulgaris* fue de 146.08 g; mayor que la biomasa alcanzada por las otras especies *Tetraselmis striata* y *Nannochloropsis oculata* con 139.17 g 120.59 g. de biomasa microalgal respectivamente. También se observó que existe una relación inversa entre la biomasa y la concentración celular. Produciendo mayor cantidad de biomasa la especie *Chlorella vulgaris*, por lo que esta especie puede ser una microalga con potencial para la producción de biodiesel.

La caracterización del perfil lipídico muestra que microalga *Chlorella vulgaris* presentó mayor contenido de ácido de ácidos grasos insaturados. Esta diferencia, junto con la mayor cantidad de biomasa obtenida por la *Chlorella vulgaris*, favorece la selección de esta especie para la producción de biodiésel.

Referencias Bibliograficas

Andersen R. 2005. Algal Culturing Techniques. Counting Cells in Culture with the Light Microscope. 239-252.

Aldave Pajares, Augusto. Algas Editorial: Libertad. 1ª ed. [s.l.] 382 p. 1989.

Alvear, M. et. al. 2011. Evaluación del pH y concentración de nitrógeno en el cultivo de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella nativa* como fuente de aceite vegetal para la producción de biodiesel. Universidad de Cartagena. Cartagena de Indias.

Amaro, H. M., Guedes, A. C. y Malcata, F. X. 2011. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy* 88(10): 3402–3410.

Antia, N. 3. & Cheng, J. Y. 1982. The keto-carotenoids of two marine coccoid members of the Eustigmatophyceae — *Br. phycol.* 3., 17: 39-50.

Arora, M, et al. 2015. Asymmetric cell division and its role in cell fate determination in the green alga *Tetraselmis indica* *Journal of Biosciences*, vol 40, no. 5, pp. 921-927

Balat, M. y Balat, H. 2010. Progress in biodiesel processing. *Applied Energy.* 87(6): 1815-1835.

Benemann J. 1992. Microalgae aquaculture feeds. *Journal of Applied Phycology* 4: 233-245.

9. Bioplan, 2010. Energía de las Algas, Presente y Futuro. Ministerio de Ciencia e Innovación. Gobierno de España.

Brennan, L. y Owende P. (2010). “Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and coproducts”. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557-577.

Casas G., Rodríguez D. y Afanador G. 2010. Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz y su aplicación al crecimiento de los cerdos. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, vol. 23, núm. 3, julio/septiembre, 2010, pp. 349-358.

Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol.* 26:126-131.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances.* 25(3): 294-306.

Chisti, Y. 2011. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology.* 26(3): 126-131. Chi

Cobos, M., Castro, J. C., & Cerdeira, L. A. (2014). Potencial Biotecnológico Para La Producción Sustentable De Biotechnological Potential for Sustainable Biodiesel Production of Oleaginous Microalgae Isolated From Itaya, 13(2).

Comisión Nacional para el Ahorro de Energía. (CONUEE). (2014). España se gasta 120 millones de euros cada día en importar combustibles fósiles. Recuperado de <https://www.gob.mx/conuee/prensa/notas-seleccionadas-del-dia-17-de-diciembre-de-2014>.

Dammert, J. 2009. Cuestión de Perspectiva. Conciliando visiones de Conservación y Desarrollo. *Biocombustibles en el Perú: Elementos en juego.* Sociedad Peruana de Derecho Ambiental (SPDA).

Demirbas, A. 2009. Political, economic and environmental impacts of biofuels. A review. 86(2009) S 108- S 117

Fernández-Linares, L. C., Montiel-Montoya, J., Millán-Oropeza, A., & Badillo-Corona, J. A. (2012). Producción de biocombustible a partir de microalgas.

Garibay Hernández Adriana et al. 2009 “Biodiesel a Partir de Microalgas Instituto de Biotecnología”. En: Principios y Aplicaciones de Biotecnología Microalgal, Universidad Nacional Autónoma de México.

Garibay, A., R. Vázquez, M. Sánchez, L. Serrano, A. Martínez. 2012. Biodiesel a partir de microalgas. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Biotecnología. Vol. 13 No. 3.

Garibay, A., Vázquez, R., Sánchez, P., Serrano, L., & Martínez, A. (2009). Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología*, 13(3), 38–61. Retrieved from <http://scholar.google.com>.

Hibberd, D.J. 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym Xanthophyceae). *Journal of the Linnean Society of London, Botany* 82: 93-119, 17 figs, 1 table.

Liza Sal y Rosas, C. R. M. (2015). Efecto de dietas con tres microalgas bentónicas en el crecimiento y supervivencia post larval del *loxechinus albus*, Erizo Verde. Universidad Nacional de Moquegua. Recuperado de <http://repositorio.unam.edu.pe/handle/UNAM/39>

Mercedes A. et al. 2012. Molecular characterization of microalgae used in aquaculture with biotechnology potential. *Aquacult. Inter.* 20: 847-857.

Moheimani N., Borowitzka M., Isdepsky A. y Fon A. 2013. Standard
Moronta R, Mora R. y Morales E. 2006. “Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas” *Venezuela Rev. Fac. Agronomía*.

Muller A. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology* 12: 527-534.

Norris, R.E, et al. 1980. Revision of the Genus *Tetraselmis* (Class Prasinophyceae). *Bot. Mag. Tokyo.* 93: 317-339

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. (2006). "Cultivo de bivalvos en criadero". Recuperado de <http://www.fao.org/docrep>

Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussnug, J. H., Posten, C., y otros. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Resource*. 1: 20-43.

Serrano, L. 2012. Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel. Universidad Nacional de Colombia.

Sukenik Assaf, Y. C. T. B. 1989. "Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp". *Journal of Phycology*. 25 (4): 686–692.

Tejada Benítez, L., Henao Argumedo, D., Alvear Alayón, M., & Castillo Sanldarriaga, C. R. . (2015). Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas. *Facultad de Ingeniería*, 24(39), 43–54. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5170930>

Uribe E. 1992. Cultivo de Microalgas. 5º Curso Internacional de Cultivo de Moluscos. AGCI-JICA-UCN. Coquimbo. Chile. 19 octubre. 13 noviembre. Pp 39-81.

Velázquez Martí, B. (2006). Situación de los sistemas de aprovechamiento de los residuos forestales para su utilización energética. *Revista Ecosistemas*, 15(1). doi:10.7818/re.2014.15-1.00.

Zevallos, S. A. (2010). Tecnología de Cultivo de Microalgas como Alimento de Moluscos. Recuperado de [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/M%C3%B3dulo%20Microalgas%20%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/M%C3%B3dulo%20Microalgas%20%20(2).pdf).



Sheda Méndez Ancca
Universidad Nacional de Moquegua – Filial de Ilo
<https://orcid.org/0000-0002-3797-1316>
smendeza@gmail.com

Investigadora RENACYT – CONCYTEC, Docente de la Universidad Nacional de Moquegua. Doctora en Ciencia Tecnología y Medio Ambiente, Magister Scientiae en Economía con mención en Proyectos de Inversión. Título profesional de Ingeniero Pesquero y abogada. Estudios de Maestría en Acuicultura con mención en cultivo de Recursos Hidrobiológicos en la Universidad Arturo Prat de Chile. Gestora de Proyectos de Inversión e Investigación, Planes de Negocios, capacitación y Transferencia Tecnológica.



Hebert Hernan Soto Gonzales
Universidad Nacional de Moquegua – Filial de Ilo
<https://orcid.org/0000-0002-9936-1943>
Scopus Author ID: [57193057765](https://orcid.org/0000-0002-9936-1943)
hsotog@unam.edu.pe

Biólogo, docente investigador de la Universidad Nacional de Moquegua, Investigador RENACYT, realiza investigaciones en biotecnología ambiental en colaboración con la Universidad de São Paulo, EMBRAPA y Universidad Federal do Mato Grosso do Sul - Brasil, realizó estudios de doctorado en Biotecnología en la Universidad de São Paulo, becado obtenida CAPES y CNPq do Brasil, Tiene estudios postdoctorales 05 años en la Empresa Brasileña de Pesquisa Agropecuaria, área de biotecnología del Trigo, fue Investigador visitante de la Universidad Federal de Roraima – Brasil.



Marco Alexis Vera Zúñiga
Universidad Nacional del Altiplano – Puno
<https://orcid.org/0000-0002-2014-2845>
mavera@unap.edu.pe

Ingeniero Agrónomo egresado de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, Magister Scientiae en Tecnologías de Protección Ambiental. Estudios concluidos en doctorado en Ciencias Ambientales. Docente de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno. Experiencia en ejecución de proyectos productivos, estudios ambientales y, en gestión de residuos sólidos. Académico e Investigador.



Víctor Yana Mamani
Universidad Nacional de Moquegua
<https://orcid.org/0000-0003-0982-2353>
vyanam@unam.edu.pe

Ingeniero de Sistemas egresado de la Universidad Nacional del Altiplano, Magister Scientiae en Gestión Empresarial de la Escuela de Posgrado - Universidad Nacional del Altiplano. Estudios concluidos de Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, y Doctorado en Ingeniería de Sistemas. Docente de la Universidad Nacional de Moquegua, ponente en congresos internacionales, publicación de artículos en revistas indizadas, asesor de tesis de pregrado y posgrado. Profesional proactivo, trabajo en equipo y bajo presión.

ISBN: 978-9942-7049-6-2

