

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



“Efecto de tres concentraciones del extracto acuoso de residuos de *Manihot esculenta* “yuca” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio”

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

AUTORES:

Bach. Cam Zavaleta Pablo Cesar

Bach. Bach. Mostacero Ramírez Franklin Percy

ASESOR:

M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza

Nuevo Chimbote – Perú

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD CIENCIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



“Efecto de tres concentraciones del extracto acuoso de residuos de *Manihot esculenta* “yuca” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio”

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

AUTORES:

Bach. Cam Zavaleta Pablo Cesar

Bach. Bach. Mostacero Ramírez Franklin Percy

REVISADO Y APROBADO POR EL ASESOR DE TESIS:

M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD CIENCIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



“Efecto de tres concentraciones del extracto acuoso de residuos de *Manihot esculenta* “yuca” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio”

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

AUTORES:

Bach. Cam Zavaleta Pablo Cesar

Bach. Bach. Mostacero Ramírez Franklin Percy

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

Dr. Juan Fernando Merino Moya
Presidente

M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza
Integrante del Jurado

M.Sc. Miriam Velasquez Guarniz
Integrante del Jurado

ACTA DE CALIFICACION DE LA SUSTENTACION DE LA TESIS

RECIBO DIGITAL TURNITIN

INFORME DE ORIGINALIDAD

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios,
por haberme dado la vida y permitirme llegar
hasta este momento tan importante de mi
formación profesional.

A mis padres, por ser el pilar más
importante y por demostrarme
siempre su cariño y apoyo
incondicional.

Pablo Cam Zavaleta

Al creador de todas las cosas, el que me
ha dado fortaleza para continuar cuando
a punto de caer he estado; por ello, con
toda la humildad que de mi corazón puede
emanar, dedico mi trabajo a Dios.

A mis padres, por ser las personas
que me han acompañado durante
todo mi trayecto estudiantil y han
estado en mis momentos difíciles, lo
cual me han enseñado a valorarlos
cada día más.

Franklin Mostacero Ramírez

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional del Santa por permitirnos ser parte de ella y brindarnos la preparación necesaria para el desarrollo de nuestra carrera.

A todos nuestros profesores de la Escuela Profesional de Biología en Acuicultura, por sus valiosas contribuciones en nuestra formación profesional, brindado conocimientos y experiencias para nuestro buen desenvolvimiento.

A nuestra asesora por el tiempo brindado y los conocimientos transmitidos para que este trabajo culmine de manera exitosa.

ÍNDICE

RESUMEN	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	Error!
Bookmark not defined.	
I. INTRODUCCION	12
II. HIPÓTESIS	15
III. OBJETIVOS	Error! Bookmark not defined.5
3.1. Objetivo General	Error! Bookmark not defined.5
3.2. Objetivos específicos	Error! Bookmark not defined.5
II. MATERIALES Y MÉTODOS	Error! Bookmark not defined.6
2.1. Localizacion del experimento	Error! Bookmark not defined.
2.2. Material experimental	Error! Bookmark not defined.
2.3. Preparacion de los medios de cultivo	17
2.4. Determinacion del crecimiento poblacional	19
2.5. Determinacion de Biomasa	20
2.6. Determinacion de concentracion de lipidos totales	21
2.7. Diseño experimental	23
2.8. Acondicionamiento de las unidades experimentales	23
2.9. Analisis estadistico	24
III. RESULTADOS	Error! Bookmark not defined.
IV. DISCUSION	Error! Bookmark not defined.
V. CONCLUSIONES	Error! Bookmark not defined.
VI. RECOMENDACIONES	Error! Bookmark not defined.6
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Error! Bookmark not defined.
VII. ANEXOS	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Flujograma del proceso de preparación de la solución patrón del extracto de residuos de <i>M. esculenta</i> (Martín & López, 2009).	18
Fig. 2. Flujograma para determinar el contenido de lípidos de <i>S. acutus</i> en los cultivados con EAM y grupo control HM.	22
Fig. 3. Distribución de las unidades experimentales en los cultivos microalgales de <i>S. acutus</i>	24
Fig. 4. Variación de la temperatura (°C) en los cultivos de <i>S. acutus</i> con EAM y control (HM).....	25
Fig. 5. Variación del pH promedio de los cultivos de <i>S. acutus</i> con EAM y control (HM).....	26
Fig. 6. Variación del crecimiento poblacional de <i>S. acutus</i> cultivados con EAM y grupo control (HM).....	28
Fig. 7. Contenido de lípidos como porcentaje de <i>S. acutus</i> en los tratamientos con EAM y control (HM).....	30
Fig. 8. Contenido de lípidos como biomasa de <i>S. acutus</i> en los tratamientos con EAM y control (HM).....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición Química del medio HM.	17
Tabla 2: Análisis químico del extracto del subproducto de <i>M. esculenta</i> (EAM).....	19
Tabla 3. Diseño experimental de los tratamientos dosificados con diferentes concentraciones en el cultivo de <i>S. acutus</i>	23
Tabla 4. Densidad Poblacional ($\times 10^6$ cél. mL ⁻¹) de <i>S. acutus</i> en los cultivos con EAM y grupo control (HM).....	27
Tabla 5. Tasa de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (TD).....	29
Tabla 6. Contenido de lípidos como porcentaje (%) y biomasa (mg L ⁻¹) en el sexto día de cultivo de <i>S. acutus</i> en los tratamientos con EAM y control (HM).....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 1.....	40
Anexo 2. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 2.....	41
Anexo 3. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 3.....	42
Anexo 4. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 4.....	43
Anexo 5. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 5.....	44
Anexo 6. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 6.....	45
Anexo 7. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 7.....	46
Anexo 8. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento en el día 6.	47
Anexo 9. Temperatura (°C) en los cultivos de <i>S. acutus</i> con EAM y grupo control (HM).....	48
Anexo 10. Valores de pH en los cultivos de <i>S. acutus</i> con EAM y grupo control (HM).....	49
Anexo 11. Resultados del análisis de almidón, humedad, proteína, calcio y fosforo al extracto acuoso de yuca (EAM)	50

RESUMEN

El siguiente estudio tuvo la finalidad de evaluar el efecto de diferentes concentraciones del extracto de *Manihot esculenta* “yuca” (EAM), en el crecimiento y el contenido de lípidos de la microalga *Scenedesmus acutus*, bajo condiciones de laboratorio, las concentraciones fueron de 2.5, 5.0 y 7.5 g L⁻¹ del EAM. Los resultados mostraron crecimiento exponencial. El tratamiento con mayor crecimiento poblacional fue el tratamiento con 5.0 g L⁻¹ de EAM (25,88 x10⁶ cél. mL⁻¹), y el menor crecimiento se obtuvo con 2.5 mL L⁻¹ de EAM (12,71 x10⁶ cél. mL⁻¹). Asimismo, la mayor producción de lípidos en *S. acutus* al sexto día de cultivo se obtuvo con 2.5 g L⁻¹ (25,89 %) de EAM. Estos resultados sugieren el uso de EAM para la producción masiva de *S. acutus* ya que este es un medio alternativo de fácil elaboración y bajo costo.

Palabras Clave: Microalga, *Scenedesmus acutus*, crecimiento poblacional, lípidos.

ABSTRACT

The following study was aimed at evaluating the effect of different concentrations of *Manihot esculenta* extract “cassava” (EAM), on the growth and lipid content of the *Scenedesmus acutus* microalgae, under laboratory conditions, the concentrations were 2.5, 5.0 and 7.5 g L⁻¹ of the EAM. The results showed exponential growth. The treatment with the highest population growth was the treatment with 5.0 g L⁻¹ of EAM (25.88 x10⁶ cell. mL⁻¹), and the lowest growth was obtained with 2.5 mL L⁻¹ of EAM (12.71 x10⁶ cell. mL⁻¹). Likewise, the highest lipid production in *S. acutus* on the sixth day of culture was obtained with 2.5 g L⁻¹ (25.89%) of EAM.

These results will follow the use of EAM for the mass production of *S. acutus* since this is an alternative means of easy elaboration and low cost.

These results will follow the use of EAM for the mass production of *S. acutus* since this is an alternative means of easy elaboration and low cost.

Keywords: Microalga, *Scenedesmus acutus*, population growth, lipids.

I. INTRODUCCION

Las microalgas son consideradas como alimentos capaces de mejorar la salud de animales y humanos, ya que contienen cantidades apreciables de proteínas, vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados (Quevedo, *et al.*, 2008), asimismo, son catalogadas como microorganismos con alto potencial de uso en la industria, por su capacidad de acumular altas concentraciones de lípidos (Córdova, 2012).

El cultivo de estos microorganismos fotosintéticos requiere el control de diferentes parámetros ambientales como luz, temperatura, CO₂, pH, fotoperiodo y nutrientes, para producir lípidos, proteínas y carbohidratos (Becker, 2004), además, son capaces de sintetizar ácidos grasos que sirven para la síntesis de lípidos polares, lípidos neutrales, ceras, esteroides, fosfolípidos, glicolípidos, carotenoides, terpenos, tocoferoles, quinonas; los cuales varían dependiendo de la especie de la microalga (Hu *et al.*, 2008).

Las microalgas tienen ventajas como mayor eficiencia fotosintética en periodos cortos de cultivo durante todo el año, además su contenido lipídico que puede ser controlado en función de las condiciones de cultivo, y adicionalmente ofrece la ventaja de obtener subproductos (biopolímeros, pigmentos, antioxidantes y fármacos) (Hu, *et al.*, 2008; Rodolfi *et al.*, 2009).

Una de las dificultades asociadas a la producción de lípidos a partir del cultivo de microalgas es la identificación de especies capaces de producir altas cantidades de lípidos. Según Montero *et al.* (2012), se han identificado algunas microalgas para ser cultivadas con fines para producción de lípidos en gran escala, las especies que destacan son *Nannochloropsis sp.*; *Botryococcus braunii*; *Scenedesmus sp.*; *Neochloris oleabundans*; *Parietochloris incisa* y *Chlorella sp.* (Córdova, 2012; Miao & Wu, 2006; Widjaja, *et al.*, 2009; Rodolfi *et al.* 2009).

La producción de lípidos a partir de microalgas, requiere el desarrollo de estrategias y medios de cultivos que permitan incrementar el contenido de lípidos en las células y su productividad (Córdova, 2012).

Hay una gran variedad de microalgas que tienen la capacidad para crecer exitosamente en diferentes medios, capaces de metabolizar fuentes nitrogenadas orgánicas e inorgánicas de diferentes procedencias tales como aguas residuales, materiales de desecho (Paniagua *et al.*, 1989). Dentro de esta variedad, la microalga *Scenedesmus acutus*, que pertenece a la División Chlorophyta, Clase Chlorophyceae, Orden Chlorococcales, Familia Scenedesmaceae, habita ríos, lagos, lagunas, formando colonias llamadas cenobios (Garibay, 2009). También se caracteriza por tolerar concentraciones altas de nutrientes presentes en aguas residuales, además de poseer una alta actividad metabólica ayudando a resistir altas variaciones en condiciones ambientales y soportar condiciones extremas (Andrade, 2009; Garibay, 2009).

Se han desarrollado medios para cultivar microalgas que van desde el enriquecimiento del agua de mar hasta la utilización de medios sintéticos totalmente conocidos en su composición; por lo que un medio de cultivo adecuado debe ser la primera y más importante actividad a desarrollarse para que se realice de manera óptima (Paniagua, 1989). Actualmente, la producción de biomasa utiliza medios de cultivo sintéticos que incrementan sustancialmente el valor económico de dicha actividad (González, 2011). Los medios de cultivo orgánico para las microalgas son baratos y fáciles de obtener, por proceder frecuentemente de procesos que usan materia prima orgánica (pescadería, agrícola, avícola, etc.), permitiendo la doble ventaja: reducir los costos en la producción y mitigar la contaminación de los ambientes acuáticos y terrestres (Sánchez, *et al.* 2008).

Las microalgas se proveedoras de compuestos de alto valor nutricional y de interés comercial. De manera muy general la microalgas poseen de 30 a 45 % proteínas, el contenido de lípidos oscilan entre 10 y 20 %, en cuanto a los carbohidratos se tiene valores de 10 a 25% en su composición bioquímica proximal. Representan una muy buena fuente de vitaminas, dado su elevado contenido de vitamina C, niacina, riboflavina, tiamina, ácido pantoténico, cianocobalamina, piridoxina y biotina, pudiendo variar su contenido debido a los factores externos de cultivo (Cañavate, 2011). Por otro lado, la relación entre la productividad y el contenido de lípidos se encuentra inversamente relacionados debido al elevado costo metabólico para la biosíntesis de lípidos (Montero *et al.*, 2012).

Según Torres (2010), la “yuca” es una fanerógama superior que pertenece a la clase Dicotyledoneae, subclase Archichlamydeae, orden Euphorbiales, familia Euphorbiaceae y tubérculos, y compuesta mayormente de carbohidratos (aproximadamente 85%) y considerables cantidades de calcio, vitamina C, tiamina, riboflavina y niacina (Morillo, 2009). De acuerdo a los cálculos realizados por Cartay (2004), 100 gramos de yuca aportan 148 kilocalorías; 61.6 gramos de humedad; 1.1 gramos de proteína; 0.2 gramos de grasa; 35.5 gramos de glúcidos; 1 gramo de fibra; 0.6 gramos de ceniza; 29 miligramos de calcio; 53 miligramos de fosforo; 0.7 miligramos de hierro; 0.06 miligramos de tiamina; 0.03 miligramos de riboflavina; 0.6 miligramos de niacina; 35 miligramos de ácido ascórbico. Considerando la presencia de residuos de yuca, el presente trabajo se pretende darle valor económico mediante el cultivo de la microalga *S. acutus*.

La *Manihot* “yuca”, es una de las plantas principales cultivadas en la Amazonia, que es utilizado en la alimentación humana y en la industria de alcoholes y gomas, con un alto contenido de hidrato de carbono, molécula orgánica que aporta mucha energía(Ospina,2002).

Considerando los desechos que se generan del procesamiento del tubérculo y el gran contenido de carbohidrato 120 kilocalorías por cada 100 gramos, y la habilidad de las microalgas de utilizarlas como fuente de carbono orgánico posibilita la producción barata de biomasa algal. Otros medios de cultivos microalgal también pueden elaborarse a partir de los subproductos de las industrias avícolas, pesqueras o acuícolas (Hernández *et al.*, 2003). El almidón de *M. esculenta*, por su contenido de carbono orgánico, puede utilizarse en el cultivo de microalgas de nutrición heterotrófica como *Scenedesmus* para la generación de biomasa y pigmentos a bajo costo, debido a la gran disponibilidad como residuos en los centros de procesamiento (Chuzel, 1989).

La extracción del almidón de yuca consiste fundamentalmente en romper las paredes celulares para liberar los gránulos de almidón, la adición de agua y filtración sirven para separar las partículas de almidón suspendidas en el medio líquido de las fibras vegetales (Alarcón & Dufour, 1989), El almidón es fructuoso al calor para su sacarificación y se procede a la aplicación de calor de obtener glucosa para ser utilizada en los cultivos

algales como portador de carbono orgánico. Debido a la escasa investigación sobre el extracto acuoso de yuca como medio de cultivo.

En tal sentido, en el presente trabajo de tesis se planteó el siguiente problema de investigación: ¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de residuos de *M. esculenta* “yuca”, como medio de cultivo, sobre crecimiento poblacional y producción de lípidos totales de *S. acutus*?

HIPÓTESIS

Si empleamos diferentes concentraciones (2.5, 5.0 y 7.5 g L⁻¹) de extracto acuoso de yuca (EAM) como medio de cultivo de *S. acutus*, se obtendrá mayor crecimiento poblacional y producción de lípidos totales con la concentración de 5.0 g L⁻¹.

OBJETIVOS

- **Objetivo General**

Evaluar el efecto de tres diferentes concentraciones de extracto acuoso de residuos de *M. esculenta* “yuca” en el crecimiento poblacional y producción de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio.

- **Objetivos específicos**

Determinar el efecto de tres diferentes concentraciones (2.5; 5.0 y 7.5 g L⁻¹) del extracto acuoso de residuos de *M. esculenta* “yuca” en el crecimiento poblacional (cel. ml⁻¹) de *S. acutus*, en condiciones de laboratorio.

Determinar el efecto de tres diferentes concentraciones (2.5; 5.0 y 7.5 g L⁻¹) del extracto acuoso de residuos de *M. esculenta* “yuca” en el contenido de lípidos totales (%) de *S. acutus*, en condiciones de laboratorio.

II. MATERIALES Y METODOS

2.1 LOCALIZACION DEL EXPERIMENTO

El experimento fue desarrollado en el laboratorio de Recursos Acuáticos de Especies Auxiliares de la Escuela Profesional de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa.

2.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

2.2.1 Material Biológico

La microalga *S. acutus* que se utilizó se mantuvo en condiciones de laboratorio con iluminación y aireación constante. Inicialmente los cultivos de *S. acutus* se mantuvieron con medio HM (Merino, 2007) en un matraz de vidrio de 500 mL, para luego ser transferidos, para realizar el escalamiento, a botellas de plástico de 3 L con 2 L de volumen efectivo de cultivo.

El inóculo a utilizar en cada unidad experimental estuvo en la proporción de 1:10, es decir, cada unidad experimental se adicionó 200 mL de inóculo. Los cultivos microalgales que se utilizaron, estuvieron en la fase de crecimiento exponencial; y los cultivos experimentales se iniciaron con una concentración promedio de $1,0 \times 10^6$ cél.mL⁻¹.

Todos los cultivos experimentales estuvieron iluminados continuamente con fluorescentes de luz blanca de 40w (2000 lux), la luz fue medida con un luxómetro digital Hanna ($\pm 0,1$ lux) los cultivos se agitaron constantemente con aire proveniente de un blower de $\frac{1}{4}$ HP.

2.2.2 Tratamiento de agua de cultivo

El agua utilizada para los cultivos fue tomada del sistema de abastecimiento de agua potable de Seda Chimbote, siendo almacenada en un bidón de plástico de 18 litros de capacidad, agregándose 1 ml. L⁻¹ de hipoclorito de sodio (4 %) dejándolo

actuar. Transcurrido 12 horas se neutralizó con 1 ml. L⁻¹ de tiosulfato de sodio (15%), seguido fue aireado vigorosamente para eliminar el cloro residual u otro gas nocivo producido (Araya, *et al.* 2010).

2.3. PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

2.3.1. Medio de cultivo HM

El medio de cultivo HM (control) está compuesto por sustancias inorgánicas (Merino, 1999) y agua potable. Se preparó soluciones stock de cada nutriente (Tabla 1) que fue llevada a autoclave para su esterilización a 121 ° C por 15 min, se enfrió y se mantuvo refrigerada a 5 °C en frascos oscuros.

Tabla 1. Composición química del medio HM.

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN (mg L ⁻¹)
Urea	206,0
H ₃ PO ₄	35,0
KCl	19,0
FeCl ₃	2,5

Fuente: Merino, 1999

2.3.2 Medio extracto acuoso de *M. esculenta* (EAM)

Para la preparación del medio EAM primero se realizó el lavado, pelado y rayado de 70g. de yuca resultando 50g. de producto del rayado, el cual tuvo que ser exprimido manualmente con la ayuda de una malla de nylon obteniendo 40 ml de extracto, luego se aforo con agua a 100ml. Esta solución fue llevada a cocción por un periodo de 5 minutos y aforado con agua destilada a 100ml. La concentración final del yuca fue de 0.7 g L⁻¹ (fig. 1). Finalmente, el sobrenadante de coloración blanquecina obtenido se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta su uso como medio de cultivo para *S. acutus*

Adicionalmente, se tomó una muestra de 100 mL del medio experimental, EAM, para analizarla en un laboratorio certificado y acreditado, COLECBI, y determinar sus características químicas. Los resultados de estos análisis se detallan en el anexo 11.

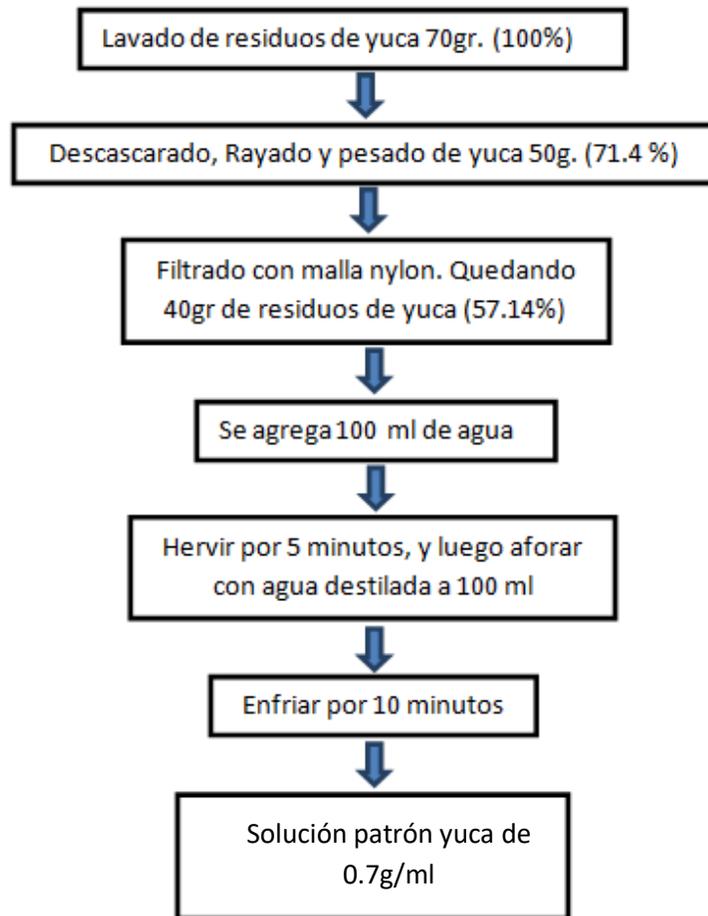


Fig. 1. Flujograma del proceso de preparación de la solución patrón del extracto de residuos de *M. esculenta* (Martín & López, 2009).

2.3.3. Análisis químico del extracto de residuos de *M. esculenta*

El contenido de los lípidos del extracto fue analizado en el Laboratorio COLECBI S.A.C., determinándose así la cantidad de almidón, humedad, proteínas, calcio, fósforo (Tabla 2 y Anexo 12).

Tabla 2: Análisis químico del extracto del subproducto de *M. esculenta* (EAM)

COMPONENTES	%
ALMIDON	20
HUMEDAD	34
PROTEINAS	18
CALCIO	12
FOSFORO	16

Fuente: Laboratorio COLECBI (2017) (Anexo 11)

PROPORCION	
C: N	10: 9
P: N	8: 9
C: P	5: 4

2.4. Determinación de Crecimiento Poblacional de *Sc. Acutus*

El crecimiento poblacional de *Sc. acutus* en los cultivos se determinó por conteos diarios (cél. mL⁻¹) utilizando cámara de Neubauer y microscopio binocular Nikon y las observaciones microscópicas fueron realizadas a 40X de aumento durante los 7 días del experimento. Con los promedios de la densidad poblacional se graficaron las curvas de crecimiento poblacional; igualmente, se determinó la tasa de crecimiento poblacional (μ) y el tiempo de duplicación (TD), ambos al sexto día de cultivo, utilizando para ello las fórmulas según Guillard (1975).

$$\mu = \frac{\ln(N_f/N_o)}{T_f - T_o} \quad \dots (1)$$

$$TD = \frac{\ln(2)}{\mu} \quad \dots (2)$$

Donde N_o y N_f corresponde al número por ml en los tiempos t_0 y t_7 respectivamente.

2.5. DETERMINACIÓN DE BIOMASA

La biomasa microalga se determinó por gravimetría, rotulando placas de Petri y pesando papel filtro Whatman N° 42 en una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg. Para ello, se filtró 10 mL de suspensión microalgal por cada unidad experimental, colocándose papeles filtro en embudo Büchner y con matraz Kitasato con una bomba de vacío, seguido fue llevado a estufa a 60 °C por 6 h, y luego se incrementó la temperatura hasta 105 °C por 60 min. Por último se dejó enfriar en un secador de campana por 1 h y se registraron los pesos. Los datos obtenidos se reemplazaron en la siguiente fórmula:

$$\text{Biomasa (mg L}^{-1}\text{)} = (\text{P1} - \text{P2}) \times 1000 / 10$$

Donde:

P1: Peso inicial muestra (mg)

P2: Peso final muestra (mg)

$$\text{Biomasa de Lípidos (mg L}^{-1}\text{)} = \text{Biomasa} \times \% \text{ Lípidos}$$

Donde:

Biomasa: Peso de las microalgas en un litro (mg L⁻¹)

% Lípidos: Porcentaje de lípidos de las muestras

2.6. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE LÍPIDOS TOTALES

Cuando los cultivos alcanzaron la fase de crecimiento exponencial, se determinó el contenido de lípidos totales, para lo cual se utilizó la metodología de Bligh & Dyer (1959) y Marsh & Weinstein (1966) (Fig. 2); utilizando 4 mL de muestra por unidad experimental, siendo centrifugadas a 10000 rpm por 10 min, luego se eliminó el sobrenadante dejando la pasta de microalga. Esta pasta se resuspendió con agua destilada y fue centrifugada a 10000 rpm por 10 min; se eliminó el sobrenadante, y la pasta fue secada en estufa a 60 °C por 6 h. Seguido se les adicionó 3 mL de una solución de cloroformo: metanol (2:1) y se dejó reposar en oscuridad a 5 °C. Transcurrida 12 h se transfirieron a tubos de 15 mL y se agregó 2 mL de agua destilada a cada tubo, fueron centrifugados a 6000 rpm por 10 min, y se evaporó el

solvente en baño María, siendo finalmente llevados a secar en estufa a 105 °C por 60 min. Como último procedimiento, a cada tubo de ensayo se añadió 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) y se calentó a 200 °C durante una hora; luego fueron enfriados con agua potable y se realizaron lecturas en el espectrofotómetro Aquamate Plus con celdas de cuarzo de 1 cm a 375 nm de longitud de onda, previa lecturas de los patrones de calibración. El contenido de lípidos totales fue calculado según la siguiente ecuación:

$$\text{Dónde: } L (\%) = \frac{\left(\frac{\text{Absorbancia}}{4,3681} \right) \times V}{M} \times 100$$

V: Volumen final de muestra analizada (8mL).

M: Peso seco (mg) en 4 mL de cultivo.

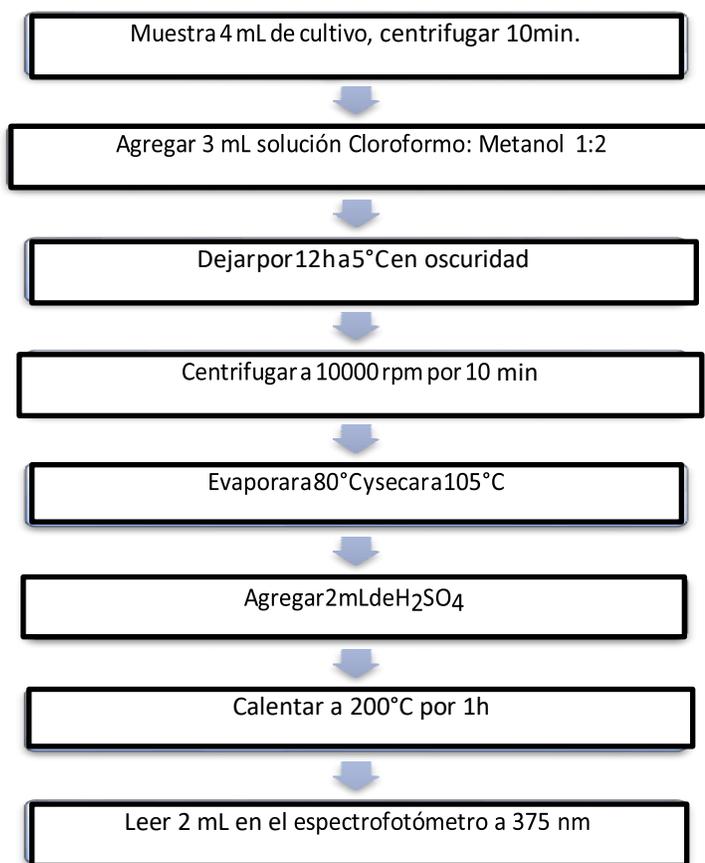


Fig. 2. Flujograma para determinar el contenido de lípidos de *S. acutus* en los cultivados con EAM y grupo control HM.

2.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un diseño experimental de estímulo creciente con tres tratamientos experimentales y un tratamiento control (tabla 1). En ambos tratamientos se trabajó por triplicado con la finalidad de encontrar los promedios que mejor expresen el efecto del extracto de yuca y la dinámica del cultivo.

Tabla 3. Diseño experimental de los tratamientos dosificados con diferentes concentraciones en el cultivo de *S. acutus*

Tratamientos	Características
Tratamiento control (T _c)	Cultivo de <i>S. acutus</i> con medio HM
Tratamiento uno (T ₁)	Cultivo de <i>S. acutus</i> con 2.5 g L ⁻¹ de EAM.
Tratamiento dos (T ₂)	Cultivo de <i>S. acutus</i> con 5 g L ⁻¹ de EAM.
Tratamiento tres (T ₃)	Cultivo de <i>S. acutus</i> con 7.5 g L ⁻¹ de EAM.

2. 8. ACONDICIONAMIENTO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

En la experiencia se utilizaron 12 botellas plásticas de 3000 mL conteniendo 2000 mL de volumen efectivo de cultivo (Fig. 3), los que se iniciaron con un promedio de la densidad poblacional de $1,0 \times 10^6$ cél. mL⁻¹ de *S. acutus*. Se empleó el diseño estímulo creciente, con tres tratamientos y un grupo control (HM), con tres repeticiones cada uno (Tabla 3), siendo estos los siguientes:

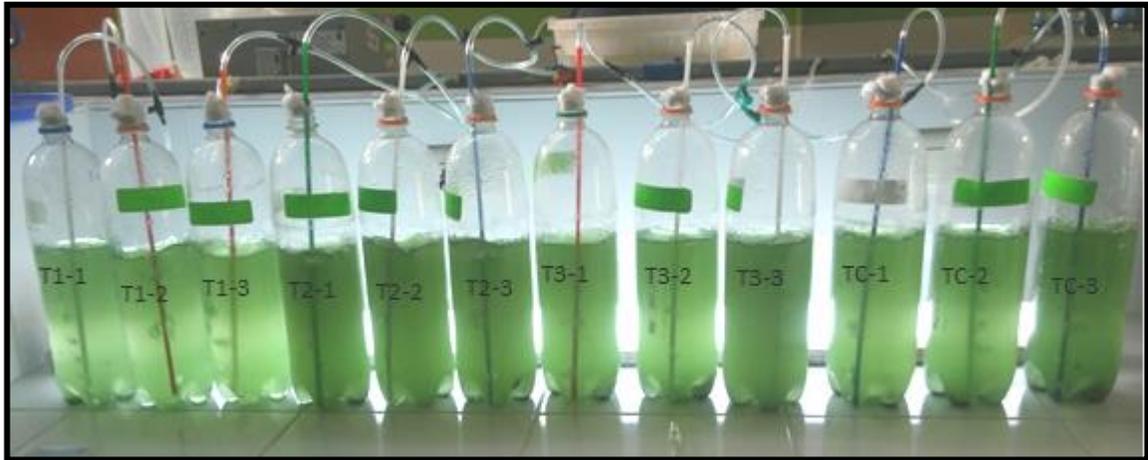


Fig. 3. Distribución de las unidades experimentales en los cultivos microalgales de *S. acutus*.

2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales, se analizaron mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, donde ($p > 0.05$). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer diferencias entre promedios; además, se aplicó la prueba de Tukey para establecer el mejor promedio. Para todos los casos la significancia fue de 0,05. Estos procesos fueron desarrollados utilizando el programa SPSS 20.0.

III. RESULTADOS

3.1 Componentes ambientales de cultivo

3.1.1 Temperatura

La variación de la temperatura en los cultivos de *S. acutus* con tratamientos de medio EAM y control (HM), son mostrados en la fig. 4. La temperatura en las unidades experimentales con *S. acutus* varió entre los 23,6 y 24,5 °C durante los siete días del cultivo, siendo estadísticamente similares ($p>0,05$), esto es debido al registro de datos que fue realizado a la misma hora de cada día.

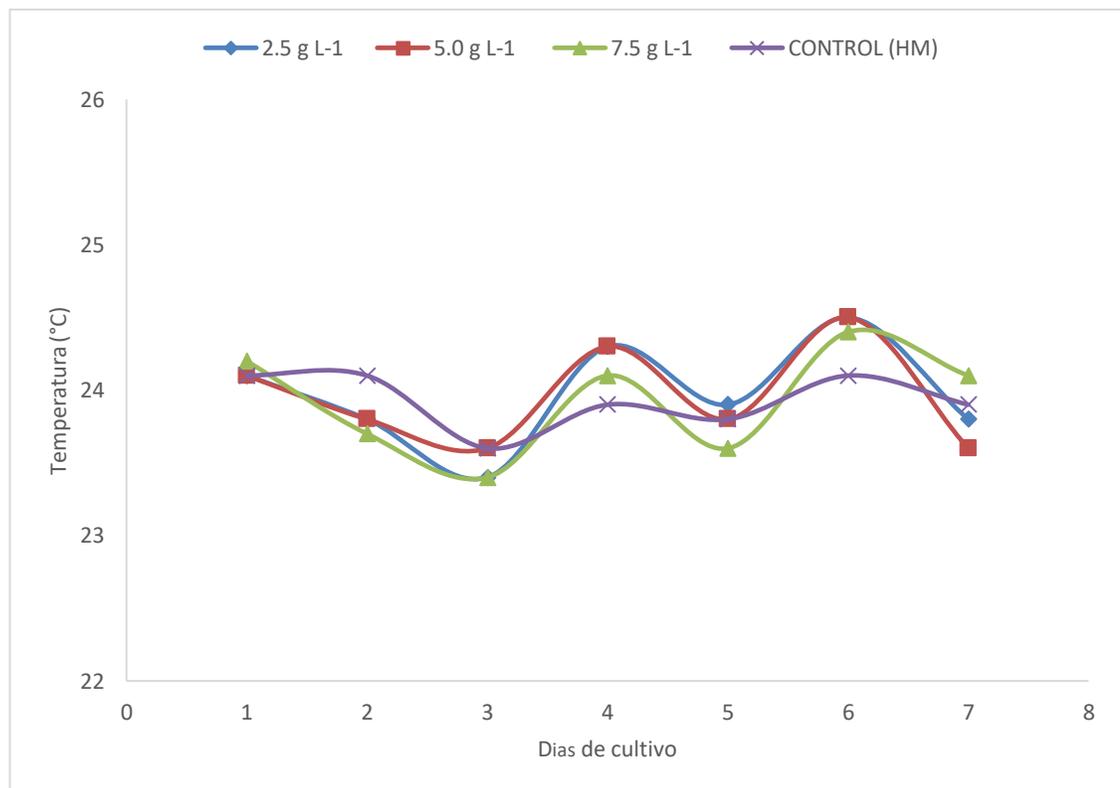


Fig. 4. Variación de la temperatura (°C) en los cultivos de *S. acutus* dosificados con EAM.

3.1.2. pH

Al inicio del experimento, los valores de pH en los cultivos de *S. acutus* fueron estadísticamente similares ($p>0,05$). Los valores del pH en los cultivos de *S. acutus* son mostrados en la fig. 5 y varían entre los 7,82 unid. al inicio y 9,64 unid. al tercer día de cultivo, producto de la respiración por el aumento poblacional de las microalgas.

En los días 2, 3 y 4 de cultivo de *S. acutus* los valores de pH fueron estadísticamente similares ($p>0,05$). Al quinto día de cultivo, los valores de pH fueron similares entre los tratamientos 5 y 7.5 g L⁻¹ de EAM y control (HM), siendo mayor ($p<0,05$) en el tratamiento 2.5 g L⁻¹ de EAM. En los días finales de cultivo 6 y 7, fueron similares ($p>0,05$) entre todos los tratamientos.

El pH del medio influye tanto en la proporción de las especies como del equilibrio químico del CO₂, que es necesario para su crecimiento algal.

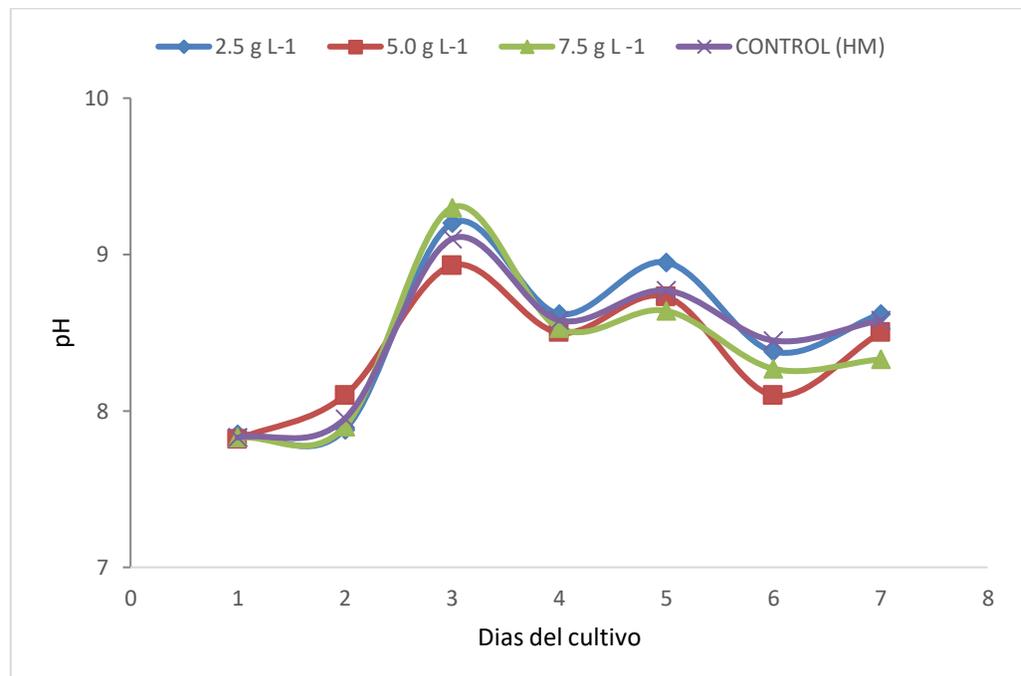


Fig. 5. Variación del pH promedio de los cultivos de *S. acutus* dosificados con EAM.

3.2. Crecimiento poblacional en los cultivos de *S. acutus*

3.2.1. Crecimiento poblacional

La densidad poblacional de *S. acutus* en los diferentes tratamientos, iniciaron con valores similares ($p > 0,05$) de $1,0 \times 10^6$ cél. mL⁻¹, en todos los tratamientos, incrementándose en densidad hasta el cuarto día de cultivo (Tabla 4, Fig. 6). Con mejores promedios el cultivo con 7.5 g L^{-1} ($4,99 \times 10^6$ cél. mL⁻¹), y el cultivo con 5.0 g L^{-1} y tratamiento control ($4,82 \times 10^6$ cél. mL⁻¹).

Tabla 4. Densidad Poblacional ($\times 10^6$ cél. mL⁻¹) de *S. acutus* en los cultivos con EAM y grupo control (HM).

Días	Tratamientos			
	T _c	T ₁	T ₂	T ₃
0	1.00 ±0.00 ^a	1.00 ±0.00 ^a	1.00 ±0.00 ^a	1.00 ±0.00 ^a
1	1.82 ±0.32 ^a	1.87 ±0.27 ^a	1.86 ±0.49 ^a	1.94 ±0.39 ^a
2	2.13 ±0.04 ^b	2.89 ±0.22 ^a	3.34 ± 0.20 ^a	2.10 ±1.82 ^b
3	4.82 ±1.80 ^a	4.38 ±2.51 ^a	4.85 ±1.20 ^a	4.99 ±1.36 ^a
4	8.09 ±3.16 ^c	4.79 ±0.39 ^b	11.06 ±3.62 ^a	6.90 ±2.50 ^c
5	14.24 ±2.51 ^a	7.33 ±1.49 ^b	18.23 ±1.76 ^a	6.93 ±1.46 ^b
6	22.50 ±0.98 ^c	12.71 ±0.88 ^b	25.88 ±1.22 ^a	12.92 ±1.57 ^b
7	10.97 ±1.52 ^a	9.23 ±0.52 ^a	14.57 ±4.36 ^a	10.87 ±1.57 ^a

Letras diferentes en una misma línea indican diferencia significativa a un nivel de 0.05.

Los cultivos con *S. acutus* en el cuarto día de cultivo, mostraron una mayor densidad poblacional en el cultivo con 5.0 g L^{-1} de EAM ($11,06 \times 10^6$ cél. mL⁻¹), y la menor densidad para el control (HM), y los dosificados con 2.5 y 7.5 g L^{-1} de EAM, con 8.09 , 4.79 , y 6.90×10^6 cél. mL⁻¹, respectivamente.

Al quinto día de cultivo, los mayores valores ($p < 0,05$) en densidad poblacional de *S. acutus*, se encontraron en el tratamiento control (HM), y el cultivo con 5.0 g L^{-1} de EAM, con valores de $14,24$ y $18,23 \times 10^6$ cél. mL⁻¹.

La mayor densidad poblacional ($p < 0,05$) de *S. acutus* estuvo en el día 6 en el cultivo con 5.0 g L^{-1} de EAM con 25.88×10^6 cél. mL⁻¹; mientras el menor promedio ($p < 0,05$) se presentó en el tratamiento dosificado con 2.5 g L^{-1} de EAM con un promedio de 12.71×10^6 cél. mL⁻¹.

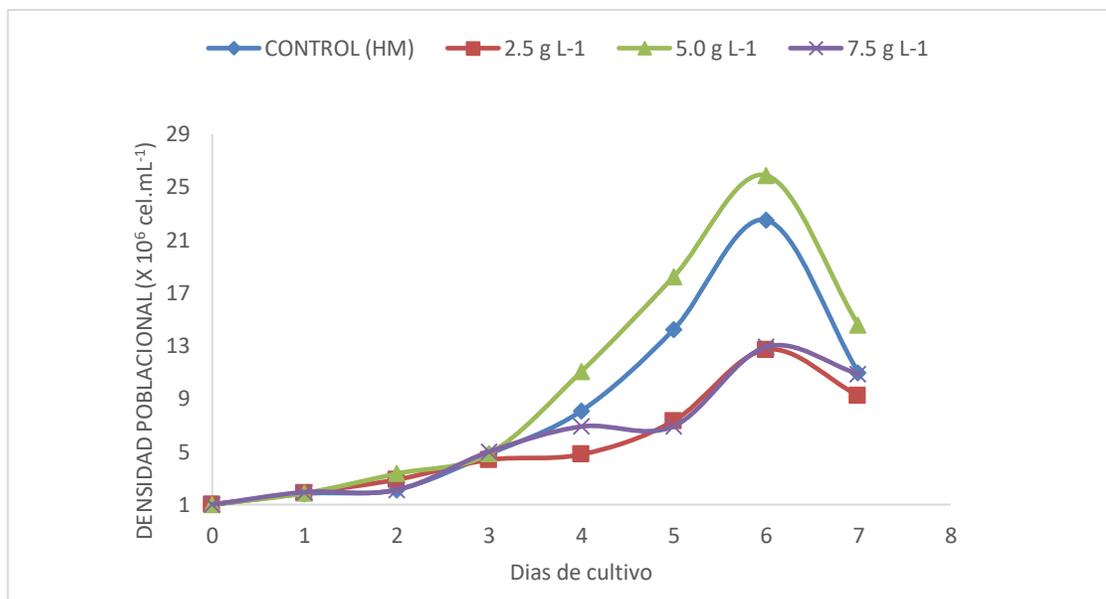


Fig. 6. Densidad poblacional ($\times 10^6$ cél. mL^{-1}) de *S. acutus* en los cultivos dosificados con EAM.

3.2.2. Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación poblacional diaria

En la Tabla 5, se muestran la tasa de crecimiento (μ) y el tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) en los cultivos de *S. acutus* con EAM y grupo control (HM), determinados al sexto día de cultivo para todos los tratamientos presentando el mayor valor ($p < 0.05$) en el dosificado con 5.0 g L^{-1} de EAM con $0.459 \mu \text{ día}^{-1}$; seguido del grupo control (HM) con $0,438 \mu \text{ día}^{-1}$, y el dosificado con 7.5 g L^{-1} de EAM con $0.353 \mu \text{ día}^{-1}$; mientras que la menor μ ($p < 0.05$) de *S. acutus* se encontró en el dosificado con 2.5 g L^{-1} de EAM con $0.351 \mu \text{ día}^{-1}$.

Asimismo, se encontró que el tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) al sexto día de cultivo de *S. acutus* fue mayor ($p < 0.05$) en el tratamiento dosificado con 2.5 g L^{-1} de EAM con 1.974 día ; seguido del tratamiento con 7.5 g L^{-1} de EAM con 1.965 día y el grupo control (HM) con un TD de 1.582 día , mientras que el menor promedio ($p < 0.05$) se obtuvo en el dosificado con 5.0 g L^{-1} de EAM con 1.510 día .

Tabla 5. Tasa de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (TD).

Parámetro	Tratamiento			
	T _c	T ₁	T ₂	T ₃
N ₀	1.00 ±0.00 ^a	1.00 ±0.00 ^a	1.00 ±0.00 ^a	1.00 ±0.00 ^a
N _f	22.50 ±0.98 ^c	12.71 ±0.88 ^b	25.88 ±1.22 ^a	12.92 ±1.57 ^b
Día	6	6	6	6
μ	0.438 ±0.007 ^a	0.351 ±0.011 ^b	0.459 ±0.007 ^a	0.353 ±0.017 ^b
TD	1.582 ±0.024 ^a	1.974 ±0.060 ^b	1.510 ±0.023 ^a	1.965 ±0.093 ^b

Letras diferentes indican diferencia significativa a un nivel de 0.05.

3.3 Contenido de lípidos en *S. Acutus*

En la tabla 6, fig. 7 y 8, se observan los promedios del contenido de lípidos como porcentaje (%) y biomasa (mg L⁻¹) de *S. acutus* analizados en el sexto día de cultivo en todos los tratamientos del experimento.

Tabla 6. Contenido de lípidos como porcentaje (%) y biomasa (mg L⁻¹) en el sexto día de cultivo de *S. acutus* en los tratamientos con EAM y control (HM).

PARÁMETROS	EAM (%)			
	CONTROL (HM)	T1	T2	T3
Lípidos (%)	20,57 ± 0,45a	25,89 ± 0,67b	23,74 ± 0,44bc	22,57 ± 0,45c
Lípidos (mg L ⁻¹)	145,9 ± 9,1	176,8 ± 9,2	186,5 ± 13,2	157,6 ± 13,6

Letras diferentes en la misma fila, indica diferencia significativa ($\alpha=0,05$).

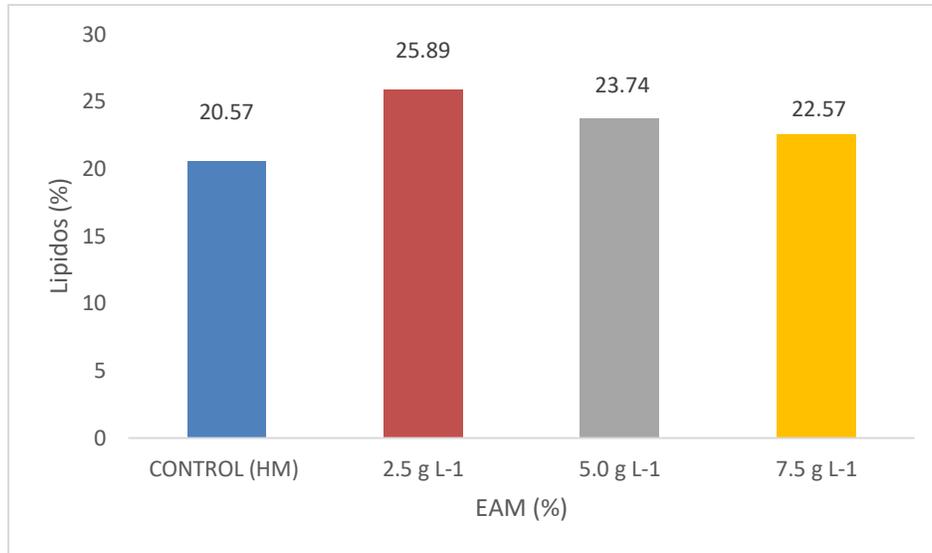


Fig. 7. Contenido de lípidos como porcentaje de *S. acutus* en los tratamientos con EAM y control (HM).

El contenido de lípidos como porcentaje del peso seco de *S. acutus*, presentó el mayor promedio significativo ($p < 0.05$) en el tratamiento de 2.5 g L^{-1} de EAM (25.89 %). Mientras, que los menores promedios significativos se obtuvieron con 5.0 y 7.5 g L^{-1} de EAM con 23.74 % y 22.57%, respectivamente. Todos los tratamientos fueron mayores al control (HM) que presentó 20.57 % de lípidos.

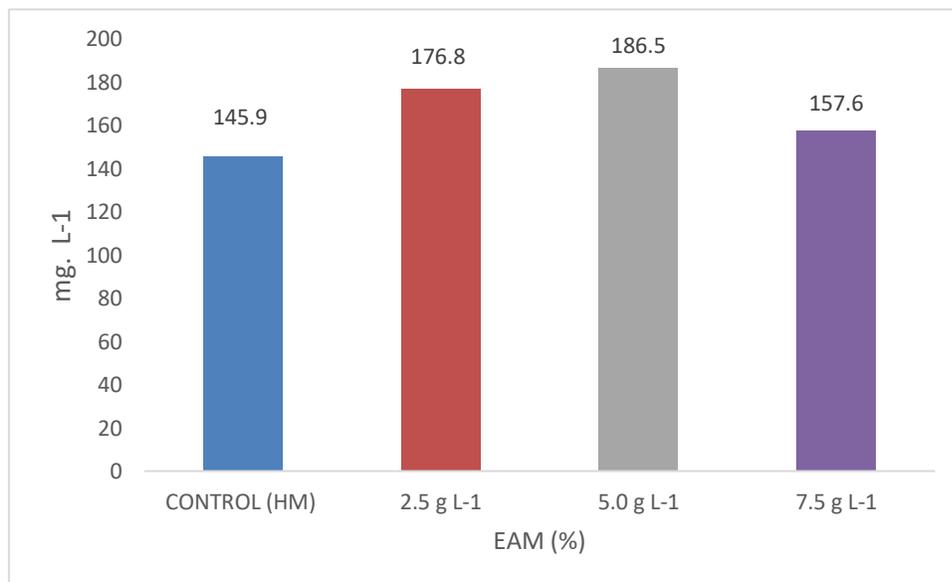


Fig. 8. Contenido de lípidos como biomasa de *S. acutus* en los tratamientos con EAM y control (HM).

El contenido de lípidos como biomasa (mg L^{-1}) de *S. acutus*, fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en el tratamiento con 5.0 g L^{-1} de EAM (186.5 mg L^{-1}), mientras que los menores promedio significativo se obtuvieron con 2.5 y 7.5 gL^{-1} EAM con 176.8 mg L^{-1} y 157.6 mg L^{-1} respectivamente, sin embargo todos los tratamientos fueron mayores al control con HM con 145.9 mg L^{-1} .

IV. DISCUSION

En los cultivos de microalgas los factores ambientales como temperatura, pH, intensidad de luz, cantidad y calidad de nutrientes condicionan su crecimiento y composición química (Richmond & Becker; 1986), por lo que deben encontrarse en el rango óptimo para obtener resultados deseados. Sobre ello, Arroyo (2016), menciona que el rango óptimo para el crecimiento de la mayoría de las microalgas se sitúa entre los 16 y 24 °C, sin embargo la tolerancia a la temperatura varía según la especie, algunas especies sensibles como *Isochrysis*, no soportan temperaturas superiores a los 25 °C, mientras que formas más resistentes como *Chlorella* crecen bien hasta los 36 °C. Según Quevedo *et al.* (2008), la temperatura óptima para *Scenedesmus* es de 28 °C. En el presente experimento los cultivos de *Scenedesmus acutus* presentaron un rango de temperatura entre 23,6 y 24,5 °C, encontrándose cercano a los rangos de 25 °C a 36 °C, para *Scenedesmus*, mencionado por Abalde *et al.* (1995), y Garibay *et al.* (2009), por lo tanto la temperatura del cultivo de *S. acutus* no influyo en los resultados encontrados.

Una característica relevante durante la captación de nutrientes y fijación fotosintética de CO₂ en el cultivo de microalgas, es el aumento del pH del cultivo (Franchino *et al.* 2013). La fijación fotosintética de CO₂ provoca un aumento gradual de pH en el medio debido a la acumulación de OH⁻, que promover la eliminación de nitrógeno en forma de amoniaco por difusión a la atmósfera y la eliminación de fósforo por precipitación de ortofosfatos (Seoáñez, 2005). Asimismo, Richmond & Becker (1986), consideran que el pH en los cultivos de microalgas debería estar entre 7 y 8 unid., aunque variaciones en algunas unidades no afectan su crecimiento, pero son muy sensibles si disminuyen bruscamente. Garibay *et al.* (2009), consideran que los valores el pH de 6, 5 a 9, 5 unid., favorecen el crecimiento algal. En el presente experimento se encontraron valores de pH entre 7, 82 unid. y 9,3 unid., estando en el rango mencionado por Garibay *et al.* (2009), por lo tanto, este parámetro no afecta el crecimiento de los cultivos, y no tendrían influencia en los resultados de crecimiento y contenido de lípidos de *S. acutus*.

La tasa de crecimiento en microalgas muestra el potencial biológico relacionado con el tiempo de duplicación, es decir el número de veces que se divide al día, desde el inicio de un cultivo, que es cuando la concentración de biomasa es baja y no existe deficiencia de nutrientes y la luz no es limitante hasta un máximo cuando las condiciones de incremento poblacional se ven limitadas sobre todo por la deficiencia de nutrientes (Arroyo, 2016). Según Pancha *et al.*, (2015) menciona que *Scenedesmus sp* tiene una velocidad de crecimiento de $0.23 \mu. \text{ día}^{-1}$, en condiciones mixotróficas, el medio BG-11 con efecto de diferentes fuentes de carbono orgánico, Kim *et al.*, (2007), en condiciones autotróficas, empleando medio Bold Basal combinado con efluente fermentado de cerdos tiene una velocidad de crecimiento de $0.12 \mu. \text{ día}^{-1}$, Quevedo *et al.*, (2008) *S. obliquus* en condiciones autotróficas, 3 medios de cultivo sintéticos con la misma relación C: N: P, tiene una velocidad de crecimiento de $1.416 \mu. \text{ día}^{-1}$, Zavaleta & Vasquez (2017), *S. acutus* con tratamientos de 75 y 90% de aguas residuales municipales $0,467 \mu \text{ día}^{-1}$ y $0,479 \mu \text{ día}^{-1}$ respectivamente. En nuestro trabajo se encontró una velocidad de crecimiento de mayor valor ($p < 0.05$) en el tratamiento con 5.0 g L^{-1} de EAM ($0.459 \mu \text{ día}^{-1}$); seguido del grupo control (HM) con $0,438 \mu \text{ día}^{-1}$, y el tratamiento con 7.5 g L^{-1} de EAM ($0.353 \mu \text{ día}^{-1}$); mientras que la menor ($p < 0.05$) se encontró en el dosificado con 2.5 g L^{-1} de EAM ($0.351 \mu \text{ día}^{-1}$). A partir de estos datos se puede hipotetizar que se podrían lograr mejores resultados a concentraciones superiores de a 5.0 g L^{-1} de EAS.

Trabajos de investigación similares han sido realizados en el crecimiento de *S. acutus* con medios de cultivo orgánico, por ejemplo, Paredes (2009), utilizó extracto de ensilado de residuos de “concha de abanico” obteniendo las mayores densidades poblacionales con 60 y 80 mL. L^{-1} de extracto de ensilado con $6,38$ y $6,88 \times 10^6 \text{ cél. mL}^{-1}$, respectivamente. Quiroz & Vereau (2015), obtuvieron mayor crecimiento poblacional ($36,92 \times 10^6 \text{ cél. mL}^{-1}$) con 15 mL^{-1} de extracto acuoso de sedimento (EAS); mientras que el menor se encontró dosificado con 10 mL L^{-1} de EAS ($28,94 \times 10^6 \text{ cél. mL}^{-1}$). Toyub *et al.* (2008), demostró la capacidad de la microalga *S. obliquus* de crecer en concentraciones de residuos de una fábrica de dulces (1,5; 2,0; 2,5 y 3,0 %), iniciándose con una densidad poblacional de $0,21 \times 10^6 \text{ cél. mL}^{-1}$, encontrando al

décimo día densidades de 9,71; 8,32; 6,52 y 5,12 $\times 10^6$ cél. mL^{-1} . En el presente experimento con EAM, se encontró que la mayor densidad poblacional de *S. acutus* al sexto día de cultivo se obtuvo en el tratamiento dosificado con 5 mL L^{-1} de EAM (25,88 $\times 10^6$ cél. mL^{-1}), mientras que el menor se encontró dosificando con 2,5 mL L^{-1} de EAM (12,71 $\times 10^6$ cél. mL^{-1}); demostrando el aprovechamiento de los nutrientes presentes en el EAM utilizados eficientemente por *S. acutus*, debido al contenido de nutrientes como almidón, proteínas, nitrógeno, fósforo, calcio y apoyado por la presencia de nitrógeno, carbono orgánico y derivados de la degradación de la materia orgánica proporcionando condiciones de crecimiento heterotróficas, lo que permite incrementar la población microalgal.

En otros estudios, como el realizado por Ortega-Salas & Reyes-Bustamante (2012), cultivaron las microalgas dulceacuícolas *Kirchneriella obesa*, *S. quadricauda* y *Chlorococcum infusorium*, y compararon las tasas de crecimiento y su rendimiento con tres medios de cultivo, Guillard f/2, Fert I y Fert II, encontraron que *S. quadricauda* presentó la más alta tasa de crecimiento promedio con 0,72 día^{-1} obtenida con el medio Guillard f/2 y la más baja de 0,64 día^{-1} con el tratamiento Fert II, siendo estos cercanos a los obtenidos en el experimento con EAM; aunque comparando los cultivos de *S. acutus* dosificados con 5 g L^{-1} de EAM, se obtuvo una tasa de crecimiento (0,459 día^{-1}) mayor a los encontrados por Roleda et al. (2013) para las microalgas *Isochrysis galbana* con 0,451 día^{-1} y *Odontella aurita* con 0,131 día^{-1} . Por ello se puede inferir que el aporte de nutrientes por el EAM, básicamente de N, y P, propician el crecimiento óptimo de la microalga *S. acutus*. De acuerdo a Griffiths et al. (2012), las especies con las tasas máximas de crecimiento fueron las microalgas verdes como *Nannochloropsis oleoabundans*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., *Tetraselmis suecica*, y otros como la haptofita *Isochrysis* sp. En el experimento obtuvimos al sexto día de cultivo la mayor tasa de crecimiento (0,459 día^{-1}) con 7,5 g L^{-1} de EAM, mientras que el menor (0,351 día^{-1}) se presentó con 2,5 g L^{-1} de EAM, los cuales tienen relación directa con las densidades poblacionales, y a su vez con un balance adecuado que presenta el dosificado.

La acumulación de lípidos en las células microalgales está asociada con el crecimiento poblacional y la edad del cultivo, así, Chiu *et al.* (2009), encontraron que los contenidos de lípidos en células de *Nannochloropsis oculata*, en un medio limitado en nitrógeno durante la fase logarítmica, estacionaria temprana, y estacionaria final respectivamente, fueron 30.8 %, 39.7 % y 50.4 % de lípidos, respectivamente, debido al agotamiento de nitrógeno que limita o detiene la división celular, permitiendo que el metabolismo del carbono continúe, dando como resultado la desviación de carbono para la producción de lípidos (Beopoulos *et al.*, 2009). También se ha demostrado el efecto del estrés ambiental, como un iniciador, en la acumulación de lípidos (Hong *et al.*, 2008). Situación similar obtenida en el tratamiento con 2.5 mL L⁻¹ de EAM, que presenta un mayor porcentaje de lípidos que el tratamiento con 5 mL L⁻¹ de EAM, aunque en este último el porcentaje de lípidos se ve compensado con la producción de biomasa, obteniendo los mayores contenidos de lípidos en peso seco el tratamiento con 5 mL L⁻¹ de EAM (186 mg L⁻¹).

Cohen (1999), menciona que cuando el crecimiento poblacional se retarda en respuesta a un factor limitante como la luz, disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura o salinidad, la síntesis de lípidos y carbohidratos son incrementadas a expensas de la síntesis de proteínas. Pero esto afecta la biomasa de lípidos, ya que la mayor producción en peso de las microalgas está relacionado directamente con la densidad microalgal, siendo así que se obtuvo un mayor porcentaje de lípidos 25,89 g L⁻¹ al sexto día de cultivo de *S. acutus*, dosificando con 2.5 g L⁻¹ de EAM, seguido del tratamiento con 5.0g L⁻¹ de EAM con 23.74g L⁻¹.

En base a nuestros resultados es posible utilizar residuos de la producción de *M. esculenta* en el cultivo de *S. acutus* para la obtención de biomasa algal y lípidos de gran valor comercial.

V. CONCLUSIONES

- ✓ El mayor crecimiento poblacional de *S. acutus* se obtuvo en el tratamiento dosificado con 5.0 g L⁻¹ de EAM con una densidad de 25,88 x10⁶ cél. mL⁻¹.y una tasa de crecimiento de 0.353 ± 0.017.
- ✓ El mayor porcentaje de lípidos totales se observó en el tratamiento dosificado con 5.0 gL⁻¹ de EAM (25,89 %), siendo mejor que el control HM (20,57 %).
- ✓ Los mayores contenidos de biomasa en lípidos de *S. acutus* se encontró en el tratamiento dosificado con 5.0 g L⁻¹ de EAM con 186 mg L⁻¹.

VI. RECOMENDACIONES

- Determinar el efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso de yuca en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de la microalga *S. acutus* en condiciones de aire libre, con fines de escalamiento y producción piloto de biomasa microalgal.
- Evaluar la efectividad del extracto acuoso de yuca en otras especies del género *Scenedesmus*.
- Evaluar el costo de producción de utilizar diferentes concentraciones de extracto acuoso de yuca en el cultivo de *S. acutus* en condiciones de laboratorio y aire libre, con fines de producción a gran escala de biomasa microalgal.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abalde, J.; A. Cid; P. Fidalgo; E. Torres & C. Herrero. 1995. Microalgas: Cultivos y Aplicaciones. Monografía N° 26. Coruña: Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias, Universidad de Coruña. La Coruña, España. 181p.
- Alarcón, F., Dufour, D.1998. "Almidón agrio de yuca en Colombia" Cali Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical
- Andrade, M. & J. Costa. 2007. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture* 264: 130-134.
- Araya, R., C. Bahamondes, K. Barahona & Silva, F. 2010. Utilización de una biopelícula microalgal multiespecífica para optimizar la fijación larval y el crecimiento de abalón (*Haliotis rufescens*) en un criadero comercial. *Scielo. Rev. biol. mar. oceanogr.* v.45 n.1.
- Arroyo, B. 2016. Utilización de residuos sólidos y líquidos de un Sistema biofloc como medio de cultivo para la Producción de *scenedesmus* sp. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú.
- Becker, E. 2004. Biotechnology and microbiology. Cambridge University Press, Cambridge. U.S.A. 293p.
- Beopoulos, A.; T. Chardot & J. Nicaud. 2009. *Yarrowia lipolytica*: a model and a tool to understand the mechanisms implicated in lipid accumulation. *Biochimie.* 91(6):692-696
- Cañavate J. 2011. Funciones de las Microalgas en Acuicultura. IFAPA Centro El Toruño. Apartado 16. 11500 Puerto de Santa María. Cádiz. 12 -15
- Cohen, Z. 1999. Chemicals from Microalgae. Taylor and Francis Inc. Cohen Zvi Ed. London. 450p.
- Chiu, S.; C. Kao; M. Tsai; S. Ong; C. Chen & C. Lin. 2009. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technol.* 100(2):833-838.
- Chuzel G. 1989 Producción y utilización del almidón de yuca. V seminario anual de la yuca. INIAP.Porto viejo, Ecuador.

- Fábregas, J.; C. Herrero & C. Abalde. 1985. Growth, chlorophyll a and protein of the marine microalga *Isochrysis galbana* in batch cultures with different salinities and high nutrient concentrations. *Aquaculture*. 50:1-11.
- Garibay, A.; R. Vázquez-Duhalt; M. Sánchez; L. Serrano & A. Martínez. 2009. Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología*. 13(3):38-61.
- Griffiths, M.; R. Van Hille & S. Harrison. 2012. Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. *J. Appl. Phycol.* 24:989-1001.
- Gouveia, L. & A. Oliveira. 2009. Microalgae as a raw material for biodiesel production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36(2):269-274.
- González, D., Galindo, L., González, S., Peralta, Y., Kafarov, V. 2011. Adaptación del Método Bligh & Dyer a la Extracción de Lípidos de Microalgas Colombianas para la Producción de Biodiesel de Tercera Generación. Universidad Industrial de Santander y UNAD. Bucaramanga, Colombia.
- Franchino M , E Comino, F Bona & VA Riggio. 2013. Growth of three microalgae strains and nutrient removal from an agro-zootechnical digestate. *Chemosphere* 92(6): 738-744.
- Helm, M. & Bourne, N. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Manual práctico. FAO. Documento Técnico de Pesca. No. 471. Roma, Pag. 31 – 55.
- Herrera, C., Bolaños, N., Lutz, G. 2003. Química de alimentos. Manual de laboratorio. Ed. San José. Editorial de la universidad de costa Rica. Pg. 29-30.
- Hong, Y.; H. Hu & F. Li. 2008. Physiological and biochemical effects of allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) on cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71:527–534.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M. & M. Seibert. 2008. Microalgal triacylglycerols as feed stocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*, 54 (4), 621-39.
- Huang, X.; H. Zhou; C. Yuan & M. Sun. 2003. The effects of nitrogen source and concentration on the nutritional value of *Nannochloropsis oculata*. *J. Shanghai Fish Univ.* 12:113-116.
- Inga, H. & J. López. 2001. Diversidad de Yuca (*Manihot esculenta Crantz*) en Jenaro Herrera, Loreto – Perú. *IIAP*. Doc. Tecn. N°28. 49 pg.
- Kahrs, R. 1995. Principios generales de la desinfección. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (1), 143-163

- Kim, M. K.; Chang, M. U.; Acreman, J. 2007. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater, 98, 2220–2228.
- Merino, J., S. Mendoza, J. Olivera & T. Ramón. 2007. Manual interno para la producción de alimento vivo para larvicultura de peces tropicales. San Martín. Pag 47.
- Merino, J. 2010. Evaluación económica del medio hm para el cultivo de *Scenedesmus acutus*. Informe interno. 7pp
- Miao, X. & Q. Wu. 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*. 97(6): p. 841-846.
- Montero, Y., Gallo, A., Gómez, L., Álvarez, I., Sabina, L., Támbara, Y., Álvarez, A., Alfonso, M., & L. Ramírez. 2012. Productividad de lípidos y composición de ácidos grasos de cinco especies de Microalgas. *Investigación y Saberes*. Vol. I No. 2 (2012): 37-43
- Morillo, Y. 2009. Herencia del contenido de carotenos en raíces de yuca *Manihot esculenta*
- Ospina, B., & Ceballos, H. 2002. La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Centro Internacional de Agricultura tropical. Cali, Colombia. 586p.
- Pancha, I.; Chokshi, K.; Mishra, S. 2015. Production potential with nutritional stress amelioration through optimization of carbon source and light intensity in *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresource Technology*, 179, 565–572.
- Paniagua, J.; F. Buckle; C. Granados & D. Loya. Daniel. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. Informe OC- 89-01, CICESE. Ensenada Nuevo México, México. 67p.
- Quiroz, K. & E. Vereau. 2015. efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso del sedimento de la bahía “el ferrol” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de la microalga *scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio. Univ. Nac. Santa. Nuevo Chimbote – Perú.
- Quevedo, C., S. Morales, & Acosta, A. 2008. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal. *rev. Vitae*. Vol. 15, núm. 1. Univ. de Antioquia, Colombia. Pg. 25-31.
- Richmond, A. & E.W. Becker. 1986. *Technological aspects of mass cultivation* - A general outline. In: Richmond A (ed.), *CRC Handbook of microalgal mass culture*. CRC Press Inc., Boca Raton. 245-264pp.

- Rodolfi, L., Chini, Z., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low cost photobioreactor. *Biotechnol Bioeng.* 102(1): p. 100-112.
- Sánchez, H., Juscamaita, J., Vargas, J. & Oliveros, R. 2008. Producción de la microalga *nannochloropsis oculata* (droop) hibberd en medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado. Dep. Acad. Biol. Univ. Agraria la Molina. Perú.
- Sheehan, J.; T. Dunahay; J. Benemann & P. Roessler. 1998. A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from algae. Close-Out report. National Renewable Energy Lab., Department of Energy, Golden. Colorado, U.S.A. Report number NREL/TP-580-24190.
- Seoáñez, M. 2005. Depuración de las aguas residuales por tecnologías ecológicas y de bajo costo. Ingeniería del medio ambiente. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Spolaore, P.; C. Joannis-Cassan; E. Duran & A. Isambert. 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101(2):87-96.
- Sukenik, A.; O. Zamora & Y. Carmeli. 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. *Nannochloropsis* sp. *Aquaculture.* 117:313-326.
- Torres, L. 2010. Caracterización morfológica de 37 accesiones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) del banco de germoplasma del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Tesis grado de Magister. Costa Rica.
- Widjaja, A., C. Chien, & Y. Ju. 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 40(1): p. 13-20.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 1.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	1,8600	,49000	,28290	,6428	3,0772	1,30	2,21
Tratamiento 1	3	1,8667	,27025	,15603	1,1953	2,5380	1,56	2,07
Tratamiento 2	3	1,8200	,31575	,18230	1,0356	2,6044	1,46	2,05
Tratamiento 3	3	1,9433	,39311	,22696	,9668	2,9199	1,49	2,19
Total	12	1,8725	,32455	,09369	1,6663	2,0787	1,30	2,21

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,915	3	8	,476

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,024	3	,008	,056	,981
Intra-grupos	1,135	8	,142		
Total	1,159	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	-,00667	,30751	1,000	-,9914	,9781
	Tratamiento 2	,04000	,30751	,999	-,9447	1,0247
	Tratamiento 3	-,08333	,30751	,992	-1,0681	,9014
Tratamiento 1	Tratamiento control	,00667	,30751	1,000	-,9781	,9914
	Tratamiento 2	,04667	,30751	,999	-,9381	1,0314
	Tratamiento 3	-,07667	,30751	,994	-1,0614	,9081
Tratamiento 2	Tratamiento control	-,04000	,30751	,999	-1,0247	,9447
	Tratamiento 1	-,04667	,30751	,999	-1,0314	,9381

	Tratamiento 3	-,12333	,30751	,977	-1,1081	,8614
	Tratamiento control	,08333	,30751	,992	-,9014	1,0681
Tratamiento 3	Tratamiento 1	,07667	,30751	,994	-,9081	1,0614
	Tratamiento 2	,12333	,30751	,977	-,8614	1,1081

Anexo 2. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 2.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	3,3400	,19672	,11358	2,8513	3,8287	3,13	3,52
Tratamiento 1	3	2,8900	,21794	,12583	2,3486	3,4314	2,74	3,14
Tratamiento 2	3	2,1267	,03786	,02186	2,0326	2,2207	2,10	2,17
Tratamiento 3	3	2,1033	,38837	,22423	1,1386	3,0681	1,67	2,42
Total	12	2,6150	,58632	,16926	2,2425	2,9875	1,67	3,52

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,338	3	8	,077

IX.

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,305	3	1,102	18,477	,001
Intra-grupos	,477	8	,060		
Total	3,782	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	,45000	,19936	,188	-,1884	1,0884
	Tratamiento 2	1,21333*	,19936	,001	,5749	1,8518
	Tratamiento 3	1,23667*	,19936	,001	,5982	1,8751
Tratamiento 1	Tratamiento control	-,45000	,19936	,188	-1,0884	,1884
	Tratamiento 2	,76333*	,19936	,021	,1249	1,4018
	Tratamiento 3	,78667*	,19936	,018	,1482	1,4251
Tratamiento 2	Tratamiento control	-1,21333*	,19936	,001	-1,8518	-,5749

	Tratamiento 1	-,76333*	,19936	,021	-1,4018	-,1249
	Tratamiento 3	,02333	,19936	,999	-,6151	,6618
	Tratamiento control	-1,23667*	,19936	,001	-1,8751	-,5982
Tratamiento 3	Tratamiento 1	-,78667*	,19936	,018	-1,4251	-,1482
	Tratamiento 2	-,02333	,19936	,999	-,6618	,6151

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 3. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 3.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	4,8533	1,20226	,69413	1,8667	7,8399	3,92	6,21
Tratamiento 1	3	4,3800	2,50964	1,44894	-1,8543	10,6143	2,75	7,27
Tratamiento 2	3	4,8167	1,80137	1,04002	,3418	9,2915	2,91	6,49
Tratamiento 3	3	4,9867	1,82083	1,05126	,4635	9,5099	3,32	6,93
Total	12	4,7592	1,63015	,47058	3,7234	5,7949	2,75	7,27

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,842	3	8	,508

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,623	3	,208	,058	,980
Intra-grupos	28,608	8	3,576		
Total	29,231	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	,47333	1,54403	,989	-4,4712	5,4178
	Tratamiento 2	,03667	1,54403	1,000	-4,9078	4,9812
	Tratamiento 3	-,13333	1,54403	1,000	-5,0778	4,8112
Tratamiento 1	Tratamiento control	-,47333	1,54403	,989	-5,4178	4,4712
	Tratamiento 2	-,43667	1,54403	,991	-5,3812	4,5078
	Tratamiento 3	-,60667	1,54403	,978	-5,5512	4,3378
Tratamiento 2	Tratamiento control	-,03667	1,54403	1,000	-4,9812	4,9078

	Tratamiento 1	,43667	1,54403	,991	-4,5078	5,3812
	Tratamiento 3	-,17000	1,54403	,999	-5,1145	4,7745
	Tratamiento control	,13333	1,54403	1,000	-4,8112	5,0778
Tratamiento 3	Tratamiento 1	,60667	1,54403	,978	-4,3378	5,5512
	Tratamiento 2	,17000	1,54403	,999	-4,7745	5,1145

Anexo 4. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 4.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	11,0567	3,62285	2,09165	2,0570	20,0563	8,72	15,23
Tratamiento 1	3	4,7933	,39273	,22674	3,8177	5,7689	4,43	5,21
Tratamiento 2	3	8,0900	3,16411	1,82680	,2299	15,9501	4,49	10,43
Tratamiento 3	3	6,9000	1,36231	,78653	3,5158	10,2842	5,43	8,12
Total	12	7,7100	3,18828	,92038	5,6843	9,7357	4,43	15,23

X.

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,995	3	8	,031

XI.

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	61,523	3	20,508	3,262	,080
Intra-grupos	50,294	8	6,287		
Total	111,816	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	6,26333	2,04722	,061	-,2926	12,8193
	Tratamiento 2	2,96667	2,04722	,507	-3,5893	9,5226
	Tratamiento 3	4,15667	2,04722	,254	-2,3993	10,7126
Tratamiento 1	Tratamiento control	-6,26333	2,04722	,061	-12,8193	,2926
	Tratamiento 2	-3,29667	2,04722	,425	-9,8526	3,2593
	Tratamiento 3	-2,10667	2,04722	,738	-8,6626	4,4493
Tratamiento 2	Tratamiento control	-2,96667	2,04722	,507	-9,5226	3,5893

	Tratamiento 1	3,29667	2,04722	,425	-3,2593	9,8526
	Tratamiento 3	1,19000	2,04722	,935	-5,3659	7,7459
	Tratamiento control	-4,15667	2,04722	,254	-10,7126	2,3993
Tratamiento 3	Tratamiento 1	2,10667	2,04722	,738	-4,4493	8,6626
	Tratamiento 2	-1,19000	2,04722	,935	-7,7459	5,3659

Anexo 5. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 5.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	18,2333	1,75671	1,01424	13,8694	22,5972	16,21	19,37
Tratamiento 1	3	7,3300	1,48956	,86000	3,6297	11,0303	6,47	9,05
Tratamiento 2	3	14,2400	2,50863	1,44836	8,0082	20,4718	11,62	16,62
Tratamiento 3	3	6,9300	2,50000	1,44338	,7197	13,1403	4,43	9,43
Total	12	11,6833	5,29709	1,52914	8,3177	15,0489	4,43	19,37

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,213	3	8	,885

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	272,954	3	90,985	20,391	,000
Intra-grupos	35,696	8	4,462		
Total	308,650	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	10,90333 [*]	1,72472	,001	5,3802	16,4265
	Tratamiento 2	3,99333	1,72472	,173	-1,5298	9,5165
	Tratamiento 3	11,30333 [*]	1,72472	,001	5,7802	16,8265
Tratamiento 1	Tratamiento control	-10,90333 [*]	1,72472	,001	-16,4265	-5,3802
	Tratamiento 2	-6,91000 [*]	1,72472	,017	-12,4332	-1,3868
	Tratamiento 3	,40000	1,72472	,995	-5,1232	5,9232

Tratamiento 2	Tratamiento control	-3,99333	1,72472	,173	-9,5165	1,5298
	Tratamiento 1	6,91000*	1,72472	,017	1,3868	12,4332
	Tratamiento 3	7,31000*	1,72472	,012	1,7868	12,8332
Tratamiento 3	Tratamiento control	-11,30333*	1,72472	,001	-16,8265	-5,7802
	Tratamiento 1	-,40000	1,72472	,995	-5,9232	5,1232
	Tratamiento 2	-7,31000*	1,72472	,012	-12,8332	-1,7868

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 6. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 6.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	25,8800	1,22192	,70548	22,8446	28,9154	25,13	27,29
Tratamiento 1	3	12,7133	,87580	,50565	10,5377	14,8890	11,86	13,61
Tratamiento 2	3	22,4967	,97767	,56446	20,0680	24,9253	21,48	23,43
Tratamiento 3	3	12,9167	1,46292	,84462	9,2826	16,5508	11,79	14,57
Total	12	18,5017	6,14967	1,77526	14,5944	22,4090	11,79	27,29

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,664	3	8	,597

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	405,291	3	135,097	100,892	,000
Intra-grupos	10,712	8	1,339		
Total	416,003	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	13,16667*	,94482	,000	10,1410	16,1923
	Tratamiento 2	3,38333*	,94482	,029	,3577	6,4090
	Tratamiento 3	12,96333*	,94482	,000	9,9377	15,9890
Tratamiento 1	Tratamiento control	-13,16667*	,94482	,000	-16,1923	-10,1410
	Tratamiento 2	-9,78333*	,94482	,000	-12,8090	-6,7577

	Tratamiento 3	-,20333	,94482	,996	-3,2290	2,8223
	Tratamiento control	-3,38333*	,94482	,029	-6,4090	-,3577
Tratamiento 2	Tratamiento 1	9,78333*	,94482	,000	6,7577	12,8090
	Tratamiento 3	9,58000*	,94482	,000	6,5544	12,6056
	Tratamiento control	-12,96333*	,94482	,000	-15,9890	-9,9377
Tratamiento 3	Tratamiento 1	,20333	,94482	,996	-2,8223	3,2290
	Tratamiento 2	-9,58000*	,94482	,000	-12,6056	-6,5544

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 7. Análisis estadístico del crecimiento poblacional en el día 7.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	14,5733	4,35580	2,51482	3,7529	25,3938	11,13	19,47
Tratamiento 1	3	9,2333	,51501	,29734	7,9540	10,5127	8,72	9,75
Tratamiento 2	3	10,9667	1,51995	,87754	7,1909	14,7424	9,65	12,63
Tratamiento 3	3	10,8700	1,57010	,90650	6,9697	14,7703	9,29	12,43
Total	12	11,4108	2,91899	,84264	9,5562	13,2655	8,72	19,47

XII.

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,411	3	8	,041

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	45,698	3	15,233	2,537	,130
Intra-grupos	48,027	8	6,003		
Total	93,725	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
	Tratamiento 1	5,34000	2,00057	,106	-1,0665	11,7465
Tratamiento control	Tratamiento 2	3,60667	2,00057	,339	-2,7999	10,0132
	Tratamiento 3	3,70333	2,00057	,319	-2,7032	10,1099

Tratamiento 1	Tratamiento control	-5,34000	2,00057	,106	-11,7465	1,0665
	Tratamiento 2	-1,73333	2,00057	,822	-8,1399	4,6732
	Tratamiento 3	-1,63667	2,00057	,844	-8,0432	4,7699
Tratamiento 2	Tratamiento control	-3,60667	2,00057	,339	-10,0132	2,7999
	Tratamiento 1	1,73333	2,00057	,822	-4,6732	8,1399
	Tratamiento 3	,09667	2,00057	1,000	-6,3099	6,5032
Tratamiento 3	Tratamiento control	-3,70333	2,00057	,319	-10,1099	2,7032
	Tratamiento 1	1,63667	2,00057	,844	-4,7699	8,0432
	Tratamiento 2	-,09667	2,00057	1,000	-6,5032	6,3099

Anexo 8. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento en el día 6.

Descriptivos

crecimiento_poblacional

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Tratamiento control	3	,4590	,00692	,00400	,4418	,4762	,45	,47
Tratamiento 1	3	,3513	,01067	,00616	,3248	,3778	,34	,36
Tratamiento 2	3	,4382	,00652	,00376	,4220	,4544	,43	,44
Tratamiento 3	3	,3533	,01712	,00988	,3108	,3958	,34	,37
Total	12	,4004	,05178	,01495	,3675	,4333	,34	,47

Prueba de homogeneidad de varianzas

crecimiento_poblacional

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,700	3	8	,244

ANOVA de un factor

crecimiento_poblacional

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,028	3	,009	76,381	,000
Intra-grupos	,001	8	,000		
Total	,029	11			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: crecimiento_poblacional

HSD de Tukey

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Tratamiento control	Tratamiento 1	,10777	,00911	,000	,0786	,1369
	Tratamiento 2	,02087	,00911	,179	-,0083	,0500

Tratamiento 1	Tratamiento 3	,10574*	,00911	,000	,0766	,1349
	Tratamiento control	-,10777*	,00911	,000	-,1369	-,0786
	Tratamiento 2	-,08691*	,00911	,000	-,1161	-,0577
Tratamiento 2	Tratamiento 3	-,00203	,00911	,996	-,0312	,0271
	Tratamiento control	-,02087	,00911	,179	-,0500	,0083
	Tratamiento 1	,08691*	,00911	,000	,0577	,1161
Tratamiento 3	Tratamiento 3	,08488*	,00911	,000	,0557	,1140
	Tratamiento control	-,10574*	,00911	,000	-,1349	-,0766
	Tratamiento 1	,00203	,00911	,996	-,0271	,0312
	Tratamiento 2	-,08488*	,00911	,000	-,1140	-,0557

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 9. Temperatura (°C) en los cultivos de *S. acutus* con EAM y grupo control (HM).

TRATAMIENTO	REPETICIONES	DIAS						
		1	2	3	4	5	6	7
T1	R1	24.1	24.3	23.5	24.4	24.2	24.7	23.7
	R2	24.0	23.8	22.9	23.9	23.7	24.3	23.5
	R3	24.1	23.3	23.8	24.6	23.8	24.5	24.2
T2	R1	23.9	23.9	23.5	24.0	23.5	24.0	23.5
	R2	24.2	24.3	23.8	24.1	24.0	24.8	23.8
	R3	24.1	23.2	23.5	24.8	23.9	24.7	23.5
T3	R1	24.0	23.5	23.6	24.0	23.5	24.3	23.5
	R2	24.3	23.9	23.0	24.2	23.3	24.5	24.0
	R3	24.2	23.7	23.6	24.1	24.0	24.4	24.8
CONTROL	R1	24.5	24.2	23.5	24.0	23.7	23.8	23.7
	R2	23.8	23.8	23.2	23.7	23.5	24.0	24.0
	R3	24.1	24.3	24.1	24.0	24.2	24.5	24.0

Anexo 10. Valores de pH en los cultivos de *S. acutus* con EAM y grupo control (HM).

TRATAMIENTO	REPETICIONES	DIAS						
		1	2	3	4	5	6	7
T1	R1	7.84	7.83	8.95	8.58	9.01	8.42	8.61
	R2	7.85	7.92	9.12	8.69	8.91	8.4	8.56
	R3	7.85	7.89	9.54	8.59	8.93	8.32	8.69
T2	R1	7.93	8.23	8.95	8.47	8.85	8.31	8.42
	R2	7.89	7.98	8.79	8.43	8.77	8.05	8.56
	R3	7.64	8.09	9.05	8.6	8.57	7.94	8.52
T3	R1	7.92	7.85	9.1	8.58	8.66	8.32	8.35
	R2	7.84	7.92	9.35	8.55	8.59	8.25	8.29

	R3	7.73	7.93	9.45	8.46	8.67	8.24	8.35
CONTROL	R1	7.88	7.98	8.98	8.63	8.75	8.48	8.65
	R2	7.79	7.85	9.22	8.55	8.83	8.39	8.63
	R3	7.82	8.02	9.1	8.56	8.73	8.48	8.46

Anexo 11. Análisis estadístico de contenido de Lípidos

Anexo 12. Resultados del análisis de almidón, humedad, proteína, calcio y fosforo al extracto acuoso de yuca (EAM).

CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES S.A.C.



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES
“COLECBI” S.A.C.
REGISTRADO EN LA DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICAS Y DESARROLLO PESQUERO - PRODUCE

Pág. 1 de 1

INFORME DE ENSAYO N° 20180301-020

SOLICITADO POR	: PABLO CESAR CAM ZAVALETA
DIRECCIÓN	: Calle Independencia Mz B ² Lote 1 Villa Maria Nuevo Chimbote.
PRODUCTO DECLARADO	: EXTRACTO ACUOSO DE YUCA
CANTIDAD DE MUESTRA, TIPO DE ENVASES	: 03 muestras; en frascos transparentes cerrados.
FECHA DE RECEPCIÓN	: 2018-03-01
FECHA DE INICIO DEL ENSAYO	: 2018-03-01
FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO	: 2018-03-14
CONDICIÓN DE LA MUESTRA	: En buen estado. Preservadas.
ENSAYOS REALIZADOS EN	: Laboratorio Físico Químico.
CÓDIGO COLECBI	: SS 180301-020

RESULTADOS

ENSAYOS FÍSICO QUÍMICOS

ENSAYOS	MUESTRA
	EXTRACTO ACUOSO DE YUCA (%)
(*) ALMIDÓN	20
(*) HUMEDAD	34
(*) PROTEÍNA	18
(*) CALCIO	12
(*) FÓSFORO	16

METODOLOGIA EMPLEADA

ALMIDÓN : UNE - EN - ISO 10520_1997
 HUMEDAD : UNE - EN - ISO 4052_2002
 PROTEÍNA : UNE - EN - ISO 20483_2006
 CALCIO : EPA 200.8
 FÓSFORO : EPA 200.8

NOTA:

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

Fecha de Emisión: Nuevo Chimbote, Marzo 15 del 2018
 GVR/jms


 A. Gustavo Vargas Ramos
 Gerente de Laboratorios
 C.B.P. 326
 COLECBI S.A.C.

LC-MP-HRIE
Rev. 04

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

COLECBI S.A.C.

Urb. Buenos Aires Mz. A - Lt. 7 | Etapa - Nuevo Chimbote - Teléfono: 043 310752
 Celular: 998392893 - 998393974 - Apartado 127
 e-mail: colecbi@speedy.com.pe / medioambiente_colecbi@speedy.com.pe
 Web: www.colecbi.com