

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



**Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO ACUICULTOR**

**Autor:**

Bach. Esquivel Vasquez, Velmes Nay

**Asesora:**

M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza  
DNI N°32924785  
ORCID: 0000-0002-9212-8030

**Nuevo Chimbote – Perú  
2023**

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



**Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO ACUICULTOR**

**Autor:**

Bach. Esquivel Vasquez, Velmes Nay

**Asesora:**

---

M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza  
DNI: 32924785  
ORCID: 0000-0002-9212-8030

**Nuevo Chimbote – Perú**  
**2023**

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



**Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO  
ACUICULTOR**

**Evaluado y aprobado por el jurado:**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Fernando Merino Moya  
Presidente  
DNI: 17909289  
ORCID: 0000-0002-4848-3190

  
\_\_\_\_\_  
M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza  
Integrante  
DNI: 32924785  
ORCID: 0000-0002-9212-8030

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Yolanda Patricia Huamancondor Paz  
Integrante  
DNI: 45527744  
ORCID: 0000-0002-3549-1167

## ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Laboratorio de Biología Acuática, siendo las 12:55 horas del día 04 de julio del 2023, dando cumplimiento a la Resolución N° 203-2023-UNS-FC se reunió el Jurado Evaluador presidido por Juan Fernando Merino Moya, teniendo como miembros a Yolanda Patricia Huamancander Paz (secretario) (a), y Sorayda Mendoza Espinoza (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biólogo Acuicultor realizado por el, (la), (los) tesista (as) Velmes Nay Esquivel Vasquez

....., quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: Efecto de diferentes concentraciones del efluente de canal en el crecimiento poblacional y contenidos de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio.

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

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como Excelente asignándole un calificativo de diecinueve puntos, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU.-R-UNS)

Siendo las 13:40 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

Nombre: Juan Fernando Merino Moya  
Presidente

Nombre: Yolanda Huamancander Paz  
Secretario

Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza  
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (3), tesis (1) y archivo (02).





## Recibo digital

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

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	Velmes Nay Esquivel Vasquez
Título del ejercicio:	Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal ...
Título de la entrega:	Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal ...
Nombre del archivo:	INFORME_DE_TESIS_1.docx
Tamaño del archivo:	2.1M
Total páginas:	44
Total de palabras:	11,543
Total de caracteres:	62,940
Fecha de entrega:	25-may.-2023 03:52p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega...	2101902512

**Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio.**

R E S U M E N

El vertimiento de efluentes de camal es un problema en casi todas las ciudades del mundo por su alta carga orgánica que contamina los cuerpos de aguas naturales. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue evaluar el uso del efluente de camal municipal (ECM) como medio de cultivo para *S. acutus*. Se utilizaron concentraciones de 20, 40 y 60 mL L<sup>-1</sup> del medio ECM, en cultivos bajo condiciones de laboratorio. Durante el experimento, se determinó el crecimiento celular (cél mL<sup>-1</sup>) y al finalizar la concentración de lípidos (%). Además, cuantificamos 33 elementos químicos del efluente para conocer el aporte de nutrientes. Los resultados sugieren que el medio experimental permite un crecimiento adecuado en *S. acutus*, logrando un mayor crecimiento ( $20,83 \pm 1,04 \times 10^6$  cél mL<sup>-1</sup>) con 40 mL L<sup>-1</sup>; sin embargo, la mayor concentración de lípidos (25,91 %) se logró con 20 mL L<sup>-1</sup>. Cabe señalar que los cultivos experimentales fueron ligeramente inferiores al medio HM, pero estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Estos resultados sugieren que *S. acutus* crece a todas las concentraciones evaluadas, posibilitando el escalamiento de los cultivos con el medio experimental.

**Palabras clave:** microalgas, *Scenedesmus*, efluentes, camal, lípidos.

1

# Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://revistas.unat.edu.pe">revistas.unat.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="http://1library.co">1library.co</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="http://alicia.concytec.gob.pe">alicia.concytec.gob.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://revistas.unal.edu.co">revistas.unal.edu.co</a> Fuente de Internet	1%
6	Hao-Cheng Lu, Yu Wang, Chi-Fang Cheng, Wu Chen, Shu-De Li, Fei He, Chang-Qing Duan, Jun Wang. "Distal leaf removal made balanced source-sink vines, delayed ripening, and increased flavonol composition in Cabernet Sauvignon grapes and wines in the semi-arid Xinjiang", <i>Food Chemistry</i> , 2022 Publicación	<1%

## **DEDICATORIA**

A Dios por darme la sabiduría,  
fortaleza, salud y estar siempre  
conmigo en cada paso que doy,  
cuidándome y dándome la fuerza  
para continuar ante cualquier  
adversidad.

A mi hermano Junior y madre  
Emerita, quien siempre está  
apoyándome y a lo largo de mi vida  
a velado por mi bienestar y  
educación.

## **AGRADECIMIENTO**

Un sincero agradecimiento a los profesionales que conforman la plana docente de la Escuela Profesional de Biología en Acuicultura.

A la M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza por su apoyo incondicional durante el desarrollo y culminación del proyecto.

# ÍNDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b> .....	IV
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	V
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	VI
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	VIII
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	IX
<b>RESUMEN</b> .....	X
<b>ABSTRACT</b> .....	XI
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	5
2.1 Objetivo general .....	5
2.2 Objetivos específicos .....	5
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	5
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	6
4.1 Localización del trabajo experimental .....	6
4.2 Material biológico .....	6
4.3 Preparación de inóculo .....	6
4.4 Preparación del efluente para ser usado como medio de cultivo .....	6
4.5 Sistema de cultivo .....	7
4.6 Determinación de crecimiento poblacional .....	8
4.7 Registro del pH y la temperatura .....	9
4.8 Determinación de lípidos .....	9
4.9 Determinación de biomasa .....	11
4.10 Análisis estadístico .....	11
<b>V. RESULTADOS</b> .....	12
5.1 Parámetros ambientales del cultivo de <i>S. acutus</i> .....	12
5.1.1 Temperatura .....	12
5.1.2 pH .....	12
5.2 Crecimiento poblacional de <i>S. acutus</i> .....	13
5.2.1 Crecimiento poblacional .....	13
5.2.2 Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación de <i>S. acutus</i> .....	16
5.3 Contenido de lípidos en <i>S. acutus</i> .....	17

<b>VI. DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
<b>VII. CONCLUSIONES .....</b>	<b>27</b>
<b>VIII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>28</b>
<b>IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>29</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Flujograma de la preparación del ECM para el cultivo de <i>S. acutus</i> . .....	7
<b>Figura 2.</b> Flujograma para determinar el contenido de los lípidos <i>S. acutus</i> . (Blight & Dyer, 1959; Marsh & Weinstein, 1966). .....	10
<b>Figura 3.</b> Variación de temperatura °C durante el cultivo de <i>S. acutus</i> con ECM y tratamiento control (HM). .....	12
<b>Figura 4.</b> Variación de pH durante el cultivo de <i>S. acutus</i> con ECM y tratamiento control (HM). .....	13
<b>Figura 5.</b> Densidad poblacional del cultivo de <i>S. acutus</i> con ECM y tratamiento control (HM). .....	14
<b>Figura 6.</b> Unidades experimentales al quinto día de cultivo de <i>S. acutus</i> con ECM y tratamiento control (HM). .....	14
<b>Figura 7.</b> Variación de la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) de <i>S. acutus</i> en los cultivados con ECM y tratamiento control (HM). .....	16
<b>Figura 8.</b> Contenido de lípidos como porcentaje de <i>S. acutus</i> en los tratamientos cultivados con ECM y control (HM). .....	18
<b>Figura 9.</b> Contenido de lípidos como biomasa de <i>S. acutus</i> en los tratamientos cultivados con ECM y control (HM). .....	18

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diseño experimental de los cultivo de <i>S. acutus</i> , usando efluente de camal.....	8
<b>Tabla 2.</b> Densidad Poblacional ( $\times 10^6$ cél. mL <sup>-1</sup> ) de <i>S. acutus</i> en los cultivos con ECM y tratamiento control (HM).....	13
<b>Tabla 3.</b> Tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) de <i>S. acutus</i> en los cultivados con ECM y tratamiento control (HM).....	16
<b>Tabla 4.</b> Contenido de lípidos en porcentaje (%) y en biomasa (mg L <sup>-1</sup> ) al quinto día de <i>S. acutus</i> cultivado con ECM y tratamiento control HM. ....	17
<b>Tabla 5.</b> Caracterización química del medio experimental ECM.....	19
<b>Tabla 6.</b> Concentración de N, P, K y Fe por cada tratamiento. ....	20

## RESUMEN

El vertimiento de efluentes de camal es un problema en casi todas las ciudades del mundo por su alta carga orgánica, que contamina los cuerpos de aguas naturales. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue evaluar el uso del efluente de camal municipal (ECM) como medio de cultivo para *S. acutus*. Se utilizaron concentraciones de 20, 40 y 60 mL L<sup>-1</sup> del medio ECM, en cultivos bajo condiciones de laboratorio. Durante el experimento, se determinó el crecimiento celular (cél mL<sup>-1</sup>) y al finalizar la concentración de lípidos (%). Además, cuantificamos 33 elementos químicos del efluente para conocer el aporte de nutrientes. Los resultados sugieren que el medio experimental permite un crecimiento adecuado en *S. acutus*, logrando un mayor crecimiento ( $20.83 \pm 1,04 \times 10^6$  cél mL<sup>-1</sup>) con 40 mL L<sup>-1</sup>; sin embargo, la mayor concentración de lípidos (25.91 %) se logró con 20 mL L<sup>-1</sup>. Cabe señalar que los cultivos experimentales fueron ligeramente inferiores al medio control (HM), pero estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Estos resultados sugieren que *S. acutus* crece en todas las concentraciones evaluadas del medio ECM, posibilitando el escalamiento de los cultivos con el medio experimental.

**Palabras clave:** microalgas, *Scenedesmus*, efluentes, camal, lípidos.

## ABSTRACT

The discharge of municipal effluent is a problem in almost all cities of the world due to its high organic load, which contaminates natural water bodies. Therefore, the objective of this research was to evaluate the use of municipal farmyard effluent (MSE) as a culture medium for *S. acutus*. Concentrations of 20-, 40-, and 60-mL L<sup>-1</sup> of ECM medium were used in cultures under laboratory conditions. During the experiment, cell growth (cells mL<sup>-1</sup>) and lipid concentration (%) were determined at the end of the experiment. In addition, we quantified 33 chemical elements in the effluent to determine the nutrient supply. The results suggest that the experimental medium allows adequate growth in *S. acutus*, achieving higher growth ( $20.83 \pm 1.04 \pm 1.04 \times 10^6$  cells mL<sup>-1</sup>) with 40 mL L<sup>-1</sup>; however, the highest lipid concentration (25.91 %) was achieved with 20 mL L<sup>-1</sup>. It should be noted that the experimental cultures were slightly lower than control medium (HM), but statistically different ( $p < 0.05$ ). These results suggest that *S. acutus* grows at all concentrations evaluated with the ECM medium, making it possible to scale up the cultures with the experimental medium.

**Keywords:** microalgas, *Scenedesmus*, effluents, camal, lípids.

## I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos que para su crecimiento dependen de la disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura, salinidad, fotoperiodo, agitación y medio de cultivo, siendo el nitrógeno y fósforo los principales nutrientes para su desarrollo (Vásquez et al., 2020). Debido al elevado contenido de carbohidratos, vitaminas, minerales, lípidos, ácidos grasos poliinsaturados (Omega 3 y omega 6), antioxidantes (carotenoides) y proteínas de alta calidad, a nivel mundial son consideradas como un alimento funcional que beneficia en la salud humana y animal (Acién-Fernández et al., 2018).

Se ha demostrado que, el género *Scenedesmus* perteneciente a la división Chlorophyta, clase Chlorophyceae, familia Scenedesmaceae; presenta contenido de ácidos grasos monoinsaturados de 18.55 %, 22.74 % poliinsaturados y 35.15 % de ácidos grasos saturados, además de contener carotenoides, clorofila a y polifenoles (Niwas et al., 2021). Asimismo, luteína y  $\beta$ -caroteno, los cuales poseen actividades antioxidantes, antitumorales e inmunomoduladoras y tienen potencial en la industria de la salud y cosmética (Kona et al., 2021). El  $\beta$ -caroteno imparte color y la luteína previene enfermedades relacionadas con la edad, cáncer, cardiovasculares y aterosclerosis (Sathasivam y Ki, 2018).

*S. acutus* no requiere de espacios grandes para su cultivo por su capacidad de soportar altas concentraciones de nutrientes que están presentes en efluentes residuales de canales o mataderos, industriales y aguas domésticas. Son utilizados para aprovechar sus elevadas cantidades de proteínas, lípidos y carbohidratos como nutrientes para la obtención de materia prima para la producción de bioproductos, como productos químicos, materiales, piensos, aceites, pigmentos y polímeros de importante valor económico (Trichez et al., 2019). Asimismo, su cultivo se puede desarrollar de manera amigable con el medio ambiente basado en el uso de emisiones antrópicas como las aguas residuales y el CO<sub>2</sub> (Amorim et al., 2020).

La industrialización y el aumento de las actividades agroindustriales han ocasionado un aumento en el uso del agua, lo cual conlleva a la generación de aguas residuales. Además, los mataderos y/o canales generan efluentes principalmente producto de la limpieza, de un color rojizo producto de la contaminación por el sangrado de los animales

sacrificados (Aziz et al., 2019); estimándose que por cada cabeza de ganado bovino se produce alrededor de 37 kg de agua residual al año (de Matos Nascimento et al., 2020).

Los principales riesgos asociados a los camales o mataderos proceden del inadecuado manejo de los residuos líquidos, que al ser desechados en el alcantarillado municipal causa contaminación en los ríos, lagunas y mar. Por lo que, en el 2009, el Ministerio del Ambiente (MINAM) estableció los Límites Máximos Permisibles (LMP) (DBO = 100 mg L<sup>-1</sup>, DQO = 200 mg L<sup>-1</sup>, pH = 6.5-8.5, STS = 150 mL L<sup>-1</sup>) para efluentes de actividades agroindustriales tales como planta de camales y plantas de beneficio. Sin embargo, debido a la poca importancia no se dispone de un adecuado tratamiento de estos efluentes, generándose valores mensuales de 904,2 m<sup>3</sup> y producción anual de 10850.8 m<sup>3</sup> (MINAM, 2009; Sánchez, 2018). El Camal Municipal de Chimbote, Ancash – Perú, no cuenta con infraestructura necesaria para el manejo de los efluentes líquidos que se generan diariamente, representando un problema ambiental y social que afecta a los pobladores que tienen sus casas ubicadas cerca de esta zona.

Por otro lado, debido al alto contenido de nitrógeno (94.89–1236.06 mg L<sup>-1</sup>) y fósforo (40.60–86.33 mg L<sup>-1</sup>) de este efluente, es posible utilizarlo como medio de cultivo a gran escala para las microalgas (De Mendonca et al., 2018) y reducir los desafíos que representa la demanda de energía y el uso excesivo de medios de cultivo (Ye et al., 2018).

Actualmente, durante el cultivo masivo de microalgas con medios estandarizados (BBM, ZM, Chu'10 y BG-11), presenta el inconveniente de la preparación, que resultan costosos y dificulta su aplicación para la producción de biomasa, proteínas, carbohidratos y lípidos de microalgas (Ram et al., 2019). Por lo que, se viene desarrollando diferentes medios de cultivo que permitan obtener mayor producción de *Scenedesmus* sp. a un menor costo y una de las alternativas que se presenta es el uso de efluentes residuales (Cerón et al., 2018).

Investigaciones demuestran que el uso de aguas residuales porcinas es apto para el cultivo de *Scenedesmus* sp. y beneficia la producción de biodiesel, esto debido a que se obtiene mayor productividad de biomasa y lípidos (González-Falfán et al., 2021). Con la finalidad de obtener mejores resultados, Shen et al., (2019) agregaron fósforo a estas aguas porcinas aumentando la biomasa hasta 27.9 %. Así mismo, al incorporar nutrientes como hierro y magnesio, se obtiene 0.78 g L<sup>-1</sup> de biomasa microalgal, mientras que sin estos

nutrientes sólo se obtiene  $0.35 \text{ g L}^{-1}$  y con el medio estándar BG11 se obtiene  $0.54 \text{ g L}^{-1}$  (Li et al., 2022). También se ha evaluado el uso de residuos agrícolas fermentados como tallo y mazorca de maíz; paja de trigo y arroz, obteniéndose con el tallo de maíz  $1461.1 \text{ mg L}^{-1}$  y 35.2 % de biomasa algal y lípidos, respectivamente (Ren et al., 2019).

Los efluentes residuales provenientes del procesamiento de lácteos, plantas de tratamiento de aguas residuales y de mataderos, al ser usadas en el cultivo de *Chlorella vulgaris*, *C. pyrenoidosa*, *C. minutissima* y *Spirulina* sp. generan un aumento del 31 % en la producción de biomasa microalgal (Chawla et al., 2022). Del mismo modo, del cultivo de *S. plantensis* y *S. obliquus* en aguas residuales domésticas, se obtiene  $380.0 \text{ mg L}^{-1}$  de biomasa y tasa de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.20 \text{ d}^{-1}$ ,  $0.18 \text{ d}^{-1}$  y  $334.0 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. En cuanto al contenido de proteínas y carbohidratos, es mucho mayor en S.p con 42.6 % y 32.4 % respectivamente y en S.o es 35.6 % y 22.8 %; Sin embargo, el contenido de lípidos y clorofila en S.o es de 36.8 % y 3.6 % respectivamente, siendo casi 6.6 veces y 1.3 veces mayor que en S.p (Fan et al., 2020).

Al realizar co-cultivo de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en aguas residuales municipales (15 mL), se obtiene  $0.12 \text{ g L}^{-1}$  y  $0.71 \text{ g L}^{-1}$  lípidos respectivamente (Zhang et al., 2020). Sin embargo, el crecimiento y producción de lípidos depende de la calidad y procedencia del efluente. Chawla et al. (2020) demostraron que, 40 mL de efluentes provenientes de una industria de procesamientos lácteos y un matadero, para dosificar al cultivo de *C. vulgaris* se obtiene hasta  $0.78 \text{ g L}^{-1}$ .

Por otra parte, la biomasa, proteínas y lípidos de microalgas que se produce se puede utilizar en diferentes aplicaciones, incluido la producción de biocombustibles o biodiesel, este último se estima que, mediante la biomasa de las microalgas se produce 760 toneladas  $\text{h}^{-1} \text{ año}^{-1}$  (Mondal et al., 2022). Por lo tanto, es importante y necesario realizar investigaciones respecto a la acumulación de lípidos en las microalgas cultivadas en efluentes de diferentes orígenes (Gao et al., 2019).

Aunque se sabe que el crecimiento y acumulación de lípidos en las microalgas dependen de varios factores que van desde las estaciones del año hasta la intensidad de la luz, recientemente se ha demostrado que el uso del 50 % de aguas residuales estimula la síntesis de clorofila, el crecimiento y la acumulación de carbohidratos, mientras que el 100% estimula mayor concentración de lípidos en *S. vacuolatus* (Vijay et al., 2022). Del

mismo modo Huang et al. (2022), demostraron que aumenta la concentración de biomasa en un 24.78 % y el rendimiento de los lípidos aumentan hasta un 70.00 %.

Diversos investigadores han usado las microalgas para el tratamiento de las aguas residuales y al mismo tiempo generan alta productividad de lípidos, por ejemplo, Laila et al. (2022) evaluaron *Desmodesmus maximus* CNo6 en aguas residuales locales, donde la producción de lípidos fue de 3.43 mg L<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> mientras que, *S. obliquus* acumula 367 mg L<sup>-1</sup> de lípidos (Han et al., 2021).

Con la finalidad de obtener mayor biomasa microalgal con alto valor nutricional y al mismo tiempo disminuir los costos de producción, es necesario utilizar medios alternativos con alto contenido de Nitrógeno, fósforo y potasio, presentes en efluentes residuales provenientes de mataderos avícolas, porcinos y ganado (Ye et al., 2020).

Además, gracias a la actividad fotosintética de *S. obliquus* se puede eliminar hasta el 100 % de nitrógeno amoniacal, 89% de fosfatos, 78% de DQO y 76,77 % de carbono orgánico, de esta manera los efluentes purificados pueden ser reutilizados y evitar la sobreexplotación de los recursos naturales (López et al., 2022), asimismo, obtener biomasa algal con mayor porcentaje de lípidos, por lo que en los últimos años los investigadores han despertado peculiar interés por las microalgas, debido a que son una alternativa potencial para la producción de biocombustibles renovables y generación de energía a bajo costo (Liu et al., 2019).

Por lo anterior se formuló el siguiente problema: ¿Cuál es el efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *S. acutus* en condiciones de laboratorio?

## II. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Determinar el efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *S. acutus* en condiciones de laboratorio.

### 2.2 Objetivos específicos

Determinar el crecimiento poblacional de *S. acutus*. cultivada a diferentes concentraciones del efluente de camal.

Determinar el contenido de lípidos de *S. acutus*. cultivada a diferentes concentraciones del efluente de camal.

Determinar el perfil de nutrientes del medio de cultivo ECM.

## III. HIPÓTESIS

Si *S. acutus* es cultivada con 20, 40 y 60 mL L<sup>-1</sup> de efluente de camal, entonces se obtendrá mayor crecimiento poblacional y mayor producción de lípidos con 40 mL L<sup>-1</sup> de efluente de camal.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Localización del trabajo experimental

Laboratorio de Cultivos de Especies Auxiliares de la Facultad de Ciencias en la Universidad Nacional del Santa, Chimbote, Perú.

### 4.2 Material biológico

*S. acutus* fue suministrado por el Laboratorio de Recursos Acuáticos y Cultivo de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa, Ancash-Perú.

### 4.3 Preparación de inóculo

El inóculo de 100 mL fue cultivado en dos botellas de plástico de 3 L con 1.5 L de volumen efectivo, utilizando el medio HM para su crecimiento, el cual fue preparado según lo propuesto por Merino (1999). Estos cultivos se mantuvieron con iluminación (2000 lux) y aireación constante (1 L min<sup>-1</sup>).

Composición química de medio de cultivo HM.

Nutrientes	(mg L <sup>-1</sup> )
Urea	206.0
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	19.0
KCL	30.0
FeCL <sub>3</sub>	2.5

### 4.4 Preparación del efluente para ser usado como medio de cultivo

El efluente fue obtenido del Camal Municipal de Chimbote, Ancash – Perú. En la recolección se utilizó guantes y mascarilla como medida de protección; además, en la colecta se usó una jarra de plástico de 1 L y el líquido fue depositado en dos botellas de plástico de 3 L. Posteriormente fue trasladado al Laboratorio de Recursos Acuáticos y Cultivo de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa, para su posterior tratamiento y preparación.

Primero el efluente fue tratado térmicamente hasta ebullición a 100 °C aproximadamente por 30 min. Luego del enfriado, el efluente fue filtrado con una malla de Nylal de 5 µm y posteriormente autoclavado por 15 min a 121 °C, esto para eliminar

microorganismos patógenos. Finalmente, la solución acuosa fue analizada en el laboratorio Corporación de Laboratorios de Ensayos clínicos, Biológicos e Industriales S.A.C. “COLECBI”.



**Figura 1.** Flujograma de la preparación del ECM para el cultivo de *S. acutus*.

#### 4.5 Sistema de cultivo

Para el cultivo se utilizó 12 botellas de plástico de 3 L, previamente esterilizadas con HCl comercial (ácido muriático) y enjuagadas con agua potable. Los tratamientos experimentales contenían 150 mL de *S. acutus* y tuvieron como medio de cultivo 20, 40 y 60 mL L<sup>-1</sup> de efluente y se aforó con agua dulce a 1.5 L (Tabla 1); mientras que en el tratamiento control se usó el medio HM. Cada tratamiento fue rotulado y distribuido al azar. Se mantuvo con iluminación constante (2000 lux) con fluorescentes de 40 w y aireación provista por aireadores, conectado mediante mangueras y llaves.

El diseño experimental fue por estímulo creciente y consistió en tres tratamientos del

efluente de camal como medio de cultivo para el crecimiento de *S. acutus*. (T1: 20 mL L<sup>-1</sup>, T2: 40 mL L<sup>-1</sup>, T3: 60 mL L<sup>-1</sup>) y un grupo control (TC: medio HM), con tres repeticiones cada uno.

**Tabla 1.** Diseño experimental de los cultivos de *S. acutus*, usando efluente de camal.

PARAMETROS	TRATAMIENTOS			
	TC (HM) (0)	T1 (20 mL L <sup>-1</sup> )	T2 (40 mL L <sup>-1</sup> )	T3 (60 mL L <sup>-1</sup> )
Efluente de camal (mL)	0	20	40	60
Agua potable (mL)	1 350	1 330	1 310	1 290
Inóculo (mL)	150	150	150	150
TOTAL (mL)	1 500	1 500	1 500	1 500

#### 4.6 Determinación de crecimiento poblacional

El crecimiento poblacional fue determinado por conteos diarios con una cámara Neubauer, una pipeta y utilizando un microscopio compuesto binocular marca Olympus a un aumento de 40 X durante los días de cultivo.

Con los promedios obtenidos de las concentraciones algales (cel. mL<sup>-1</sup>) se determinó, al quinto día de cultivo, la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y el tiempo de duplicación diaria (TD), utilizando las formulas propuestas por Guillard (1975):

$$\mu = \frac{\left( \frac{N_f}{N_0} \right)}{T_f - T_0}$$

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

Donde:

$N_0$  y  $N_f$ : Corresponden al número de células por ml al inicio y al final del cultivo respectivamente.

$T_0$  y  $T_f$ : Tiempo final e inicial de los días de cultivo respectivamente.

#### 4.7 Registro del pH y la temperatura

El pH se registró diariamente con un pH-metro digital Hanna ( $\pm 0,01$ ), y la temperatura con termómetro Boeco ( $\pm 0,1$  °C).

#### 4.8 Determinación de lípidos

Con la finalidad de determinar el contenido de lípidos totales, se empleó la metodología descrita por Blight & Dyer (1959), modificada por Marsh & Weinstein (1966). Cuyo procedimiento es el siguiente: 1) se centrifugaron 10 mL de cultivo microalgal a 10 000 rpm por 10 min, 2) la pasta microalgal fue secada en la estufa a 45 °C por 24 horas, 3) a cada muestra se añadió 3 mL de solución metanol: cloroformo (2:1), 4) se dejó en refrigeración a 5 °C por 24 horas, 5) se adicionó 3 mL de agua destilada a cada muestra y fueron centrifugados a 10 000 rpm durante 10 min, 6) seguido se extrajo la capa superior y lo restante se evaporó a 80 °C, 7) se añadió 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (98 %) y calentó a 200 °C por 1 h, 8) finalmente se dejó enfriar a temperatura ambiente, para realizar la lectura con un espectrofotómetro Turner Barstearnd Internacional con celdas de cuarzo a una longitud de onda de 375 nm.

Previamente se realizaron las curvas de calibración con aceite de Oliva para determinar la concentración de lípidos presentes en *S. acutus* después del cultivo. Los datos obtenidos fueron reemplazados en la ecuación general para determinar los lípidos en porcentaje (L).

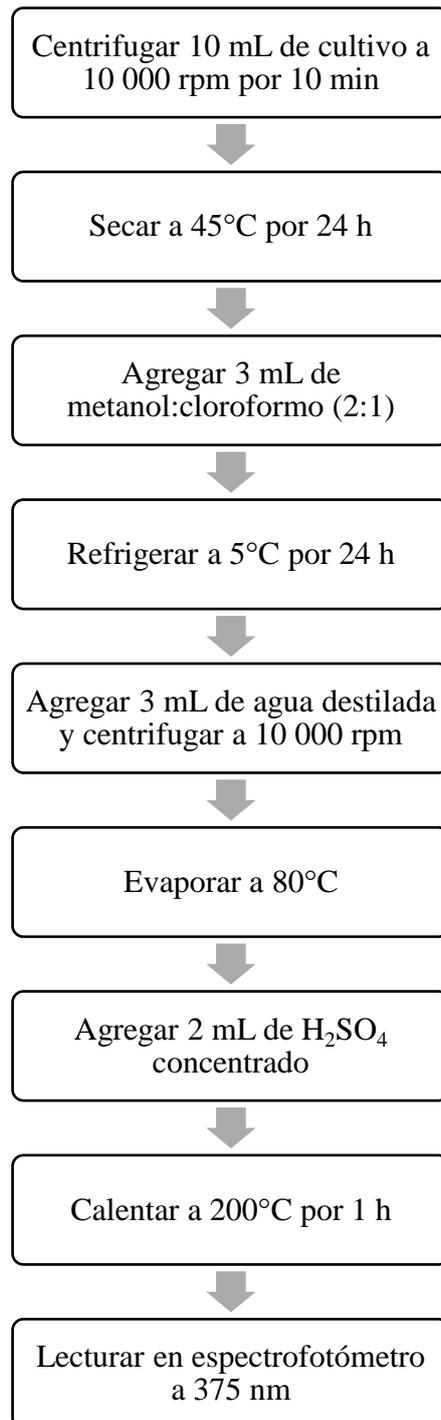
$$L (\%) = \frac{\left( \left( \frac{\text{Absorbancia}}{P} \right) * V \right)}{M} * 100$$

Donde:

V: Volumen final de muestra analizada (10 mL).

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

P: Curvas de calibración con aceite de Oliva.



**Figura 2.** Flujograma para determinar el contenido de los lípidos *S. acutus*. (Blight & Dyer, 1959; Marsh & Weinstein, 1966).

También se determinó el contenido de lípidos en biomasa (LB) de cada tratamiento, con la siguiente fórmula:

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

Donde:

L: Porcentaje de lípidos (%).

B: Biomasa seca por litro (mg).

#### **4.9 Determinación de biomasa**

La biomasa se determinó mediante el método gravimétrico. Para ello se pesó papel Whatman N°42 en una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg, posteriormente, de cada tratamiento, se extrajo 50 mL de suspensión algal y fue filtrado en cada papel filtro, seguidamente, se llevó a la estufa a una temperatura de 60 °C por 15 min, por último, se dejó enfriar a temperatura ambiente por 1 h, finalmente los datos obtenidos fueron reemplazados en la siguiente fórmula:

$$\text{Biomasa (mg L}^{-1}\text{)} = ((P2 - P1) / 50) \times 1000$$

Donde:

P1: Peso inicial papel (mg)

P2: Peso final (papel + muestra) (mg)

#### **4.10 Análisis estadístico**

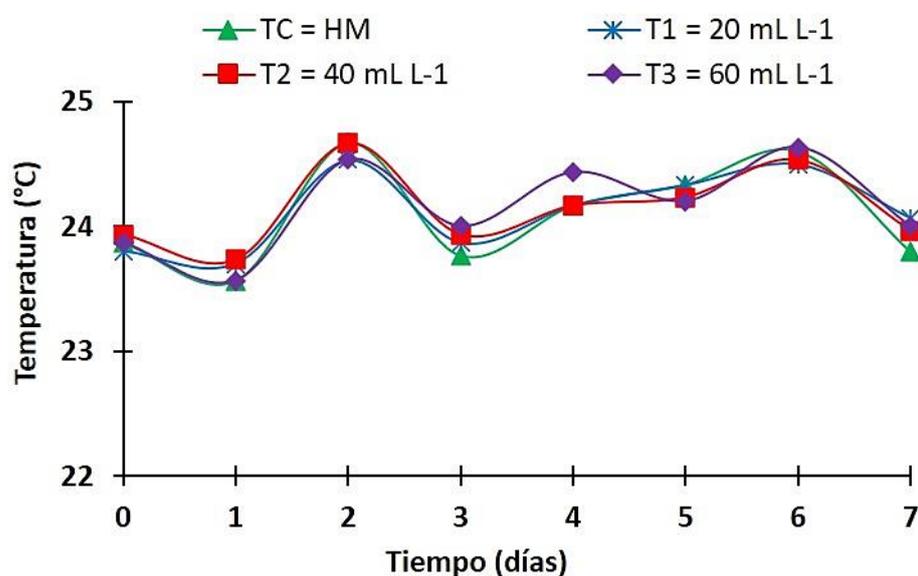
Los datos obtenidos del crecimiento poblacional y el contenido de lípidos en *S. acutus*, fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Los análisis estadísticos fueron desarrollados con los programas: Office Excel 2016 y Minitab 17 para Microsoft Windows 8.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Parámetros ambientales del cultivo de *S. acutus*.

#### 5.1.1 Temperatura

La variación de la temperatura durante el cultivo experimental de *S. acutus* utilizando el medio ECM y control (HM), son mostrados en la figura 3. La temperatura en las unidades experimentales con *S. acutus* varió entre 23.5 y 24.7 °C durante el tiempo de cultivo (7 días), siendo estadísticamente similares ( $p>0.05$ ).



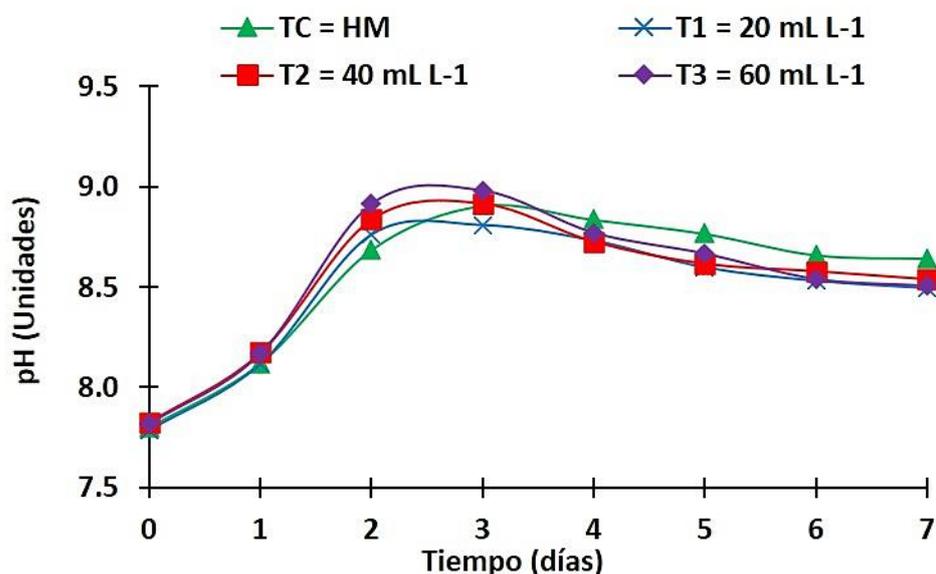
**Figura 3.** Variación de temperatura °C durante el cultivo de *S. acutus* con ECM y tratamiento control (HM).

#### 5.1.2 pH

La variación del pH en los cultivos de *S. acutus* con medio ECM y control (HM), son mostrados en la figura 4 y varían entre los 7.73 unid. al inicio y 9.08 unid. al tercer día de cultivo.

En los días 1, 2, 3 y 4 de cultivo, los valores de pH fueron estadísticamente similares ( $p>0.05$ ). Mientras que, al quinto día de cultivo, el mayor valor ( $p<0.05$ ) fue en el tratamiento control (HM) con 8.77 unid. y similar al

dosificado con 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM con 8.67 unid. Al sexto y séptimo día de cultivo, los valores de pH fueron similares entre si (p>0.05).



**Figura 4.** Variación de pH durante el cultivo de *S. acutus* con ECM y tratamiento control (HM).

## 5.2 Crecimiento poblacional de *S. acutus*.

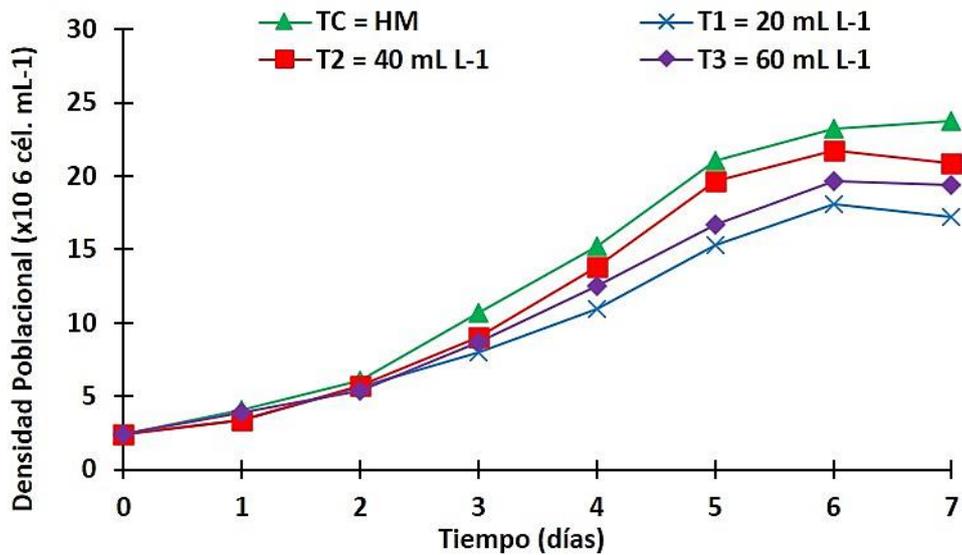
### 5.2.1 Crecimiento poblacional

En la tabla 3, figura 5 y 6 se muestran las variaciones en las densidades poblacionales de *S. acutus* cultivada con medio ECM y control (HM).

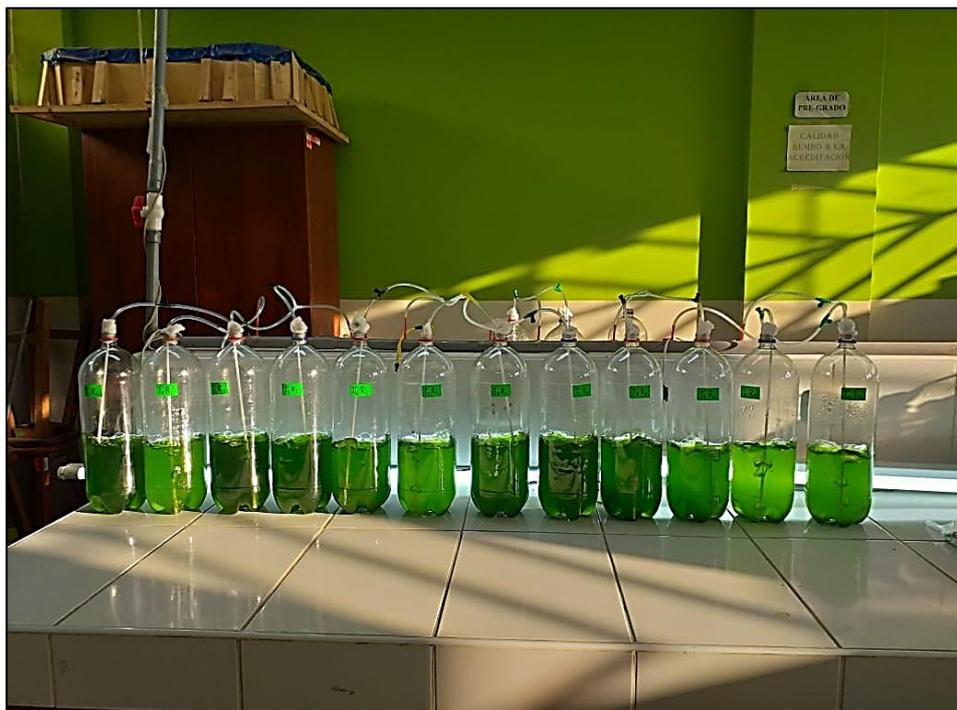
**Tabla 2.** Densidad Poblacional ( $\times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>) de *S. acutus* en los cultivos con ECM y tratamiento control (HM).

Días de cultivo	Control (HM)	EFLUENTE (mL L <sup>-1</sup> )		
		20	40	60
0	2.44 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.44 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.44 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.44 ± 0.00 <sup>a</sup>
1	4.07 ± 0.27 <sup>a</sup>	3.33 ± 0.30 <sup>a</sup>	3.40 ± 0.28 <sup>a</sup>	3.91 ± 0.30 <sup>a</sup>
2	6.04 ± 0.61 <sup>a</sup>	5.64 ± 0.80 <sup>a</sup>	5.75 ± 0.53 <sup>a</sup>	5.35 ± 0.73 <sup>a</sup>
3	10.68 ± 0.90 <sup>a</sup>	8.03 ± 0.77 <sup>b</sup>	9.07 ± 0.82 <sup>ab</sup>	8.64 ± 1.00 <sup>ab</sup>
4	15.23 ± 1.55 <sup>a</sup>	10.96 ± 0.40 <sup>b</sup>	13.81 ± 1.27 <sup>a</sup>	12.51 ± 0.65 <sup>ab</sup>
5	21.08 ± 1.18 <sup>a</sup>	15.32 ± 0.80 <sup>b</sup>	19.67 ± 1.40 <sup>a</sup>	16.73 ± 0.43 <sup>b</sup>
6	23.19 ± 0.44 <sup>a</sup>	18.12 ± 1.01 <sup>c</sup>	21.72 ± 1.62 <sup>ab</sup>	19.68 ± 0.57 <sup>bc</sup>
7	23.72 ± 0.49 <sup>a</sup>	17.25 ± 0.62 <sup>c</sup>	20.83 ± 1.04 <sup>b</sup>	19.39 ± 0.88 <sup>b</sup>

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



**Figura 5.** Densidad poblacional del cultivo de *S. acutus* con ECM y tratamiento control (HM).



**Figura 6.** Unidades experimentales al quinto día de cultivo de *S. acutus* con ECM y tratamiento control (HM).

Los cultivos de *S. acutus*, se iniciaron con valores promedio significativamente similares ( $p > 0,05$ ) de  $2.44 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>, los cuales fueron incrementándose al

transcurrir los días, con tendencias similares ( $p>0.05$ ) hasta el segundo día de cultivo microalgal.

Al tercer día de cultivo se observa mayores promedios significativos ( $p<0,05$ ) del crecimiento poblacional de *S. acutus* en los tratamientos dosificados con 40, 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM y HM, con  $9.07 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>,  $8.64 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y  $10.68 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

En el cuarto día de cultivo, las mayores densidades poblacionales de *S. acutus* se presentaron en los tratamientos dosificados con HM y 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM con valores significativos ( $p<0,05$ ) de  $15.23 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y  $13.81 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>, respectivamente; seguido del tratamiento con 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $12.51 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y el menor valor en el tratamiento dosificado con 20 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $10.96 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>.

Al quinto día de cultivo, las mayores densidades poblacionales de *S. acutus* se presentaron en los tratamientos dosificados con HM y 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM con valores significativos ( $p<0,05$ ) de  $21.08 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y  $19.67 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>, respectivamente; mientras que los menores valores ( $p>0,05$ ) se presentó en los tratamientos dosificados con 60 mL L<sup>-1</sup> y 20 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $16.73 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y  $15.32 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>.

Al sexto día de cultivo, la mayor densidad poblacional de *S. acutus* se presentó en el tratamiento control HM con un valor significativo ( $p<0,05$ ) de  $23.12 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>, seguido del tratamiento con 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $21.72 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>; mientras que los menores valores ( $p>0,05$ ) se presentó en los tratamientos dosificados con 60 mL L<sup>-1</sup> y 20 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $19.68 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y  $18.12 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> respectivamente.

De igual manera al séptimo día de cultivo, la mayor densidad poblacional ( $p<0,05$ ) de *S. acutus* se presentó en el tratamiento control HM con un valor significativo ( $p<0,05$ ) de  $23.72 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>, seguido de los tratamientos dosificados con 40 mL L<sup>-1</sup> y 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $20.83 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> y  $19.39 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup> respectivamente; y el menor valor significativo ( $p<0,05$ ) se obtuvo en el tratamiento dosificado con 20 mL L<sup>-1</sup> de ECM con  $17.25 \times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>.

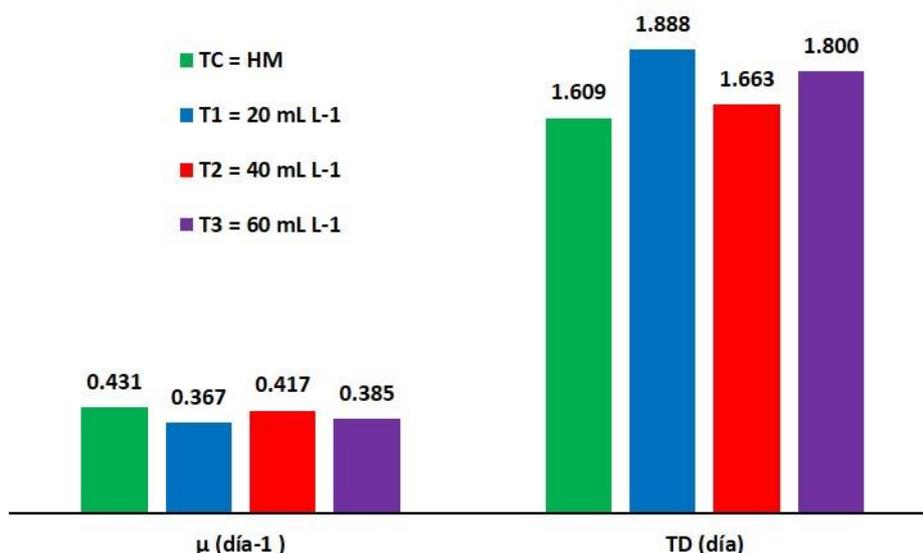
## 5.2.2 Tasa de crecimiento y tiempo de duplicación de *S. acutus*.

En la tabla 4, fig. 7, se observan la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y el tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) de *S. acutus* cultivada con ECM y tratamiento control (HM), determinados en la fase exponencial al quinto día de cultivo en todos los tratamientos.

**Tabla 3.** Tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) de *S. acutus* en los cultivos con ECM y tratamiento control (HM).

PARAMETRO	CONTROL	EFLUENTE (mL L <sup>-1</sup> )		
		20	40	60
No	2.44 ± 0.00	2.44 ± 0.00	2.44 ± 0.00	2.44 ± 0.00
Nf	21.08 ± 1.18	15.32 ± 0.80	19.67 ± 1.40	16.73 ± 0.43
Día	5	5	5	5
$\mu$ (día <sup>-1</sup> )	0.431 ± 0.011 <sup>a</sup>	0.367 ± 0.010 <sup>b</sup>	0.417 ± 0.014 <sup>a</sup>	0.385 ± 0.005 <sup>b</sup>
TD (día)	1.609 ± 0.042 <sup>b</sup>	1.888 ± 0.042 <sup>a</sup>	1.663 ± 0.055 <sup>b</sup>	1.800 ± 0.024 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la misma fila, indica diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ).



**Figura 7.** Variación de la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) de *S. acutus* en los cultivados con ECM y tratamiento control (HM).

La tasa de crecimiento poblacional diaria ( $\mu$ ) para el quinto día de cultivo de *S. acutus*, muestra el mayor valor ( $p < 0,05$ ) en el tratamiento control (HM) con 0.431  $\mu$  día<sup>-1</sup>, seguido por el dosificado con 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM con 0.417  $\mu$  día<sup>-1</sup>; mientras que la menor  $\mu$  ( $p < 0,05$ ), se observó en los tratamientos

dosificados con 20 y 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM, con 0.385 μ día<sup>-1</sup> y 0.367 μ día<sup>-1</sup> respectivamente.

Así mismo se encontró que el tiempo de duplicación poblacional diaria (TD) para el quinto día de cultivo de *S. acutus* fue significativamente mayor (p<0,05) en los tratamientos dosificados con 20 y 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM con 1.888 día y 1.800 día respectivamente; mientras, que los menores valores significativos del TD (p<0,05) se obtuvo en el tratamiento con 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM con 1.663 día y el control (HM) con 1.609 día.

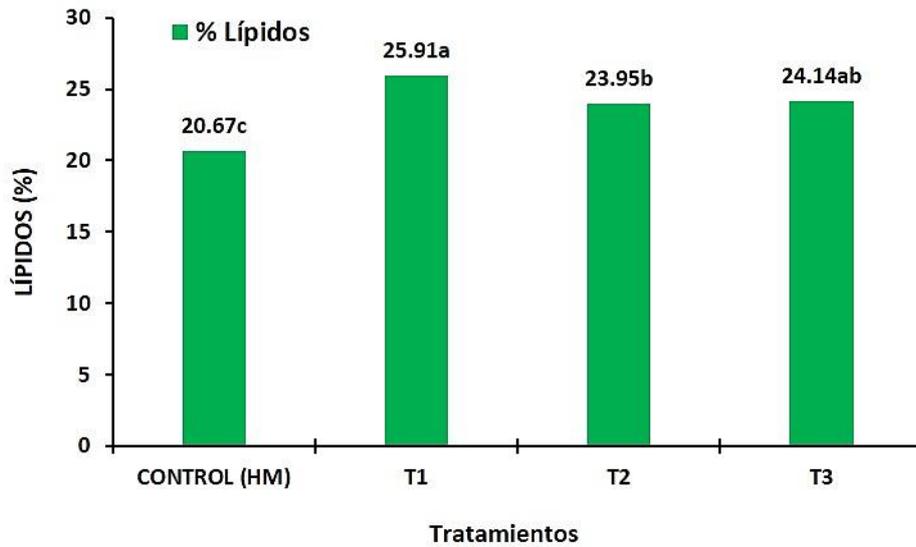
### 5.3 Contenido de lípidos en *S. acutus*.

En la tabla 5, fig. 8 y 9, se pueden observar los promedios del contenido de lípidos como porcentaje (%) y biomasa (mg L<sup>-1</sup>) de *S. acutus* analizados al quinto día de cultivo para todos los tratamientos.

**Tabla 4.** Contenido de lípidos en porcentaje (%) y en biomasa (mg L<sup>-1</sup>) al quinto día de *S. acutus* cultivado con ECM y tratamiento control HM.

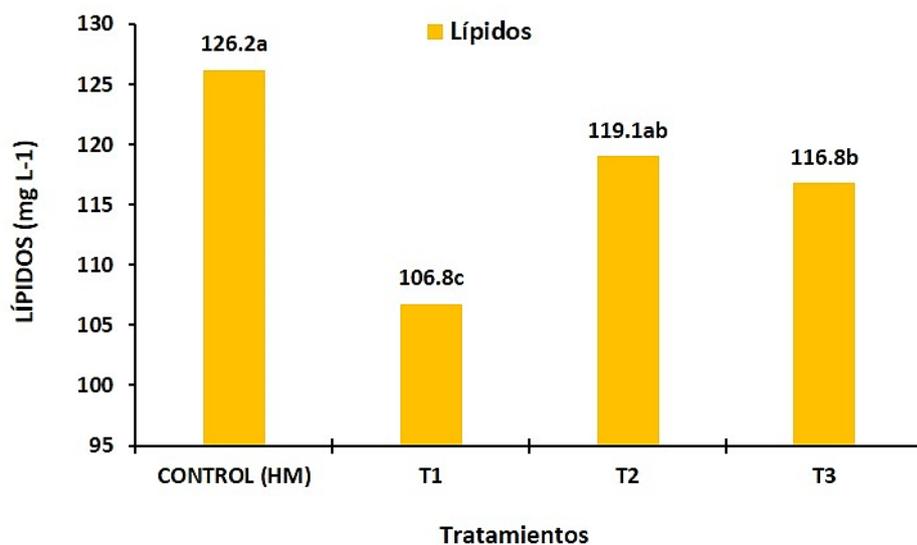
PARÁMETRO	CONTROL (HM)	EFLUENTE (mL L <sup>-1</sup> )		
		20	40	60
Biomasa (mg L <sup>-1</sup> )	610.7 ± 18.0 <sup>a</sup>	412.7 ± 30.3 <sup>c</sup>	497.3 ± 9.0 <sup>b</sup>	484.7 ± 25.2 <sup>b</sup>
Lípidos (%)	20.67 ± 0.61 <sup>c</sup>	25.91 ± 0.73 <sup>a</sup>	23.95 ± 0.68 <sup>b</sup>	24.14 ± 0.91 <sup>ab</sup>
Lípidos (mg L <sup>-1</sup> )	126.2 ± 4.3 <sup>a</sup>	106.8 ± 5.0 <sup>c</sup>	119.1 ± 1.7 <sup>ab</sup>	116.8 ± 2.0 <sup>b</sup>

Letras diferentes en la misma fila, indica diferencia significativa (α=0.05).



**Figura 8.** Contenido de lípidos como porcentaje de *S. acutus* en los tratamientos cultivados con ECM y control (HM).

El contenido de lípidos como porcentaje de *S. acutus* en el quinto día de cultivo, presento mayores promedios significativos ( $p < 0,05$ ) en los tratamientos dosificados con 20 y 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM con 25.91 y 24.14 % respectivamente; seguido del tratamiento con 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM con 23.95 %; mientras que el menor promedio significativo ( $p < 0.05$ ) se presentó en el tratamiento control (HM) con 20.67 %.



**Figura 9.** Contenido de lípidos como biomasa de *S. acutus* en los tratamientos cultivados con ECM y control (HM).

El contenido de lípidos como biomasa ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de *S. acutus* en el quinto día de cultivo, presento el mayor promedio significativo ( $p < 0,05$ ) en el tratamiento control (HM) con  $126.2 \text{ mg L}^{-1}$ , seguido de los tratamientos dosificados con 40 y  $60 \text{ mL L}^{-1}$  de ECM con  $119.1$  y  $116.8 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente; mientras que el menor promedio significativo ( $p < 0,05$ ) se presentó en el dosificado con  $20 \text{ mL L}^{-1}$  de ECM con  $106.8 \text{ mg L}^{-1}$ .

#### 5.4. Composición química del medio

La determinación química del medio experimental reveló que incorporó la mayoría de los nutrientes necesarios para el crecimiento microalgal. La tabla 6 muestra la cuantificación de los nutrientes del medio experimental ECM. El sodio fue el nutriente con mayor concentración ( $433.72 \text{ ppm}$ ), seguido del calcio ( $184.7 \text{ ppm}$ ). Se destaca la presencia de Sílice en cantidades significativas ( $39.39 \text{ ppm}$ ). Asimismo, la presencia de magnesio ( $40.39 \text{ ppm}$ ) y potasio ( $88.5 \text{ ppm}$ ). Por su parte el nitrógeno tuvo una concentración de  $1.9 \%$ , mientras que el fósforo estuvo en concentraciones  $>25 \text{ ppm}$ . Aquí notamos una diferencia importante en cuanto al ratio N:P.

**Tabla 5.** Composición química del medio experimental ECM.

Elemento	Concentración (ppm)	Elemento	Concentración (ppm)
Plata (Ag)	<0.002	Manganeso (Mn)	0.1567
Aluminio (Al)	1.629	Molibdeno (Mo)	0.0172
Arsénico (As)	<0.005	Sodio (Na)	433.72
Boro (B)	0.8342	Níquel (Ni)	0.0038
Bario (Ba)	0.0906	Fósforo (P)	>25
Berilio (Be)	<0.0002	Plomo (Pb)	0.0058
Calcio (Ca)	184.7	Antimonio (Sb)	<0.003
Cadmio (Cd)	<0.0001	Selenio (Se)	0.012
Cerio (Ce)	<0.009	Sílice ( $\text{SiO}_2$ )	39.39
Cobalto (Co)	<0.0006	Estaño (Sn)	0.0558
Cromo (Cr)	0.0035	Estroncio (Sr)	0.9153
Cobre (Cu)	0.0279	Titanio (Ti)	0.0358
Hierro (Fe)	7.024	Talio (Tl)	<0.002
Mercurio (Hg)	<0.001	Vanadio (V)	0.0054
Potasio (K)	88.5	Zinc (Zn)	0.1334
Litio (Li)	0.008	Nitrógeno Amoniacal (%)	1.9
Magnesio (Mg)	40.39		

Basado en las composición química determinada en el medio de cultivo, se ha estimado una relación N:P:K:Fe de 1.9:88.5:25:7.02, respectivamente. En base a estas cantidades se obtiene las siguientes concentraciones por tratamiento:

**Tabla 6.** Concentración de N, P, K y Fe por cada tratamiento.

<b>Tratamiento</b>	<b>N (ppm)</b>	<b>P (ppm)</b>	<b>K (ppm)</b>	<b>Fe (ppm)</b>
T1 (20 mL L <sup>-1</sup> )	0.38	17.70	5.00	1.40
T2 (40 mL L <sup>-1</sup> )	0.76	35.4	10.00	2.81
T3 (60 mL L <sup>-1</sup> )	1.14	53.1	15.00	4.21

## VI. DISCUSIÓN

El cultivo de microalgas es un campo que ha crecido ampliamente en las recientes décadas, sin embargo, aún enfrenta problemas relacionados a su escalamiento, principalmente relacionados a los costos que involucra su cultivo y procesamiento (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). En este ámbito, diversas iniciativas se han propuesto para reducir los costos de producción, dentro de las cuales tenemos la generación de medios alternativos y/o el uso de efluentes (Martínez-Córdova et al., 2012). En esta investigación se ha estudiado al efluente de camal para el cultivo de *S. acutus*, observando buenos rendimientos en biomasa y contenido de lípidos.

Los medios alternativos suelen ser complejos, es decir que su composición química es muy heterogénea debido a las sustancias orgánicas presentes (Rojas et al., 2009), por lo que determinar las concentraciones de cada elemento puede resultar tedioso. Por lo tanto, para el caso del efluente del camal, se consideró que presentó alta carga orgánica por el olor y coloración observado (Anexo 2), no obstante, las concentraciones de nutrientes pueden fluctuar dependiendo del momento en que se realiza el muestreo. Sin embargo, resulta necesario conocer el perfil químico del medio usado, ya que los valores de nitrógeno y fósforo suelen ser relativamente altos en este tipo de muestras, como se ha descrito en un trabajo anterior que determinó niveles de 4700 y 79 ppm de nitrógeno y fósforo total, respectivamente, en efluentes de camal (Muñoz & Palomino, 2019).

Asimismo, es importante mencionar que nuestra investigación ha determinado las concentraciones de 33 elementos presentes en el efluente del camal (Tabla 6). No se han encontrado otros estudios en donde se caractericen todos estos elementos, lo cual denota que nuestros resultados representan una contribución importante en el estudio de estos efluentes. Ello termina siendo ventajoso, ya que podemos determinar algunos nutrientes que podrían mejorar o limitar el crecimiento de microalgas, o direccionar el medio para otras especies de las cuales ya se conocen los requerimientos nutricionales (Darvehei et al., 2018; Rashid et al., 2015). Es así que, nuestro análisis demuestra que el medio experimental es adecuado para su utilización en los cultivos microalgales, en especial para el cultivo de *S. acutus*.

Bajo este enfoque, el análisis químico reveló que el compuesto con mayor concentración fue el sodio (433.72 ppm); aunque no es uno de los principales nutrientes,

pero, en conjunto con el potasio (88.5 ppm), tiene un rol biológico importante en el mantenimiento de la homeostasis celular (Salas-Herrera et al., 2015). Es interesante mencionar que en la sangre del ganado es común encontrar niveles alrededor de 6.102 ppm de potasio (Donnelly et al., 1978), por lo que consideramos que las altas concentraciones son aportes de las heces y/o residuos de vísceras que terminan en el efluente. A pesar de que la concentración es alta, las microalgas cuentan con mecanismos de adaptación a la salinidad (halotolerancia), pudiendo tolerar niveles de hasta 12 UPS en el caso de *Scenedesmus* sp. (Morales et al., 2019), por lo que inferimos que, pese a su alta concentración, no ha interferido en el crecimiento de *S. acutus*.

El segundo nutriente con mayor concentración en el medio experimental fue el calcio (184.7 ppm). Se reporta que el calcio en sangre de ganado puede estar entre  $20.3 \pm 11.02$  ppm (Dayananda et al., 2019), sin embargo, en los efluentes de camal puede fluctuar debido al aporte de otros residuos que se incorporan. A diferencia del sodio, el calcio tiene una función más importante en el metabolismo de las microalgas, principalmente en los procesos fotosintéticos (Rocha & Vothknecht, 2012) y en la división celular (Wang et al., 2011), además de ser co-factor de otras enzimas (Liang et al., 2009), y a nivel experimental se ha demostrado que puede mejorar la síntesis de lípidos en *Chlorella vulgaris* y *S. obliquus* (Gorain et al., 2013). Cabe señalar que, aunque encontramos importantes cantidades de calcio, lo mencionado anteriormente sugiere que este no fue limitante para el crecimiento de la microalga; por el contrario, resulta ventajoso para asegurar un crecimiento óptimo, como se ha reportado en un estudio que determinó mayor crecimiento cuando se incorpora  $230 \text{ mg L}^{-1}$  de Ca bajo condiciones de heterotrofia, no obstante, bajo condiciones de heterotrofia, a concentraciones de 20 a  $23 \text{ mg L}^{-1}$ , limita en crecimiento (Di Caprio et al., 2018). De esta forma, al incorporarse sustancias orgánicas del efluente de camal se promueve el crecimiento de *S. acutus*. En ese sentido, inferimos que las diferencias en crecimiento deben estar más relacionadas a la dosificación del nitrógeno y el fósforo.

Uno de los nutrientes más importantes para el crecimiento de las microalgas es el nitrógeno, el cual en nuestro análisis fue cuantificado como nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_3$ ), proveniente del aporte de la sangre y las heces de los animales. En efluentes de camal de otras localidades se han registrado niveles superiores de nitrógeno ( $2100 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Quille & Donaires, 2013), muy por encima de la cantidad determinada para nuestro medio (1.9 %),

reforzando la teoría de los medios complejos. A pesar de ello, se considera que las cantidades incorporadas en el medio representan un aporte importante para el crecimiento de las microalgas, ya que según Quinn et al. (2011), el límite mínimo de nitrógeno es de  $0.001 \text{ g g}^{-1}$  de biomasa. Además, se sabe que el nitrógeno limita el crecimiento, pero también puede usarse como un factor estresante para aumentar la síntesis de lípidos cuando se encuentra en cantidades por debajo de las óptimas (Peccia et al., 2013; Wu et al., 2013; Yaakob et al., 2021), concordando con las mayores cantidades de lípidos encontradas con  $20 \text{ mL L}^{-1}$  de ECM (25,91%), aunque con la concentración de 40 y  $60 \text{ mL L}^{-1}$ , se obtienen concentraciones ligeramente inferiores, 23.95 y 24.14%, respectivamente, pero diferentes estadísticamente ( $p < 0,05$ ) para la concentración de  $40 \text{ mL L}^{-1}$ . La reducción en la cantidad de lípidos con 40 y  $60 \text{ mL L}^{-1}$  puede atribuirse a la mayor disposición de los nutrientes del medio, que promueve un mayor contenido de proteína y biomasa.

Por otro lado, el fósforo presentó una concentración relativamente alta (25 ppm), en comparación a los niveles requeridos para el crecimiento óptimo de *S. acutus*, que de acuerdo a Roopnarain et al. (2014), se encuentra entre 1-179 ppm, demostrando también la gran capacidad de tolerancia al fósforo por las microalgas. En *Scenedesmus* sp., dosificaciones de 50 ppm de fósforo logra rendimientos de 22.3% de lípidos, mientras que, reduciendo la disposición de fosforo a 1 ppm se incrementan los lípidos hasta 42.5%, además, se ha observado la reducción de los pirenoides responsables de la fijación del  $\text{CO}_2$  con 1 y 0.5 ppm (Yang et al., 2018). Asimismo, un estudio en donde se evaluó la limitación del nitrógeno (2.5 ppm) y fósforo (0.1 ppm) en *Scenedesmus* sp., reveló que esta microalga acumula 30 y 53% de lípidos, respectivamente (Xin et al., 2010), de lo que se infiere que el fósforo puede ser un mejor factor estimulante (cuando se limita) para la producción de lípidos.

De igual forma, debemos mencionar el aporte de otros nutrientes que se cuantificaron en menor cantidad, como el hierro (7.024 ppm) y magnesio (40.39 ppm). El hierro es un micronutriente vital para la vida, aunque requerido en pequeñas cantidades para funciones fotosintéticas y enzimáticas en las microalgas (Rana & Prajapati, 2021). Tao et al. (2020), determinaron un óptimo crecimiento de *S. acuminatus* a 1 ppm de hierro, mientras que Tharavathy & Krishnamoorthy (2014), establecieron un  $\text{LC}_{50}$  de 175 ppm para *S. acuminatus*, considerándola como una especie altamente tolerable a hierro. En concordancia, estudios en *S. quadricauda* han establecido que este elemento resulta menos

tóxico que el cadmio, plomo, cobre y zinc (Fargasova, 1999). En nuestro ensayo, la concentración de hierro suministrada está por debajo del límite letal, por lo que no observamos interferencias en el crecimiento de *S. acutus*; sin embargo, un estudio con mayores concentraciones de ECM podría determinar la letalidad del hierro cuando se emplee efluentes de camal. El magnesio, por otro lado, participa mayormente como átomo central de la clorofila y no se considera tóxico (Wang et al., 2014), de tal manera que, no ha interferido con el crecimiento en los cultivos. Además, cuantificamos una importante cantidad de sílice (39.39 ppm), lo cual indica que los efluentes de camal serían una alternativa viable para el cultivo de diatomeas, un grupo de microalgas importantes para la producción de lípidos (Haro, 2011; Manrique, 2015), que puede ensayarse en futuros estudios. Asimismo, inferimos que las concentraciones mínimas de otros elementos (Tabla 5) no han interferido con el crecimiento.

Es importante señalar que, a diferencia de otros tipos de efluentes residuales, como efluentes municipales o industriales, el efluente de camal utilizado no presentó cantidades significativas de elementos tóxicos, como metales pesados, lo cual resulta ventajoso para el cultivo de microalgas, cabiendo las posibilidades de su posterior aplicación (uso de la biomasa) en procesos como elaboración de piensos, bio-fertilizantes, etc, que deberá ser cuidadosamente estudiado. A pesar de ello, debemos reconocer que las concentraciones de aluminio fueron relativamente altas (1,629 ppm), sin embargo, esto lo atribuimos al proceso de preparación del medio (cocción a 100°), en donde se infiere que hubo desprendimiento de aluminio por el material del recipiente en donde se hirvió el efluente, lo cual puede ser materia de estudio en futuros trabajos que aborden el uso de otros materiales y metodologías para la preparación del efluente del camal como medio de cultivo.

Las observaciones de las condiciones de cultivo, en conjunto con el buen aporte nutritivo del medio experimental, determinado con el análisis químico, nos sugiere que el medio experimental con efluente de camal permite un crecimiento óptimo para la microalga *S. acutus*, similar al logrado con el medio HM. Los cultivos con medio HM suelen tener altos rendimientos ( $>0.70 \text{ g L}^{-1}$ ) debido al aporte balanceado de N, P, K y Fe; nutrientes que fueron optimizados especialmente para esta especie (Castillo et al., 1980). En contraste, el crecimiento obtenido con el medio experimental fue ligeramente inferior, aunque diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) al control. Asimismo, se determinó diferencias

estadísticas entre los tratamientos experimentales en el día 7, demostrando que el aporte de nutrientes puede afectar el crecimiento; en donde, el tratamiento con 40 mL L<sup>-1</sup> presentó el mayor crecimiento, sin embargo, el tratamiento de 60 mL L<sup>-1</sup> fue similar estadísticamente ( $p < 0.05$ ). Es interesante observar que con estos dos tratamientos (40 y 60 mL L<sup>-1</sup>) se logra un crecimiento similar ( $20.83 \pm 1.04$  y  $19.39 \pm 0.88$ , respectivamente), corroborando la gran adaptabilidad de esta especie, como ya se ha mencionado anteriormente; además, queda abierta la posibilidad de aumentar las dosificaciones en futuros ensayos, lo que resultaría ventajoso para reutilizar mayor volumen de efluente de camal.

Por su parte, el tratamiento con 20 mL L<sup>-1</sup> fue el que presentó menor crecimiento, pero mayor contenido de lípidos. Este comportamiento concuerda con lo reportado por diferentes autores, en donde se ha obtenido mayores contenidos de lípidos con menores dosificaciones de medio, ya sea HM u otro que se derive de fuentes orgánicas (López y Ríos, 2014; Jara y Roque, 2016; Calderón & Chávez, 2019; Cam & Mostacero, 2019; Gonzales & Reyes, 2022). Asimismo, se ha demostrado que la incorporación de una fuente orgánica mejora el crecimiento, y promueve mayor producción de lípidos bajo ciertas condiciones de estrés (Capa-Robles et al., 2021). Cabe precisar que *S. acutus* no es considerada una especie oleaginosa, sin embargo, *S. obliquus*, *S. dimorphus* y *S. quadricauda* han sido señaladas como especies con alto potencial para la obtención de lípidos, con niveles de producción de 10-17, 16-40, 1-9 % de lípidos, respectivamente (Mutanda et al., 2020). En tal sentido, nuestra cepa estaría en un nivel de producción de lípidos similar a *S. dimorphus*. Además, las condiciones de estrés permiten mejorar su perfil lipídico, lo cual es ventajoso para: a) obtener biocombustibles (Pushpakumari et al., 2018) y/o b) mejorar su bromatología nutricional con ácidos grasos polinsaturados bajo crecimiento heterotrófico (Leal-Medina et al., 2017).

Debemos además mencionar que, los valores de  $\mu$  han sido superiores con el medio HM (control) para el tratamiento de 20 y 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM, pero estadísticamente similar con el tratamiento de 40 mL L<sup>-1</sup> (Tabla 3). De la misma forma, el TD fue estadísticamente similar entre el control y el tratamiento de 40 mL L<sup>-1</sup>. Es importante notar que, todos los tratamientos presentaron buenos valores de  $\mu$  y TD, a pesar de las diferencias estadísticas. En ese sentido, asumimos que estas diferencias están relacionadas con el tiempo de adaptación que requiere la microalga para cada concentración de efluente.

Por otro lado, el cultivo de microalgas se encuentra condicionado por diferentes factores ambientales, tales como la luz, temperatura, pH, fuentes de C, nitratos, fosfatos (Kumar et al., 2018). De tal manera que para obtener un buen crecimiento microalgal, estos factores deben encontrarse en un rango óptimo. En tal sentido, Julio et al. (2017), mencionan que la mayoría de las microalgas desarrollan tasas de crecimiento máximo en un rango de temperatura entre 20 y 25 °C; sin embargo, algunas especies como *Chlorella* soportan hasta 36 °C, mientras que *Tetrademus* no tolera más de 23 °C (Martínez et al., 2022). Por su parte, Zhang et al. (2019), demostraron que *Scenedesmus* sp. soporta un amplio rango temperatura entre 20 y 35 °C; además, Gonzales et al. (2022), mencionan que la temperatura óptima para el crecimiento de *Scenedesmus* es de  $27 \pm 2$  °C, y por encima de este valor el cultivo llega a morir por sobrecalentamiento, lo cual generalmente se da a 10 °C por encima del valor óptimo (Queiroz et al, 2018). En el presente experimento con ECM las temperaturas registradas se encuentran entre 23.5 y 24.7 °C, siendo cercano a los reportado por Gonzales et al. (2022), y se encuentran dentro del rango mencionado por Zhang et al. (2019).

Respecto al pH en el cultivo de microalgas, Saphira et al., (2019) reportaron que el rango del pH se encuentra entre 7 y 8 unid., pero son sensibles a las variaciones de pH, y cada especie tiene un rango óptimo para su crecimiento, tal es el caso de *Chlorella vulgaris* que puede crecer en un rango de 6 y 10 unid. siendo el pH 8 apropiado para permitir mejor cinética de crecimiento, mientras que a pH ácido se ralentiza su crecimiento (Josephine et al., 2022). Así mismo, en *Scenedesmus* sp., Li y Chi. (2021), consideran que el rango más productivo se encuentra entre 7 y 8 unidades, siendo el pH 7.5 el punto óptimo para alcanzar altas tasas de crecimiento y productividad de biomasa. Sin embargo, el pH se ve influenciado por el medio de cultivo tal como lo demostraron, Xiong et al., (2020) al cultivar *Scenedesmus obliquus* en aguas residuales y el pH se elevó hasta 10.85 unid.

En referencia a los mencionado por los diferentes autores, los valores de pH encontrados en el cultivo experimental con ECM fluctuaron entre 7.73 y 9.08 unid. Valores cercanos a lo considerado por Garibay et al., (2009), quienes mencionan que las condiciones adecuadas de pH en los cultivos microalgales varían entre 6.5 y 9.5 unidad. Por ende, el pH y la temperatura registrados en el experimento, no tendrían influencias en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *S. acutus*.

## VII. CONCLUSIONES

- El medio de cultivo experimental ECM estuvo compuesto de todos los nutrientes requeridos para el cultivo de *S. acutus*. Se determinó altas concentraciones de sodio (433.72 ppm), calcio (184.7 ppm), potasio (88.5 ppm), magnesio (40.39 ppm), sílice (39.39), fósforo (>25 ppm), hierro (7.024 ppm) y nitrógeno (1.9 ppm). Asimismo, nuestro análisis de los nutrientes reveló que el medio experimental no contuvo metales pesados en elevadas concentraciones.
- El máximo crecimiento poblacional ( $20.83 \pm 1.04 \times 10^6$  cel mL<sup>-1</sup>) se obtuvo con 40 mL L<sup>-1</sup> de ECM, sin embargo, no se observó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) con el tratamiento de 60 mL L<sup>-1</sup> de ECM ( $19.39 \pm 0.88 \times 10^6$  cel mL<sup>-1</sup>). Sin embargo, la mayor producción de lípidos (25.91%) se logró con el tratamiento de 20 mL L<sup>-1</sup>.
- Nuestros resultados representan una contribución al estudio de los efluentes, y pueden ser tomados como una nueva metodología para su aplicación en canales municipales con la finalidad de reutilizar sus efluentes.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda escalar los cultivos y trabajar bajo mayores concentraciones en piletas o fotobiorreactores al aire libre.
- Evaluar el contenido de proteína y pigmentos en cultivos en laboratorio y al aire libre.
- Realizar evaluaciones periódicas de la composición química de los efluentes con la finalidad de determinar su fluctuación en el tiempo.
- Estudiar otros factores de estrés, como fotoperiodo, salinidad y pH, usando el efluente de camal, con la finalidad de mejorar la producción de lípidos.
- Ampliar el estudio con muestras de camal de diferentes localidades.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acién-Fernández, F. G., Fernández-Sevilla, J. M., Molina-Grima, E. (2018). Contribución de las microalgas al desarrollo de la bioeconomía. *Mediterr. Econ.* 31, 309-332.
- Amorim, M., Soares, J., Vieira, B., Silva, W., Martins, M. (2020). Extraction of proteins from the microalga *Scenedesmus obliquus* BR003 followed by lipid extraction of the wet deproteinized biomass using hexane and ethyl acetate. *Bioresource Technology*, 307, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123190>
- Aziz, A., Basheer, F., Sengar, A., Irfanullah, Khan, S., Haq, I. (2019). Biological wastewater treatment (anaerobic-aerobic) technologies for safe discharge of treated slaughterhouse and meat processing wastewater. *Science of the Total Environment*, 686, 681-708. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.295>
- Bligh, E. & Dyer, W. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917
- Calderón Cárdenas, L. M., & Chávez Estrada, P. del C. (2019). Efecto de la concentración de Sanguaza (obtenida del procesamiento artesanal de especies hidrobiológicas) en el crecimiento poblacional y en el contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio. *Repositorio Institucional - UNS*. <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3417>
- Cam Zavaleta, P. C., & Mostacero Ramírez, F. P. (2019). 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. *Repositorio Institucional - UNS*. <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3541>
- Capa-Robles, W., García-Mendoza, E., & Paniagua-Michel, J. de J. (2021). Enhanced  $\beta$ -carotene and Biomass Production by Induced Mixotrophy in *Dunaliella salina* across a Combined Strategy of Glycerol, Salinity, and Light. *Metabolites*, 11(12), Art. 12. <https://doi.org/10.3390/metabo11120866>
- Castillo S, J., Merino M, F., & Heussler, P. (1980). Production and ecological implications of algae mass culture under Peruvian conditions. *Algae Biomass : Production and Use / [Sponsored by the National Council for Research and Development, Israel and the Gesellschaft Fur Strahlen- Und Umweltforschung (GSF), Munich, Germany] ; Editors, Gedaliah Shelef, Carl J. Soeder*. [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Production+and+ecological+implications+of+algae+mass+culture+under+Peruvian+conditions&author=Castillo+S%2C+J.&publication\\_year=1980](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Production+and+ecological+implications+of+algae+mass+culture+under+Peruvian+conditions&author=Castillo+S%2C+J.&publication_year=1980)
- Cerón, L., Miramag, K., Izquierdo, P., Ortiz, F. (2018). Efecto de las variaciones de las fuentes de nitrógeno, fósforo y mezcla de micronutrientes en agua residual municipal para la producción de biomasa de *Scenedesmus* sp. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 30, 121-128.
- Chawla, P., Malik, A., Sreekrishnan, T.R., Dalvi, V. & Gola, D. (2020). Selection of optimum combination via comprehensive comparison of multiple algal cultures for

- treatment of diverse wastewaters. *Environmental Technology and Innovation*, 18, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100758> 2
- Chawla, P., Gola, D., Dalvi, V., Ramaswamy, T., Udayangani, T., Malik, A. (2022). Design and development of mini-photobioreactor system for strategic high throughput selection of optimum microalgae-wastewater combination. *Bioresource Technology Reports*, 17, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100967>
- Darvehei, P., Bahri, P. A., & Moheimani, N. R. (2018). Model development for the growth of microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 97, 233-258. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.08.027>
- Dayananda, K., Muhandiram, S., Wickremasinghe, H., Abayalath, N., Siriwardhana, A., & Kodithuwakku, S. (2019). *ASSESSMENT OF HEAVY METALS IN THE CATTLE BLOOD FROM CHRONIC KIDNEY DISEASE OF UNKNOWN AETIOLOGY (CKDU) ENDEMIC AND NON-ENDEMIC AREA IN SRI LANKA*.
- De Matos Nasmiento, A., Romario, V., Oliveira, E., Costa, J., Otenio, M. (2020). Quantitative microbial risk assessment of occupational and public risks associated with bioaerosols generated during the application of dairy cattle wastewater as biofertilizer. *Science of the Total Environment*, 745, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140711>
- De Mendonca, H., Balbaud, J., Otenio, M., Ramos, I., Delgado, A. (2018). Microalgae-mediated bioremediation and valorization of cattle wastewater previously digested in a hybrid anaerobic reactor using a photobioreactor: Comparison between batch and continuous operation. *Science of The Total Environment*, 633, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.157>
- Di Caprio, F., Altimari, P., & Pagnanelli, F. (2018). Effect of Ca<sup>2+</sup> concentration on *Scenedesmus* sp. growth in heterotrophic and photoautotrophic cultivation. *New biotechnology*, 40, 228-235.
- Donnelly, E. B., Delaney, R. A. M., & Hurley, N. (1978). Studies on Slaughter Animal Blood Plasma: I. Composition of Bovine and Porcine Plasma. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 2(1), 31-38.
- Fan, H., Wang, K., Wang, C., Yu, F., He, X., Ma, J., Li, X. (2020). A comparative study on growth characters and nutrients removal from wastewater by two microalgae under optimized light regimes. *Environmental Technology & Innovation*, 19, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100849>
- Fargasova, A. (1999). The green alga *Scenedesmus quadricauda*—A subject for the study of inhibitory effects of Cd, Cu, Zn and Fe. *Section Cellular and Molecular Biology*. [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=The+green+alga+Scenedesmus+quadricauda++a+subject+for+the+study+of+inhibitory+effects+of+Cd%2C+Cu%2C+Zn+and+Fe&author=Fargasova%2C+A.+%28Slovak+Univ.+of+Technology%2C+Bratislava+%28Slovak+Republic%29.+Faculty+of+Chemical+Technology%29&publication\\_year=1999](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=The+green+alga+Scenedesmus+quadricauda++a+subject+for+the+study+of+inhibitory+effects+of+Cd%2C+Cu%2C+Zn+and+Fe&author=Fargasova%2C+A.+%28Slovak+Univ.+of+Technology%2C+Bratislava+%28Slovak+Republic%29.+Faculty+of+Chemical+Technology%29&publication_year=1999)
- Garibay, A., Vázquez-Duhalt, R., Sánchez, M., Serrano, L., Martínez, A. (2009). Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología*. 13(3):38-61.

- Gao, F., Cui, W., Xu, J., Li, C., Jin, W., Yang, H. (2019). Lipid accumulation properties of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* in membrane photobioreactor (MPBR) fed with secondary effluent from municipal wastewater treatment plant. *Renewable Energy*, 136, 671-676. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.01.038>
- González-Falfán, K., Guerrero-Barajas, C., Badillo-Corona, J., Fernández-Linares, L. (2021). Production of metabolites from *Scenedesmus* sp. and a microalgal consortium cultured in unconventional media. *Ciencias Marinas*, 47(2), 89-103. <https://doi.org/10.7773/cm.v47i2.3138>
- González, J., Rodríguez, E., Guzmán, J., Acien, F., Visioli, A. (2022). Optimización de temperatura en reactores raceway para la producción de microalgas mediante regulación de nivel. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial* 19, 164-173. <https://doi.org/10.4995/riai.2021.16586>
- Gonzales Gongora, G. J., & Reyes Chu, X. K. (2022). Efecto de diferentes concentraciones del procesamiento de *Saccharum officinarum* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*. *Repositorio Institucional - UNS*. <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3995>
- Gorain, P. C., Bagchi, S. K., & Mallick, N. (2013). Effects of calcium, magnesium and sodium chloride in enhancing lipid accumulation in two green microalgae. *Environmental Technology*, 34(13-14), 1887-1894. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.812668>
- Guillard, R. (1975). Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. *Advances in Microbiology*, 4(5), 29-60. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9\\_3](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3)
- Han, w., Jin, W., Li, Z., Wei, Y., He, Z., Chen, C., Qin, C., Chen, Y., Tu, R., Zhou, X. (2021). Cultivation of microalgae for lipid production using municipal wastewater. *Process Safety and Environmental Protection*, 155, 155-165. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.09.014>
- Haro, P. A. (2011). *Evaluación y manejo biotecnológico de una cepa chilena de diatomea penada como potencial fuente de lípidos para la producción de biodiesel*.
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157-173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Huang, H., Zhong, S., Wen, S., Luo, C., Long, T. (2022). Improving the efficiency of wastewater treatment and microalgae production for biofuels. *Resources, Conservation and Recycling*, 178, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.106094>
- Jara Liñán, P. D., & Roque Sánchez, M. A. (2016). Efecto de la concentración del efluente del procesamiento de la flor de Tagetes Erecta “Marigold” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de la microalga *Scenedesmus Acutus*, en laboratorio. *Universidad Nacional del Santa*. <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2747>

- Josephine, A., Kumar, T., Surendran, B., Rajakumar, S., Kirubakaran, R., Dharani, G. (2022). Evaluating the effect of various environmental factors on the growth of the marine microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Front. Mar. Sci.*, 9, 1-5. doi: 10.3389/fmars.2022.954622
- Julio, C., Rocha, B., Guajardo, C., Barceló, I., López, U. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO<sub>2</sub>. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52 (3); 417-427. DOI 10.4067/S0718-19572017000300001
- Kona, R., Pallerla, P., Addipilli, R., Sripadi, P., Mohan, S. (2021). Lutein and  $\beta$ -carotene biosynthesis in *Scenedesmus* sp. SVMICT1 through differential light intensities. *Bioresource Technology*, 341, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125814>
- Kumar, M., Enamala, S., Chavali, M., Donepudi, J., Yadavalli, R., Kolapalli, B., Aradhyula, T., Velpuri, J. & Kuppam, C. (2018). Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 94, 49-68. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.012>
- Laila, D., Fatin, S., Ali, Y., Shaza, E., Koji, I., Norhayati, A., Kazuya, S., Joni, H. (2022). Enhanced cultivation and lipid production of isolated microalgae strains using municipal wastewater. *Environmental Technology & Innovation*, 27, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102444>
- Leal-Medina, G. I., Abril Bonett, J. E., Martínez Gélvez, S. J., Muñoz Peñaloza, Y. A., Peñaranda Lizarazo, E. M., & Urbina Suárez, N. A. (2017). Producción de ácidos grasos poliinsaturados a partir de biomasa microalgal en un cultivo heterotrófico. *Revista Ion*, 30(1), 91-103.
- Liang, W., Wang, M., & Ai, X. (2009). The role of calcium in regulating photosynthesis and related physiological indexes of cucumber seedlings under low light intensity and suboptimal temperature stress. *Scientia Horticulturae*, 123(1), 34-38. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.07.015>
- Li, G., Hu, R., Wang, N., Yang, T., Xu, F., Li, J., Wu, J., Huang, Z., Pan, M., Lyu, T. (2022). Cultivation of microalgae in adjusted wastewater to enhance biofuel production and reduce environmental impact: Pyrolysis performances and life cycle assessment. *Journal of Cleaner Production*, 355, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131768>
- Li, L. & Chi, K. (2021). A Comparative Study of *Scenedesmus dimorphus* Cultured with Synthetic and Actual Wastewater. *Water*, 13, 1-13. <https://doi.org/10.3390/w13213060>
- Liu, Y., Sean, Y., Rittmann, B. (2019). Increased anode respiration enhances utilization of short-chain fatty acid and lipid wet-extraction from *Scenedesmus acutus* biomass in electro-selective fermentation. *Renewable Energy*, 30, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.10.043>
- Liu, J., Yin, J., Ge, Y., Han, H., Liu, M., Gao, F. (2021). Improved lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* with high nutrient removal efficiency by mixotrophic

- cultivation in actual municipal wastewater. *Chemosphere*, 285, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131475>
- López, A., Silva, A., Aguilar, O., Senés, C., Orozco, D., Carrillo, D., Gradilla, M. (2022). Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. *Journal of Environmental Management*, 308, 1-32. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114612>
- López Saravia, S. B., & Ríos Peña, J. J. (2014). Efecto de la concentración celular de *Scenedesmus Acutus* cultivado con extracto acuoso de valvas de concha de abanico, *Argopecten Purpuratus*, en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Brachionus Calyciflorus* en condiciones de laboratorio. *Universidad Nacional del Santa*. <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2756>
- Manrique, M. L. (2015). *Evaluación de cultivos de Diatomeas (Bacillariophyta) colectadas en el Archipiélago Schetland del sur de la Antártida para la producción de lípidos* [B.S. thesis]. Quito: UCE.
- Martínez-Córdova, L. R., Campaña-Torres, A., Martínez-Porchas, M., López-Elías, J. A., & García-Sifuentes, C. O. (2012). Efecto de medios alternativos sobre la producción y composición proximal de la microalga *Chaetoceros muelleri* como alimento en cultivo del copépodo *Acartia* sp. *Latin american journal of aquatic research*, 40(1), 169-176.
- Martinez, M., Vasquez, K., Losoya, L., Gonzales, S., Robledo, F., Aquines, O., Iqbal, H. & Parra, R. (2022). Microalgae growth rate multivariable mathematical model for biomass production. *Heliyon*, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12540>
- Marsh, J. & D. Weinstein. (1966). Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid Res.* 7, 574-576.
- Merino, F. (1999). Efecto del ácido acético con sustrato limitante en el crecimiento de *Scenedesmus acutus* usando cultivos batch. Informe de Investigación. Universidad Nacional del Santa. Nuevo Chimbote, Perú.
- Ministerio del Ambiente [MINAM]. (2009). Límites Máximos Permisibles para efluentes de actividades agroindustriales tales como plantas de camales y plantas de beneficio. Disponible:[http://www.minam.gob.pe/consultaspublicas/wpcontent/uploads/sites/52/2014/02/lmp\\_camales.pdf](http://www.minam.gob.pe/consultaspublicas/wpcontent/uploads/sites/52/2014/02/lmp_camales.pdf)
- Mondal, S., Bera, S., Mishra, R., Roy, S. (2022). Redefining the role of microalgae in industrial wastewater remediation. *Energy Nexus*, 6, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100088>
- Morales, E., Macías, D., García, L., Loor, Y., & Plúas, L. (2019). Efecto de la salinidad y pH en la composición bioquímica de la microalga *Scenedesmus* sp. En cultivos discontinuos. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales*, 13(1), Art. 1. <https://doi.org/10.53591/cna.v13i1.352>
- Muñoz, Y. Y., & Palomino, S. E. (2019). Influencia de la concentración del tio<sub>2</sub> y tiempo de tratamiento en la degradación de las aguas residuales de camal por fotocatalísis

heterogénea. *Universidad Nacional del Centro del Perú*.  
<http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/5054>

- Mutanda, T., Naidoo, D., Bwapwa, J. K., & Anandraj, A. (2020). Biotechnological applications of microalgal oleaginous compounds: Current trends on microalgal bioprocessing of products. *Frontiers in Energy Research*, 8, 598803.
- Niwas, K., Chiranjib, B., Sheeja, J. (2021). Identification, characterization, and lipid profiling of microalgae *Scenedesmus* sp. NC1, isolated from coal mine effluent with potential for biofuel production. *Biotechnology Reports*, 30, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00621>.
- Peccia, J., Haznedaroglu, B., Gutierrez, J., & Zimmerman, J. B. (2013). Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. *Trends in biotechnology*, 31(3), 134-138.
- Pushpakumari Kudahettige, N., Pickova, J., & Gentili, F. G. (2018). Stressing Algae for Biofuel Production: Biomass and Biochemical Composition of *Scenedesmus dimorphus* and *Selenastrum minutum* Grown in Municipal Untreated Wastewater. *Frontiers in Energy Research*, 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenrg.2018.00132>
- Queiroz, M., Maroneze, M., Silva, A., Guerra, J., Queiroz, L., Jacob, E. (2018). Enhanced single-cell oil production by cold shock in cyanobacterial cultures. *Ciência Rural*, 48(11); 1-8. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180366>
- Quille, G., & Donaires, T. (2013). Tratamiento de efluentes líquidos y sólidos de camal municipal Ilave. *Rev. Investig. Altoandin*, 15, 65-72.
- Quinn, J., de Winter, L., & Bradley, T. (2011). Microalgae bulk growth model with application to industrial scale systems. *Bioresource Technology*, 102(8), 5083-5092. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.019>
- Rana, M. S., & Prajapati, S. K. (2021). Resolving the dilemma of iron bioavailability to microalgae for commercial sustenance. *Algal Research*, 59, 102458. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102458>
- Rashid, N., Rehman, M. S. U., & Han, J.-I. (2015). Enhanced growth rate and lipid production of freshwater microalgae by adopting two-stage cultivation system under diverse light and nutrients conditions. *Water and Environment Journal*, 29(4), 533-540. <https://doi.org/10.1111/wej.12110>
- Ram, S., Paliwal, C., Mishra, S. (2019). Growth medium and nitrogen stress sparked biochemical and carotenogenic alterations in *Scenedesmus* sp. CCNM 1028. *Bioresource Technology Reports*, 7, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100194>
- Ren, H., Kong, F., Zhao, L., Ren, N., Ma, J., Nan, J., Liu, B. (2019). Enhanced co-production of biohydrogen and algal lipids from agricultural biomass residues in long-term operation. *Bioresource Technology*, 289, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121774>

- Rocha, A. G., & Vothknecht, U. C. (2012). The role of calcium in chloroplasts—An intriguing and unresolved puzzle. *Protoplasma*, 249(4), 957-966. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0373-3>
- Rojas, D. F., Garrido, M. F., & Bonilla, R. R. (2009). Estandarización de un medio de cultivo complejo para la multiplicación de la cepa C50 de *Rhizobium* sp. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 10(1), 70-80.
- Roopnarain, A., Gray, V. M., & Sym, S. D. (2014). Phosphorus limitation and starvation effects on cell growth and lipid accumulation in *Isochrysis galbana* U4 for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 156, 408-411. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.092>
- Salas-Herrera, G., Benavides-Mendoza, A., & Zermeño-González, A. (2015). *Evaluación de microalgas para la producción de biomasa económicamente útil usando aguas producidas\** *Evaluation of microalgae for the production of economically useful biomass using produced water*.
- Sánchez, S. E. (2018). Tecnología de gestión de los efluentes líquidos del carnal municipal de Chachapoyas, Amazonas, 2017. *Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(2), 17-22. <http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v3i2.314>
- Saphira, R., Apandi, N., Safwan, M., Gani, P., Saeed, A., Hashim, A., Fitriani, N. (2019). Effect of pH and light intensity on the growth and biomass productivity of microalgae *Scenedesmus* sp. *Eco. Env. & Cons.*, 25, 1-6.
- Sathasivam, R., Ki, J. (2018). A Review of the Biological Activities of Microalgal Carotenoids and Their Potential Use in Healthcare and Cosmetic Industries. *Marine drugs*, 16 (36), 1-36. doi:10.3390/md16010026
- Shen, Y., Yu, T., Xie, Y., Chen, J., Ho, S., Wang, Y., Huang, F. (2019). Attached culture of *Chlamydomonas* sp. JSC4 for biofilm production and TN/TP/Cu(II) removal. *Biochemical Engineering Journal*, 141, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.017>
- Tao, R., Bair, R., Lakaniemi, A.-M., van Hullebusch, E. D., & Rintala, J. A. (2020). Use of factorial experimental design to study the effects of iron and sulfur on growth of *Scenedesmus acuminatus* with different nitrogen sources. *Journal of Applied Phycology*, 32(1), 221-231. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01915-5>
- Tharavathy, N. C., & Krishnamoorthy, M. (2014). Impact of iron on the biodiversity of algae and protozoa in oxidation ponds. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Science*, 3(1), 77-84.
- Trichez, D., Bergmann, J., Garcia, L., Jungmann, L. (2019). Ethanol as a green alternative fuel: insight and perspectives. *Nova Science Publishers*, 2, 21-25
- Vásquez, E., Zavaleta, T., Mendoza, S., Merino, J. (2020). Efecto de efluentes municipales en el crecimiento y contenido de lípidos de la microalga *Scenedesmus acutus* en laboratorio. *Rev. Tayacaja*, 3(2), 125-134. DOI: <https://doi.org/10.46908/riect.v3i2.117>
- Vijay, D., Upadhyay, A., Singh, R., Singh, D. (2022). Implication of municipal wastewater on growth kinetics, biochemical profile, and defense system of *Chlorella vulgaris* and

- Scenedesmus vacuolatus*. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102334>
- Wang, S., Zhao, S.-X., Wei, C.-L., Yu, S.-Y., Shi, J.-P., & Zhang, B.-G. (2014). [Effect of magnesium deficiency on photosynthetic physiology and triacylglyceride (TAG) accumulation of *Chlorella vulgaris*]. *Huan Jing Ke Xue= Huanjing Kexue*, 35(4), 1462-1467.
- Wang, Y.-W., Zhao, J., Li, J.-H., Li, S.-S., Zhang, L.-H., & Wu, M. (2011). Effects of Calcium Levels on Colonial Aggregation and Buoyancy of *Microcystis aeruginosa*. *Current Microbiology*, 62(2), 679-683. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9762-7>
- Wu, L. F., Chen, P. C., & Lee, C. M. (2013). The effects of nitrogen sources and temperature on cell growth and lipid accumulation of microalgae. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 506-510.
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., & Ying-xue, S. (2010). Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101(14), 5494-5500. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.016>
- Xiong, J. Q., Cui, P., & Ru, S. (2020). Biodegradation of doxylamine from wastewater by a green microalga, *Scenedesmus obliquus*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 584020.
- Yaakob, M. A., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana Gokare, R., & Ambati, R. R. (2021). Influence of Nitrogen and Phosphorus on Microalgal Growth, Biomass, Lipid, and Fatty Acid Production: An Overview. *Cells*, 10(2), 393. <https://doi.org/10.3390/cells10020393>
- Yang, F., Xiang, W., Li, T., & Long, L. (2018). Transcriptome analysis for phosphorus starvation-induced lipid accumulation in *Scenedesmus* sp. *Scientific Reports*, 8(1), 16420. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34650-x>
- Ye, C., Mu, D., Horowitz, N., Xue, Z., Chen, J., Xue, M., Zhou, Y., Klutts, M., Zhou, W. (2018). Life cycle assessment of industrial scale production of *Spirulina* tablets. *Algal Research*, 34, 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.013>
- Ye, S., Gao, L., Zhao, J., An, M., Wu, H., Li, M. (2020). Simultaneous wastewater treatment and lipid production by *Scenedesmus* sp. HXY2. *Bioresource Technology*, 302, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122903>
- Zhang, Y., Ren, L., Chun, H., Zhou, X., Yao, T., Zhang Y. (2019). Optimization for *Scenedesmus obliquus* Cultivation: the Effects of Temperature, Light Intensity and pH on Growth and Biochemical Composition. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 47(4), 614-620. <http://dx.doi.org/10.4014/mbl.1906.06005>
- Zhang, C., H, S., Li, A., Zhou, D. (2020). Co-culture of *Chlorella* and *Scenedesmus* could enhance total lipid production under bacteria quorum sensing molecule stress. *Journal of Water Process Engineering*, 30, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101739>

## ANEXOS

**Anexo 1.** Poza de efluentes en el camal municipal de Chimbote.



**Anexo 2.** Efluente de camal usado en los ensayos experimentales.



**Anexo 3.** Medio experimental posterior a la esterilización.



**Anexo 4.** Cultivos de *S. acutus* con medio ECM al inicio del experimento.



**Anexo 5.** Temperatura (°C) en los cultivos de *S. acutus* con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)			ECM (mL L <sup>-1</sup> )								
				20			40			60		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	23.9	23.8	23.9	23.8	23.9	23.7	23.9	24.1	23.8	23.9	23.8	23.9
1	23.5	23.7	23.5	23.6	23.8	23.7	23.8	23.6	23.8	23.7	23.6	23.4
2	24.6	24.8	24.6	24.6	24.3	24.7	24.6	24.6	24.8	24.5	24.4	24.7
3	23.8	23.7	23.8	23.8	23.9	23.9	23.8	24.1	23.9	24.1	24.1	23.8
4	24.4	24.2	23.9	24.3	24.1	24.1	24.2	24.1	24.2	24.4	24.6	24.3
5	24.4	24.1	24.5	24.3	24.4	24.3	24.3	24.1	24.3	24.3	24.1	24.2
6	24.7	24.5	24.6	24.5	24.4	24.6	24.5	24.7	24.4	24.6	24.7	24.6
7	23.8	23.7	23.9	24.2	23.9	24.1	24.1	23.9	23.9	23.9	24.2	23.9

**Anexo 6.** Temperatura promedio (°C; ± D.E.) en los cultivos de *S. acutus* con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)	ECM (mL L <sup>-1</sup> )		
		20	40	60
0	23.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	23.9 ± 0.1 <sup>a</sup>
1	23.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.6 ± 0.2 <sup>a</sup>
2	24.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	24.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.5 ± 0.2 <sup>a</sup>
3	23.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	23.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	24.0 ± 0.2 <sup>a</sup>
4	24.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	24.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.4 ± 0.2 <sup>a</sup>
5	24.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	24.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.2 ± 0.1 <sup>a</sup>
6	24.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	24.6 ± 0.1 <sup>a</sup>
7	23.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	24.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	24.0 ± 0.2 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la misma fila, indica diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ).

**Anexo 7.** Valores de pH en los cultivos de *S. acutus* con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)			ECM (mL L <sup>-1</sup> )								
				20			40			60		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	7.79	7.80	7.81	7.75	7.88	7.73	7.81	7.76	7.91	7.88	7.78	7.80
1	8.10	8.12	8.14	8.11	8.15	8.09	8.21	8.13	8.18	8.18	8.17	8.16
2	8.62	8.74	8.70	8.71	8.82	8.75	8.93	8.72	8.86	8.88	8.81	9.05
3	8.89	8.91	8.92	8.74	8.86	8.82	8.99	8.83	8.93	8.94	8.92	9.08
4	8.89	8.80	8.82	8.69	8.76	8.74	8.78	8.69	8.71	8.79	8.71	8.81
5	8.80	8.71	8.79	8.65	8.57	8.57	8.64	8.62	8.59	8.71	8.68	8.61
6	8.69	8.65	8.64	8.54	8.58	8.47	8.59	8.66	8.49	8.51	8.54	8.57
7	8.68	8.64	8.61	8.48	8.39	8.61	8.49	8.62	8.51	8.49	8.45	8.58

**Anexo 8.** Valores de pH promedio ( $\pm$  D.E.) en los cultivos de *S. acutus* con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)	ECM (mL L <sup>-1</sup> )		
		20	40	60
0	7.80 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	7.79 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	7.83 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	7.82 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
1	8.07 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	8.10 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	8.17 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	8.21 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
2	8.66 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	8.76 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	8.84 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	8.91 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
3	8.91 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	8.81 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	8.92 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	8.98 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
4	8.87 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	8.68 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	8.73 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	8.75 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
5	8.77 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	8.60 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	8.62 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	8.67 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>
6	8.66 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	8.53 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	8.58 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	8.54 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
7	8.64 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	8.49 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	8.54 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	8.51 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la misma fila, indica diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ).

**Anexo 9.** Densidad poblacional ( $\times 10^6$  cél. mL<sup>-1</sup>;  $\pm$  D.E.) de *S. acutus* con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)			ECM (mL L <sup>-1</sup> )								
				20			40			60		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44
1	4.20	4.24	3.76	3.68	3.20	3.12	3.40	3.12	3.68	4.20	3.60	3.92
2	6.72	5.84	5.56	5.56	6.48	4.88	5.64	6.32	5.28	6.12	5.24	4.68
3	10.92	9.68	11.44	7.92	7.32	8.84	9.92	8.28	9.00	8.84	9.52	7.56
4	15.76	13.48	16.44	10.96	11.36	10.56	13.96	12.48	15.00	12.00	13.24	12.28
5	22.12	21.32	19.80	14.52	16.12	15.32	19.20	18.56	21.24	16.36	17.20	16.64
6	23.60	23.24	22.72	17.68	17.40	19.28	21.40	20.28	23.48	19.24	20.32	19.48
7	24.04	23.16	23.96	17.32	16.60	17.84	19.64	21.28	21.56	20.28	18.52	19.36

**Anexo 10.** Tasa de crecimiento ( $\mu$ ) y Tiempo de duplicación diaria (TD) poblacional de *S. acutus* con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)			ECM (mL L <sup>-1</sup> )								
				20			40			60		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
N0	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44	2.44
Nf	22.12	21.32	19.80	14.52	16.12	15.32	19.20	18.56	21.24	16.36	17.20	16.64
Día	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
$\mu$ (Día <sup>-1</sup> )	0.441	0.434	0.419	0.357	0.378	0.367	0.413	0.406	0.433	0.381	0.391	0.384
TD (Día)	1.572	1.599	1.655	1.943	1.836	1.886	1.680	1.708	1.602	1.821	1.775	1.805

**Anexo 11.** Biomasa, absorbancia, porcentaje y biomasa de lípidos de *S. acutus* cultivada con ECM y control (HM).

DÍA DE CULTIVO	CONTROL (HM)			ECM (mL L <sup>-1</sup> )								
				20			40			60		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Biomasa (mg x 10 mL)	6.28	6.12	5.92	4.34	4.26	3.78	4.88	4.98	5.06	4.58	4.88	5.08
Biomasa (mg L <sup>-1</sup> )	628.0	612.0	592.0	434.0	426.0	378.0	488.0	498.0	506.0	458.0	488.0	508.0
ABS	0.554	0.518	0.531	0.468	0.460	0.428	0.511	0.497	0.504	0.488	0.492	0.504
Lípidos (%)	20.84	19.99	21.19	25.47	25.51	26.75	24.73	23.57	23.53	25.17	23.82	23.44
Lípidos (mg L <sup>-1</sup> )	130.86	122.36	125.43	110.55	108.66	101.10	120.71	117.40	119.05	115.27	116.22	119.05