

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

“Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *Arapaima gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.”

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

Autor:

Bach. Richarte Enriquez, Héctor Joel

Asesor:

Dr. Merino Moya, Juan Fernando

Nuevo Chimbote – Perú

2023

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

“Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *Arapaima gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.”

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

Autor:

Bach. Richarte Enriquez, Héctor Joel

Revisado y aprobado por el Asesor

Dr. Merino Moya, Juan Fernando
DNI: 17909299
Código ORCID: 0000-0002-4848-3190

Nuevo Chimbote – Perú

2023

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

“Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *Arapaima gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.”

Sustentado por

Bach. Richarte Enriquez, Héctor Joel

Revisado y aprobado por el Jurado Evaluador

Dr. Saldaña Rojas, Guillermo Belisario
Presidente

DNI: 18114311

ORCID: 0000-0003-4877-1165

MSc. Mendoza Espinoza, Sorayda
Secretaria

DNI: 32924785

ORCID: 0000-0002-9212-8030

Dr. Merino Moya, Juan Fernando
Integrante

DNI: 17909299

ORCID: 0000-0002-4848-3190

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 acuicultura Continental y Nutrición siendo las 12:00 horas del día 29 de Noviembre, dando cumplimiento a la Resolución N° 333-2023-UNS-FC se reunió el Jurado Evaluador presidido por Guillermo Saldaña Rojas, teniendo como miembros a Sorayda Mendoza Espinoza (secretario) (a), y Juan Fernando Merino Hoya (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biólogo Acuicultor realizado por el, (la), (los) tesista (as) Bach. Hecar Joel Richarte Enriquez

....., quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: "Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de Arapaima gigas en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de Nannochloropsis Sp."

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 28/19 puntos, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU.-R-UNS)

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

.....
Nombre: Guillermo Saldaña Rojas
Presidente

.....
Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza
Secretario

.....
Nombre: Juan Fernando Merino Hoya
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (3), tesistas (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: Héctor Joel Richarte Enriquez
Título del ejercicio: TRABAJOS DE TESIS
Título de la entrega: Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *Arapaima g...*
Nombre del archivo: INFORME_FINAL_REVISADO_DICIEMBRE.docx
Tamaño del archivo: 1.51M
Total páginas: 44
Total de palabras: 10,628
Total de caracteres: 58,454
Fecha de entrega: 07-dic.-2023 07:12p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entre... 2217601795

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



Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *Arapaima gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.

Tesis para optar el Título de
BIÓLOGO ACUICULTOR

Autor:
Bach. Héctor Joel Richarte Enriquez

Asesor:
Dr. Juan Fernando Merino Moya

Nuevo Chimbote - Perú
2023

Efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *Arapaima gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	3%
3	ojs3.unpatti.ac.id Fuente de Internet	1%
4	www.researchgate.net Fuente de Internet	1%
5	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	<1%
6	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	<1%
7	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1%
8	dspace.utb.edu.ec Fuente de Internet	<1%

DEDICATORIA

A mi padre Héctor Richarte Sánchez a mi madre María Enriquez de Richarte, quienes me apoyaron en todo momento, a mi hijo Hector Alejandro Richarte, quien fue uno de mis motivos para mi superación, a mis hermas Lilia y Sonia, a mis sobrinas, a mis abuelitos, a mi tío-padrino Saúl Trajtman por sus consejos y muy en especial a mí querida y amada tía-madrina Irma Richartti Sánchez (RICHI) quien me cuida desde el cielo y a la que llevare siempre en mi mente y corazón, a Rosa Sellerico Guerra, quien me cuido en mi niñez, a todos mis familiares y amigos.

Richarte Enriquez, Héctor Joel

AGRADECIMIENTO

A Dios, porque me dio el don de la perseverancia para lograr mi meta.

A mis tías Hilda y Ruth López Escudero, por su apoyo incondicional durante mis prácticas pre profesionales.

A Mis padrinos, Bertha Chavarry y Lisandro Padilla, a mis vecinos Estuardo Lujan, Perpetua Ávalos, Jelver y Enrique Lujan, quienes me apoyaron con sus consejos.

A la Mg. Silvia María Paredes Valverde por sus consejos y apoyo constante para el logro de mi objetivo.

A mi asesor el Dr. Jun Fernando Merino Moya por sus enseñanzas y dedicar su tiempo para las correcciones y elaboración de mi informe.

Al Dr. Luis Campoverde Vigo, por darme apertura al reinicio de mi carrera.

A mis docentes de la Escuela Profesional de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa – Chimbote, por guiarme y brindarme sus conocimientos durante todo el periodo universitario.

A mis compañeros de estudio con quienes compartí buenos y malos momentos durante mis estudios universitarios.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis de investigación	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1 Obtención del lodo y preparación del medio experimental	8
3.2 Caracterización química del medio experimental	8
3.3 Diseño experimental	9
3.4 Procedencia de la microalga.....	9
3.5 Acondicionamiento de los cultivos experimentales	10
3.6 Determinación del crecimiento poblacional	10
3.7 Determinación de la biomasa	11
3.8 Cuantificación de lípidos totales	11
3.9 Registro de los parámetros físico-químicos	11
3.10 Análisis estadístico	11
IV. RESULTADOS.....	12
4.1 Caracterización química del medio experimental	12
4.2 Crecimiento poblacional	12
4.3 Biomasa.....	15
4.4 Contenido de lípidos totales	15
4.5 Parámetros físico-químicos.....	16
V. DISCUSIÓN.....	17
VI. CONCLUSIONES	23
VII. RECOMENDACIONES	24
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental de la investigación.	9
Tabla 2. Composición química del medio de cultivo HM.	10
Tabla 3. Composición química del medio experimental analizada mediante ICP.	12
Tabla 4. Análisis estadístico del crecimiento poblacional de los cultivos experimentales. .	13
Tabla 5. Tasa de crecimiento poblacional (μ) y tiempo de duplicación (TD) de los cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp. en el día 7.	14
Tabla 6. Biomasa de los cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp.	15
Tabla 7. Concentraciones de lípidos totales de los cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp.	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flujograma de elaboración del medio experimental EALP.	8
Figura 2. Esquema del escalamiento de la microalga <i>Nannochloropsis</i> sp.	9
Figura 3. Crecimiento poblacional de los cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp.	13
Figura 4. Unidades experimentales en el día 1 (arriba) y 7 (abajo).	14
Figura 5. Variación de la temperatura de los cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp.	16
Figura 6. Variación del pH de los cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp.	16

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Placa de cultivo de la microalga <i>Nannochloropsis</i> sp.	30
Anexo 2. Almacenamiento del medio experimental.....	30
Anexo 3. Acondicionamiento de las unidades experimentales.	31
Anexo 4. Datos del crecimiento poblacional.....	31
Anexo 5. Datos de la temperatura de los cultivos.	32
Anexo 6. Datos del pH de los cultivos.....	32
Anexo 7. Análisis químico del medio realizado en COLECBI.....	33

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *A. gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp. Se utilizó lodo del cultivo de *A. gigas* del Cite Acuícola Pesquero Ahuashiyacu (Tarapoto-Perú), con el que se elaboró mediante un proceso térmico un extracto acuoso de lodo de paiche (EALP) que se utilizó como medio de cultivo experimental. Se realizó un análisis de inducción de plasma acoplado (ICP) para determinar los principales elementos químicos del medio. Las concentraciones experimentales fueron de 100, 150 y 200 mL/L de EAP y como control se usó el medio HM. El mayor crecimiento poblacional ($3590.00 \pm 91.24 \times 10^4$ cel/mL) se obtuvo con el tratamiento de 200 mL/L, el cual presentó diferencia estadística significativa con el tratamiento de 150 mL/L ($3407.67 \pm 17.21 \times 10^4$ cel/mL); además, todos los tratamientos experimentales superaron al tratamiento control con medio HM. El contenido de lípidos en los tratamientos experimentales (25.00 ± 4.00 , 24.40 ± 1.64 , y $24.67 \pm 0.58\%$) fueron menor al control ($29.67 \pm 1.53\%$). Los resultados demuestran la factibilidad de utilizar el lodo como medio de cultivo de *Nannochloropsis* sp., aunque con este medio se obtienen menor contenido de lípidos.

Palabras clave: microalgas, *Nannochloropsis*, lípidos, lodos, paiche.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of the aqueous extract of *A. gigas* culture sludge on the population growth and lipid content of *Nannochloropsis* sp. *A. gigas* culture sludge from the Cite Acuicola Pesquero Ahuashiyacu (Tarapoto-Peru) was used to produce an aqueous extract of paiche sludge (EALP) through a thermal process, which was used as the experimental culture medium. A coupled plasma induction coupled plasma (ICP) analysis was performed to determine the main chemical elements of the medium. Experimental concentrations were 100, 150 and 200 mL/L of EAP and HM medium was used as control. The highest population growth ($3590.00 \pm 91.24 \times 10^4$ cells/mL) was obtained with the 200 mL/L treatment, which presented a significant statistical difference with the 150 mL/L treatment ($3407.67 \pm 17.21 \times 10^4$ cells/mL); in addition, all experimental treatments outperformed the control treatment with HM medium. The lipid contents in the experimental treatments (25.00 ± 4.00 , 24.40 ± 1.64 , and $24.67 \pm 0.58\%$) were lower than the control ($29.67 \pm 1.53\%$). The results demonstrate the feasibility of using sludge as a culture medium for *Nannochloropsis* sp. although lower lipid content is obtained with this medium.

Keywords: microalgae, *Nannochloropsis*, lipids, sludge, paiche.

I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas están capacitadas para biotransformar las sustancias orgánicas en biomasa, lo cual posibilita el desarrollo de metodologías y/o procedimientos conducentes a la utilización del lodo del cultivo de paiche a fin de evitar la deposición de dichos lodos al medio ambiente, que ocasionan impactos negativos sobre la vida (Dolganyuk *et al.*, 2020). Adicionalmente, a través de la utilización de lodos involucra la transformación de residuos en biomasa algal. Este proceso conlleva la reducción consiguiente de los impactos ambientales adversos, al mismo tiempo que disminuye los costos asociados a la producción de biomasa algal (Wang *et al.*, 2022). Además, este proceso de cultivo de microalgas tiene el potencial de generar sustancias químicas altamente solicitadas en sectores clave como la acuicultura, la industria, la energía y la alimentación. Entre estas sustancias se incluyen proteínas, pigmentos, lípidos, entre otros.

Las microalgas tienen interés económico y han sido objeto de estudio por sus diversas aplicaciones (Kandasamy *et al.*, 2022). En acuicultura son utilizadas para la alimentación de organismos en estadios larvales y enriquecimiento de presas vivas (Roy *et al.*, 2022), en sistemas de tratamientos de aguas residuales se emplean por su capacidad de asimilación de nutrientes y remoción de metales pesados (Revollo, 2023), en la generación de biocombustibles por las altas cantidades de lípidos que se pueden obtener modificando las condiciones de cultivo (Suparmaniam *et al.*, 2023) y en la industria farmacéutica las microalgas son requeridas *et al* por los compuestos químicos de interés comercial que estas sintetizan (Laurens., 2017).

Los cultivos de microalgas representan una actividad viable para la producción de diversas sustancias, como ácidos grasos poliinsaturados, DHA (ácido docosahexaéico) y EPA (ácido eicosapentaéico), carotenoides, pigmentos, proteínas, ficocianina, ficoeritrina, exopolisacáridos, vitaminas como la A, B1, B2, B6, C, y E, minerales, ácidos grasos poliinsaturados (omega – 3 y omega – 6) y antioxidantes (carotenos) y otros biocompuestos de alto interés (Del Campo *et al.*, 2007; Quevedo *et al.*, 2008). Las mismas también tienen un alto contenido en proteínas, aunque su utilización es muy controvertida debido a los elevados costos de producción que impide competir con los alimentos tradicionales (Ahmad & Ashraf, 2023).

En el contexto actual, se buscan mitigar los impactos ambientales causados por las diferentes actividades del hombre, que ha llevado al calentamiento global, el cual advierte

sobre escenarios catastróficos en un mediano plazo. Es por ello que, resulta necesario abordar los diferentes problemas de contaminación, entendiendo que para que el sector acuícola se desarrolle sostenidamente debe tener una huella ecológica muy baja.

Arapaima gigas, “paiche”, es uno de los dos peces más grandes de América del Sur, que alcanza a medir más de 2 metros de longitud y pesar más de 100 kg (Eugenia, 2021). En el Perú, el paiche tiene una gran importancia para los habitantes de la región amazónica, ya que provee alimento y genera ingresos a través de su comercialización (Salvo-Souza & Val, 1990). En los últimos años, ha habido un notable aumento en la producción de paiche. Esto se debe a los avances tecnológicos, un mayor interés y apoyo por parte de las autoridades gubernamentales, y también gracias a la participación estratégica de inversores privados que han impulsado y ampliado esta actividad hacia áreas como Ucayali, Lima, Piura y Tumbes (Gamarra, 2022).

A pesar de la importancia económica y social del cultivo de paiche, existen pocas investigaciones relacionadas a los impactos ambientales de esta actividad. Sin embargo, por visitas académicas a centros de producción e investigación de paiche, localizados principalmente en la ciudad de Tarapoto-Perú, se ha logrado conocer sobre la problemática del lodo en el fondo de los estanques, sobre los cuales no se realiza ningún tratamiento más que su disposición sobre las áreas cercanas.

El lodo en los estanques se forma por la acumulación de materia orgánica proveniente de la alimentación y los desechos generados por los organismos en cultivo. En otros sistemas de cultivo en estanque, se ha descrito el problema de la acumulación de lodo en el fondo de los estanques, la cual causa una mala calidad de los parámetros de cultivo, principalmente sobre el oxígeno, y por lo tanto repercute sobre la crianza de los organismos (Chacchi, 2016). Para dar solución a este problema se han propuesto a las microalgas como un sistema biológico para transformar los lodos en biomasa con valor.

Recientemente, la evolución de tecnologías destinadas a la preservación ambiental y al procesamiento económico de residuos ha adquirido una importancia crítica. En este contexto, los cultivos de microalgas han emergido como una opción ambientalmente sostenible y fundamental, dada su capacidad significativa para la recuperación y reciclaje de contaminantes presentes en matrices líquidas, sólidas y gaseosas (Javed *et al.*, 2019). Esto ha significado una importante reducción de los impactos negativos por causa de los

contaminantes hacia el ambiente acuático y terrestre, que son causa de la actividad económica del hombre (Bhatt *et al.*, 2022).

Problema de investigación

¿Cuál será el efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *A. gigas* en las concentraciones de 100, 150 y 200 mL/L, en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.?

Hipótesis de investigación

Si empleamos concentraciones de 100, 150 y 200 mL/L de extracto de lodo del cultivo de *A. gigas* en el cultivo de *Nannochloropsis* sp, se obtienen mayores crecimientos poblacionales y contenido de lípidos con la concentración de 150 mL/L.

Objetivo general

- Evaluar el efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *A. gigas* en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.

Objetivos específicos

- Caracterizar el extracto acuoso de lodo del cultivo de *A. gigas*.
- Cuantificar el efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *A. gigas* en el crecimiento poblacional de *Nannochloropsis* sp.
- Cuantificar el efecto del extracto acuoso de lodo del cultivo de *A. gigas* en el contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp.

II. MARCO TEÓRICO

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos que crecen en ambientes acuáticos (Vale *et al.*, 2020). Por muchos años, las microalgas han sido aprovechadas tanto en la alimentación humana como en la de animales. En las últimas décadas, su cultivo se ha orientado hacia la obtención de suplementos nutricionales, como proteínas, lípidos y antioxidantes, además de su empleo en la gestión de residuos orgánicos y efluentes, así como en la producción de bioabono (García, 2022; Roldán, 2022).

493 especies han sido descritas con un alto potencial para su producción dirigida a generar alimento para el hombre (Revollo, 2023). Adicionalmente, se ha documentado que ciertas especies de microalgas representan un recurso alimenticio altamente valioso para los seres humanos. Ejemplos notables incluyen las harinas de *Arthrospira* y *Scenedesmus*, que se destacan por su elevado contenido proteico y su inocuidad alimentaria. Asimismo, algunas especies de microalgas, como *Chaetoceros* y *Thalassiosira*, han sido resaltadas por su utilidad como alimento para larvas de organismos acuáticos, mientras que *Dunaliella* ha suscitado interés comercial en la producción de antioxidantes. Por último, es importante destacar que ciertas especies de microalgas, como *Gymnodinium*, han sido vinculadas a episodios de mareas rojas y, por tanto, pueden tener implicaciones significativas en la salud pública (Medina *et al.*, 2012).

En la actualidad, cuatro especies de microalgas: *Dunaliella*, *Arthrospira*, *Haematococcus* y *Chlorella* representan la mayor producción mundial de biomasa algal que alcanzan las 10,000 TM anuales (Ulucan-Karnak *et al.*, 2023). En los últimos años, se han desarrollado nuevas metodologías para la producción de microalgas, direccionadas a la producción de biocombustibles, suplementos nutritivos, fármacos, cosméticos y en la biorremediación de aguas contaminadas; además, se han propuesto diversas aplicaciones de las microalgas en diversos ámbitos tecnológicos (Pacheco *et al.*, 2020). Estas aplicaciones involucran sistemas de cultivo masivo o continuo, tanto en formas vivas como procesadas, y algunas de ellas ya se hallan plenamente establecidas en el contexto de la explotación comercial (Novoveská *et al.*, 2023).

La microalga *Nannochloropsis* sp. se considera una especie prometedora para aplicaciones industriales por su capacidad de acumular altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (Assaf, 1989). Esta microalga pertenece a la clase Eustigmatophyceae, que engloba a las especies que exhiben la mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados

(PUFAs), entre los que destacan el ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA) y docosahexaenoico (DHA). Estos ácidos grasos poseen una importancia considerable en la nutrición de organismos marinos, desempeñando un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de larvas de peces, moluscos y crustáceos (Otero *et al.*, 1997; Brown *et al.*, 1999).

A. gigas es una de las cinco especies de peces de aguas dulces tropicales que forman parte de la familia Arapaimidae: *A. gigas* (Schinz 1822), *A. agassizii* (Valenciennes 1847), *A. mapae* (Valenciennes 1847), *A. arapaima* (Valenciennes 1847) y *A. leptosoma* (Stewart 2013) (IIAP, 2017). En Perú, esta especie habita en las cuencas de los ríos Napo, Putumayo, Marañón, Pastaza y Ucayali, con mayor abundancia en la Reserva Nacional Pacaya-Samiria (Alcántara *et al.* 2006). Su cultivo se realiza en estanques de 300 a 500 m², para ello se recomienda el uso de estanques de suelo arcilloso (Chu *et al.*, 2017).

El lodo en los cuerpos de agua, como en los estanques, se produce por causa de la materia orgánica que se sedimenta en el fondo, formando capas en donde ocurren procesos anaeróbicos por actividad de las bacterias. Cuando la materia orgánica aumenta rápidamente en los estanques, esta se sedimenta y se descompone, mediante un proceso de mineralización que es llevado a cabo por bacterias fermentadoras, desnitrificantes, reductoras de sulfatos o productoras de metano (Jorgensen, 1982). Esto conduce a una mala calidad del agua que puede perjudicar a los organismos en cultivo. Por tal motivo, es necesario realizar remociones periódicas del lodo. Sin embargo, estos elementos mineralizados del lodo pueden ser reutilizados para generar medios de cultivos, como se ha descrito en diversos trabajos utilizando cultivos de microalgas.

Los cultivos de microalgas que hacen uso de medios orgánicos, como el lodo, inducen modificaciones en el metabolismo de estas células al activar mecanismos relacionados con la síntesis de pigmentos o lípidos (Cañavate, 2011). En lo que respecta al empleo de sedimentos derivados de la pesquería o de actividades humanas, o datos de los volúmenes disponibles, no se dispone de registros previos en nuestro país; sin embargo, en Alemania, Thain (1992), ensayó con *T. suecica* utilizando muestras de aguas residuales y sedimentos de una ensenada obteniendo densidades en cultivos utilizando solamente agua de 15 a 45 x 10⁴ cél/mL al quinto día y de 35 a 55 x 10⁴ cél/mL al noveno día mientras que con los sedimentos obtuvo densidades de 25 a 45 x 10⁴ cél/mL al quinto día y de 40 a 160 x 10⁴ cél/mL al noveno día. Los resultados obtenidos respaldan la eficacia de emplear sedimentos

acuáticos en la producción de microalgas, además de destacar su utilidad como una medida biológica para regular la disponibilidad de nutrientes en los ecosistemas marinos.

El cultivo de microalgas a nivel de laboratorio demanda la utilización de un medio nutritivo adecuadamente formulado, compuesto por sales minerales de elevada pureza, con considerables concentraciones de nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo, potasio, hierro, entre otros (Paniagua *et al.*, 1986). El medio f/2 de Guillard (1975) es el más conocido por ser muy eficiente muchas especies de microalgas (Torretera & Tacón, 1989). No obstante, es importante destacar que este tipo de medio de cultivo se torna impracticable para su implementación a gran escala en la producción de microalgas debido al elevado coste asociado a la utilización de reactivos químicos de alta pureza y grado analítico (Martínez, 2003).

Por otra parte, se han desarrollado medios de cultivo que pueden ser elaborados utilizando fertilizantes agrícolas o subproductos tales como melazas, extractos orgánicos y residuos biodigeridos, entre otros. Además, algunos medios pueden ser preparados a partir de los subproductos generados por industrias, como las azucareras, avícolas, pesqueras o acuícolas (Hernández *et al.*, 2003).

La incorporación de estos tipos de medios en el cultivo de microalgas conlleva una notable disminución en los costos de producción, dado que su obtención resulta accesible y sencilla. En este sentido, es común la adopción de enfoques que buscan la formulación de medios de cultivo alternativos a partir de residuos provenientes de la industria pesquera y acuícola (Fernández & Paredes, 2007; Merino & Encomendero, 2012), previo tratamiento físico, químico o biológico, con el fin de evitar la presencia de microorganismos indeseados. La efectividad de estos medios de cultivo se atribuye a la versatilidad de las microalgas para aprovechar los nutrientes, tanto orgánicos como inorgánicos, que se encuentran en dichos residuos. Esta capacidad se debe a las características de plasticidad ecológica de las microalgas, que les permiten adaptarse de manera ágil a estas condiciones particulares (Fernández & Paredes, 2006).

Desde la perspectiva de la producción a gran escala de microalgas, se vuelve imperativo el empleo de medios de cultivo de bajo costo. En este contexto, se han diseñado diversos enfoques que abarcan desde fórmulas para el enriquecimiento de aguas dulces o marinas, hasta la utilización de medios artificiales que posibiliten resultados uniformes y consistentes en cuanto a la calidad de la biomasa generada (Becker, 1994).

Las microalgas son una fuente prometedora de lípidos, como el EPA y el DHA, que actualmente se obtienen principalmente del aceite de pescado (Kumar et al., 2021). La producción de lípidos en las microalgas puede ser inducida por el estrés fisiológico. Algunos reportes indican que bajo condiciones de ausencia de nitrógeno las microalgas pueden alcanzar hasta un 30.77% de lípidos (Shao *et al.*, 2017). En estas condiciones, las microalgas tienden a presentar cambios estructurales como el aumento de volumen para una mejor absorción del nitrógeno. Aunque la producción de lípidos se ve afectada principalmente por el N, se ha afirmado que la producción de lípidos también puede ser inducida por otros parámetros como la intensidad de la luz y la salinidad (Tan *et al.*, 2019).

Otras investigaciones indican que la ausencia de fósforo en el medio (menos de 2 ppm) provoca una disminución en la formación de pirenoides, la maquinaria de fijación de CO₂, ocasionando también una mayor acumulación de lípidos (Yang, 2018). Asimismo, Dávila y Dávila (2016), utilizaron lodo de la bahía El Ferrol en concentraciones de 5, 10 y 15 mL/L para el cultivo de *Tetraselmis suecica*, obteniendo mayores concentraciones de lípidos, de 23.5%, con 5 mL/L de extracto acuoso de lodo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Obtención del lodo y preparación del medio experimental

El lodo del cultivo de Paiche se recolectó en el CITE Acuícola Pesquero Ahuashiyacu, ubicado en la ciudad de Tarapoto (Perú). El lodo fue transportado vía aérea hacia al laboratorio de Evaluación de los Recursos Acuáticos y Cultivos de Especies Auxiliares, de la Escuela de Biología en Acuicultura, Universidad Nacional del Santa (Nuevo Chimbote), en un recipiente plástico herméticamente sellado a temperatura ambiente. En el laboratorio, se procedió a pesar 1 kg de lodo húmedo (80%) y se adicionó 2 L de agua potable para luego hervir por 30 minutos, tiempo en el que agitamos constantemente la mezcla para extraer eficientemente los nutrientes del lodo. Posteriormente, se dejó reposar por 1 día en refrigeración con la finalidad de separar las partículas finas de la fase acuosa. Finalmente, el sobrenadante se separó de la fase sólida y se mantuvo a 4 °C hasta su uso como medio de cultivo (Figura 2 y Anexo 2).

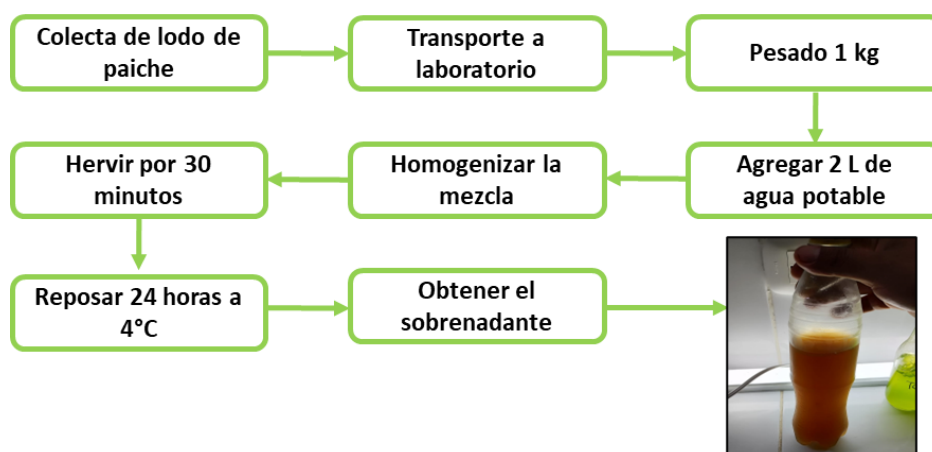


Figura 1. Flujograma de la elaboración del medio experimental EALP.

3.2 Caracterización química del medio experimental

Se realizó un análisis de Espectroscopia ICP (plasma acoplado inductivamente) de una muestra del EALP. Este método se realizó con la finalidad de cuantificar 31 elementos químicos del medio de cultivo. Además, se realizó un análisis del contenido de nitrógeno total. Estos análisis se realizaron con una muestra de 500 mL del EALP la cual fue analizada en los laboratorios acreditados de la empresa COLECBI SAC. Además, cuantificamos el amonio y nitritos del medio experimental con un kit colorimétrico Marca PRO-JBL AQUATEST LAB con un rango de medición del amonio de 0 – 2 ppm y una sensibilidad de 0.25 ppm, y un rango de medición para nitratos de 0.5 – 220 ppm y sensibilidad de 1.0 ppm.

3.3 Diseño experimental

La presente investigación tuvo un diseño experimental de estímulo creciente, en el cual se consideró evaluar tres tratamientos experimentales y un tratamiento control. Los tratamientos fueron estimados en base a pre-ensayos realizados dentro del laboratorio. Todos los tratamientos se trabajaron por triplicado para obtener promedios. Se consideró realizar cultivo de la microalga *Nannochloropsis* sp. con medio HM (control) y diferentes concentraciones (100, 150 y 200 mL/L) de extracto acuoso de lodo del cultivo de paiche (EALP). El detalle de los tratamientos experimentales se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental de la investigación.

Tratamientos	Detalle
TC	Cultivos de <i>Nannochloropsis</i> sp. con medio HM
T1	Cultivos <i>Nannochloropsis</i> sp. con 100 mL/L EALP
T2	Cultivos <i>Nannochloropsis</i> sp. con 150 mL/L EALP
T3	Cultivos <i>Nannochloropsis</i> sp. con 200 mL/L EALP

3.4 Procedencia de la microalga

La microalga *Nannochloropsis* sp. fue proporcionada por el Laboratorio de Cultivo de Especies Auxiliares de la E.A.P. de Biología en Acuicultura, de la Universidad Nacional del Santa. Esta cepa fue aislada de los humedales de Salaverry y se mantuvo en cultivos en agar (2%) sobre placas Petri (Anexo 1). Para iniciar los cultivos, se realizó un sembrado en medio líquido y el escalamiento como se detalla en la Figura 2, ello con la finalidad de generar un tamaño de inóculo suficiente para iniciar los experimentos.

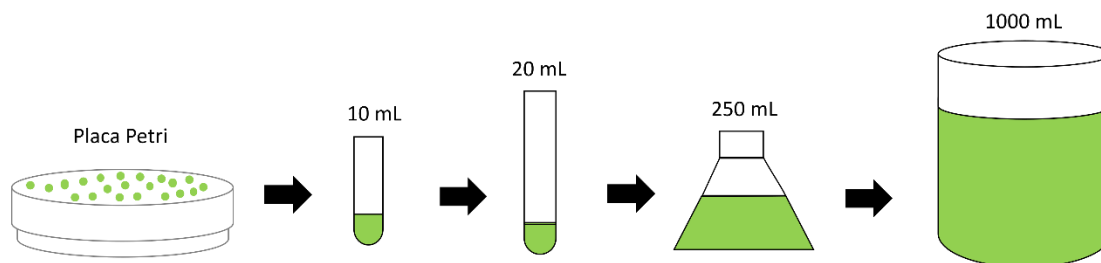


Figura 2. Esquema del escalamiento de la microalga *Nannochloropsis* sp.

Durante el escalamiento en medio líquido, las unidades de cultivo fueron agitadas constantemente por aireación provista por un blower de 1 HP e iluminadas a un fotoperiodo

de 24:0 con un fluorescente de 40 watts que emite 1500 Lux aproximadamente. El medio de cultivo utilizado para el mantenimiento de la cepa y en los escalamientos fue el medio HM (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química del medio de cultivo HM.

Nutriente	Concentración
Urea (CH ₄ N ₂ O)	206 g/L
Cloruro de potasio (KCl)	19 g/L
Ácido fosfórico (H ₃ PO ₄)	30 mL/L
Solución fierro (FeCl ₂)	2.5 g de clavos de hierro en 250 mL de HCl

Nota: la dosis para fertilizar los cultivos es de 1 mL/L de cada componente.

3.5 Acondicionamiento de los cultivos experimentales

Los cultivos experimentales se realizaron en botellas de vidrio de 300 mL de volumen total, con un volumen efectivo de 250 mL. Los cultivos fueron inoculados a una proporción de 2:10 v/v y se estimó la densidad celular inicial con un microscopio óptico Nikon y una cámara Neubauer. Posteriormente, las unidades experimentales fueron acondicionadas con aireación mediante un sistema de aireación con blower, y el flujo se reguló con un flujómetro a 1.5 L/min (Anexo 3).

Asimismo, la iluminación fue provista por un fluorescente de 40 watts que estuvo colocado en forma paralela a los cultivos. Los cultivos controles fueron dosificados con medio HM y los cultivos experimentales fueron dosificados conforme se detalla en el diseño experimental (Tabla 1). Para evitar contaminación del medio ambiente, las unidades experimentales fueron tapadas con algodón.

3.6 Determinación del crecimiento poblacional

El crecimiento poblacional de los cultivos se determinó mediante conteos diarios con un microscopio óptico y una cámara Neubauer. Para ello, se tomó una muestra de la suspensión algal de cada tratamiento con ayuda de una pipeta Pasteur, luego se fijó la muestra en el microscopio y se realizaron los conteos a un objetivo 40 X. Los cálculos de la densidad celular (cel/mL) se realizaron con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad celular (cel/mL)} = P \times 10^4 / D$$

Donde: P es el número promedio de células de los campos contados, D es la dilución y 10^4 es la constante usada para expresar el volumen en mL.

Para determinar la tasa de crecimiento poblacional (u) y el tiempo de duplicación (TD) se utilizó las siguientes fórmulas:

$$u = \ln (Nf/N0 / Tf -T0)$$

$$TD = \ln(2) /u$$

Dónde: Nf y N0 representa el número de células final e inicial, respectivamente, Tf y T0 representan el tiempo final e inicial del número de células, respectivamente.

3.7 Determinación de la biomasa

Para determinar la biomasa utilizamos el método gravimétrico. Este método consiste en tomar una muestra de 50 mL del cultivo en un tubo Eppendorf y centrifugarlo a 4000 rpm por 10 minutos. Luego, se vierte el sobrenadante y se obtiene el pellet, el cual se lleva a secar a la estufa por 5 horas a 70 ° C. Luego, se pesa el tubo y la biomasa se obtiene de la diferencia del peso del tubo con el pellet y el tubo solo.

3.8 Cuantificación de lípidos totales

Los lípidos totales se cuantificaron mediante un procedimiento de extracción un solo paso (Axelsson & Gentili, 2014). Para ello, se tomaron muestras de 15 mL de cada cultivo y se colocaron en tubos de ensayo previamente pesados, luego se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 minutos. Después de la centrifugación, se eliminó la fase líquida para obtener el pellet. El pellet se secó en un horno a 55 °C durante la noche y luego se pesó para calcular la biomasa. A continuación, se agregaron 3 mL de solución de extracción (cloroformo y metanol; 2:1 v/v) a cada muestra, se agitaron vigorosamente y se dejaron reposar durante 5 horas. La mezcla se centrifugó nuevamente, se decantó el sobrenadante y el pellet se secó nuevamente para registrar el nuevo peso. El contenido de lípidos se estimó como porcentaje (%) basado en la diferencia de pesos antes y después del proceso de extracción.

3.9 Registro de los parámetros físico-químicos

Se registró diariamente el pH de los cultivos con un pH-metro digital marca Hanna de ± 0.01 unidades de sensibilidad. La temperatura se registró diariamente con un termómetro digital marca Genérica de ± 0.01 °C de sensibilidad.

3.10 Análisis estadístico

Con los datos promedios obtenidos de crecimiento y contenido de lípidos se realizó un análisis estadístico para establecer diferencias significativas entre los tratamientos. Se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y la post prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95%. Para ello, se empleó el software SPSS v20.

IV. RESULTADOS

4.1 Caracterización química del medio experimental

Los resultados del análisis químico del medio experimental (EALP) se enfoca en los principales nutrientes para el cultivo de microalgas: hierro (Fe), potasio (K), magnesio (Mg) y fósforo (P) (Anexo 7).

El elemento principal lo constituye el calcio con 655 ppm, seguido del sodio con 648 ppm. El magnesio presentó una concentración de 283 ppm. Además, encontramos con importantes concentraciones al hierro (67 ppm) y al fosforo (17 ppm), vitales para el crecimiento de los cultivos. Debemos considerar que el aluminio y el boro no deben ser considerado por ser los elementos que contuvieron el recipiente de preparación del medio y almacenamiento, respectivamente, y los otros elementos, aunque importantes, presentaron una concentración mínima. La concentración de amonio fue de 1.5 ppm y nitrato de 10.0 ppm. Estos datos corroboran la efectividad del medio experimental a base de lodo del cultivo del paiche en el cultivo de la microalga *Nannochloropsis* sp., ya que presenta los nutrientes necesarios para el crecimiento de las microalgas.

Tabla 3. Composición química del medio experimental analizada mediante ICP.

Elemento	ppm	Elemento	ppm
Calcio (Ca)	655	Arsénico (As)	<2
Sodio (Na)	648	Antimonio (Sb)	<2
Magnesio (Mg)	283	Talio (Tl)	<2
Hierro (Fe)	67	Amonio	1.5
Potasio (k)	<32	Molibdeno (Mo)	<1
Aluminio (Al)	21	Plomo (Pb)	<0.7
Fosforo (P)	17	Vanadio (V)	<0.6
Boro (B)	16	Mercurio (Hg)	<0.5
NO ₃	10.0	Plata (Ag)	<0.4
Manganeso (Mn)	3	Cadmio (cd)	<0.4
Bario (Ba)	3	Cromo (Cr)	0.2
Zinc (Zn)	2.8	Niquel (Ni)	<0.2
Cobre (Cu)	2.1	Cobalto (Co)	0.1

Fuente: COLECBI SAC.

4.2 Crecimiento poblacional

En nuestro experimento todos los tratamientos experimentales mostraron crecimiento con el medio EALP. En el día 1, se observó una diferencia rápida en el crecimiento poblacional, donde el tratamiento con 150 mL/L EALP presentó el mayor crecimiento (151.67 ±7.64 x 10⁴ cel/mL) con respecto al control y a los demás tratamientos experimentales. Sin embargo, los cultivos presentan fase lag hasta el día 3 (Figura 3). En el

día 4, notamos que los cultivos presentan mayor diferencia, siendo el tratamiento de 200 mL/L de EALP el que presentó mayor crecimiento poblacional (1705.00 ± 15.00), superando al control y a los demás tratamientos experimentales (Tabla 4, Figura 3 y Anexo 4).

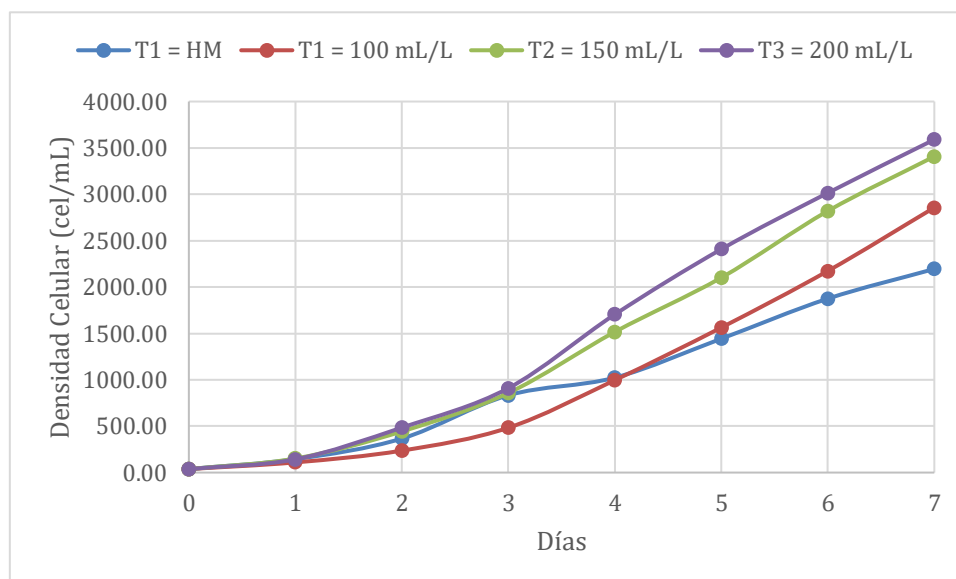


Figura 3. Crecimiento poblacional de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

Tabla 4. Análisis estadístico del crecimiento poblacional de *Nannochloropsis* sp. de los cultivos experimentales en el día 7.

Días	Crecimiento poblacional ($\times 10^4$ cel/mL)			
	HM	EALP (100 mL/L)	EALP (150 mL/L)	EALP (200 mL/L)
7	2195.00 ± 45.83^a	2856.67 ± 5.77^b	3407.67 ± 17.21^c	3590.00 ± 91.24^d

Nota: Letras diferentes en una misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Asimismo, después del día 4, notamos que los tratamientos dosificados con EALP superaron al control. El mayor crecimiento poblacional ($3590.00 \pm 91.24 \times 10^4$ cel/mL) se obtuvo en el día 7 con el tratamiento de 200 mL/L, siendo estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en comparación a los demás tratamientos. Además, el tratamiento con 150 mL tuvo un crecimiento similar ($3407.67 \pm 17.21 \times 10^4$ cel/mL). En contraste, el menor crecimiento poblacional ($2195.00 \pm 45.83 \times 10^4$ cel/mL) se obtiene con el tratamiento control (HM). Cabe señalar que, los cultivos experimentales mostraron mayor pigmentación verde que el tratamiento control, el cual se observó con más intensidad en el día 7 (Figura 4).

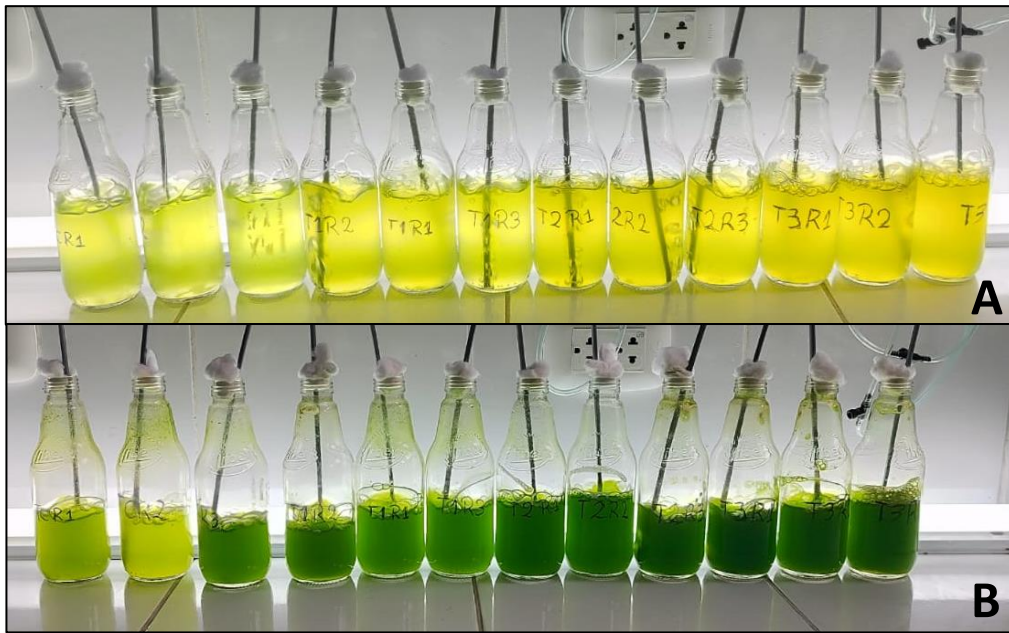


Figura 4. Unidades experimentales en el día 1 (A) y 7 (B).

Por otro lado, la mayor tasa de crecimiento poblacional de *Nannochloropsis* sp. (0.758 ± 0.004) se obtuvo con el tratamiento de 200 mL/L de EALP, mientras que la menor (0.676 ± 0.003) se obtuvo con el medio HM, concordando con las densidades poblacionales observadas. Destaca que el tratamiento con 150 mL/L de EALP fue inferior pero estadísticamente similar al tratamiento de 200 mL/L. Asimismo, los menores tiempos de duplicación se observaron en los tratamientos con EALP (Tabla 5).

Tabla 5. Tasa de crecimiento poblacional (μ) y tiempo de duplicación (TD) de los cultivos de *Nannochloropsis* sp. en el día 7.

Días	Tratamientos			
	HM	EALP (100 mL/L)	EALP (150 mL/L)	EALP (200 mL/L)
Ni	38.00 ± 0.00^a	38.00 ± 0.00^a	38.00 ± 0.00^a	38.00 ± 0.00^a
Nf	2195.00 ± 45.83^a	2856.67 ± 5.77^b	3407.67 ± 17.21^c	3590.00 ± 91.24^d
μ	0.676 ± 0.003^a	0.720 ± 0.00^b	0.749 ± 0.001^c	0.758 ± 0.004^c
TD	1.03 ± 0.01^a	0.96 ± 0.00^b	0.92 ± 0.00^c	0.91 ± 0.01^c

Nota: Letras diferentes en una misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

4.3 Biomasa

Los resultados de biomasa (g/L) obtenidos de los cultivos de *Nannochloropsis* sp. a lo largo de siete días muestran claramente diferencias significativas entre los tratamientos con HM (medio de cultivo habitual) y los tratamientos con diferentes concentraciones de EALP.

La menor biomasa (0.51 ± 0.01) se obtuvo con el medio HM. Los tratamientos con EALP presentaron resultados notablemente más altos. El tratamiento con 100 mL/L mostró una biomasa de 0.56 ± 0.02 g/L, el tratamiento con 150 mL/L registró una biomasa de 0.66 ± 0.01 g/L, y el tratamiento con 200 mL/L presentó el valor más alto con una biomasa de 0.69 ± 0.01 g/L (Tabla 6). Estos resultados indican que las concentraciones más altas de EALP tuvieron un impacto positivo en el crecimiento de las microalgas, lo que sugiere que el medio experimental es un potente estimulante para el crecimiento de las microalgas.

Tabla 6. Biomasa de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

Días	Biomasa (g/L)			
	HM	EALP (100 mL/L)	EALP (150 mL/L)	EALP (200 mL/L)
7	0.51 ± 0.01^a	0.56 ± 0.02^b	0.66 ± 0.01^c	0.69 ± 0.01^d

Nota: Letras diferentes en una misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

4.4 Contenido de lípidos totales

Los resultados del contenido de lípidos en *Nannochloropsis* sp. obtenidos en el día siete de la investigación muestran diferencias significativas entre los tratamientos con HM (control) y los tratamientos con diferentes concentraciones EALP (Tabla 7).

Tabla 7. Concentraciones de lípidos totales de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

Días	Lípidos totales (%)			
	HM	EALP (100 mL/L)	EALP (150 mL/L)	EALP (200 mL/L)
7	29.67 ± 1.53^a	25.00 ± 4.00^b	24.40 ± 1.64^b	24.67 ± 0.58^b

Nota: Letras diferentes en una misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

En el día 7, el tratamiento HM exhibió un contenido de lípidos promedio de $29.67 \pm 1.53\%$ (g/g de biomasa seca). Por otro lado, los tratamientos con EALP presentaron valores de contenido de lípidos más bajos, con $25.00 \pm 4.00\%$, $24.40 \pm 1.64\%$ y $24.67 \pm 0.58\%$ para 100, 150 y 200 mL/L de EALP, respectivamente. Estos resultados indican que la adición de

EALP a diferentes concentraciones tuvo un impacto negativo en el contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp. en comparación con el tratamiento HM. Es importante destacar que los valores de contenido de lípidos en los tratamientos con EALP fueron significativamente inferiores y con una menor variabilidad en comparación con el tratamiento HM.

4.5 Parámetros físico-químicos

Durante el transcurso del experimento de 7 días, se observaron que los valores de temperatura de los cultivos no tuvieron diferencias significativas. La temperatura fluctuó en un rango de 27.65 °C como máximo y 26.40 °C como mínimo (Figura 5 y Anexo 5). Por su parte, el pH de los cultivos mostró una tendencia a subir conforme crece la microalga *Nannochloropsis* sp. Los mayores niveles de pH se observan en el tratamiento con 200 mL/L de EALP, sin embargo, todos los cultivos tienden a incrementar el pH conforme incrementa el crecimiento poblacional (Figura 6 y Anexo 6).

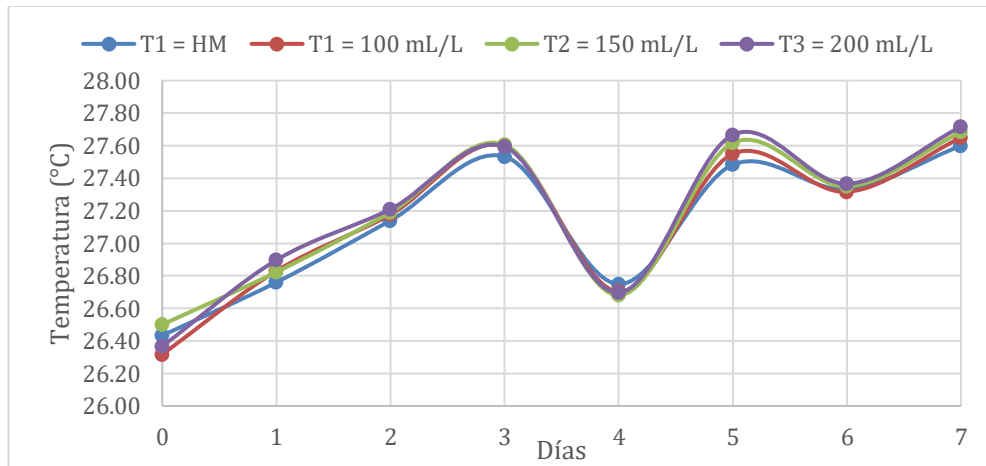


Figura 5. Variación de la temperatura de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

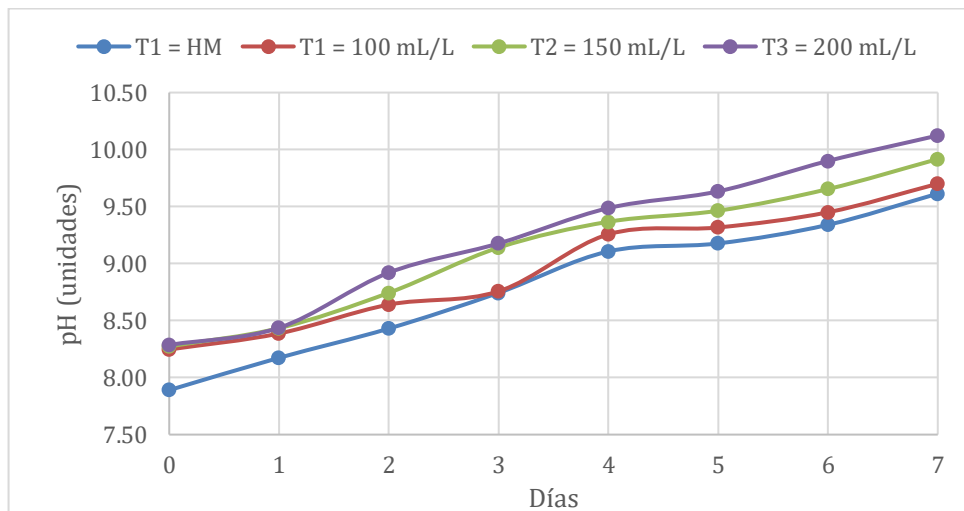


Figura 6. Variación del pH de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

V. DISCUSIÓN

Basándonos en los resultados obtenidos en relación al crecimiento poblacional y biomasa de los cultivos experimentales, se evidencia que el medio EALP con 200 mL/L propicia un óptimo crecimiento poblacional en *Nannochloropsis* sp., el cual superó al medio control (HM, Tabla 2) y a los tratamientos con 100 y 150 mL/L. Esto se debe al mayor contenido de nutrientes presentes en el medio, como calcio, magnesio, hierro, fósforo y nitrógeno (Tabla 3). Se encontró que la mayor tasa de crecimiento poblacional se obtuvo con el tratamiento de 200 mL/L de EALP, mientras que la menor se obtuvo con el medio HM. Además, se observó que el tratamiento con 150 mL/L de EALP fue inferior pero estadísticamente similar al tratamiento de 200 mL/L. Estos resultados sugieren que la concentración óptima de extracto para el crecimiento de *Nannochloropsis* sp. se encuentra en el rango de 150-200 mL/L de EALP, aunque mayores concentraciones podrían ser evaluadas. Estos resultados concuerdan con diferentes estudios utilizando extracto acuoso de lodo (Menacho & Vera, 2019; Dávila & Dávila, 2016; Ortiz & Senmache, 2016; López & Pantoja, 2016).

En cultivos de *Tetraselmis suecica* con el extracto de lodo de la bahía el Ferrol (EAL), se encontró que la mayor tasa de crecimiento poblacional se obtuvo en el tratamiento dosificado con 10 mL/L de EAL, mientras que los valores menores se presentaron en los tratamientos dosificados con 5 y 15 mL/L de EAL. Además, se observó que en el día sexto de cultivo se da el máximo crecimiento poblacional para todos los tratamientos de *T. suecica* (Dávila & Dávila, 2016); demostrando que la concentración del medio (nutrientes) influye en el crecimiento poblacional de las microalgas. Además, debemos resaltar que los lodos de la bahía y los del cultivo de paiche tienen características químicas diferentes, pudiendo contener el lodo de la bahía mayores concentraciones de fósforo y nitrógeno, debido a la acumulación de efluentes pesqueros y municipales por varias décadas, a diferencia el lodo del cultivo de paiche que contiene solo restos orgánicos de alimento y heces. Mediante estos datos podemos afirmar que la concentración del medio limita el crecimiento poblacional de las microalgas y que la concentración óptima de extracto acuoso de lodo para el crecimiento de la microalga se encuentra en un rango específico para cada especie. Estos resultados son importantes para la producción de biomasa de microalgas, ya que permiten optimizar las condiciones de cultivo para obtener la mayor cantidad de biomasa en el menor tiempo posible.

Cabe señalar que, en nuestro experimento hemos cuantificado niveles de fósforo en 17 ppm y NO_3 10 ppm, requeridos para el metabolismo de las microalgas; los cuales en el tratamiento de 200 mL/L de EALP representaron niveles de 3.4 y 2 ppm de fósforo y NO_3 , respectivamente (Tabla 3). Dichas concentraciones han permitido alcanzar las mayores densidades celulares (Tabla 4), por lo cual inferimos que el lodo del paiche puede ser usado en mayores proporciones en comparación al lodo de la bahía El Ferrol (EAL) (Dávila & Dávila, 2016).

Menacho y Vera (2019), elaboraron, similarmente, extracto acuoso de lodo (EAL) de la Bahía El Ferrol, que fue utilizado como medio de cultivo para la microalga *S. platensis*. Dosificaron los cultivos con 20, 30 y 40 mL/L de EAL, y se utilizó el medio Zarrouck como control. Los resultados mostraron que la mayor producción de biomasa (0.842 ± 0.055 g/L) se obtuvo con el tratamiento de 30 mL/L de EAL, concentración mayor al estudio previo pero menor al de nuestros cultivos, y no se observó diferencia estadística significativa entre los tratamientos en el día 8. Aunque en su estudio no cuantificaron los niveles de N y P, se infiere que el mayor crecimiento está dado por una mayor concentración de estos nutrientes, pudiendo ser superior a 0.8 g/L de nitrógeno y 0.35 g/L de fósforo (contenido del medio Zarrouck), ya que tuvieron rendimientos mayores al control; además que, estos son nutrientes limitantes para su crecimiento y reproducción (AlFadhly *et al.*, 2022).

En contraste, los cultivos de *Nannochloropsis* sp. tuvieron menor producción de biomasa, cuyo máximo valor (0.69 ± 0.01 g/L) se obtuvo con 200 mL/L. Esto se debe a que, además del medio y la concentración de los nutrientes (calcio, magnesio, hierro, fósforo y nitrógeno en el EALP), el tamaño de la microalga determina los rendimientos de biomasa (Prieto *et al.*, 2005). Asimismo, es importante considerar que el tamaño de la microalga tiene un impacto significativo en la cosecha (Roy & Mohanty, 2019).

En otro estudio con *D. salina* se evaluó el efecto de la concentración de extracto de lodo de *Argopecten purpuratus* (EALCA), encontrándose que en el medio de cultivo influye significativamente en el crecimiento poblacional de esta microalga. Se observó que las concentraciones más altas de EALCA (40 y 60 mL/L) promovieron un mayor crecimiento poblacional en comparación con las concentraciones más bajas (20 mL/L). Estas concentraciones también se relacionan a los niveles de nutrientes, principalmente: nitrógeno (6 ppm), fósforo (0.002 ppm) y hierro (0.008 ppm); inferiores a los niveles de nutrientes suministrados en nuestro experimento con EALP. Además, se encontró que la tasa de

crecimiento poblacional de *D. salina* fue mayor en los cultivos con concentraciones más altas de EALCA (López y Pantoja, 2016).

Por su parte, Vereau y Quiroz (2015), cultivando *S. acutus* con EAL de la bahía el Ferrol determinaron que una concentración baja de EAL (10 mL/L) aumenta el porcentaje de lípidos, como respuesta a la falta de nitrógeno en menores concentraciones del medio, que también se asocia con una densidad poblacional y biomasa más baja. Por otro lado, cuando se usa una concentración más alta de EAL (20 mL/L), el porcentaje de lípidos disminuye, pero se obtiene una mayor biomasa. Nuestros cultivos no siguen la misma relación debido a que la microalga *Nannochloropsis* sp. presenta un alto perfil de lípidos bajo condiciones normales de cultivos, ya que esta especie es considerada como oleaginosa con un metabolismo de los lípidos altamente activo (Wang *et al.*, 2014). Por el contrario, notamos menores concentraciones de lípidos con el medio experimental, lo cual sugiere que los cultivos con este medio EALP proporcionan un mayor contenido de proteínas y/o pigmentos, que puede además estar relacionado con los compuestos orgánicos de los residuos del paiche. Dichos compuestos no fueron cuantificados, por lo que futuros trabajos deben considerar cuantificar los componentes orgánicos, como carbono orgánico total (COT).

Diversos estudios han demostrado que *Nannochloropsis* sp. tiene la capacidad de acumular una cantidad significativa de lípidos, principalmente PUFAS, como ω -3 y ω -6 (Ma *et al.*, 2016), lo que la convierte en una opción prometedora para la producción de biocombustibles y otros productos derivados de lípidos. Rodolfi *et al.* (2009), demostró que *Nannochloropsis* sp. tiene un alto potencial de producción de lípidos en condiciones de cultivo al aire libre. Se estimó que esta microalga podría producir hasta 20 toneladas de lípidos por hectárea en un clima mediterráneo y más de 30 toneladas de lípidos por hectárea en áreas tropicales soleadas.

Además, Hu *et al.* (2008), señalaron que muchas microalgas tienen la capacidad de producir cantidades sustanciales de triacilglicerol (TAG), que son lípidos de almacenamiento, bajo condiciones de estrés fotooxidativo u otras condiciones ambientales adversas. *Nannochloropsis* sp. es una microalga que, a pesar de tener un genoma corto, posee genes seleccionados para la biosíntesis de lípidos, reportado hasta en 6 especies de este género (Wang *et al.*, 2014); por lo cual, ocasionar estrés, como deficiencia de nitrógeno o fósforo, puede incrementar aún más la acumulación de lípidos.

En cuanto a la influencia de los nutrientes en el contenido de lípidos de *Nannochloropsis* sp., Wu *et al.* (2023), encontraron que la concentración de fosfato afecta tanto el crecimiento celular como la acumulación de lípidos, siendo el límite 8 mg/L e incrementando los rendimientos con posteriores suplementaciones de fosfatos, con 1, 2 y 3 mg/L a partir del día 4; observando un incremento gradual de 27.45 a 46.15%, superior a los resultados debido a la suplementación de fósforo. En nuestro estudio, utilizando 100 mL/L EALP se logró una mayor producción de lípidos totales de 25.0 ±4.00%, sin embargo, el tratamiento control con HM 29.67 ±1.53%, siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$) con los tratamientos experimentales. Esto se debe a que el medio HM proporciona una alta cantidad de nitrógeno, fósforo, hierro y potasio; balanceado y efectivo para el cultivo de microalgas. Esta microalga muestra un alto potencial para la producción de lípidos, lo que la convierte en una opción prometedora para la producción de biocombustibles y otros productos derivados de lípidos. Sin embargo, se requiere más investigación para optimizar las condiciones de cultivo y mejorar la productividad de lípidos de *Nannochloropsis* sp.

En un estudio realizado por Smith *et al.* (2021), se investigó el efecto del medio suplementado con micronutrientes en el crecimiento de microalgas. Los resultados mostraron que la adición de suplementos, similares a los determinados en el EALP, resultó en un aumento significativo en el crecimiento poblacional de *Nannochloropsis* sp. En otro estudio llevado a cabo por Johnson (2020), se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de un nitrógeno en el crecimiento de *Nannochloropsis* sp. Los resultados mostraron que las concentraciones más altas de nitrógeno promovieron un mayor crecimiento poblacional en comparación con el control.

Estos hallazgos respaldan nuestros datos, ya que se observa tendencia similar al incrementar los nutrientes, nitrógeno y fósforo, principalmente; teniendo importantes niveles de calcio (655 ppm), sodio, (648 ppm), magnesio (283 ppm), hierro (67 ppm), potasio (<32 ppm), boro (17.0 ppm), y nitratos (10.0 ppm). Además, otros estudios sugieren que los principales nutrientes, como el calcio, hierro, potasio y fósforo, pueden desempeñar un papel importante en la mejora del crecimiento de las microalgas (Tavares *et al.*, 2023; Gigliotti, 2022); los cuales fueron cuantificados en altas cantidades en nuestro estudio (Tabla 3). Además, el uso del EAL tiene la ventaja de ser un medio de cultivo de bajo costo y fácil elaboración para la producción masiva de microalgas.

El crecimiento de las microalgas dependiente del medio nutritivo (Cuevas-García, 2023). Las diferencias observadas en el crecimiento entre los tratamientos experimentales se

deben a las distintas concentraciones de EALP, que influyeron en la disponibilidad de nutrientes. La concentración de amonio (1.5 ppm) es un dato importante, ya que el amonio es una forma de nitrógeno inorgánico que puede ser utilizado como fuente de nitrógeno para las microalgas, así como los nitratos (10.0 ppm), ya que Omariah & Agustrian (2019), han evaluado el mejor crecimiento de *Nannochloropsis* sp. con 10 ppm de sulfato de amonio. Por lo tanto, el mayor crecimiento observado en los tratamientos dosificados con EALP apoya la hipótesis de que este medio promueve el crecimiento y aumenta la producción de pigmentos, dado los buenos valores de μ , TD y pigmentación de los cultivos.

Los parámetros de temperatura y pH desempeñan un papel crucial en el cultivo de la microalga *Nannochloropsis* sp. La temperatura óptima se encuentra en el rango de 15-25°C, donde se observa un crecimiento y producción de lípidos máximos (Tamburic *et al.*, 2013). En nuestros experimentos, la temperatura estuvo ligeramente por encima del dentro del rango óptimo, sin embargo, asumimos que no hubo influencia sobre las variables de estudio. Por lo tanto, se debe evaluar la fluctuación de este parámetro en cultivos masivos al aire libre, ya sea en piletas o fotobiorreactores.

En cuanto al pH, a comparación de otras microalgas, *Nannochloropsis* sp. tiene una alta densidad poblacional a pH=8.5 (Khatoun *et al.*, 2014). Desviaciones significativas de este valor resultan en una disminución de la densidad poblacional y la producción de lípidos. Sin embargo, se ha evaluado que el efecto pH-shift (intercambio de pH), en *N. oculata*, incrementa los rendimientos de lípidos entre 70-80%, valores significativamente mayores que en otras especies de microalgas (Cavonius *et al.*, 2015). El medio EALP, al ser alcalino, ayuda a tener valores de pH cercanos al óptimo, en comparación al medio HM que disminuye el pH. Estos hallazgos subrayan la importancia de controlar cuidadosamente el pH en el cultivo de *Nannochloropsis* sp. a fin de lograr un rendimiento máximo en aplicaciones biotecnológicas.

El medio EALP, con su capacidad demostrada para promover un óptimo crecimiento poblacional en *Nannochloropsis* sp., abre un horizonte de prometedoras aplicaciones biotecnológicas. Este medio, al proporcionar condiciones propicias para el crecimiento y producción de biomasa, se posiciona como una herramienta valiosa en la producción de biocombustibles y otros productos derivados de lípidos. Su facilidad de elaboración y bajo costo también hacen que sea una opción atractiva para la producción masiva de microalgas en un contexto de sostenibilidad ambiental.

El uso del EALP ofrece ventajas adicionales al mantener valores de pH cercanos al óptimo y contribuir a la estabilidad del medio de cultivo. Su efectividad en mantener un equilibrio adecuado entre crecimiento y producción de lípidos es crucial en aplicaciones biotecnológicas, donde se busca maximizar la productividad en el menor tiempo posible.

VI. CONCLUSIONES

Se caracterizó el medio EALP, que contiene altas concentraciones de calcio (655 ppm), sodio (648 ppm), magnesio (283 ppm), hierro (67 ppm), fósforo (17 ppm), nitrógeno en forma de NO_3 (10 ppm) y zinc 2.8 ppm, entre otros micronutrientes.

El medio EALP promueve el crecimiento poblacional de *Nannochloropsis* sp., superando significativamente al medio control HM. La concentración óptima de EALP fue la de 200 mL/L, con la que obtuvo una densidad celular de $3590.00 \pm 91.24 \times 10^4$ cel/mL en el día 7.

La concentración del medio influye en la producción de biomasa y lípidos. La mayor biomasa (0.69 ± 0.01 g/L) se obtuvo con 200 mL/L de EALP. Mientras que, la mayor concentración de lípidos se obtuvo con el medio HM ($29.67 \pm 1.53\%$) y con el medio experimental a 100 mL/L ($25.00 \pm 4.00\%$).

El medio EALP contiene los nutrientes necesarios para el cultivo de *Nannochloropsis* sp., con el cual se obtiene una mayor densidad celular y biomasa a 200 mL/L, y mayor contenido de lípidos a 100 mL/L, representando una alternativa para la producción masiva de esta microalga.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios con más concentración de extracto acuoso de lodo (EAL) en el cultivo de *Nannochloropsis* sp. Explorar un rango más amplio de concentraciones para identificar posibles mejoras en el crecimiento poblacional y la producción de lípidos.
- Investigar cómo la interacción de diferentes nutrientes en el medio, además del extracto, afecta el crecimiento y la producción de lípidos en *Nannochloropsis* sp. Esto podría proporcionar información valiosa sobre la sinergia entre nutrientes y su impacto en el rendimiento de las microalgas.
- Extender la investigación a escala piloto o comercial para evaluar la viabilidad de usar el medio EALP en la producción de biomasa y lípidos a gran escala. Esto podría implicar la implementación de sistemas de cultivo al aire libre, como fotobiorreactores, para comprender mejor su aplicabilidad en la industria.
- Explorar cómo *Nannochloropsis* sp. responde a condiciones de estrés, como privación de nutrientes o altas irradiancias, y cómo esto puede mejorar aún más la acumulación de lípidos. Investigar las respuestas fisiológicas y moleculares a tales condiciones.
- Investigar aplicaciones biotecnológicas específicas para los productos derivados de *Nannochloropsis* sp. Estudiar la posibilidad de producir biocombustibles, compuestos bioactivos o incluso alimentos enriquecidos utilizando la biomasa y los lípidos producidos por esta microalga.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, A., & Ashraf, S. S. (2023). Sustainable food and feed sources from microalgae: Food security and the circular bioeconomy. *Algal Research*, 103185. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103185>.
- AlFadhly, N. K., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., & Cacciola, F. (2022). Tendencies affecting the growth and cultivation of genus *Spirulina*: An investigative review on current trends. *Plants*, 11(22), 3063. <https://doi.org/10.3390/plants11223063>.
- Axelsson, M., & Gentili, F. (2014). A single-step method for rapid extraction of total lipids from green microalgae. *PloS one*, 9(2), e89643.
- Assaf S. 1989. "Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp". *Journal of Phycology*. 25 (4): 686–692.
- Becker, E. W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.
- Brown M., Mular M., Miller I., Farmer C. & Trenerry C. 1999. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 11: 247-255.
- Ulucan-Karnak, F., Sabankay, M., & Seydibeyoglu, M. O. (2023). The Use of Microalgae in Various Applications. *Next-Generation Algae: Volume I: Applications in Agriculture, Food and Environment*, 49-89. <https://doi.org/10.1002/9781119857839.ch2>.
- Cavonius, L. R., Albers, E., & Undeland, I. (2015). PH-shift processing of *Nannochloropsis oculata* microalgal biomass to obtain a protein-enriched food or feed ingredient. *Algal Research*, 11, 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.05.022>.
- Chacchi I. 2016. Efecto de microorganismos eficaces (EM) en la biorremediación de agua y lodo de estanques piscícolas. Pucallpa, Perú.
- Chu, F., Fernandez, C., Rebaza C., Darias M., García C., García A., Tello, S., Campos L., Alvan M., Ayarza J., Arévalo L., Arbildo H. 2017. El cultivo del paiche. *Biología, procesos productivos, tecnologías y estadísticas*. https://repositorio.iiap.gob.pe/bitstream/20.500.12921/267/1/Chu_Libro_2017.pdf.
- Cuevas-García, R., & Nava Bravo, I. (2023). Producción de combustibles renovables. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 16(30).
- Dávila, V. E. Q., & Dávila, V. R. R. (2016). Efecto de tres concentraciones de 5, 10 y 15 mL L-1 de extracto acuoso de lodo de la bahía “El Ferrol” en el crecimiento poblacional y

contenido de lípidos totales, de la microalga *Tetraselmis suecica* en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3162>.

- Del Campo J., M. García & M. Guerrero. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. Universidad de Sevilla. Revista Appl. Microbiol. Biotechnol. 74(1): 1163-1174.
- Dolganyuk, V., Belova, D., Babich, O., Prosekov, A., Ivanova, S., Katserov, D., Patyukov, N., & Sukhikh, S. (2020). Microalgae: A promising source of valuable bioproducts. Biomolecules, 10(8), 1153. <https://doi.org/10.3390/biom10081153>.
- Eugenia, E. P. D. H. M. (2021). La exportación del paiche (*Arapaima gigas*), criado en ambientes controlados, hacia Europa: una propuesta estratégica de marketing. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Federico Villareal. 166p. Disponible en: <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/5236>.
- Fernández, M. & C. Paredes. 2007. Efecto del extracto de ensilado de pescado y urea en el crecimiento poblacional y contenido de carbohidratos y lípidos de la microalga *Tetraselmis suecica* cultivada en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Nuevo Chimbote - Perú. 62p.
- Gamarra, A. I. L. (2022). Evaluación del Desempeño Ambiental de Empresas Dedicadas a la Piscicultura, en los Distritos de Campo Verde, Neshuya y Padre Abad. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Ucayali. 115p. Disponible en: <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/6081>.
- García, M., M. (2022). Producción de biofertilizantes a partir de microalgas crecidas en agua residual enriquecida en selenio. Tesis de Licenciatura. Universitat Politècnica de Catalunya. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/376499>.
- Gigliotti, G. (2022). Effect of microalgal biomass on the strawberry (*Fragaria x ananassa*) yield and quality (Doctoral dissertation). Disponible en: <https://sapientia.ualg.pt/handle/10400.1/18843>.
- Gómez, L. L. 2007. Microalgas: Aspectos Ecológicos y Biotecnológicos. Laboratorio de Ecotoxicología Marina, Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Universidad de Oriente. Revista Cubana de Química Vol. XIX, Nº 2. Pág. 9.
- Hernández, A., I. Alfaro & R. Arrieta. 2003. Microbiología Industrial. Universidad de Costa Rica. Edit. EUNED. San José, Costa Rica. pp 25 - 26.
- Javed, F., Aslam, M., Rashid, N., Shamair, Z., Khan, A. L., Yasin, M., Fazal, T., Hafeez, A., Rehman, F., Saif, U. R. M., Khan, Z., Iqbal, J., & Bazmi, A. A. (2019). Microalgae-

- based biofuels, resource recovery and wastewater treatment: A pathway towards sustainable biorefinery. *Fuel*, 255, 115826. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.115826>
- Jørgensen, B. B. 1982. Mineralization of organic matter in the sea bed—the role of sulphate reduction. *Nature*, 296(5858), 643–645. doi:10.1038/296643a0.
- Kandasamy, S., Zhang, B., He, Z., Bhuvanendran, N., EL-Seesy, A. I., Wang, Q., Narayanan, M., Thangavel, P., & Dar, M. A. (2022). Microalgae as a multipotential role in commercial applications: current scenario and future perspectives. *Fuel*, 308, 122053.
- Laurens L., M. Chen-Glasser & D. Chiaramonti. 2017. State of Technology Review – Algae Bioenergy. An IEA Bioenergy Inter-Task Strategic Project. 29-43.
- López, P. J. A., & Pantoja, T. E. C. (2016). Crecimiento poblacional y contenido de β -caroteno de *Dunaliella salina* cultivada en laboratorio a diferentes concentraciones (20, 40 y 60 ml. L⁻¹) de extracto de lodo proveniente de un cultivo de *Argopecten purpuratus*. Tesis de Licenciatura. Universidad nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2578>.
- Menacho Fajardo, M. M., & Vera Pedroza, B. A. (2019). Efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú) en el crecimiento poblacional y contenido de ficocianina en la microalga *Spirulina platensis*.
- Novoveská, L., Nielsen, S. L., Eroldoğan, O. T., Haznedaroglu, B. Z., Rinkevich, B., Fazi, S., Robbens, J., Vasquez, M., & Einarsson, H. (2023). Overview and challenges of large-scale cultivation of photosynthetic microalgae and cyanobacteria. *Marine Drugs*, 21(8), 445. <https://doi.org/10.3390/md21080445>.
- Ma, X. N., Chen, T. P., Yang, B., Liu, J., & Chen, F. (2016). Lipid production from *Nannochloropsis*. *Marine drugs*, 14(4), 61.
- Martínez, A. 2003. Producción Industrial de Fármacos Recombinantes. *Biología Aplicada a la Medicina*: pp 195 -196.
- Medina, J. A., P. Piña Valdez, M. Nieves Soto, J.F. Arzola Gonzales & M. Guerrero Ibarra. 2012. La importancia de las microalgas. *CONABIO. Biodiversidad*, 103:1-5.
- Menacho, F. M. M., & Vera, P. B. A. (2019). Efecto del extracto acuoso de lodo de la Bahía El Ferrol (Ancash, Perú) en el crecimiento poblacional y contenido de ficocianina en la microalga *Spirulina platensis*. Tesis de Licenciatura. Universidad nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3402>.

- Bhatt, P., Bhandari, G., Bhatt, K., & Simsek, H. (2022). Microalgae-based removal of pollutants from wastewaters: Occurrence, toxicity and circular economy. *Chemosphere*, 306, 135576. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135576>.
- Omariah, R., Diansyah, G., & Agustriani, F. (2019). Pengaruh pemberian amoniak dengan dosis berbeda terhadap pertumbuhan fitoplankton *Nannochloropsis* sp skala laboratorium. *Maspari Journal: Marine Science Research*, 11(2), 41-48.
- Otero A., García D. & Fabregas J. 1997. Factors controlling eico-sapentaenoic acid production in semicontinuous cultures of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 9: 465-469.
- Ortiz Coral, F. L., & Senmache Barraza, R. E. (2016). Efecto de tres concentraciones de extracto acuoso del lodo de la bahía de Samanco en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Tetraselmis suecica* en condiciones de laboratorio.
- Paniagua, J.; Biickle, L.; C. Granador y Loyola D. 1986 Manual de Metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE-Acuicultura. Ensenada Baja California. Méjico 89 pp.
- Quevedo C., S. Morales & A. Acosta. 2008. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgas. *Revista de la facultad de química farmacéutica*. 15(1): 25-31.
- Prieto, M. J., Mogollon, M. J., Castro, A. L., & Sierra, L. A. (2005). Efecto del medio y condiciones de cultivo en la productividad de tres diatomeas marinas con potencial acuícola. *Revista MVZ Córdoba*, 10(1).
- Revollo, L. B. D. (2023). Crecimiento poblacional de *Chlorella minutissima* (Fott & Nováková, 1969), en dos medios de cultivo en un sistema artesanal. Tesis de Licenciatura. Disponible en: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/6945>.
- Roldán, F. J. N. (2022, May). Una microalga de río Tinto que aporta beneficios para la salud. In *Biología de Huelva: Naturaleza, Biodiversidad, Bioindicadores y Biomarcadores* (pp. 51-76). Universidad de Huelva.
- Roy, M., & Mohanty, K. (2019). A comprehensive review on microalgal harvesting strategies: Current status and future prospects. *Algal Research*, 44, 101683.
- Roy, U., Sawant, P. B., Debroy, S., & Haque, R. (2022). Live Feed Enrichment—A Possible Step Towards a Sustainable Blue Revolution. *International Journal of Research in Engineering, Science and Management*, 5(10), 40-42.

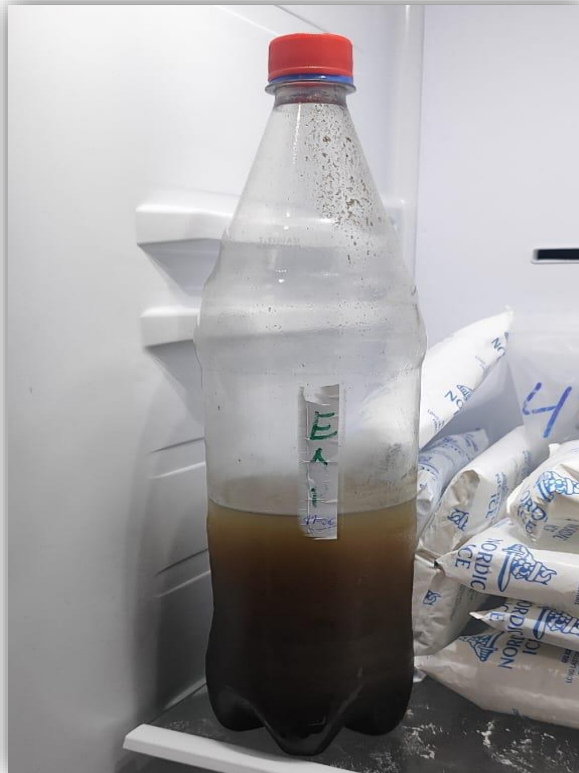
- Shao, Y., Fang, H., Zhou, H., Wang, Q., Zhu, Y., & He, Y. 2017. Detection and imaging of lipids of *Scenedesmus obliquus* based on confocal Raman microspectroscopy. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1). doi:10.1186/s13068-017-0977-8.
- Suparmaniam, U., Lam, M. K., Lim, J. W., Yusup, S., Tan, I. S., Lau, S. Y., Kodgire, P., & Kachhwaha, S. S. (2023). Influence of environmental stress on microalgae growth and lipid profile: a systematic review. *Phytochemistry Reviews*, 22(4), 879-901.
- Tamburic, B., Guruprasad, S., Radford, D. T., Szabó, M., Lilley, R. M., D. Larkum, A. W., Franklin, J. B., Kramer, D. M., Blackburn, S. I., Raven, J. A., Schliep, M., & Ralph, P. J. (2013). The Effect of Diel Temperature and Light Cycles on the Growth of *Nannochloropsis oculata* in a Photobioreactor Matrix. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086047>.
- Tan, X., Gu, H., Ruan, Y., Zhong, J., Parajuli, K., & Hu, J. 2019. Effects of nitrogen on interspecific competition between two cell-size cyanobacteria: *Microcystis aeruginosa* and *Synechococcus* sp. *Harmful Algae*, 89, 101661. doi:10.1016/j.hal.2019.101661.
- Tavares, L., Nudi, M. H., Arroyo, P. A., Godoy, R. F. B., & Trevisan, E. (2023). Effect of different concentrations of phosphorus and nitrogen on the growth of the microalgae *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*, 14(4), 563-572.
- Torrentera, L & A. Tacón. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. FAO – Brasil, Brasilia. pp.7 – 40.
- Yang, F., Xiang, W., Li, T., & Long, L. 2018. Transcriptome analysis for phosphorus starvation-induced lipid accumulation in *Scenedesmus* sp. *Scientific Reports*, 8(1). doi:10.1038/s41598-018-34650-x.
- Wang, D., Ning, K., Li, J., Hu, J., Han, D., Wang, H., ... & Xu, J. (2014). *Nannochloropsis* genomes reveal evolution of microalgal oleaginous traits. *PLoS genetics*, 10(1), e1004094. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004094>.
- Wang, X., Jin, X., Wang, H., Hu, Z., & Shen, B. (2022). Synergetic utilization of sewage sludge and microalgae: A review and proposal. *Bioresource Technology Reports*, 101146. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101146>
- Wu, J., Chen, C., Wu, H. et al. Enhancement in lipid productivity of the marine microalga *Nannochloropsis* sp. SCSIO-45217 through phosphate adjustment strategies. *J Appl Phycol* 35, 1023–1035 (2023). <https://doi.org/10.1007/s10811-023-02935-y>.

ANEXOS

Anexo 1. Placa de cultivo de la microalga *Nannochloropsis* sp.



Anexo 2. Almacenamiento del medio experimental: EALP.



Anexo 3. Acondicionamiento de las unidades experimentales.



Anexo 4. Datos del crecimiento poblacional de *Nannochloropsis* sp.

Días	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3
0	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38
1	150	145	140	95	115	120	150	145	160	145	130	155
2	355	385	360	225	240	245	410	435	485	480	455	520
3	820	855	825	450	510	490	850	860	865	890	915	925
4	1025	1015	1030	950	1015	1025	1535	1490	1525	1690	1720	1705
5	1495	1385	1450	1560	1555	1575	2145	2050	2110	2435	2390	2400
6	1890	1875	1860	2210	2150	2160	2860	2790	2810	2930	2935	3180
7	2245	2155	2185	2860	2860	2850	3388	3415	3420	3530	3695	3545

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 5. Datos de la temperatura de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

Días	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3
0	26.45	26.4	26.45	26.15	26.4	26.4	26.5	26.5	26.5	26.2	26.5	26.4
1	26.78	26.75	26.75	26.80	26.89	26.80	26.80	26.89	26.78	26.85	26.89	26.95
2	27.12	27.15	27.15	27.16	27.18	27.19	27.18	27.19	27.20	27.20	27.21	27.22
3	27.50	27.60	27.50	27.65	27.55	27.59	27.58	27.59	27.65	27.55	27.65	27.58
4	26.40	26.40	27.45	26.66	26.70	26.75	26.65	26.70	26.69	26.78	26.66	26.65
5	27.40	27.50	27.55	27.45	27.55	27.65	27.60	27.65	27.60	27.70	27.65	27.65
6	27.30	27.35	27.35	27.30	27.35	27.30	27.35	27.30	27.40	27.40	27.35	27.35
7	27.55	27.60	27.65	27.70	27.65	27.60	27.75	27.65	27.65	27.75	27.75	27.65

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 6. Datos del pH de los cultivos de *Nannochloropsis* sp.

Días	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3
0	7.89	7.89	7.89	8.23	8.25	8.26	8.31	8.26	8.25	8.28	8.28	8.3
1	8.15	8.18	8.19	8.35	8.41	8.40	8.45	8.43	8.42	8.45	8.42	8.44
2	8.42	8.43	8.44	8.61	8.65	8.66	8.66	8.67	8.90	8.90	8.92	8.94
3	8.72	8.75	8.76	8.74	8.75	8.78	9.10	9.14	9.18	9.17	9.18	9.18
4	9.05	9.12	9.15	9.22	9.27	9.28	9.35	9.36	9.39	9.46	9.49	9.51
5	9.14	9.18	9.21	9.32	9.33	9.30	9.42	9.45	9.52	9.62	9.63	9.65
6	9.31	9.35	9.36	9.42	9.45	9.48	9.66	9.65	9.65	9.88	9.89	9.93
7	9.62	9.60	9.62	9.71	9.71	9.68	9.88	9.88	9.99	10.15	10.12	10.10

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 7. Análisis químico del medio realizado en COLECBI.



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES

“COLECBI” S.A.C.

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

INFORME DE ENSAYO N° 20230612-014

Pág. 2 de 2

ENSAYOS DE METALES

METALES TOTALES	L. C. (mg/Kg)	EXTRACTO DE LODO DE PAICHE
Plata (Ag)	0,4	<0,4
Aluminio (Al)	13	21
Arsénico (As)	2	<2
Boro (B)	12	16
Bario (Ba)	2	3
Calcio (Ca)	10	655
Cadmio (Cd)	0,4	<0,4
Cobalto (Co)	0,1	<0,1
Cromo (Cr)	0,2	<0,2
Cobre (Cu)	0,6	2,1
Hierro (Fe)	2	67
Mercurio (Hg)	0,5	<0,5
Potasio (K)	32	<32
Magnesio (Mg)	13	283
Manganeso (Mn)	1	3
Molibdeno (Mo)	1	<1
Sodio (Na)	29	648
Níquel (Ni)	0,2	<0,2
Fósforo (P)	5	17
Plomo (Pb)	0,7	<0,7
Antimonio (Sb)	2	<2
Talio (Tl)	2	<2
Vanadio (V)	0,6	<0,6
Zinc (Zn)	0,4	2,8

Resultados en base seca

METODOLOGÍA EMPLEADA

Nitrógeno: UNE-EN ISO 5983-2 Parte 2 Dic. 2006

Metales Totales: EPA 3050B Rev. 2 1996 / EPA 6010D Rev. 5 2018 . Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils / Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry.

NOTA :

- Informe de ensayo emitido en base a resultados de nuestro Laboratorio sobre muestras :
Proporcionadas por el Solicitante (X) Muestras tomadas por COLECBI S.A.C. ()
- El muestreo está fuera del alcance de la acreditación otorgada por INACAL-DA, salvo donde la metodología lo indique
- COLECBI S.A.C. no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas y de la información proporcionada por el cliente.
- Los resultados presentados corresponden solo a la muestra/s ensayada/s, tal como se recibió.
- Estos resultados de ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
- No afecto al proceso de Derivencia por su perecibilidad y/o muestra única.
- El informe incluye diagrama, croquis o fotografías : SI () NO (X)
- Cuando el informe de ensayo ya emitido se haga una corrección o modificación se emitirá un nuevo informe de ensayo completo que haga referencia al informe que reemplaza. Los cambios se identificarán con letra negrita y cursiva.

Fecha de Emisión: Nuevo Chimbote, Junio 26 del 2023.
GVR/jms

LC-MP -HRIE
Rev. 09
Fecha 2023-01-09

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

EL INFORME NO SE DEBE REPRODUCIR SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO, EXCEPTO EN SU TOTALIDAD

FIN DEL INFORME

COLECBI S.A.C.

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