

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD CIENCIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



**UNS**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL SANTA

**Efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *Argopecten purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp., bajo condiciones de laboratorio**

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

**Autores:**

Bach. Pazos Yupan, Brenda Evel

Bach. Quiñones Mayorga, Erika Lizet

**Asesor:**

Dr. Merino Moya, Juan Fernando

ORCID: 0000-0002-4848-3190

**Nuevo Chimbote – Perú**

**2024**

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



**UNS**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL SANTA

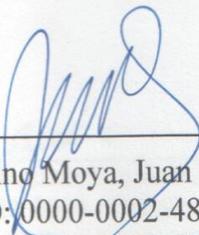
**Efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *Argopecten purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp., bajo condiciones de laboratorio**

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

Bach. Pazos Yupan, Brenda Evel

Bach. Quiñones Mayorga, Erika Lizet

**Revisado y aprobado por el asesor**

  
Dr. Merino Moya, Juan Fernando  
ORCID: 0000-0002-4848-3190  
DNI N° 32924785

**Nuevo Chimbote – Perú**  
**2024**

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

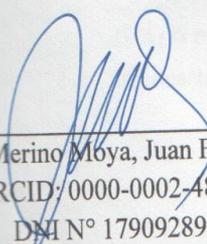


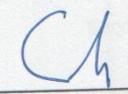
**UNS**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL SANTA

Efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *Argopecten purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp., bajo condiciones de laboratorio

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO ACUICULTOR

Evaluado y aprobado por el jurado:

  
Dr. Merino Moya, Juan Fernando  
ORCID: 0000-0002-4848-3190  
DNI N° 17909289

  
Dr. Capa Robles, Willian Robert  
ORCID: 0000-0003-3402-613X  
DNI N° 32969285

  
MSc. Mendoza Espinoza, Sorayda  
ORCID: 0000-0002-9212-8030  
DNI N° 32924785

Nuevo Chimbote – Perú  
2024

# ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en la Aula del Posgrado de la Universidad Nacional del Santa, siendo las 13:00 horas del día lunes 22 de Enero del 2024, dando cumplimiento a la Resolución N° 0.11-2024-UNS-FC, se reunió el Jurado Evaluador presidido por Dr. William Capa Robles, teniendo como miembros a Ms. C. Sorayda Mendoza Espinoza (secretario) (a), y Dr. Juan Fernando Merino Moya (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biólogo Acuicultor, realizado por el, (la), (los) tesista (as) Bach. Brenda Evel Pazos Yupan (cod. 0200822031) y Erika Lizet Quiñones Mayorga (cod. 0200722011), quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: "Efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de Argopecten purpuratus sobre la sedimentación y viabilidad celular de Nannochloris sp., bajo 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 Buena, asignándole un calificativo de Dieciocho (18) puntos, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU.-R-UNS)

Siendo las 14:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

Ch.  
Nombre: William Capa Robles  
Presidente

Sorayda  
Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza  
Secretario

Juan Fernando Merino Moya  
Nombre: Juan Fernando Merino Moya  
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (03), tesis (02) 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: Erika Lizet Quiñones Mayorga  
Título del ejercicio: TRABAJOS DE TESIS  
Título de la entrega: Efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de Argopec...  
Nombre del archivo: informe\_final\_5\_1.docx  
Tamaño del archivo: 7.26M  
Total páginas: 47  
Total de palabras: 10,941  
Total de caracteres: 59,992  
Fecha de entrega: 09-feb.-2024 10:12a. m. (UTC-0500)  
Identificador de la entre... 2271450259



# Efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *Argopecten purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp., bajo condiciones de laboratorio

## INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>7</b> %	<b>7</b> %	<b>2</b> %	<b>2</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.uns.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>3</b> %
<b>2</b>	<b>dspace.ucuenca.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>3</b>	<b>www.tzhongyiyao.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>4</b>	<b>repositorio.unp.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>5</b>	<b>Submitted to Universidad Nacional del Santa</b> Trabajo del estudiante	<b>&lt;1</b> %
<b>6</b>	<b>es.xinchangchem.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>7</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>8</b>	<b>www.researchgate.net</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %

## **Dedicatoria**

Agradezco en primer lugar a Dios por guiar mi vida profesional y por permitirme culminar con éxito mi trabajo de investigación.

A mis padres Asteria y Luis, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación.

A mi querido hermano Luis.

A mis hijos Mathias y Naela, por ser mi motivación para superarme cada día.

A mi amado esposo Robinson, por todo su amor y paciencia que me brindo.

**Brenda Evel Pazoz Yupan**

A dios por guiarme en este largo camino, darme el ánimo y la fortaleza en todos los periodos difíciles.

A mi madre Isabel Mayorga, por su apoyo Incondicional, por exigirme el termino de mi tesis e insistir que todo lo que logré en la vida será producto de mi propio esfuerzo.

A mis hermanos Nelly, Yuli, Félix, Eddy y Odel por apoyarme en culminar esta etapa de mi vida y tener la confianza que seguiré teniendo éxito en mi profesión.

A mi niña Isabella, quien me motiva a ser mejor cada día y lograr mi tan angelada meta.

A mis grandes amigas Karen y Balvina quienes me acompañaron en toda la vida estudiantil y ahora seguimos compartiendo conocimientos de diferentes áreas como profesionales.

**Erika Lizet Quiñones Mayorga**

## **Agradecimientos**

A Dios, en primer lugar, por ayudarnos a culminar con éxito el trabajo de investigación y guiarnos durante el largo camino que elegimos.

A nuestros padres por inculcarnos su sabiduría y darnos la mejor educación posible.

Al profesor Juan Fernando Merino Moya, por todo el apoyo durante la ejecución de nuestro proyecto de tesis, estaremos agradecidas por aceptarnos como tesistas en su laboratorio de trabajo.

A la Universidad Nacional del Santa, por darnos las pautas para formarnos profesionalmente con excelentes docentes dentro de su plana universitaria.

A la técnica de laboratorio Maribel Astete Reyna, por brindarnos los materiales para el uso durante la realización del proyecto.

## Índice General

RESUMEN .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	14
Hipótesis .....	16
Objetivos.....	16
II. MARCO REFERENCIAL .....	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
3.1 Diseño experimental .....	21
3.2 Procedencia del inóculo.....	21
3.3 Medio de cultivo.....	22
3.4 Escalamiento del cultivo.....	22
3.5 Preparación del patrón de óxido de calcio .....	23
3.6 Sedimentación de la microalga <i>Nannochloris</i> sp .....	23
3.7 Determinación del tiempo, velocidad y eficiencia de sedimentación .....	24
3.7.1 Tiempo de sedimentación.....	24
3.7.2 Velocidad de sedimentación.....	24
3.7.3 Eficiencia de sedimentación.....	25
3.8 Determinación de la viabilidad celular .....	25
3.9 Análisis estadístico .....	25
IV. RESULTADOS .....	26
4.1 Crecimiento poblacional en el escalamiento .....	26
4.2 Determinación del CaO.....	27
4.3 Eficiencia y tiempo de sedimentación .....	27
4.4 Velocidad de sedimentación.....	29
4.5 Parámetros físico-químicos durante la sedimentación.....	30
4.6 Viabilidad celular .....	30
4.7 Parámetros físico-químicos durante el ensayo de viabilidad celular .....	32
4.8. Comparación con otras metodologías de cosecha.....	33
V. DISCUSIÓN.....	35
VI. CONCLUSIONES .....	40
VII. RECOMENDACIONES .....	41
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS .....	47

## Índice de Figuras

Figura 1. Cepa de la microalga <i>Nannochloris</i> sp. vista al objetivo 100x. ....	22
Figura 2. Representación del cálculo del tiempo de sedimentación. ....	24
Figura 3. Curva de crecimiento de la microalga <i>Nannochloris</i> sp. con medio Guillard F/2. ....	26
Figura 4. Células de la microalga <i>Nannochloris</i> sp. en crecimiento exponencial vista al objetivo 40x. ....	26
Figura 5. Distribución de los tratamientos experimentales con las probetas de 500ml. 27	
Figura 6. Sedimentación de los cultivos de <i>Nannochloris</i> sp ..... 28	
Figura 7. Velocidad de sedimentación en función del tiempo ..... 30	
Figura 8. Crecimiento de cultivos de <i>Nannochloris</i> sp. en el experimento de viabilidad celular ..... 31	
Figura 9. Curvas de crecimiento de los cultivos de <i>Nannochloris</i> sp. en el ensayo de viabilidad celular después de la sedimentación. .... 32	
Figura 10. Fluctuación del pH en los cultivos experimentales para determinar la viabilidad de la microalga <i>Nannochloris</i> sp. .... 32	
Figura 11. Fluctuación de la temperatura en los cultivos experimentales para determinar la viabilidad de la microalga <i>Nannochloris</i> sp. .... 33	

## Índice de Tablas

Tabla 1. Diseño experimental para la sedimentación y viabilidad celular de <i>Nannochloris</i> sp. ....	21
Tabla 2. Composición química del medio Guillard F/2. ....	22
Tabla 3. Eficiencias y tiempos de sedimentación de los cultivos y sus porcentajes de acuerdo a los tratamientos experimentales con el patrón CaO .....	29
Tabla 4. Velocidades de sedimentación estimadas en cada hora de muestreo .....	29
Tabla 5. pH de los tratamientos experimentales al inicio y fin de la sedimentación.....	30
Tabla 6. Cuadro comparativo entre la sedimentación de <i>Nannochloris</i> sp. con CaO de <i>A. purpuratus</i> y el método de centrifugación como control. ....	34

## RESUMEN

La cosecha es el principal cuello de botella de los cultivos de microalgas debido a los altos costos, los cuales pueden llegar a representar hasta el 20% de los costos totales. Los costos se incrementan en microalgas de menor tamaño, como es el caso de *Nannochloris* sp., por lo cual se deben emplear metodologías más baratas que faciliten la recuperación de la biomasa. Por tal motivo, esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *Argopecten purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp. Se elaboro un patrón de óxido de calcio (CaO) con valvas de *A. purpuratus* calcinadas a 800°C por 3 horas, el cual fue usado para la sedimentación de las microalgas. Se empleo concentraciones de 15, 20, 25, 30 y 35 mL/L del patrón CaO y se evaluaron las eficiencias y velocidades de sedimentación por 24 horas. La máxima eficiencia de sedimentación ( $77.18 \pm 5.1$ ) se obtuvo con el tratamiento de 35 mL/L. Asimismo, notamos que la mayor velocidad de sedimentación ( $186.67 \pm 12.6$ ) se da durante la primera hora de sedimentación con 35 mL/L del patrón CaO y en todos los tratamientos experimentales las mayores velocidades se registran en la primera hora. Además, los cultivos realizados para determinar la viabilidad celular de *Nannochloris* sp. revelaron que las células son viables para su cultivo después de haber sido sedimentadas, independientemente de la dosis de patrón CaO. Estos resultados demuestran la factibilidad de emplear las valvas calcinadas de *A. purpuratus* en la cosecha de microalgas con la finalidad de reducir costos y/o complementar las metodologías existentes para recuperar la biomasa microalgal.

**Palabras clave:** microalgas, cosecha, *Nannochloris* sp., oxido de calcio, valvas.

## ABSTRACT

Harvesting is the main bottleneck in microalgae cultivation due to high costs, which can represent up to 20% of total costs. Costs increase in smaller microalgae, as is the case of *Nannochloris* sp., so cheaper methodologies that facilitate biomass recovery should be used. For this reason, the objective of this research was to evaluate the effect of calcium oxide obtained from *Argopecten purpuratus* shells on the sedimentation and cell viability of *Nannochloris* sp. A calcium oxide (CaO) standard was prepared with *A. purpuratus* shells calcined at 800°C for 3 hours, which was used for the sedimentation of the microalgae. Concentrations of 15, 20, 25, 25, 30 and 35 mL/L of the CaO standard were used and the sedimentation efficiencies and velocities were evaluated for 24 hours. The maximum sedimentation efficiency ( $77.18 \pm 5.1$ ) was obtained with the 35 mL/L treatment. Likewise, we note that the highest sedimentation velocity ( $186.67 \pm 12.6$ ) occurs during the first hour of sedimentation with 35 mL/L of the CaO standard and in all experimental treatments the highest velocities are recorded in the first hour. In addition, cultures performed to determine the cell viability of *Nannochloris* sp. revealed that the cells are viable for culture after sedimentation, regardless of the CaO standard dose. These results demonstrate the feasibility of using the calcined shells of *A. purpuratus* in the harvesting of microalgae in order to reduce costs and/or complement existing methodologies to recover microalgal biomass.

**Keywords:** microalgae, harvesting, *Nannochloris* sp., calcium oxide, shells.

## I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son organismos fotosintéticos unicelulares presentes en los ecosistemas acuáticos que desempeñan un papel crucial en la producción primaria y en la regulación del ciclo de carbono en el océano (Beardall & Raven, 2016). Son utilizadas en diversas industrias para la producción de biocombustibles, alimentos funcionales y productos farmacéuticos (Severo et al., 2019). Por lo tanto, comprender los factores que pueden afectar su desarrollo y supervivencia es de vital importancia.

Uno de los principales problemas en el cultivo de microalgas son los altos costos que demanda la cosecha (Mian et al., 2013). La cosecha en los cultivos microalgales consiste en la separación de la biomasa útil del medio acuoso. Este proceso suele ser costoso debido a que para la concentración de la suspensión microalgal se requiere una gran cantidad de energía o sustancias químicas que sedimenten a las células (Barros et al., 2015). Se estima que alrededor del 20-30% de los costos de producción son destinados a la cosecha (Fasaei et al., 2018), representando una gran limitante para muchos sectores dedicados al cultivo de microalgas.

Existen más de 50,000 especies reportadas, agrupadas en las siguientes divisiones: chlorophyta, bacillariophyta, cyanophyta, cryptophyta y dinophyta (Sathasivam et al., 2019). Sin embargo, solo un grupo limitado de especies pueden ser cultivadas masivamente; debido a que no se han obtenidos medios adecuados para aislar todas las especies y algunas presentan un crecimiento lento, y a la vez, solo unas pocas especies cuentan con alto potencial bioquímico (Molino et al., 2018). Entre los géneros más importantes están *Spirulina*, *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Tetraselmis*, *Thalassiosira*, *Isochrysis*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* y *Nannochloris* (Geada et al., 2017).

En la actualidad, el cultivo de microalgas se encuentra ampliamente desarrollado, dominándose técnicas de aislamiento, mantenimiento de cepas, producción de inóculos, escalamientos masivos, cosecha, procesamiento y mejoramiento genético (AlProl & Elkatory, 2022; Khan et al., 2018). Esto ha llevado a que el mercado de productos de microalgas alcance un valor de 6.5 billones de USD al año, de los cuales alrededor de 2.5 billones de USD representan el sector alimentario, 1.5 billones de USD la producción de DHA y 700 millones el sector acuícola (Mobin & Alam, 2017).

La producción de microalgas resulta atractiva debido a que esta no requiere de terrenos

fértiles, además de que las especies seleccionadas pueden tolerar amplias variaciones ambientales, convirtiéndose en una actividad clave para aquellas regiones en donde los cultivos convencionales no pueden realizarse (Li et al., 2008). A pesar de ello, existen obstáculos en el campo del cultivo de microalgas que limitan la producción para sectores específicos, como por ejemplo la producción de biodiesel a partir de microalgas, en donde se ha estimado que el costo de la cosecha puede alcanzar el 50% (Mallick et al., 2016).

Además, existen algunas especies que son más difíciles de cosechar debido su a reducido tamaño, como en el caso de la microalga *Nannochloris* sp. Esta especie tiene un tamaño aproximado de 2  $\mu\text{m}$  (Wang et al., 2014). Asimismo, durante la etapa de la cosecha, los cultivos son altamente densos en número de células, sin embargo, una mayor densidad requiere menor cantidad de químicos para la sedimentación, y, por lo tanto, la sedimentación ocurre a un menor pH (Rojo et al., 2016).

Las valvas de *A. purpuratus* están compuestas químicamente de carbonatos de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) en un 98% (Corzo, 2019), de las cuales se puede extraer óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ) mediante un proceso de calcinación. Cabe señalar que en la actualidad la industria del cultivo de *A. purpuratus* viene generando grandes volúmenes de desechos. Durante el período 2019-2020, la cosecha de *A. purpuratus* alcanzó las 47 mil toneladas métricas (TM), con aproximadamente un 85% de estas cifras representando desechos de valvas (Carrillo, 2018). Esta situación genera una problemática significativa, especialmente por los impactos adversos que ocasiona al medio ambiente. Por consiguiente, la reutilización de estos desechos se convierte en una opción atractiva para fomentar la sostenibilidad de la industria a largo plazo.

Para todas las industrias involucradas en el cultivo de microalgas resulta necesario abaratar los costos de producción. Bajo este contexto, resulta necesario investigar nuevas metodologías que ayuden a reducir los costos de la cosecha, principalmente para aquellas microalgas que se cultivan masivamente y de menor tamaño. Por lo tanto, planteamos el siguiente problema de investigación: ¿Cuál es el efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *A. purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp., bajo condiciones de laboratorio?

## **Hipótesis**

Si empleamos concentraciones de 15, 20, 25, 30 y 35 mL/L de óxido de calcio al 0.5% en la cosecha de *Nannochloris* sp., se obtendrá mejor tiempo, velocidad y eficiencia de sedimentación y viabilidad celular con la concentración de 25 mL/L.

La hipótesis que se planteó fue resultado de pre ensayos realizado en el laboratorio, con concentraciones oxido de calcio al 0.5, 1 y 1.5%.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

- Evaluar el efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *A. purpuratus* sobre la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp., bajo condiciones de laboratorio.

### **Objetivos específicos**

- Comparar el efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *A. purpuratus* en el tiempo y eficiencia de sedimentación de *Nannochloris* sp.
- Determinar el efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *A. purpuratus* en la velocidad de sedimentación de *Nannochloris* sp.
- Determinar el efecto del óxido de calcio obtenido de las valvas de *A. purpuratus* en la viabilidad celular de *Nannochloris* sp.

## II. MARCO REFERENCIAL

La microalga *Nannochloris* sp. es una chlorophyta unicelular de tamaño pequeño (Sanders et al., 2022). Tiene alto potencial para su producción debido a que tolera amplios rangos ambientales y condiciones de cultivo, además de sintetizar grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturados. Asimismo, el cultivo de *Nannochloris* sp. puede ser dirigido a la alimentación de rotíferos por su tamaño y características bromatológicas. En su composición celular, se ha estimado valores de 45.5% de proteína, 17.3% de lípidos y 18.4 de carbohidratos (Garcia-Vaquero, 2021).

Las microalgas, en especial *Nannochloris* sp., se han convertido en foco de estudio clave en la investigación actual por su versatilidad y aplicaciones multidisciplinarias. Esta especie, reconocida por su capacidad de adaptarse a variadas condiciones ambientales (Dangeubun et al., 2020), y también se destaca en la producción de biocombustibles, bioproductos y en la biorremediación (Rizal et al., 2020). Su alto contenido de lípidos y su rápido crecimiento la posicionan como una promisorio candidata para la producción sostenible de biocombustibles, ofreciendo una alternativa vital en la reducción de la dependencia de los combustibles fósiles y disminuyendo el impacto ambiental asociado (Taher et al., 2020).

Adicionalmente, *Nannochloris* sp. sobresale por su potencial en la purificación de aguas residuales y la captura de dióxido de carbono (Alami et al., 2021). Su capacidad para metabolizar contaminantes y capturar carbono la convierte en una herramienta crucial en la biorremediación, contribuyendo significativamente a la reducción de la contaminación ambiental y ofreciendo soluciones prácticas frente a desafíos como la calidad del agua y el cambio climático. Esta polivalencia funcional la posiciona como un organismo microalgal de gran relevancia en la investigación actual, proponiendo alternativas ecológicas y económicamente viables para diversos sectores industriales (Marques et al., 2021).

Por otro lado, la cosecha de las microalgas consiste en el proceso de separación de las células del medio de cultivo. Existen diversas metodologías, sin embargo, el método de cosecha a seleccionar depende principalmente de las características de las microalgas, como tamaño y su densidad celular, asimismo, de las características deseadas del producto final (Singh & Patidar, 2018). Cabe resaltar que, debido al rápido crecimiento,

el cultivo de microalgas requiere de cosechas continuas en periodos relativamente cortos, a comparación de los cultivos terrestres (Amer et al., 2011).

Las microalgas por lo general suelen presentar tamaños entre 1 a 10  $\mu\text{m}$ , haciendo a el proceso de cosecha mucho más dificultoso. Además, las microalgas tienen carga eléctrica negativa y presentan similar densidad con el agua, lo cual impide su fácil precipitación (Xu et al., 2013). Esto representa un reto, sobre todo para los cultivos masivos en donde se manejan grandes volúmenes de cultivo. Cabe señalar que, actualmente, se dispone de métodos mecánicos y químicos sumamente eficaces para la cosecha de microalgas.

Entre los métodos mecánicos tenemos a la centrifugación. Este procedimiento es altamente efectivo, alcanzando concentrar la biomasa hasta el 10-20% del volumen total (Pahl et al., 2013). Sin embargo, la centrifugación es costosa por el requerimiento de equipamiento y la energía eléctrica. Otro método mecánico es la filtración, pero este solo puede ser aplicado a microalgas de mayor tamaño y además presenta la desventaja de que la membrana de filtración debe ser reemplazada o limpiada periódicamente para evitar la saturación.

El óxido de calcio, comúnmente conocido como cal viva, se obtiene a menudo a partir de las conchas de abanico y está disponible en grandes volúmenes. Esta forma de cal es utilizada con éxito en la sedimentación de microalgas debido a su capacidad para elevar el pH del agua, lo que facilita la concentración de las algas. Al introducir el óxido de calcio derivado de las conchas de abanico en el medio acuoso, se produce hidróxido de calcio, elevando el pH y propiciando la formación de compuestos insolubles. Estos componentes reaccionan con las partículas de microalgas, facilitando su agrupación y sedimentación, un proceso crucial en diversos ámbitos industriales y de tratamiento de aguas (Picado, 2020).

Entre los métodos químicos, trabajos experimentales han demostrado la efectividad de agentes alcalinos, como por ejemplo  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  y  $\text{Na}(\text{OH})_2$ , para la concentración de la biomasa microalgal (Horiuchi et al., 2003; Mu et al., 2018; Vandamme et al., 2015). El fundamento del uso de estas sustancias es el cambio del pH del medio, por el cual se genera una perturbación en las cargas superficiales de las células, promoviendo su agrupamiento y sedimentación por aumento de peso (Li et al., 2021), como se observa en la figura 1.

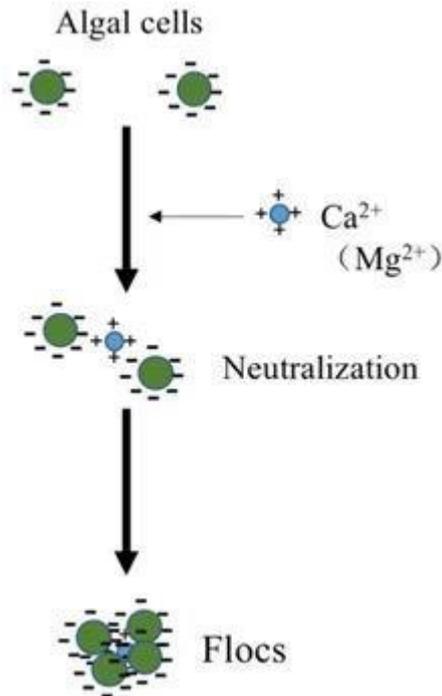


Figura 1. Proceso de sedimentación de las microalgas. Imagen tomada de Li et al. (2021).

En el contexto del tratamiento de aguas y procesos químicos, la floculación, precipitación y sedimentación por gravedad son procesos fundamentales para la separación de componentes. La floculación es un proceso de aglomeración en el cual partículas coloidales se unen para formar flóculos más grandes, a menudo inducido por la adición de un floculante químico, lo que facilita su posterior separación del líquido (Romero, 2018). La precipitación, por otro lado, es una reacción química donde sustancias disueltas forman sólidos insolubles o semisolubles, que se separan del líquido en el que están disueltas (Guerreros, 2021). Finalmente, la sedimentación por gravedad implica el asentamiento de partículas sólidas (flóculos o precipitados) en el fondo de un recipiente debido a la fuerza de gravedad, permitiendo la separación del sólido y el líquido por diferencias de densidad (Ríos, 2022). Estos procesos son cruciales en diversas aplicaciones, incluyendo el tratamiento de aguas residuales, donde facilitan la remoción de contaminantes y la clarificación del agua.

La sedimentación ha sido propuesta como un método simple y de bajo costo. La sedimentación es un efecto de la gravedad que provoca la concentración de las partículas desde la superficie hasta el fondo (Henderson et al., 2008). La sedimentación natural es un proceso que se utiliza para reducir el tiempo de la cosecha de microalgas. En este

aspecto, podemos incrementar la eficiencia de la sedimentación con agentes químicos que ayuden a concentrar la biomasa. Asimismo, se conoce que el incremento del pH promueve una mejor sedimentación de la biomasa.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Diseño experimental

El experimento tuvo un diseño de estímulo creciente con cinco tratamientos experimentales y un tratamiento control, con tres repeticiones. Para la experimentación de la sedimentación se empleó concentraciones de 15, 20, 25, 30 y 35 mL/L de óxido de calcio al 0.5% (5 g/L de CaO). El patrón de óxido de calcio al 0.5% se obtuvo diluyendo 5 g de CaO en 1 L de agua destilada, como se detalla en el punto. El CaO se preparó calcinando valvas de *A. purpuratus* en una mufla a 800 °C por 3 horas. Asimismo, para evaluar la viabilidad de las células, se realizaron cultivos tomando a las microalgas posterior al proceso de sedimentación, con la finalidad de determinar si son viables para su cultivo en cultivos sucesivos.

Tabla 1. Diseño experimental para la sedimentación y viabilidad celular de *Nannochloris* sp.

Tratamientos	Experimento de sedimentación	Experimento de viabilidad celular
TC	Sedimentación sin CaO	Inóculo sin CaO
T1	Sedimentación con 15 mL/L CaO 0.5%	Inóculo con 15 mL/L CaO 0.5%
T2	Sedimentación con 20 mL/L CaO 0.5%	Inóculo con 20 mL/L CaO 0.5%
T3	Sedimentación con 25 mL/L CaO 0.5%	Inóculo con 25 mL/L CaO 0.5%
T4	Sedimentación con 30 mL/L CaO 0.5%	Inóculo con 30 mL/L CaO 0.5%
T5	Sedimentación con 35 mL/L CaO 0.5%	Inóculo con 35 mL/L CaO 0.5%

#### 3.2 Procedencia del inóculo

La microalga *Nannochloris* sp. provino del cepario del laboratorio de Cultivo de especies Auxiliares del Departamento de Biología, Microbiología y Biotecnología, de la facultad de Ciencias, Universidad Nacional del Santa. La microalga (Figura 1) se identificó por observaciones microscópicas y claves taxonómicas. Esta cepa se mantuvo bajo condiciones asépticas de cultivo semicontinuo, aireación suministrada con un blower de 0.5 HP e iluminación constantes con un fluorescente de 40 watts. El medio de cultivo usado para el mantenimiento y levante de los cultivos de *Nannochloris* sp. fue el medio Guillar F/2.

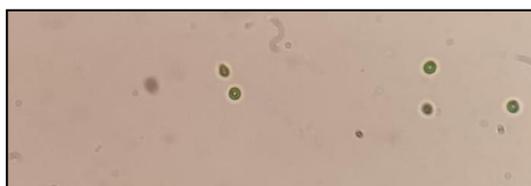


Figura 1. Cepa de la microalga *Nannochloris* sp. vista al objetivo 100x.

### 3.3 Medio de cultivo

Para realizar los experimentos requerimos 10 litros de cultivo de la microalga. Para ello realizamos escalamientos usando el medio Guillar F/2, cuyos componentes se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 2. Composición química del medio Guillard F/2.

<b>Nutriente</b>	<b>Cantidad (g/L)</b>
NaNO <sub>3</sub>	84.15
Na <sub>2</sub> MoO <sub>2</sub>	6.0
FeCl <sub>3</sub>	2.9
Na <sub>2</sub> EDTA	10.0
NaSiO <sub>3</sub>	33.0
CuSO <sub>4</sub>	1.96
ZnSO <sub>4</sub>	4.40
Ma <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	1.26
MnCl <sub>2</sub>	36.0
CoCl <sub>2</sub>	2.0
Vitamina B1	0.4
Vitamina B12	0.002 mg
Biotina	0.1 mg

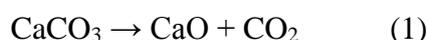
### 3.4 Escalamiento del cultivo

Con el inóculo se realizó el escalamiento por desdobles hasta llegar a un volumen de 10 litros de cultivo. Este procedimiento se realizó en botellas de 3 litros y luego en un balde plásticos de 12 litros de volumen total con agua de mar previamente filtrada y esterilizada. Se inició con un volumen de inóculo de 100 mL en fase de crecimiento exponencial. Los cultivos se mantuvieron con agitación mediante aireación por un blower a un ratio de 1 L/min. y con iluminación constante con un fluorescente de 40 watts a 1500 lux. Además,

se realizó conteos celulares con cámara Neubauer con la finalidad de determinar el crecimiento celular y monitorear la salubridad del cultivo.

### 3.5 Preparación del patrón de óxido de calcio

El óxido de calcio se preparó con las valvas de *A. purpuratus*, recolectadas en la playa el Dorado, ubicada en la ciudad de Nuevo Chimbote (UTM -9.188257, -78.565708). La obtención del óxido de calcio se realizó mediante un proceso de calcinación a una temperatura de 800 °C por un periodo de 3 horas en una mufla. Para nuestro experimento pesamos 1 Kg de valvas y obtuvimos 830 g de óxido de calcio. Posteriormente, las valvas fueron molidas con un molino mecánico. La reacción que se produce en durante la calcinación se describe en la literatura (Farías, 2018) con la continuación:



En esta reacción, la molécula de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) se rompe para liberar dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ). Una vez obtenido el óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ), se preparó la solución de  $\text{CaO}$  al 0.5% (5 g/L), a la cual denominamos como patrón  $\text{CaO}$ .

La concentración de  $\text{CaO}$  presente en el patrón se determinó por el método de titulación con EDTA e indicador con negro de ericromo (Capote et al., 2015). Para ello, se tomó una muestra de 10 mL, se diluyó en 50 mL de agua destilada y se ajustó el pH a 10 unidades con hidróxido de sodio. Luego, se le agregó 5 mL del indicador (negro de ericromo) y se homogenizó. Con la ayuda de un titulador, se añadió el EDTA lentamente agitando la mezcla hasta observar un cambio de color. Finalmente, se anotó el gasto y la concentración de Ca se calculó con la siguiente formula:

$$\text{mg/L Ca} = V_g \times F \times 1000 / V_m \quad (2)$$

Dónde:  $V_g$  es el volumen del EDTA gastado,  $F$  es el factor que representa x mg de Ca por cada mL de disolución de EDTA, y  $V_m$  es el volumen de la muestra.

### 3.6 Sedimentación de la microalga *Nannochloris* sp.

Utilizamos probetas graduadas de 500 mL de volumen, con 500 mL del cultivo de la microalga, a las cuales aplicamos diferentes concentraciones del patrón  $\text{CaO}$  para sedimentar la biomasa microalgal, con la finalidad de determinar el tiempo, velocidad y

eficiencia de sedimentación. Para ello, se observó y registró el cambio de la concentración celular en función del tiempo y la distancia (altura) de las células concentradas, con la ayuda de tomas fotográficas.

### 3.7 Determinación del tiempo, velocidad y eficiencia de sedimentación

#### 3.7.1 Tiempo de sedimentación

El tiempo de sedimentación se estimó cada hora por un periodo de 12 horas. Además, se registró la altura (expresada por la marca del volumen en la probeta). Para lograr una mayor precisión en la estimación de la altura, se realizaron capturas fotográficas de cada uno de los tratamientos experimentales con una cámara de celular de 108 megapíxeles en cada tiempo establecido. El tiempo máximo de sedimentación se determinó cuando ya no se observó variación en la altura de la suspensión microalgal. El cambio de la altura de la suspensión algal en función del tiempo se detalla en la figura 2.

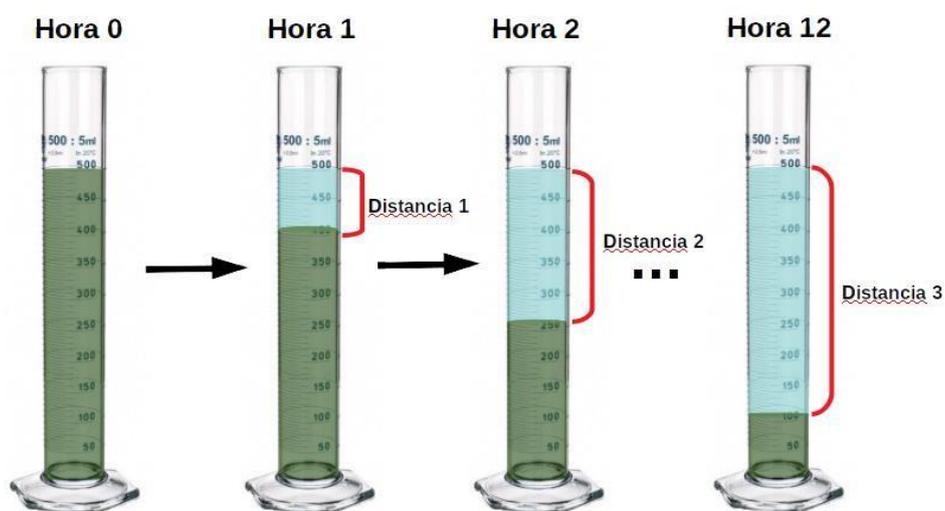


Figura 2. Representación del cálculo del tiempo de sedimentación.

#### 3.7.2 Velocidad de sedimentación

La velocidad de sedimentación, en nuestro diseño experimental, se determinó registrando el cambio de altura de la suspensión algal (cambio de gradiente) con respecto al máximo volumen y en función del tiempo. La velocidad de sedimentación fue calculada con la siguiente ecuación, que se deriva de la segunda Ley de Newton:

$$v = d / t \quad (3)$$

Donde  $v$  es la velocidad,  $d$  es la distancia que ha recorrido la línea de sedimentación, y  $t$  es el tiempo.

### **3.7.3 Eficiencia de sedimentación**

La eficiencia de sedimentación (ES%) se determinó después de 12 horas posterior a la dosificación del patrón CaO. La eficiencia se calculó con el volumen final concentrado en cada uno de los tratamientos entre el volumen total. Para una mayor precisión, se capturarán imágenes en alta resolución de cada uno de los tratamientos experimentales. La eficiencia de sedimentación se calculó con la siguiente ecuación:

$$ES\% = vfc / 500 \times 100 \quad (4)$$

Donde:  $vfc$  representa el volumen final concentrado.

### **3.8 Determinación de la viabilidad celular**

Para determinar la viabilidad celular, planteamos un enfoque en el cual se determinó el porcentaje de células viables para cultivo mediante el cultivo de la biomasa sedimentada. Para ello, realizamos cultivos usando la biomasa sedimentada conforme a los cultivos iniciales. Para ello, se tomó 25 mL de inóculo de cada uno de los tratamientos, los cuales fueron re-suspendidos en 100 mL con medio de cultivo Guillard F/2, bajo las mismas condiciones del escalamiento. Previamente, determinamos el número de células inicial para cada tratamiento. Posterior a la siembra, realizamos conteos celulares con un microscopio óptico y una cámara Neubauer. La densidad celular se determinó diariamente por 6 días. Asimismo, se determinó el tiempo de duplicación (TD) y el coeficiente de decrecimiento ( $\mu$ ) para cada tratamiento. El porcentaje de viabilidad (%V) se determinó con la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de viabilidad} = n^\circ \text{células viables} / n^\circ \text{células totales} \times 100 \quad (5)$$

### **3.9 Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de varianza ANOVA con la post prueba de Tukey, con la finalidad de determinar diferencia estadística significativa entre los tratamientos experimentales y controles. Para ello se empleó el paquete SPSS versión 21.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Crecimiento poblacional en el escalamiento

Los cultivos de *Nannochloris* sp. presentaron un rápido crecimiento durante la fase de escalamiento. El máximo crecimiento poblacional se determinó en 6 días. La densidad celular con la que se inició fue de  $75 \times 10^4$  cel/mL, y el máximo crecimiento fue de  $1775 \times 10^4$  cel/mL. Se destaca que el cultivo presentó una fase de crecimiento lag (lenta) que duró menos de 2 días, a partir de la cual comienza el crecimiento exponencial (Figura 3).

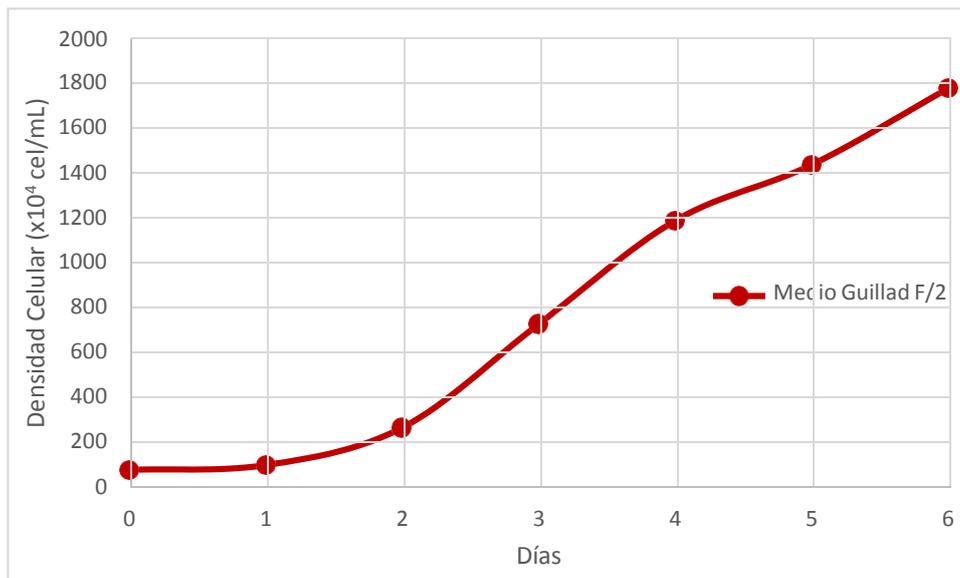


Figura 3. Curva de crecimiento de la microalga *Nannochloris* sp. con medio Guillard F/2.

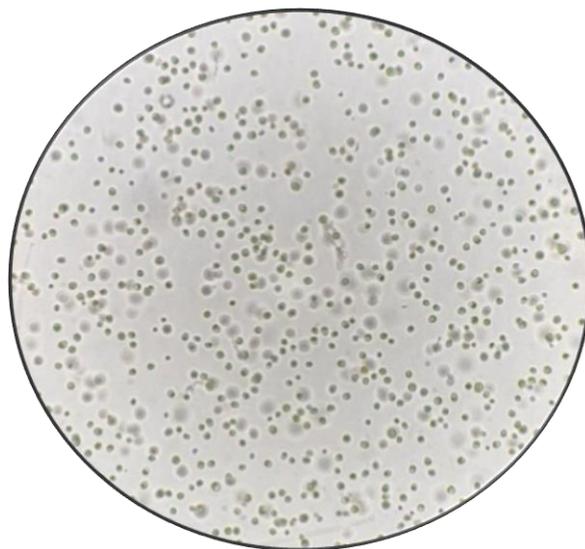


Figura 4. Células de la microalga *Nannochloris* sp. en crecimiento exponencial vista al objetivo 40x.

## 4.2 Determinación del CaO

En el análisis con el método de titulación de EDTA, se determinó el gasto de EDTA (6.9 mL), mediante el cual, aplicando la ecuación 2, con un factor de 0.02, se estimó que el patrón calcio contiene 13.8 mg/L de calcio.

## 4.3 Eficiencia y tiempo de sedimentación

La sedimentación de los cultivos se observó desde el instante en que se adicionó el patrón CaO. Durante la primera hora, se obtuvo una rápida sedimentación en la parte superior de las probetas, donde determinamos que las microalgas formaban flóculos y precipitaban hacia el fondo (Figura 5). En las siguientes horas, la sedimentación fue más lenta, sin embargo, notamos mayor sedimentación cuando las concentraciones del patrón CaO aumentaban.

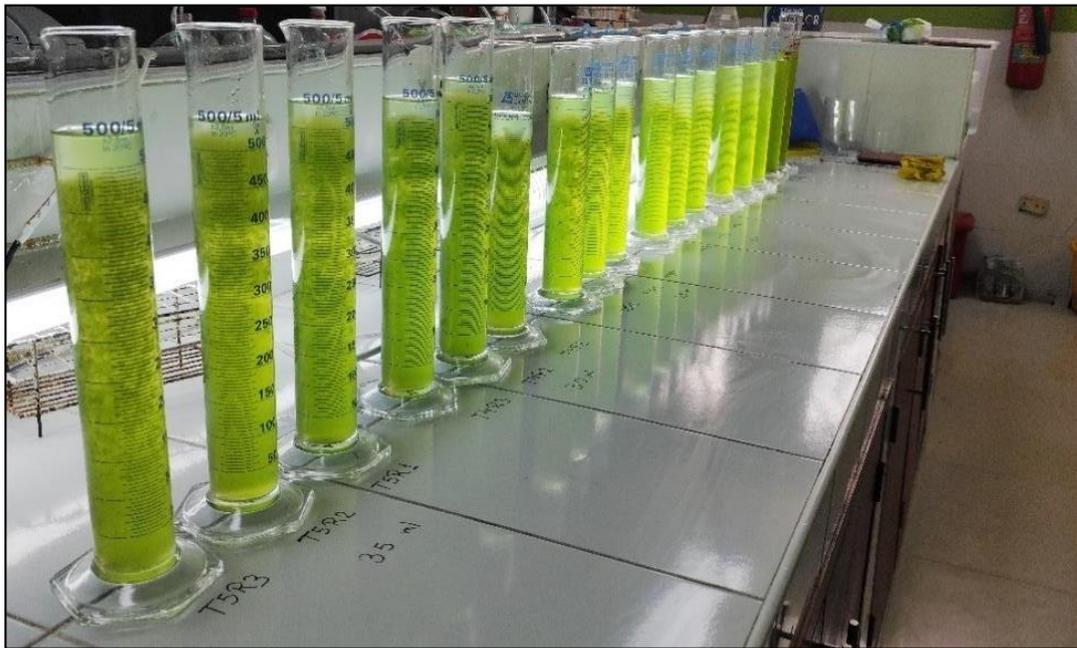


Figura 5. Distribución de los tratamientos experimentales con las probetas de 500 mL.

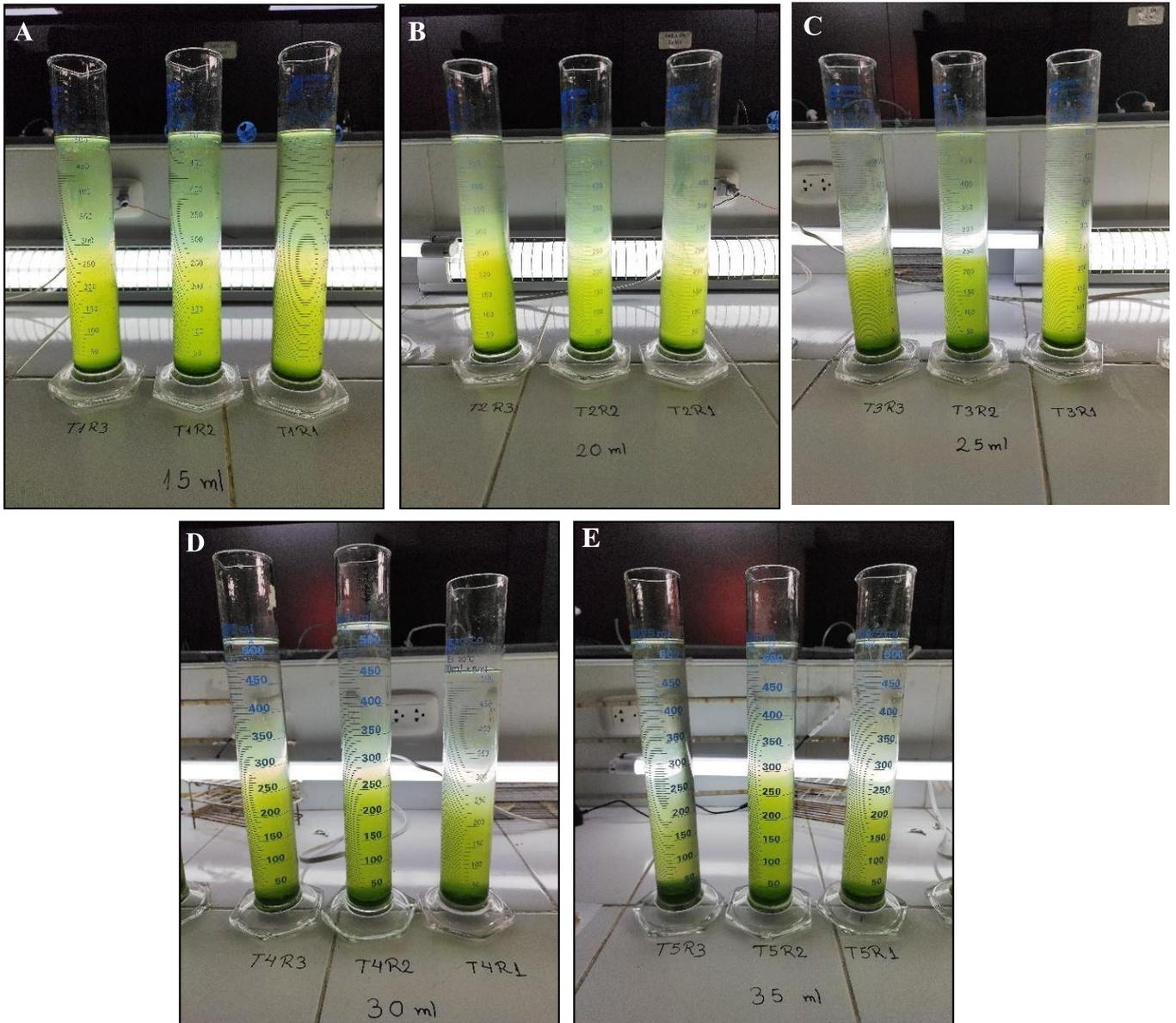


Figura 6. Sedimentación de los cultivos de *Nannochloris* sp. después de 24 horas de aplicado el óxido de calcio. A) Tratamiento con 15 mL/L de óxido de calcio (0.5%). B) Tratamiento con 20 mL/L de óxido de calcio (0.5%). C) Tratamiento con 25 mL/L de óxido de calcio (0.5%). D) Tratamiento con 30 mL/L de óxido de calcio (0.5%). E) Tratamiento con 35 mL/L de óxido de calcio (0.5%).

Tabla 3. Eficiencias y tiempos de sedimentación de los cultivos y sus porcentajes de acuerdo a los tratamientos experimentales con el patrón CaO.

Horas	Eficiencias de sedimentación					
	TC 0 mL/L	T1 15 mL/L	T2 20 mL/L	T3 25 mL/L	T4 30 mL/L	T5 35 mL/L
0.5	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	2.33 ±0.6 <sup>b</sup>	4.67 ±2.1 <sup>c</sup>	8.33 ±2.9 <sup>d</sup>	10.67 ±4.0 <sup>e</sup>	15.33 ±0.6 <sup>f</sup>
1	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	25.67 ±2.1 <sup>b</sup>	34.33 ±4.0 <sup>c</sup>	45.00 ±5.0 <sup>d</sup>	47.33 ±2.1 <sup>d</sup>	52.67 ±2.5 <sup>e</sup>
6	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	32.00 ±2.0 <sup>b</sup>	42.00 ±2.6 <sup>c</sup>	48.33 ±2.9 <sup>d</sup>	54.33 ±4.0 <sup>e</sup>	57.67 ±2.5 <sup>f</sup>
12	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	42.67 ±2.1 <sup>b</sup>	50.67 ±1.2 <sup>c</sup>	52.33 ±2.5 <sup>d</sup>	62.33 ±2.5 <sup>e</sup>	64.33 ±2.1 <sup>e</sup>
18	2.67 ±2.1 <sup>a</sup>	46.67 ±1.5 <sup>b</sup>	55.67 ±1.2 <sup>c</sup>	61.00 ±1.0 <sup>d</sup>	69.67 ±1.5 <sup>e</sup>	72.33 ±2.5 <sup>f</sup>
24	5.33 ±0.6 <sup>a</sup>	55.87 ±9.9 <sup>b</sup>	63.56 ±3.9 <sup>c</sup>	64.98 ±2.8 <sup>c</sup>	74.74 ±2.9 <sup>d</sup>	77.18 ±5.1 <sup>d</sup>

Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa a un nivel de  $p < 0.05$ .

La máxima eficiencia de sedimentación se determinó a las 24 horas, la cual fue  $>50\%$  en todos los tratamientos experimentales. El tratamiento con 35 mL/L del patrón CaO permitió obtener una eficiencia de sedimentación de  $77.18 \pm 5.1\%$ , aunque similar estadísticamente con el tratamiento de 30 mL/L, con el que se obtuvo una eficiencia de  $74.74 \pm 2.9\%$  (Tabla 3). Por otro lado, la menor eficiencia de sedimentación se obtuvo en los controles, en donde se observó una mínima sedimentación por efecto de la gravedad ( $5.33 \pm 0.6$ ). Asimismo, el tratamiento con 20 y 25 mL/L de patrón CaO tuvieron eficiencias similares estadísticamente ( $63.56 \pm 3.9$  y  $64.98 \pm 2.8$ , respectivamente).

#### 4.4 Velocidad de sedimentación

Las máximas velocidades de sedimentación se obtuvieron durante la primera hora del experimento. La mayor velocidad de sedimentación ( $186.67 \pm 12.6$  mL/hora) se obtuvo con el tratamiento de 35 mL/L. El tratamiento con 25 y 30 mL/L tuvieron velocidades estadísticamente similares ( $p < 0.05$ ), de  $183.33 \pm 14.4$  y  $183.33 \pm 11.5$  mL/hora. A partir de la hora 6 todas las velocidades caen significativamente y fueron menores a 60 mL/hora hasta las 24 horas (Figura 7).

Tabla 4. Velocidades de sedimentación estimadas en cada hora de muestreo.

Horas	Velocidad de sedimentación (mL/horas)					
	TC 0 mL/L	T1 15 mL/L	T2 20 mL/L	T3 25 mL/L	T4 30 mL/L	T5 35 mL/L
0.5	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	11.67 ±2.9 <sup>b</sup>	23.33 ±10.4 <sup>c</sup>	41.67 ±14.4 <sup>d</sup>	53.33 ±20.2 <sup>e</sup>	76.67 ±2.9 <sup>f</sup>
1	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	116.67 ±12.6 <sup>b</sup>	148.33 ±11.5 <sup>c</sup>	183.33 ±14.4 <sup>d</sup>	183.33 ±11.5 <sup>d</sup>	186.67 ±12.6 <sup>d</sup>
6	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	31.67 ±7.6 <sup>b</sup>	38.33 ±10.4 <sup>c</sup>	16.67 ±14.4 <sup>d</sup>	35.00 ±10.0 <sup>e</sup>	25.00 ±0.0 <sup>f</sup>
12	0.00 ±0.0 <sup>a</sup>	53.33 ±16.1 <sup>b</sup>	43.33 ±7.6 <sup>d</sup>	20.00 ±8.7 <sup>d</sup>	40.00 ±8.7 <sup>d</sup>	33.33 ±2.9 <sup>e</sup>
18	13.33 ±10.4 <sup>a</sup>	20.00 ±10.0 <sup>b</sup>	25.00 ±0.0 <sup>c</sup>	43.33 ±11.5 <sup>d</sup>	36.67 ±18.9 <sup>e</sup>	40.00 ±10.0 <sup>d</sup>
24	13.33 ±7.6 <sup>a</sup>	46.00 ±44.0 <sup>b</sup>	39.48 ±25.4 <sup>c</sup>	19.88 ±9.1 <sup>d</sup>	25.37 ±8.6 <sup>e</sup>	24.23 ±17.0 <sup>e</sup>

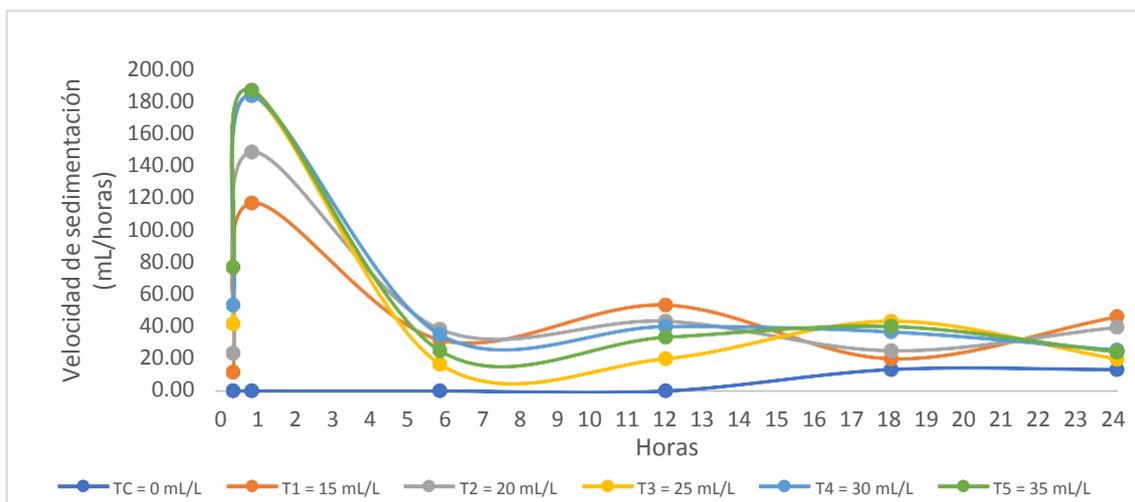


Figura 7. Velocidad de sedimentación en función del tiempo.

#### 4.5 Parámetros físico-químicos durante la sedimentación

El pH de las microalgas fue diferente en todos los tratamientos experimentales debido al efecto del patrón CaO. Observamos que el pH aumentó conforme se incrementó la concentración de patrón CaO suministrado. Asimismo, notamos que los niveles de pH fueron superiores al finalizar el experimento.

Al inicio del experimento, el máximo valor de pH ( $9.26 \pm 0.03$ ) se observó con el tratamiento de 35 mL/L. De igual manera, al finalizar el experimento (24 horas) el máximo pH ( $9.54 \pm 0.08$ ) se observó en el tratamiento con 35 mL/L. Al finalizar todos los tratamientos experimentales tuvieron  $\text{pH} > 9.2$ , el cual fue el responsable de la sedimentación rápida de los cultivos (Tabla 5). Estos valores también están asociados a las eficiencias de sedimentación, ya que a mayor pH mayor es la eficiencia de sedimentación.

Tabla 5. pH de los tratamientos experimentales al inicio y fin de la sedimentación.

Tiempo	pH					
	TC 0 mL/L	T1 15 mL/L	T2 20 mL/L	T3 25 mL/L	T4 30 mL/L	T5 35 mL/L
1 min	$7.75 \pm 0.04^a$	$8.84 \pm 0.02^b$	$9.08 \pm 0.11^c$	$9.04 \pm 0.02^c$	$9.15 \pm 0.06^c$	$9.26 \pm 0.03^d$
24 horas	$8.66 \pm 0.06^a$	$9.25 \pm 0.10^b$	$9.22 \pm 0.10^b$	$9.37 \pm 0.03^c$	$9.43 \pm 0.02^c$	$9.54 \pm 0.08^c$

#### 4.6 Viabilidad celular

Con la finalidad de demostrar la viabilidad de las células sedimentadas, se procedió a realizar cultivos experimentales utilizando las microalgas sedimentadas con diferentes

concentraciones del patrón CaO. Nuestro experimento demuestra que la microalga *Nannochloris* sp. crece después del proceso de sedimentación, sin importar la concentración de CaO suministrado (Figura 8).

A diferencia de los cultivos en la fase de escalamiento, las densidades celulares obtenidas en esta etapa fueron superiores. El máximo crecimiento poblacional se logró con el inoculo que fue sedimentado con 15 mL/L del patrón CaO. Mientras que el menor crecimiento poblacional de obtuvo con el control. Esto lo atribuimos a que los cultivos sedimentados contuvieron mayor densidad celular (Figura 9). Esto nos conduce a concluir que las células de la microalga *Nannochloris* sp. son viables después de 24 horas de ser sedimentada

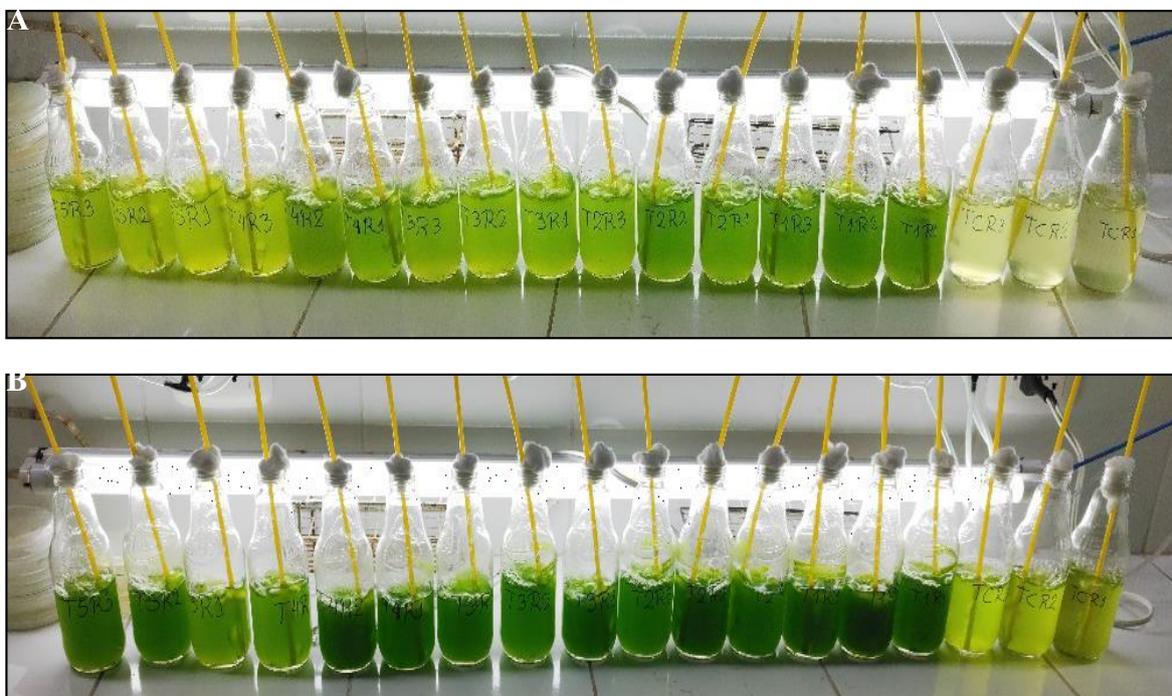


Figura 8. Crecimiento de los cultivos de *Nannochloris* sp. en el experimento de viabilidad celular. A) Muestra los tratamientos experimentales en el día 0. B) Muestra los tratamientos experimentales en el día 6.

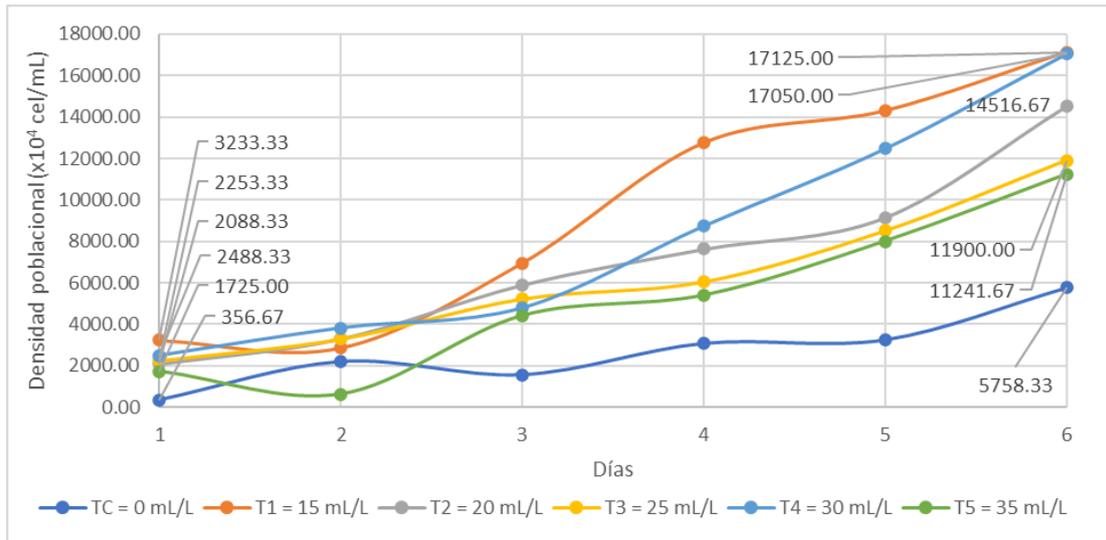


Figura 9. Curvas de crecimiento de los cultivos de *Nanochloris* sp. en el ensayo de viabilidad celular después de la sedimentación.

#### 4.7 Parámetros físico-químicos durante el ensayo de viabilidad celular

Los parámetros de temperatura y pH se encontraron dentro del rango para el cultivo de la microalga. Sin embargo, notamos que el pH tuvo mayores valores en los cultivos experimentales, conforme aumentaron las dosis del patrón CaO (Figura 10). A pesar de ello, todos los cultivos llegaron a tener un pH cercano a 9.0, lo que indica el buen crecimiento que se tuvo en todos los cultivos. La temperatura estuvo ligeramente por encima del óptimo (25°C), sin embargo, fluctuó similar en todos los tratamientos, por lo cual inferimos que no interfirió con las variables del estudio (Figura 11).

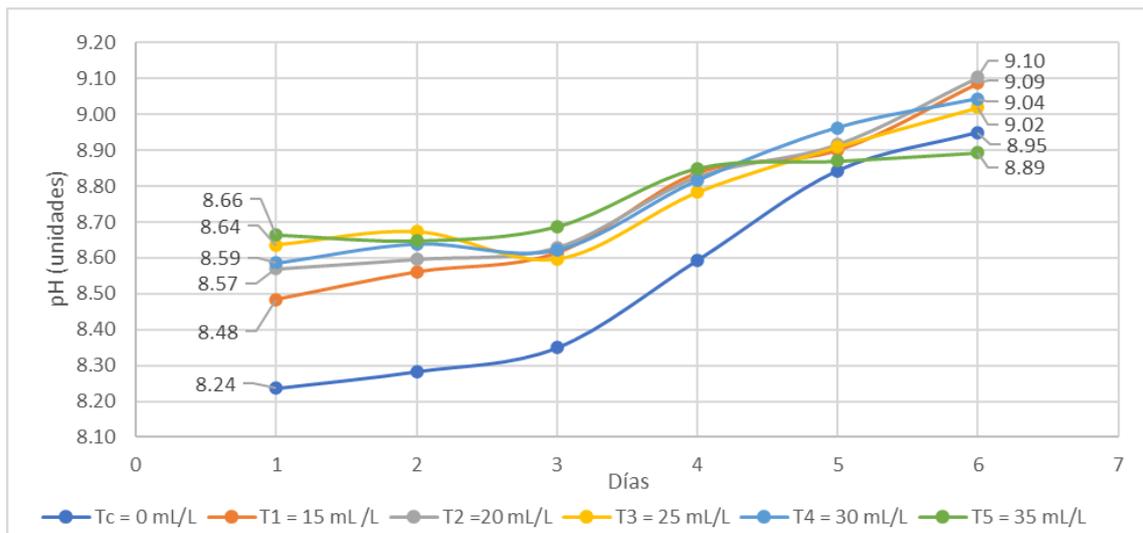


Figura 10. Fluctuación del pH en los cultivos experimentales para determinar la viabilidad de la microalga *Nanochloris* sp.

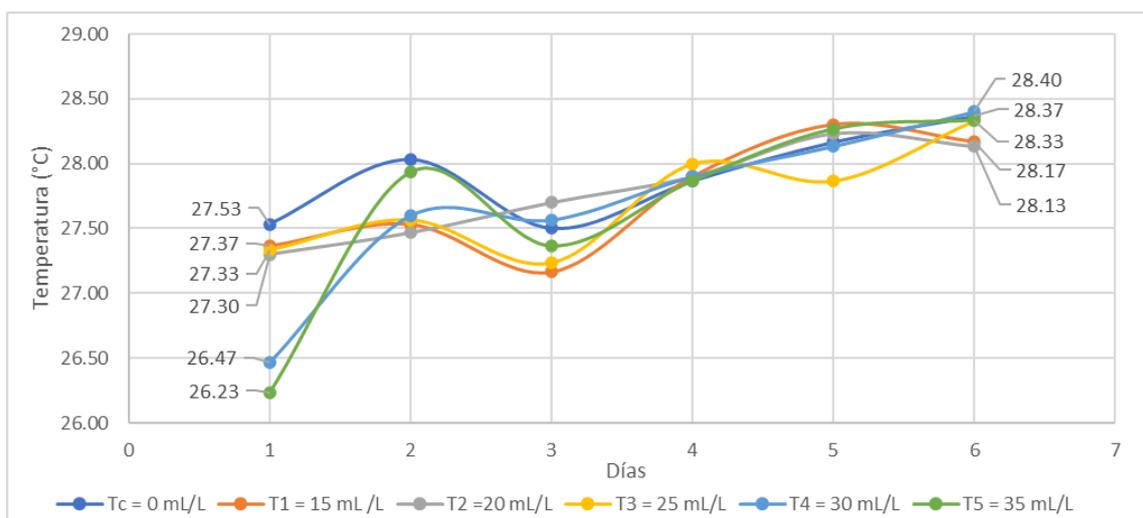


Figura 11. Fluctuación de la temperatura en los cultivos experimentales para determinar la viabilidad de la microalga *Nannochloris* sp.

#### 4.8. Comparación con otras metodologías de cosecha

Al comparar el mejor resultado de eficiencia de sedimentación (Tabla 6), notamos que es inferior al método más usado que es la centrifugación, por lo cual, los rendimientos de las cosechas (productividad) son inferiores con la sedimentación. Sin embargo, el método de sedimentación con el patrón CaO resulta significativamente económico en comparación con el método de centrifugación. En cuanto a la calidad del producto, ambos métodos proveen buena calidad, aunque se debe considerar el fin de la biomasa, ya que con el patrón CaO quedan residuos.

En la muestra experimental, donde se utilizó sedimentación con valvas de *A. purpuratus*, se observaron resultados destacados en términos de practicidad y economía. La practicidad fue calificada como alta, lo que sugiere una aplicación sencilla y factible del método. En cuanto a la economía, se identificó como muy alta, indicando un bajo costo asociado con este proceso. Sin embargo, en términos de eficiencia, la muestra experimental mostró una eficiencia del 77.18% con un margen de error de  $\pm 5.1\%$ , mientras que el método de centrifugación, representado en la muestra control, superó el 98% de eficiencia. Esto sugiere que, aunque la sedimentación con valvas de *A. purpuratus* es económicamente viable y práctica, puede ser menos eficiente en comparación con la centrifugación.

En cuanto a la productividad, se observó una menor productividad en la muestra experimental, lo que implica que el proceso de sedimentación con valvas de *A. purpuratus* podría generar una cantidad menor de producto en comparación con la centrifugación.

En conclusión, la sedimentación con valvas de *A. purpuratus* se muestra como una opción práctica, económicamente viable y con una calidad de producto buena, pero con una eficiencia y productividad menores en comparación con la centrifugación, destacando diferentes fortalezas y limitaciones entre ambos métodos.

Tabla 6. Cuadro comparativo entre la sedimentación de *Nannochloris* sp. con CaO de *A. purpuratus* y el método de centrifugación como control.

<b>Variable</b>	<b>Muestra Experimental (sedimentación con valvas de <i>A. purpuratus</i>)</b>	<b>Muestra Control (centrifugación)</b>
Practicidad	Alto	Bajo
Económico	Muy Alto (S/ 0.75 por m <sup>3</sup> )*	Costoso (S/ 1.99 por m <sup>3</sup> )**
Eficiencia	77.18 ±5.1	<98.00
Productividad	Menor	Mayor
Calidad del Producto	Buena	Buena
Eco amigable	Alto	Bajo

\*Estimado en base a los costos de colecta y preparación del patrón CaO. \*\* Según Shamsaie & Hosseini (2022).

## V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el escalamiento revelan un buen crecimiento de *Nannochloris* sp. bajo nuestras condiciones de cultivo. La densidad poblacional del cultivo ( $1775 \times 10^4$  cel/mL) fue consistente con investigaciones previas ( $1500 \times 10^4$  cel/mL) en donde destacan la capacidad de *Nannochloris* sp. para prosperar en entornos de cultivo controlados (Khatoon et al., 2014). Este crecimiento vigoroso puede atribuirse en gran medida a la adaptabilidad de *Nannochloris* sp. a las condiciones de laboratorio, donde se optimiza parámetros como la disponibilidad de nutrientes, que en nuestro caso fue el medio Guillard F/2, además de la temperatura y la iluminación.

El óxido de calcio (CaO), comúnmente conocido como cal viva, ha sido ampliamente estudiado y utilizado como agente químico en diversas aplicaciones de tratamiento de aguas (Azevedo, 2020; Beleño et al., 2022). Su capacidad para inducir la sedimentación se basa en su habilidad para elevar el pH del agua (Hussein, 2022), comprobado también en nuestro experimento utilizando el CaO obtenido de las valvas de *A. purpuratus*. Esta reacción química, conocida como precipitación, facilita la formación de flóculos que sedimentan rápidamente, también siendo aplicado a la cosecha de microalgas (Beltrán-Rocha, 2017).

En este estudio, empleamos el método de titulación de EDTA para determinar el contenido de calcio en un patrón. Esta determinación es crucial en numerosas aplicaciones, desde la evaluación de la calidad del agua hasta la industria alimentaria (Cordoví, 2022). Nuestros resultados indican que el patrón contiene aproximadamente 13.8 mg/L de calcio, aunque notamos que parte del óxido de calcio precipitó rápidamente, por lo que una disolución en agua no resulta efectiva para aprovechar todo el CaO. Al comparar nuestros resultados con los valores de referencia, los cuales estiman que el contenido de calcio en el CaO es de 71.9% (719 mg/L) (Alvarez & Stiff, 2021), confirmamos que no todo el calcio se diluyó en el agua. Esto nos llevó a estimar que solo el 2% del calcio disponible es disuelto, sin embargo, otros componentes como carbonatos de magnesio pueden diluirse mejor. A pesar de estos resultados, la solución obtenida en nuestro trabajo fue suficiente para promover la sedimentación de *Nannochloris* sp.

Por otro lado, la eficiencia y el tiempo de sedimentación son aspectos cruciales en la cosecha de las microalgas. El uso de químicos para la cosecha de microalgas se ha evaluado similarmente en otros estudios (Hadiyanto et al., 2021; Salim et al., 2011; Yang

et al., 2021). Estos estudios se realizaron con la finalidad de elevar el pH para recuperar la biomasa, tal como sucede con el CaO en nuestro experimento, con valores de pH entre  $8.84 \pm 0.02$  y  $9.26 \pm 0.03$ . Huo et al (2014) logró eficiencias de cosecha del 100% en *Chaetoceros muelleri* a pH = 11.00 en 30 minutos usando hidróxido de sodio, superando nuestros resultados, pero con una microalga de mayor tamaño y químicos de mayor pureza. Otro estudio también reporta que el uso de hidróxido de sodio resulta en una mejor eficiencia de sedimentación, de hasta 94.9% en *Nannochloropsis* sp. a pH 9.6, en menos de 1 hora (Rojo-Cebreros, 2016).

Existen sustancias químicas que se agregan al agua para facilitar la formación de flóculos. El principio se basa en que los flóculos son partículas más grandes y pesadas que se sedimentan rápidamente (Lee et al., 2014). En diversos estudios se ha evaluado la factibilidad de estas sustancias. Por ejemplo, Zhu et al. (2018), evaluó quitosano como un sedimentador natural para la cosecha de biomasa de *Chlorella vulgaris*, logrando una eficiencia de sedimentación del 90% con 0.25-2.5 g/L de quitosano y un tiempo de 10 minutos. Comparado a nuestros resultados, la eficiencia y tiempo de sedimentación con quitosano en *C. vulgaris* es superior al CaO. Sin embargo, se debe considerar que *C. vulgaris* es una microalga de mayor tamaño (10  $\mu\text{m}$ ) comparada con *Nannochloris* sp. (<1  $\mu\text{m}$ ); por lo tanto, se espera mayores eficiencias en microalgas de mayor tamaño.

Chen et al. (2020), han señalado que factores como la especie de microalga, las condiciones de cultivo y las estrategias de sedimentación pueden influir en el tiempo y la eficacia de la cosecha. Los resultados presentados en este trabajo han permitido determinar una máxima eficiencia de sedimentación en 24 horas ( $77.18 \pm 5.1\%$ ) que es similar al obtenido mediante floculación electrolítica en *Tetraselmis tetrahele*, con una eficiencia entre 75-80% (Villa-Franco, 2023). Sin embargo, en nuestro experimento no encontramos diferencias significativas entre 30 y 35 mL/L, pero si observamos diferencias con 15, 20 y 25 mL/L, quedando pendiente evaluar mayores concentraciones y tiempos.

En relación a la velocidad de sedimentación, observamos que durante la primera hora del experimento se registraron las máximas velocidades de sedimentación en todos los tratamientos. Notablemente, el tratamiento con una concentración de 35 mL/L exhibió la velocidad de sedimentación más alta, alcanzando un promedio de  $186.67 \pm 12.6$  mL/hora. Por otro lado, los tratamientos con 25 mL/L y 30 mL/L demostraron velocidades de sedimentación estadísticamente similares, con valores promedio de  $183.33 \pm 14.4$  y

183.33 ± 11.5 mL/hora, respectivamente. Sin embargo, a partir de la sexta hora del experimento, todas las velocidades de sedimentación disminuyeron significativamente y se mantuvieron por debajo de los 60 mL/hora durante todo el período de observación, que abarcó 24 horas (Figura 8).

Los patrones en las velocidades de sedimentación observadas pueden atribuirse a diversos factores, físicos o químicos (Yardumian, 1937). En primer lugar, la alta velocidad de sedimentación en la primera hora podría deberse a la influencia de la gravedad, que favorece la sedimentación rápida de las partículas más pesadas. Durante la sedimentación, observamos flóculos de mayor tamaño en los tratamientos con mayor concentración del patrón CaO, sin embargo, esta velocidad disminuyó progresivamente a medida que avanzaba el tiempo, concordando con una menor formación de flóculos en presencia de menor biomasa disponible en la columna (Figura 6). Asimismo, la similitud en las velocidades de sedimentación entre los tratamientos de 25 mL/L y 30 mL/L sugiere que existe un umbral de concentración a partir del cual las partículas en suspensión no pueden sedimentar a una velocidad significativamente mayor, debido a la saturación del patrón CaO. Estos resultados son coherentes con hallazgos previos en la literatura que sugieren que la sedimentación de partículas puede ser influenciada por la concentración de la suspensión y la gravedad (Lonin & Masson, 2006; Domínguez, 2013).

Asimismo, en el estudio realizado para evaluar la viabilidad de las células sedimentadas de la microalga *Nannochloris* sp. reveló hallazgos significativos que tienen implicaciones importantes en la producción y escalabilidad de cultivos de microalgas. A través de la adición de diferentes concentraciones del patrón CaO en los cultivos experimentales, se pudo observar que los inóculos tomados de estos tuvieron mayor crecimiento poblacional que atribuimos a dos factores principalmente, la mayor densidad celular y la disposición de calcio en el medio.

Primero, al utilizar la biomasa concentrada después del proceso de sedimentación todos los cultivos experimentales iniciaron con un mayor contenido de células. La cantidad inicial de microalgas introducidas en un medio de cultivo, tiene un efecto significativo en el crecimiento poblacional de las microalgas (Bohutskyi et al., 2016). En general, un inóculo más grande tiende a acelerar el crecimiento inicial de las microalgas, ya que proporciona una mayor cantidad de células para reproducirse y aprovechar los nutrientes disponibles en el medio (Rojas & Will, 2023). Esto puede resultar en una fase de crecimiento exponencial más rápida, donde la población aumenta de manera más

pronunciada, como hemos podido corroborarlo en nuestro experimento (Figura 8 y 9), en donde los cultivos con inóculos provenientes de la sedimentación, pero con mayor densidad, tuvieron crecimientos más rápidos y más altos que el control con Guillard F/2.

En segundo lugar, el contenido de calcio en el medio de cultivo también ejerce un impacto importante en el crecimiento poblacional de las microalgas. El calcio es esencial para numerosos procesos biológicos, incluida la formación de paredes celulares y la regulación de la permeabilidad de las membranas celulares (Díaz et al., 2007). Un medio con una concentración adecuada de calcio favorece el crecimiento saludable de las microalgas al proporcionarles los componentes necesarios para mantener su estructura celular, como lo ha demostrado Tang et al. (2022), quienes con 0.1mM de  $\text{Ca}^{2+}$  incrementaron en 61% el contenido de clorofila en cultivos de microalgas-bacterias en simbiosis. En ese sentido, la disponibilidad de calcio en el inóculo de los cultivos experimentales favoreció el crecimiento de las microalgas, en todos los tratamientos.

En los cultivos durante la fase de escalamiento, las densidades celulares obtenidas después del proceso de sedimentación son superiores ( $1775 \times 10^4$  cel/mL). Es importante destacar que el máximo crecimiento poblacional ( $17125 \pm 8993.37 \times 10^4$  cel/mL) se logró con el inóculo que fue sedimentado con 15 mL/L del patrón CaO. Esto sugiere que la adición de CaO en esta concentración podría tener un efecto positivo en la activación de las células después del proceso de sedimentación (densidad inicial de  $3233.33 \pm 295.01 \times 10^4$  cel/mL).

Cabe resaltar que la metodología empleada presenta la desventaja de generar  $\text{CO}_2$  durante la calcinación de las valvas. El  $\text{CO}_2$  generado puede ser reutilizado para otros fines. Sin embargo, debido a la practicidad de la técnica de calcinación, resulta dificultoso la captura de  $\text{CO}_2$ , siendo técnicamente inviable para su aplicación en los cultivos microalgales. A pesar de ello, consideramos que el  $\text{CO}_2$  producido bajo estas condiciones puede dirigirse a espacios de cultivos del tipo biohuertos, donde no es necesario concentrar el  $\text{CO}_2$  y por ende ser liberado, reduciendo los impactos al medio ambiente.

Los resultados obtenidos en el estudio, como se refleja en la Tabla 5, indican una correlación significativa entre la concentración de óxido de calcio, obtenido de las valvas de *A. purpuratus*, y el cambio en el pH durante el proceso de sedimentación de *Nannochloris* sp. Al inicio, se observó un aumento gradual del pH con el incremento de la concentración de óxido de calcio, partiendo de un pH de 7.75 en el tratamiento control

(TC) hasta alcanzar un pH de 9.26 en el tratamiento con la concentración más alta (35 mL/L) después de 1 minuto. Este incremento inicial puede atribuirse a la naturaleza alcalina del óxido de calcio. A las 24 horas, todas las concentraciones mostraron un aumento en el pH en comparación con los valores iniciales, siendo más pronunciado en los tratamientos con mayores concentraciones. Estos resultados sugieren que el óxido de calcio no solo influye en la viabilidad celular de *Nannochloris* sp., sino que también altera significativamente las condiciones de pH en el medio, un factor crítico para el proceso de sedimentación y la viabilidad celular. Desde un punto de vista químico y físico, los cambios observados en el pH durante el experimento pueden ser explicados por la naturaleza del óxido de calcio (CaO), un compuesto alcalino que al disolverse en agua genera iones de hidróxido (OH<sup>-</sup>), aumentando así la alcalinidad del medio. Este fenómeno puede ser particularmente relevante en el contexto de la floculación y sedimentación, ya que un pH más alto favorece la aglomeración de partículas, lo que puede explicar la mejora en la sedimentación observada con mayores concentraciones de óxido de calcio. Además, la variabilidad en el pH influye en la estructura y estabilidad de las membranas celulares de *Nannochloris* sp., afectando su viabilidad.

Estos hallazgos respaldan la importancia de comprender la sedimentación de microalgas en función de la concentración y la gravedad, lo que puede tener implicaciones en las cosechas de otras especies de microalgas. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para explorar en profundidad los mecanismos subyacentes a este fenómeno y su relevancia en aplicaciones prácticas, principalmente al aire libre. Estos hallazgos respaldan la idea de que *Nannochloris* sp. podría ser una candidata prometedora para aplicaciones biotecnológicas y la producción sostenible de biomasa, dado su crecimiento robusto bajo condiciones estandarizadas, lo que sugiere su potencial para contribuir al campo de la biotecnología verde y la producción de recursos renovables

## VI. CONCLUSIONES

- El óxido de calcio obtenido de las valvas de *A. purpuratus* redujo significativamente el tiempo de sedimentación de *Nannochloris* sp. en comparación con el grupo de control.
- La mayor velocidad de sedimentación ( $186.67 \pm 12.6$  mL/hora) se observó en el tratamiento con 35 mL/L de CaO, significativamente mayor al tratamiento control, pero inferior al método de centrifugación.
- Se observó que la eficiencia de sedimentación de *Nannochloris* sp. variaron según la concentración de CaO y el tiempo de sedimentación. La máxima eficiencia de sedimentación ( $77.18 \pm 5.1\%$ ) se obtuvo con 35 mL/L del patrón CaO a  $\text{pH} = 9.54 \pm 0.08$ .
- Los inóculos tomados de cultivos sedimentados mostraron un mayor crecimiento poblacional en comparación con el control. Esto se debió a la mayor densidad celular y a la disponibilidad de calcio en el medio. El mayor crecimiento y viabilidad celular se observó con el inóculo sedimentado con 15 mL/L del patrón CaO.

## VII. RECOMENDACIONES

- Investigar otras especies de microalgas y comparar su capacidad de sedimentación y crecimiento. Esto puede ayudar a identificar especies que sean aún más eficientes en la producción de biomasa.
- Continuar investigando y optimizando las estrategias de sedimentación con mayores concentraciones de CaO.
- Llevar a cabo estudios que evalúen el impacto ambiental asociado con el CaO.
- Realizar comparaciones más detalladas entre el óxido de calcio y otras sustancias químicas que promuevan la sedimentación, como el quitosano, en diferentes especies de microalgas.
- Estudiar métodos para separar el CaO de los cultivos cosechados.
- Realizar un análisis químico y evaluar la calidad de la microalga *S. acutus* cosechada con la metodología empleada en este trabajo.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alprol, A. E., & Elkatory, M. R. (2022). The current status of various algal industries. In *Handbook of Algal Biofuels* (pp. 123–147). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823764-9.00010-8>
- Amer, L., Adhikari, B., & Pellegrino, J. (2011). Technoeconomic analysis of five microalgae-to-biofuels processes of varying complexity. *Bioresource Technology*, 102(20), 9350–9359. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.010>
- Alami, A. H., Tawalbeh, M., Alasad, S., Ali, M., Alshamsi, M., & Aljaghoub, H. (2021). Cultivation of *Nannochloropsis* algae for simultaneous biomass applications and carbon dioxide capture. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 1-12.
- Alvarez, A., & Stiff, G. (2021). Mejoramiento de la subrasante de la vía afirmada de la carretera Huanuco-Marabamba mediante la adición de porcentajes de óxido de calcio-2019.
- Azevedo, P. G. F. D., Oliveira, D. C. D. S., & Cavalcanti, L. A. P. (2020). Processos físicos e químicos para o tratamento de efluentes: uma revisão integrativa. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade*, 7(17), 1667-1678.
- Barros, A. I., Gonçalves, A. L., Simões, M., & Pires, J. C. M. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 1489–1500. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.09.037>
- Beardall, J., & Raven, J. A. (2016). Carbon Acquisition by Microalgae. In M. A. Borowitzka, J. Beardall, & J. A. Raven (Eds.), *The Physiology of Microalgae* (pp. 89–99). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2_4)
- Beltrán-Rocha, J. C., Guajardo-Barbosa, C., Barceló-Quintal, I. D., & López-Chuken, U. J. (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.
- Bohutskyi, P., Kligerman, D. C., Byers, N., Nasr, L. K., Cua, C., Chow, S., ... Boucher, E. J. (2016). Effects of inoculum size, light intensity, and dose of anaerobic digestion concentrate on growth and productivity of *Chlorella* and *Scenedesmus* microalgae and their poly-culture in primary and secondary wastewater. *Algal Research*, 19, 278–290. doi:10.1016/j.algal.2016.09.010
- Carrillo Siancas, S. M. (2018). Viabilidad del reciclaje de la concha de abanico en la industria de la construcción. Disponible en: <https://pirhua.udep.edu.pe/handle/11042/3274>
- Capote L, Tarcisio J, Matute P, Saida B, & Rojas V, Jesús R. (2015). Determinación de la dureza total en agua con EDTA empleando una solución amortiguadora inodora de borato. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 46(1-2), 25-37.

- Chen, W., Zhang, C., Song, L., Sommerfeld, M., & Hu, Q. (2020). A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *Journal of Microbiological Methods*, 172, 105883.
- Cordoví A., L. (2022). Determinación de óxido de calcio en la planta de cal de Urbano Noris (Bachelor's thesis, Universidad de Holguín, Facultad de Ciencias Naturales y Agropecuarias).
- Corzo F. (2019). Resistencia de Ladrillos con Sustitución del Cemento por Híbrido de Cenizas de Cola de Caballo y Conchas de Abanico en un 15% y 20%. Tesis de Licenciatura. Universidad Privada San Pedro.
- Dangeubun, J. L., Letsoin, P. P., & Syahailatua, D. Y. (2020). Growth of *Nannochloropsis* sp. in culture media enriched with shrub-like annual *Clerodendrum minahassae* leaf extract. *AAFL Bioflux*, 13(5), 2807-2815.
- Díaz, A., Cayón, G., & Mira, J. J. (2007). Metabolismo del calcio y su relación con la "mancha de madurez" del fruto de banano. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 25(2), 280-287.
- Domínguez Amoroch, M. F. (2013). Optimización de la coagulación-floculación en la planta de tratamiento de agua potable de la sede recreacional Campoalegre-Cajasan. Tesis de Licenciatura. Universidad Pontificia Bolivariana. Disponible en: <https://repository.upb.edu.co/handle/20.500.11912/848>
- Farías M. (2018). Obtención de óxido de calcio (CaO) a nivel de laboratorio por medio de la calcinación de valvas de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la ciudad de Sechura. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Piura.
- Fasaeei, F., Bitter, J. H., Slegers, P. M., & van Boxtel, A. J. B. (2018). Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. *Algal Research*, 31, 347–362. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.038>
- García-Vaquero, M. (2021). Food applications. In *Microalgae* (pp. 207–238). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821218-9.00008-6>
- Gead, P., Vasconcelos, V., Vicente, A., & Fernandes, B. (2017). Microalgal Biomass Cultivation. In *Algal Green Chemistry* (pp. 257–284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63784-0.00013-8>
- Guerreros, L. J. L. (2021). Estudio de neutralización dinámica de drenaje ácido de mina con pulpa de relave fino de planta concentradora–2021. Disponible en: <https://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/7435>
- Henderson, R., Parsons, S. A., & Jefferson, B. (2008). The impact of algal properties and pre-oxidation on solid–liquid separation of algae. *Water Research*, 42(8–9), 1827–1845. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.11.039>
- Horiuchi, J.-I., Ohba, I., Tada, K., Kobayashi, M., Kanno, T., & Kishimoto, M. (2003). Effective cell harvesting of the halotolerant microalga *Dunaliella tertiolecta* with pH control. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95(4), 412–415. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(03\)80078-6](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(03)80078-6)

- Huo, S., Wang, Z., Zhu, S., Cui, F., Zou, B., You, W., ... & Dong, R. (2014). Optimization of Alkaline Flocculation for Harvesting of *Scenedesmus quadricauda*# 507 and *Chaetoceros muelleri*# 862. *Energies*, 7(9), 6186-6195.
- Hussein, M., Zaki, A., Abdel-Raouf, N., Alsamhary, K., Fathy, W., Abdelhameed, M., & Elsayed, K. (2022). Flocculation of microalgae using calcium oxide nanoparticles; process optimization and characterization. *International Aquatic Research*, 14(1), 63.
- Khan, M. I., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Khatoon, H., Rahman, N. A., Banerjee, S., Harun, N., Suleiman, S. S., Zakaria, N. H., ... & Endut, A. (2014). Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 11-18.
- Lee, C. S., Robinson, J., & Chong, M. F. (2014). A review on application of flocculants in wastewater treatment. *Process safety and environmental protection*, 92(6), 489-508.
- Li, T., Hu, J., & Zhu, L. (2021). Self-Flocculation as an Efficient Method to Harvest Microalgae: A Mini-Review. *Water*, 13(18), 2585. <https://doi.org/10.3390/w13182585>
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q., & Dubois-Calero, N. (2008). Biofuels from Microalgae. *Biotechnology Progress*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.1021/bp070371k>
- Lonin, S. A., & Masson, V. (2006). Un modelo de floculación en la suspensión. Disponible en: <https://aquadocs.org/handle/1834/15319>
- Mallick, N., Bagchi, S. K., Koley, S., & Singh, A. K. (2016). Progress and Challenges in Microalgal Biodiesel Production. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01019>
- Marques, I. M., Oliveira, A. C. V., de Oliveira, O. M. C., Sales, E. A., & Moreira, Í. T. A. (2021). A photobioreactor using *Nannochloropsis oculata* marine microalgae for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and sorption of metals in produced water. *Chemosphere*, 281, 130775.
- Mian, A., Ensinas, A. V., & Maréchal, F. (2013). Multi-objective optimization of SNG production through hydrothermal gasification from microalgae. In *Computer Aided Chemical Engineering* (Vol. 32, pp. 337–342). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63234-0.50057-9>
- Mobin, S., & Alam, F. (2017). Some Promising Microalgal Species for Commercial Applications: A review. *Energy Procedia*, 110, 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.177>

- Molino, A., Iovine, A., Casella, P., Mehariya, S., Chianese, S., Cerbone, A., Rimauro, J., & Musmarra, D. (2018). Microalgae Characterization for Consolidated and New Application in Human Food, Animal Feed and Nutraceuticals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(11), 2436. <https://doi.org/10.3390/ijerph15112436>
- Mu, R. M., Zhao, Y. L., Bu, Q. W., Wang, M. X., & Liu, D. (2018). The effects of three different flocculants on the harvest of microalgae *Chlorella vulgaris*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 191, 012042. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/191/1/012042>
- Pahl, S. L., Lee, A. K., Kalaitzidis, T., Ashman, P. J., Sathe, S., & Lewis, D. M. (2013). Harvesting, Thickening and Dewatering Microalgae Biomass. In M. A. Borowitzka & N. R. Moheimani (Eds.), *Algae for Biofuels and Energy* (pp. 165–185). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9_10)
- Picado Carballo, K. (2022). Caracterización, recolección y disposición final de materiales flotantes residuales en las etapas de floculación y sedimentación en la planta potabilizadora de Tres Ríos.
- Ríos García, D. (2022). Diseño de un sedimentador para la recuperación de oro contenido en los lodos en una cooperativa minera aurífera (Doctoral dissertation). Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/30879>
- Rizal, A., Permana, R., & Apriliani, I. M. (2020). The effect of phosphate addition with different concentration on the capability of *Nannochloropsis oculata* as a bioremediation agent of medium heavy metal (Cd<sup>2+</sup>). *World Scientific News*, (145), 286-297.
- Rojo, C. A., Morales Plascencia, M., Ibarra Castro, L., Martinez Brown, J., & Medina Jasso, M. (2016). Floculación de *Nannochloropsis* sp. inducida por hidróxido de sodio: Eficiencia de floculación, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 662–670. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-1>
- Rojo-Cebreros, A. H., Morales-Plascencia, M. E., Ibarra-Castro, L., Martínez-Brown, J. M., & Medina-Jasso, M. A. (2016). Floculación de *Nannochloropsis* sp. inducida por hidróxido de sodio: eficiencia de floculación, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. *Latin american journal of aquatic research*, 44(4), 662-670.
- Romero, S. C. P. (2018). Floculación y viscosidad de suspensiones de sílice coloidal en presencia de sales de agua de mar. Disponible en: <http://repositorio.udec.cl/handle/11594/3519>
- Saenz, K. B., Coll V., J., De La Hoz G., J. D., Donado G., A., Reyes M., J., Castellar, G., & Díaz S., C. (2022). Tratamiento de aguas residuales en la industria metalúrgica. *Computer and Electronic Sciences: Theory and Applications*, 3(1), 19-33.
- Salim, S., Bosma, R., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2011). Harvesting of microalgae by bio-flocculation. *Journal of applied phycology*, 23, 849-855.

- Sanders, C. K., Hanschen, E. R., Biondi, T. C., Hovde, B. T., Kunde, Y. A., Eng, W. L., Kwon, T., & Dale, T. (2022). Phylogenetic analyses and reclassification of the oleaginous marine species *Nannochloris* sp. "desiccata" (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), formerly *Chlorella desiccata*, supported by a high-quality genome assembly. *Journal of Phycology*, 58(3), 436–448. <https://doi.org/10.1111/jpy.13242>
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd\_Allah, E. F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 709–722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>
- Severo, I. A., Deprá, M. C., Zepka, L. Q., & Jacob-Lopes, E. (2019). Carbon dioxide capture and use by microalgae in photobioreactors. In *Bioenergy with Carbon Capture and Storage* (pp. 151–171). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816229-3.00008-9>
- Shamsaie, M. M., & Hosseini, S. S. P. (2022). Electrochemical harvesting of the marine microalgae, *Nannochloropsis oculata*: Effect on approximate composition, fatty acid profile, and metals biosorption. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(1), 33-47.
- Singh, G., & Patidar, S. K. (2018). Microalgae harvesting techniques: A review. *Journal of Environmental Management*, 217, 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.010>
- Taher, H., Giwa, A., Abusabiekeh, H., & Al-Zuhair, S. (2020). Biodiesel production from *Nannochloropsis gaditana* using supercritical CO<sub>2</sub> for lipid extraction and immobilized lipase transesterification: Economic and environmental impact assessments. *Fuel Processing Technology*, 198, 106249.
- Vandamme, D., Beuckels, A., Markou, G., Foubert, I., & Muylaert, K. (2015). Reversible Flocculation of Microalgae using Magnesium Hydroxide. *BioEnergy Research*, 8(2), 716–725. <https://doi.org/10.1007/s12155-014-9554-1>
- Wang, D., Ning, K., Li, J., Hu, J., Han, D., Wang, H., Zeng, X., Jing, X., Zhou, Q., Su, X., Chang, X., Wang, A., Wang, W., Jia, J., Wei, L., Xin, Y., Qiao, Y., Huang, R., Chen, J., ... Xu, J. (2014). *Nannochloropsis* Genomes Reveal Evolution of Microalgal Oleaginous Traits. *PLoS Genetics*, 10(1), e1004094. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004094>
- Xu, Y., Purton, S., & Baganz, F. (2013). Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource Technology*, 129, 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.068>
- Yang, Z., Hou, J., & Miao, L. (2021). Harvesting freshwater microalgae with natural polymer flocculants. *Algal Research*, 57, 102358.
- Yardumian, K. (1937). Physicochemical factors influencing the red cell sedimentation rate. *American Journal of Clinical Pathology*, 7(2), 105-119.

## ANEXOS

Anexo 1. Escalamiento de los cultivos.



Anexo 2. Monitoreo de la salubridad de los cultivos.



Anexo 3. Acondicionamiento de las unidades experimentales.



Anexo 4. Registro de los parámetros físico-químicos durante la sedimentación.



### Anexo 5. Datos del pH de sedimentación.

Horas	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3	T5R1	T5R2	T5R3
1	7.72	7.74	7.79	8.85	8.85	8.82	9.13	9.15	8.95	9.02	9.05	9.05	9.09	9.20	9.16	9.25	9.24	9.30
24	8.69	8.69	8.59	9.25	9.35	9.15	9.34	9.16	9.16	9.35	9.36	9.40	9.45	9.44	9.41	9.57	9.45	9.61

### Anexo 6. Datos de velocidad de sedimentación.

Horas	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3	T5R1	T5R2	T5R3
0.5	0	0	0	10	15	10	15	20	35	25	50	50	35	50	75	75	80	75
1	0	0	0	115	105	130	135	155	155	175	175	200	190	190	170	175	185	200
6	0	0	0	25	40	30	50	30	35	25	25	0	25	35	45	25	25	25
12	0	0	0	60	65	35	50	45	35	25	25	10	50	35	35	35	35	30
18	5	10	25	30	10	20	25	25	25	50	30	50	50	45	15	40	50	30
24	20	15	5	96.6	17.1	24.3	48.9	58.8	10.75	11.25	18.95	29.45	19	35.15	21.95	6.3	26.4	40

### Anexo 7. Datos de la eficiencia de sedimentación.

Horas	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3	T5R1	T5R2	T5R3
0.5	0.00	0.00	0.00	2.00	3.00	2.00	3.00	4.00	7.00	5.00	10.00	10.00	7.00	10.00	15.00	15.00	16.00	15.00
1	0.00	0.00	0.00	25.00	24.00	28.00	30.00	35.00	38.00	40.00	45.00	50.00	45.00	48.00	49.00	50.00	53.00	55.00
6	0.00	0.00	0.00	30.00	32.00	34.00	40.00	41.00	45.00	45.00	50.00	50.00	50.00	55.00	58.00	55.00	58.00	60.00
12	0.00	0.00	0.00	42.00	45.00	41.00	50.00	50.00	52.00	50.00	55.00	52.00	60.00	62.00	65.00	62.00	65.00	66.00
18	1.00	2.00	5.00	48.00	47.00	45.00	55.00	55.00	57.00	60.00	61.00	62.00	70.00	71.00	68.00	70.00	75.00	72.00
24	5.00	5.00	6.00	67.32	50.42	49.86	64.78	66.76	59.15	62.25	64.79	67.89	73.80	78.03	72.39	71.26	80.28	80.00

### Anexo 8. Datos del pH de los cultivos.

Día	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3	T5R1	T5R2	T5R3
1	27.60	27.50	27.50	27.60	27.30	27.20	27.30	27.30	27.30	27.80	27.60	26.60	26.60	26.30	26.50	25.80	26.30	26.60
2	28.70	27.80	27.60	27.80	27.30	27.50	27.50	27.50	27.40	27.00	28.10	27.60	27.60	27.60	27.60	27.60	27.60	28.60
3	27.6	27.5	27.4	27.5	26.9	27.1	27.6	27.8	27.7	27.1	27.3	27.3	27.5	27.6	27.6	27.2	27.5	27.4
4	27.8	27.9	27.9	27.8	27.9	28	27.8	27.8	28.1	28	28	28	27.9	27.9	27.9	27.8	27.9	27.9
5	28.1	28.2	28.2	28.3	28.3	28.3	28.2	28.3	28.2	27.8	27.9	27.9	28.1	28.1	28.2	28.3	28.3	28.2
6	28.3	28.3	28.5	28.3	28.1	28.1	28.1	28.1	28.2	28.3	28.3	28.4	28.4	28.4	28.4	28.3	28.3	28.4

9	<a href="http://upcommons.upc.edu">upcommons.upc.edu</a> Fuente de Internet	<1 %
10	<a href="http://uvadoc.uva.es">uvadoc.uva.es</a> Fuente de Internet	<1 %
11	<a href="http://www.slideshare.net">www.slideshare.net</a> Fuente de Internet	<1 %
12	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://repositorio.uta.edu.ec">repositorio.uta.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
14	<a href="http://www.observatorio-acuicultura.es">www.observatorio-acuicultura.es</a> Fuente de Internet	<1 %
15	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Fuente de Internet	<1 %
16	<a href="http://etheses.uin-malang.ac.id">etheses.uin-malang.ac.id</a> Fuente de Internet	<1 %
17	<a href="http://patents.google.com">patents.google.com</a> Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo