

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



**Efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el
crecimiento y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, bajo
condiciones de laboratorio**

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

Autor:

Bach. Requena Pastorelli, Ezio Fabrizio

ORCID: 0000-0003-0917-7737

Asesor:

Mg. Mendoza Espinoza, Sorayda

ORCID: 0000-0002-9212-8030

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2025

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

Efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el crecimiento y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, bajo condiciones de laboratorio

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

Bach. Requena Pastorelli Ezio Fabrizio

Revisado y aprobado por el asesor



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

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2025

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

Efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el crecimiento y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, bajo condiciones de laboratorio

Revisado y aprobado por el jurado evaluador

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

Mg. Mirian Velásquez Guarniz
DNI: 32948162
ORCID: 0000-0002-1789-9740
Secretario

Mg. Soraya Mendoza Espinoza
DNI: 32924785
ORCID: 0000-0002-9212-8030
Integrante

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2025

ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias, siendo las 12:00 horas del dia 18 de diciembre, dando cumplimiento a la Resolución N° 349-2024-UNS-CFC se reunió el Jurado Evaluador presidido por Fernando Merino Hoya, teniendo como miembros a Mirian Velásquez Guarniz (secretario) (a), y Sorayda Mendoza Espinoza (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Ezio Fabrizio Requena Pastorelli.

..... quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada:
"Efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el crecimiento y contenido de lispidos totales de Scenedesmus acutus, 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 Bueno asignándole un calificativo de Oriéntate puntos, según artículo 112º del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 337-2024-CU-R-UNS).

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

Nombre: Fernando Merino Hoya
Presidente

Nombre: Mirian Velásquez Guarniz
Secretario

Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (), tesistas () 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: | Ezio Fabrizio Requena Pastorelli |
| Título del ejercicio: | INFORME DE INVESTIGACION DE TESIS |
| Título de la entrega: | Efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino s... |
| Nombre del archivo: | Informe_Final_Fabrizio_Requena.pdf |
| Tamaño del archivo: | 2.32M |
| Total páginas: | 45 |
| Total de palabras: | 10,861 |
| Total de caracteres: | 59,197 |
| Fecha de entrega: | 08-agosto-2024 05:49a. m. (UTC-0500) |
| Identificador de la entre... | 2428991893 |



Efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el crecimiento y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, bajo condiciones de laboratorio

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|---|---|------|
| 1 | repository.uns.edu.pe | 10% |
| 2 | Submitted to Universidad Nacional del Santa | 2% |
| 3 | bibliotecadigital.exactas.uba.ar | <1 % |
| 4 | www.cio.mx | <1 % |
| 5 | www.upemor.edu.mx | <1 % |
| 6 | anzdoc.com | <1 % |
| 7 | www.libreria.culturaydeporte.gob.es | <1 % |
| 8 | www.dspace.unitru.edu.pe | <1 % |

Dedicatoria

Doy gracias a Dios por darme la sabiduría y las bendiciones para perseguir los altos objetivos que me he propuesto.

Gracias a todos los que me han acompañado y me han ayudado durante esta etapa académica.

A mis padres Carlos Requena y Juana Pastorelli, por inculcarme los principios que marcarán mi camino profesional y personal.

A mi hermana Tatiana Requena, cuyo ejemplo de perseverancia y dedicación me inspiró a seguir adelante en cada obstáculo.

A mi esposa Ela Vente, gracias por tu paciencia y por ser mi mayor inspiración, esta tesis es un logro compartido.

Requena Pastorelli Ezio Fabrizio.

Agradecimientos

Me gustaría expresar mi gratitud a Mg. Sorayda Mendoza, mi asesora de tesis, por su ayuda en la creación de este trabajo de investigación calificado.

Al Dr. Fernando Merino, jefe del laboratorio de cultivo de microalgas, por sus valiosos consejos durante la realización de esta tesis.

Gracias a los maestros de la Escuela Profesional de Biología en Acuicultura por todo lo que me han enseñado.

A la Universidad Nacional del Santa, por brindarme tantas oportunidades y por expandir nuestros conocimientos en el pregrado.

Índice General

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 13 |
| ABSTRACT..... | 14 |
| I. INTRODUCCTION | 15 |
| Hipótesis..... | 17 |
| Objetivos | 17 |
| II. MARCO REFERENCIAL..... | 18 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| 3.1 Diseño experimental..... | 21 |
| 3.2 Procedencia y mantenimiento de la cepa | 22 |
| 3.3 Obtención del medio de cultivo experimental..... | 22 |
| 3.4 Caracterización química del medio experimental..... | 22 |
| 3.5 Acondicionamiento de los cultivos experimentales | 23 |
| 3.6 Determinación del crecimiento poblacional..... | 24 |
| 3.7 Determinación de la biomasa..... | 24 |
| 3.8 Determinación de lípidos | 25 |
| 3.9 Evaluación de los parámetros físico-químicos..... | 25 |
| 3.9 Análisis estadístico | 25 |
| IV. RESULTADOS | 26 |
| 4.1 Descripción química de la vinaza | 26 |
| 4.2 Crecimiento poblacional..... | 27 |
| 4.3 Biomasa y lípidos | 28 |
| 4.4 Parámetros fisicoquímicos | 29 |
| V. DISCUSIÓN | 34 |
| VI. CONCLUSIONES..... | 39 |
| VII. RECOMENDACIONES..... | 40 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 41 |
| ANEXOS..... | 46 |

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Diseño experimental de la investigación..... | 21 |
| Tabla 2. Operalización de las variables del estudio..... | 21 |
| Tabla 3. Composición química del medio de cultivo HM..... | 22 |
| Tabla 4. Concentraciones de metales en la vinaza..... | 26 |
| Tabla 5. Análisis estadístico del crecimiento poblacional de los cultivos de <i>S. acutus</i> con vinaza..... | 29 |
| Tabla 6. Biomasa (g/L) y contenido de lípidos (%) de los cultivos de <i>S. acutus</i> con vinaza..... | 31 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Muestra de vinaza utilizada para los análisis y cultivos experimentales..... | 23 |
| Figura 2. Curvas de crecimiento de los cultivos de <i>S. acutus</i> | 27 |
| Figura 3. Crecimiento de los cultivos experimentales de <i>S. acutus</i> . A) Cultivos en el día 0. B) Cultivos de <i>S. acutus</i> con vinaza en el día 4. C) Cultivos experimentales en el día 7. | |
| | 28 |
| Figura 4. Variación de la temperatura de los cultivos de <i>S. acutus</i> | 32 |
| Figura 5 Variación del pH de los cultivos de <i>S. acutus</i> | 32 |

Índice de Anexos

| | |
|--|----|
| Anexo 1. Pre-ensayo experimental de los cultivos de <i>S. acutus</i> con vinaza..... | 46 |
| Anexo 2. Conteos celulares de los tratamientos experimentales. | 46 |
| Anexo 3. Reporte del análisis químico de la vinaza..... | 47 |
| Anexo 4. Conteos celulares de <i>S. acutus</i> cultivado con vinaza | 48 |
| Anexo 5. Valores determinados de biomasa y lípidos de <i>S. acutus</i> | 49 |

RESUMEN

La industria vinícola produce grandes cantidades de desechos, incluido efluentes, que necesitan ser tratados adecuadamente. El uso de la vinaza como método de cultivo alternativo para *Scenedesmus acutus* fue el tema de esta investigación. Se realizaron cultivos en laboratorio con vinaza en concentraciones de 10 mL/L (T1), 20 mL/L (T2) y 30 mL/L (T3), se analizó la producción de biomasa y lípidos de *S. acutus*, así como el crecimiento poblacional, comparándolos con un cultivo control (TC) en medio HM. El análisis estadístico reveló un incremento significativo en la densidad poblacional con un máximo en T3 (1793.33×10^4 células/mL) al séptimo día, lo que sugiere que la vinaza puede estimular el crecimiento celular de manera significativa. En cuanto a la biomasa, el tratamiento T3 presentó la mayor producción (0.81 g/L). Sin embargo, el contenido de lípidos fue más alto en T1 (22.87%), lo que implica que concentraciones menores de vinaza pueden favorecer la acumulación de lípidos. Además, los niveles de pH registrados durante el experimento demostraron condiciones estables y una alta capacidad de *S. acutus* para moderar la acidez introducida por la vinaza. Estos resultados muestran que la vinaza puede ser empleada con éxito para mejorar la producción de biomasa y el crecimiento de *S. acutus*, con una posible adaptación para la síntesis de lípidos. La capacidad de la cepa para ajustar el pH también resalta su potencial para aplicaciones en bioprocesos que utilizan sustratos ácidos, proporcionando una opción sostenible para la valorización de residuos industriales.

Palabras clave: microalgas, *Scenedesmus*, vinaza, biomasa.

ABSTRACT

The wine industry produces large quantities of waste, including effluent, which needs to be treated properly. The use of vinasse as an alternative cultivation method for *Scenedesmus acutus* was the subject of this research. Laboratory cultures were carried out with vinasse at concentrations of 10 mL/L (T1), 20 mL/L (T2) and 30 mL/L (T3), the biomass and lipid production of *S. acutus* was analyzed, as well as the population growth, comparing them with a control culture (TC) in HM medium. Statistical analysis revealed a significant increase in population density with a maximum at T3 (1793.33×10^4 cells/mL) on the seventh day, suggesting that vinasse can stimulate cell growth significantly. Regarding biomass, treatment T3 presented the highest production (0.81 g/L). However, the lipid content was higher in T1 (22.87%), which implies that lower concentrations of vinasse may favor lipid accumulation. Furthermore, the pH levels recorded during the experiment demonstrated stable conditions and a high capacity of *S. acutus* to moderate the acidity introduced by the vinasse. These results show that vinasse can be successfully used to improve biomass production and growth of *S. acutus*, with a possible adaptation for lipid synthesis. The strain's ability to adjust pH also highlights its potential for bioprocess applications that use acidic substrates, providing a sustainable option for industrial waste recovery.

Keywords: microalgae, *Scenedesmus*, vinasse, biomass.

I. INTRODUCCTION

Toda actividad económica genera impactos al medio ambiente (Cerón, 2005). Actualmente, las actividades del hombre vienen generando severos impactos sobre el medio ambiente, especialmente en los cuerpos de agua, por causa de los vertimientos industriales y domésticos que modifican las características físicas y químicas del agua (Barroso *et al.*, 2019). Esto se debe, en parte, al aumento de la población y a la sobreexplotación de los recursos naturales, lo cual altera el equilibrio natural y pone en peligro la salud humana y la biodiversidad (Montoya Terreros, 2018).

Se calcula que el 80% de los efluentes del mundo no están tratados (World Bank, 2020). En el Perú, se estima que solo el 40% de los efluentes generados reciben tratamiento, mientras que el resto termina siendo dispuesto en fuentes de aguas naturales o en las redes públicas (Quincho *et al.*, 2017); que terminan perjudicando los ecosistemas continentales y marino; por lo que resulta urgente aplicar medidas de mitigación que ayuden a reducir los impactos negativos de los efluentes residuales.

Entre los tipos de efluentes de mayor impacto tenemos los efluentes municipales (aguas residuales domésticas), efluentes pesqueros, y otros tipos de efluentes de diferentes industrias (Jacobo, 2018). Cabe señalar que, actualmente existen diversas tecnologías diseñadas para su tratamiento, independientemente de las características del efluente (Angulo, 2024; Ballarte, 2024); sin embargo, en muchos casos suelen ser tecnologías de costos elevados, lo cual representa una desventaja sobre todo para aquellas industrias de pequeña escala.

Un problema que se presenta en la provincia de Moro, Ancash, son los efluentes de las empresas vinícolas, conocidos como vinaza. La vinaza es el producto que se genera después de la fermentación de las uvas. Este efluente se convierte en un subproducto de desecho que contamina el medio ambiente; sin embargo, presenta sustancias orgánicas e inorgánicas que pueden tener un valor económico al ser aprovechados en otros procesos industriales (Hidalgo *et al.*, 2009).

Considerando los aspectos físico-químicos de la vinaza (nutrientes y pH) se considera como un efluente líquido altamente contaminante, Con una gran carga orgánica y un gran volumen de generación (de 15 a 18 veces mayor que el alcohol producido), su

degradación es muy difícil y representa un problema grave. Por lo tanto, es necesario un tratamiento y disposición final adecuados (Ibarra-Camacho & León-Duharte, 2018).

Su pH es uno de los inconvenientes más importantes para el tratamiento de la vinaza (alrededor de 3 unidades) (Alzate, 2015). Algunas alternativas como su neutralización se han propuesto para darle un mejor tratamiento; asimismo, se ha propuesto el tratamiento anaeróbico como una alternativa viable dado los altos niveles de DBO que presentan (Bermúdez *et al.*, 2000). Para el caso de un tratamiento biológico, es necesario seleccionar un microorganismo que pueda adaptarse a las condiciones de la vinaza para poder transformar dichos contaminantes en biomasa aprovechable.

Algunos trabajos han demostrado que es posible usar la vinaza como un medio de cultivo y en otras aplicaciones de interés biotecnológico. Experimentalmente, se han generado cultivos de *Candida utilis* para la producción de proteína, obteniéndose hasta 37% cuando se cultiva con vinaza (Díaz *et al.*, 2003). En cuanto al uso de la vinaza como compostaje para suelos, se ha demostrado que mejora las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo gracias a su aportación de nutrientes (Quiroz Guerrero & Pérez Vázquez, 2013). Rendón *et al.* (2014), han reportado su utilidad para el proceso de ensilaje, en donde se requieren bacterias que prosperan en pH ácido, por lo que la vinaza resulta en un medio apropiado para este procedimiento. También, González *et al.* (2018), se han realizado experimentos con vinaza para su uso en fertirriegos de diferentes cultivos, como de *Glycine max*, conocida comúnmente como soya. Estas experiencias permiten ampliar el uso de la vinaza hacia nuevos procesos biológicos y tecnológicos.

Por otro lado, las microalgas han sido propuestas como organismos altamente eficaces para la remoción de nutrientes de aguas contaminadas (Hernández-Reyes *et al.*, 2012). Algunas especies de microalgas son de gran interés comercial debido a que producen biomoléculas como antioxidantes, pigmentos y lípidos (Cardenas-Gutierrez *et al.*, 2021). Además, presentan la ventaja de ser organismos que se adaptan fácilmente a diferentes condiciones de cultivo, incluyendo entornos ácidos o con elevada carga orgánica (Lazarte Chicata, 2021). Estos antecedentes justifican la hipótesis de utilizar a las microalgas en el tratamiento de la vinaza.

La siguiente pregunta de investigación es: ¿De qué manera influirá el contenido y el desarrollo de los lípidos totales de *S. acutus* en condiciones de laboratorio el subproducto líquido de la fermentación del vino (vinaza)?

Hipótesis

Si empleamos concentraciones de 20, 30 y 10 mL/L del subproducto líquido de la fermentación del vino (vinaza) en el cultivo de *S. acutus*, se obtendrá un aumento en la población y en el contenido de lípidos totales con la concentración de 20 mL/L.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar, en condiciones de laboratorio, el efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino en el crecimiento y el contenido de lípidos totales de *S. acutus*.

Objetivos específicos

- Caracterización del efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el crecimiento poblacional de *S. acutus*, bajo condiciones de laboratorio.
- Determinar el efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre el contenido de lípidos totales de *S. acutus*, bajo condiciones de laboratorio.
- Determinar el efecto del subproducto líquido de la fermentación del vino sobre los parámetros del cultivo de *S. acutus*: Ph y Temperatura (°c), bajo condiciones de laboratorio.

II. MARCO REFERENCIAL

Las microalgas son un grupo de microorganismos fotosintéticos, unicelulares, que viven en ambientes acuáticos salinos, dulceacuícolas e incluso en suelos húmedos. Se forman en cadenas, colonias o cenobios (Abalde *et al.*, 1995). En los ecosistemas acuáticos son responsables de la producción primaria y realizan el 50% de la fotosíntesis total del planeta (Sendra & Moreno-Garrido, 2019).

Para la alimentación humana y animal, estos microorganismos se han utilizado desde hace mucho tiempo; sin embargo, en los últimos años se han cultivado para el tratamiento de aguas residuales, la producción de vitaminas y proteínas, así como para la creación de suplementos nutritivos (Venkataraman, 2017), aproximadamente 300 especies de microalgas, entre diatomeas y clorofitas, tienen un gran potencial para ser empleadas como alternativas de alimentación (Sheehan *et al.*, 1998).

Cuatro especies de microalgas, Dunaliella, Arthrospira, Haematococcus y Chlorella, producen las 10,000 TM anuales, y son las que más producen en el mundo (Hors, 2009). Es importante destacar que se han creado nuevas técnicas para la producción de microalgas en los últimos años, principalmente para la creación de biocombustibles, suplementos nutritivos, fármacos, cosméticos y biorremediación de aguas contaminadas; las microalgas se han utilizado en una variedad de campos tecnológicos, incluyendo el cultivo masivo o continuo, libres o inmovilizadas, vivas o procesadas, y algunas de ellas se explotan comercialmente (Luna, 2007).

La familia Scenedesmaceae incluye el género *Scenedesmus*, una alga verde filamentosa que forma colonias de células alargadas, que suelen estar dispuestas en filas de cuatro u ocho, aunque pueden ser más numerosas. Tiene una gran habilidad para extraer materiales orgánicos de las aguas residuales (Vargas Paz, 2020). La microalga *S. acutus* (Meyen, 1829) es una alga colonial de la familia Scenedesmaceae que se encuentra en todo el mundo. Tiene 2, 4 u 8 cenobios y es planctónica en estanques y lagos de agua dulce (Rai, 2013).

Requiere un medio de cultivo adecuado con sales minerales de alto grado de pureza con cantidades significativas de hierro, fósforo, potasio y nitrógeno, entre otras sustancias, a nivel de laboratorio (Paniagua *et al.*, 1986), destacando el medio f/2 de Guillard (1975), muy eficiente para el cultivo de un gran número de microalgas (Torrentera, 1989); el alto

costo que implica el uso de reactivos químicos de grado analítico de pureza impide que este método de cultivo se emplee en la producción de microalgas a gran escala (Martínez, 2003).

Por otro lado, se pueden crear medios de cultivo a partir de subproductos agrícolas, como extractos orgánicos, biodigeridos y melazas. Los subproductos producidos por las industrias también pueden utilizarse para crear otros medios (azucareras, avícolas, pesqueras o acuícolas) generan (Hernández *et al.*, 2003). Debido a que son fáciles de obtener, el uso de estos medios para el cultivo de microalgas reduce significativamente los costos de producción. Como resultado, se utilizan con frecuencia medios de cultivo alternativos hechos con desechos pesqueros (Fernández & Paredes, 2007), mariculturales (Merino & Encomendero, 2012) y sedimentos (Thain, 1992), para evitar la presencia de microorganismos patógenos, se ha realizado un tratamiento térmico o químico previo. La capacidad de las algas para aprovechar los nutrientes orgánicos e inorgánicos permite el éxito de estos medios de cultivo, debido a sus rasgos de plasticidad ecológica, se adaptan fácilmente a estas circunstancias (Fernández & Paredes, 2006).

El uso de medios de cultivo económicos es esencial para la producción masiva de microalgas, ya que se han desarrollado desde las fórmulas para enriquecer el agua dulce o de mar hasta los medios artificiales que brindan resultados estandarizados y constantes en cuanto a la calidad de la biomasa generada (Becker, 1994).

El residuo que surge del proceso de elaboración de los vinos es la vinaza. Se calcula que se producen alrededor de 15 litros de vinaza por cada litro obtenido. El residuo es un contaminante del agua porque tiene la capacidad de alterar el pH natural de los cuerpos de aguas receptores y contiene material orgánico, así como otros nutrientes como nitrógeno, calcio, potasio y fósforo (Alzate, 2015), estos son factores que contribuyen a la eutrofización de los ambientes acuáticos. Debido a la influencia de las materias primas que se emplean en los procesos, los compuestos que se emplean en la vinaza son muy diversos (Cordova Rubin, 2018).

Por otro lado, los lípidos DHA y EPA, que se obtienen actualmente principalmente del aceite de pescado, son posibles fuentes de microalgas (Manikandan *et al.*, 2021). El estrés fisiológico puede provocar que las microalgas produzcan lípidos. En condiciones de ausencia de nitrógeno, las microalgas pueden alcanzar un 30.77% de lípidos, según

algunos informes (Shao *et al.*, 2017). Para una absorción más efectiva del nitrógeno, las microalgas suelen experimentar cambios estructurales en estas circunstancias. Se ha afirmado que la salinidad y la intensidad de la luz pueden influir en la producción de lípidos, a pesar de que el N influye principalmente en la producción de lípidos (Tan *et al.*, 2019). Según otras investigaciones, la formación de pirenoides, la maquinaria de fijación de CO₂, disminuye cuando no hay fósforo en el medio (menos de 2 ppm), lo que aumenta la acumulación de lípidos (Yang & Abbaspour, 2007).

En cuanto a la fotosíntesis, el crecimiento y la composición bioquímica de las microalgas, el pH es un componente esencial. Las microalgas pueden mantener en equilibrio sus procesos metabólicos gracias a un pH ideal, lo que facilita la absorción de nutrientes y la producción de biomasa (Yu *et al.*, 2022). No obstante, las variaciones significativas en el pH pueden tener un impacto negativo en la dinámica del cultivo, alterando la eficacia de la fotosíntesis y generando estrés fisiológico (Calvo *et al.*, 2023). Se toma en cuenta la habilidad de algunas especies para tolerar o incluso prosperar en condiciones subóptimas al cultivar microalgas con un efluente con un pH ácido (Abiusi *et al.*, 2022).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diseño experimental

Para comparar el crecimiento poblacional y el contenido de lípidos totales de *S. acutus*, utilizamos un diseño experimental de estímulo creciente. Tres tratamientos experimentales con diferentes concentraciones del subproducto líquido de la fermentación del vino (vinaza) y un tratamiento control (Tabla 1). Todos los tratamientos se trabajaron por triplicado para obtener promedios. Las concentraciones de vinaza evaluadas fueron: 10, 20 y 30 mL/L; cuyas concentraciones fueron establecidas mediante pre-ensayos experimentales en el laboratorio (Anexo 1).

Tabla 1. Diseño experimental de la investigación. expresado con diferentes

| Tratamientos | Tratamiento experimental |
|---------------------|---|
| TC | Cultivos de <i>S. acutus</i> con medio HM |
| T1 | Cultivos <i>S. acutus</i> con 10 mL/L del vino. |
| T2 | Cultivos <i>S. acutus</i> con 20 mL/L del vino. |
| T3 | Cultivos <i>S. acutus</i> con 30 mL/L del vino. |

Tabla 2. Operalización de las variables del estudio.

| Variable independiente | Definición conceptual | Definición operacional | |
|-------------------------------|---|-------------------------------|--------------------|
| | | Dimensión | Indicador |
| Concentración de la vinaza | Concentraciones de efluente líquido de la fermentación del vino. | mL/L concentración | mL/L ml/L. |
| Variable dependiente | Definición conceptual | Dimensiones | Indicadores |
| Crecimiento poblacional | Se expresa como el cambio de la población en un determinado tiempo | Número de células. Biomasa | células/Ml G/L. |
| Contenido de lípidos | Está determinada por la concentración de lípidos totales de la biomasa microalgal | Contenido de lípidos | mg/L o % |

2.2 Procedencia y mantenimiento de la cepa

La microalga *S. acutus* se extrajo del cepario del Laboratorio de Cultivo de Especies Auxiliares de la EAP de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa (Nuevo Chimbote, Perú). Una muestra para el escalamiento se tomó de esta cepa que se mantuvo en cultivos puros en placas de agar (2%). Los cultivos en líquido se realizaron en matraces de 250 mL y posteriormente en fotobiorreactores de 1 L de volumen total. El escalamiento se llevó a cabo hasta conseguir un volumen de 2 Litros que se utilizó para inocular las unidades experimentales. Las unidades de cultivo (fotobiorreactores) fueron agitadas continuamente durante el escalamiento en medio líquido por aireación proporcionada por un blower de 1 HP. Un fluorescente de 40 watts emitió aproximadamente 1500 Lux durante el fotoperiodo de 24:0. Para mantener la cepa y en los escalamientos, se empleó el medio HM (Heussler-Merino) como medio de cultivo control.

Tabla 3. Composición química del medio de cultivo HM.

| Nutriente | Concentración (g/L) |
|---|---------------------|
| Urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) | 206 |
| Cloruro de potasio (KCl) | 19 |
| Ácido fosfórico (H_3PO_4) | 30 |
| Hierro (Fe)* | 2.5 |

Nota: la dosis para fertilizar los cultivos microalgales es de 1 mL/L de cada componente. * 2.5 g de clavos de hierro diluidos en 250 mL de HCl comercial.

2.3 Obtención del medio de cultivo experimental

El efluente líquido resultante de la fermentación del vino, o vinaza, fue obtenido de los viñedos de la provincia de Moro (Ancash, Perú), transportada al laboratorio en unas botellas plásticas de 3 L, cerradas herméticamente. Para el análisis químico, se tomó una muestra de 500 mL en el laboratorio; el volumen restante se almacenó en refrigeración a 4°C hasta que se pueda usar como medio de cultivo directamente.

2.4 Caracterización química de la vinaza

Para descubrir 31 elementos químicos cruciales para el cultivo de microalgas, la vinaza se sometió a un análisis de espectrofotometría de plasma acoplada (ICP) (Anexo 3).

Se llevó a cabo una evaluación del contenido total de nitrógeno. Los laboratorios acreditados de la empresa COLECBI SAC fueron utilizados para llevar a cabo estos análisis.



Figura 1. Muestra de vinaza utilizada para los análisis y cultivos experimentales.

2.5 Acondicionamiento de los cultivos experimentales

Los fotobiorreactores plásticos modificados, con un volumen total de 3 L, fueron los componentes experimentales. Con el propósito de obtener suficientes muestras para los conteos y análisis químicos, se realizaron los cultivos en volúmenes de 2 L. Los cultivos fueron inoculados con las microalgas (cultivo en fase exponencial) en una proporción de 2:10 v/v, y la densidad celular inicial (día 0) se estimó mediante técnicas de microscopía simple, tal como se detalló anteriormente. También se proporcionó agitación a las unidades a través de un sistema de ventilación que se obtuvo con un blower de 1 HP, con un ratio de 1.5 L/min, que se ajustó con un flujómetro. Los cultivos se mantuvieron iluminados de manera constante (24:0 fotoperíodo) con un fluorescente de 40 watts que emitía aproximadamente 1500 Lux. Los cultivos de control fueron dosificados con medio HM (Tabla 5). Por otro lado, los cultivos experimentales fueron dosificados con vinaza, según los detalles del diseño experimental (Tabla 1). Los cultivos se cubrieron con algodón para evitar la contaminación externa.

2.6 Determinación del crecimiento poblacional

Se realizaron conteos microscópicos diarios para determinar el crecimiento poblacional (número de células de *S. acutus*) de todos los tratamientos. Para ello, se empleó técnicas de microscopía óptica con ayuda de una cámara Neubauer. Para este procedimiento, se tomaron alícuotas de cada tratamiento con ayuda de una pipeta pasteur y se fijaron en la cámara Neubauer para su conteo con un objetivo de 40x, debido el pequeño tamaño de la microalga. Posteriormente, aplicamos la siguiente fórmula con la finalidad de calcular la densidad celular expresada en células/mL (cel/mL):

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

Dónde: 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 (μ) y el tiempo de duplicación (TD) se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\mu = \frac{\ln (Nf - Ni)}{(Tf - Ti)}$$

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

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

2.7 Determinación de la biomasa

La biomasa de los cultivos se determinó por el método gravimétrico con papel Whatman N°42, filtrando una muestra de 100 mL del cultivo en el último día del experimento. Para la estimación del peso se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Biomasa (g/L)} = P2 - P1$$

Donde: P2 representa el peso del papel con la biomasa y el P1 el peso del papel.

2.8 Determinación de lípidos

La determinación de lípidos se realizó el último día de cultivo (fase exponencial). El contenido total de lípidos se determinó mediante el método de extracción con cloroformo. Para ello, se tomó una muestra de 15 mL, en tubos de ensayo previamente pesados, de cada cultivo, para centrifugar a 4000 g durante 10 min. Después, se eliminó la fase líquida para obtener el pellet (biomasa). El pellet se secó en un horno a 55 °C durante toda la noche. Posteriormente, las muestras se pesaron para determinar la biomasa microalgal por diferencia de peso. Luego, se añadió 3 mL de solución de extracción (cloroformo y metanol; 2:1 v/v) y se agitó vigorosamente, para luego dejar reposar por 5 horas en la refrigeradora a 4°C. La mezcla se centrifugó nuevamente y se eliminó el sobrenadante, para luego ser lavada con agua destilada y centrifugada nuevamente. Este último procedimiento se realizó para eliminar los lípidos del extracto y determinar el contenido de lípidos (%) por diferencia de pesos entre la biomasa antes y después de la extracción.

2.9 Evaluación del pH y la temperatura

Para evaluar la dinámica del crecimiento de las microalgas, se registraron la temperatura y el pH de los cultivos cada día. Un equipo multiparámetro de la marca Hanna con sensibilidad de ± 0.01 se utilizó para registrar ambos. Después, se dibujaron las curvas correspondientes a estos datos.

2.9 Análisis estadístico

Se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con el fin de determinar las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos experimentales y los controles; se utilizó la post prueba Tukey con un nivel de significancia del 95%. Para lograr esto, empleamos el programa SPSS v20.

IV. RESULTADOS

4.1 Descripción química de la vinaza

En el análisis químico de la vinaza (Tabla 4), se determinaron 32 elementos (expresados en mg/L). Este análisis reveló variaciones significativas en las concentraciones de metales. Los niveles más bajos detectados correspondieron al Arsénico (As) y al Berilio (Be), con valores menores a 0.005 mg/L y 0.0002 mg/L respectivamente, lo cual es positivo dada su toxicidad potencial. Contrariamente, el Calcio (Ca) y el Potasio (K) presentaron las concentraciones más elevadas, con 148.00 mg/L y 596.2 mg/L respectivamente, de importancia por su papel como nutrientes esenciales en procesos biológicos.

Tabla 4. Concentraciones de metales en la vinaza empleada como medio de cultivo.

| Metal | Concentración en la vinaza (mg/L) | Metal | Concentración en la vinaza (mg/L) |
|-------|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------|
| Ag | 0.006 | Mg | 43.59 |
| Al | 7.43 | Mn | 0.6576 |
| As | <0.005 | Mo | 0.012 |
| B | 0.019 | Na | 65.69 |
| Ba | 0.110 | Ni | 0.0185 |
| Be | <0.0002 | P | >25 |
| Ca | 148.00 | Pb | 0.080 |
| Cd | <0.0001 | Sb | 0.009 |
| Ce | <0.009 | Se | 0.006 |
| Co | 0.0058 | SiO ₂ | 63.99 |
| Cr | 0.0184 | Sn | 0.067 |
| Cu | >20 | Sr | 1.0089 |
| Fe | 12.320 | Ti | 0.404 |
| Hg | <0.001 | Tl | <0.002 |
| K | 596.2 | V | 0.038 |
| Li | 0.021 | Zn | 0.570 |

Por otro lado, el Cobre (Cu) destacó por su alta concentración, superando los 20 mg/L, que se destaca por su conocida toxicidad. Asimismo, el Sodio (Na) y el Magnesio (Mg) estuvieron presentes en concentraciones significativas de 65.69 mg/L y 43.59 mg/L, respectivamente, siendo esenciales para los procesos metabólicos de las microalgas. Asimismo, el Hierro (Fe), con un valor de 12.320 mg/L, mientras que el Fósforo (P), con más de 25 mg/L; superiores al HM (Tabla 3).

4.2 Crecimiento poblacional

El presente estudio investigó el efecto de diferentes concentraciones de vinaza sobre la densidad poblacional de *S. acutus*, utilizando un cultivo control (TC) con medio HM y tres tratamientos experimentales con 10 mL/L (T1), 20 mL/L (T2) y 30 mL/L (T3) de vinaza. A lo largo de 7 días, se monitoreó la densidad poblacional de los cultivos por medio de conteos al microscopio. Se observó que todos los tratamientos mostraron un aumento en la densidad poblacional con el tiempo, indicativo de un buen crecimiento (Figura 2). Sin embargo, se identificaron diferencias entre los tratamientos a causa de las diferentes dosis de vinaza, lo que terminó modificando la dinámica del crecimiento de *S. acutus* en este experimento.

El cultivo control (TC) mostró un incremento sostenido a lo largo del estudio, alcanzando la máxima densidad poblacional de aproximadamente $1488.33 \pm 57.95 \times 10^4$ células/mL al séptimo día. Este crecimiento indica la buena adaptabilidad de esta especie al medio HM. Por su parte, el tratamiento T1 (10 mL/L de vinaza) presentó un perfil de crecimiento similar al control durante los primeros días; sin embargo, su densidad máxima fue significativamente inferior, con un máximo de $808.33 \pm 24.66 \times 10^4$ células/mL al séptimo día. Esto podría interpretarse como un efecto limitante de la vinaza en bajas concentraciones.

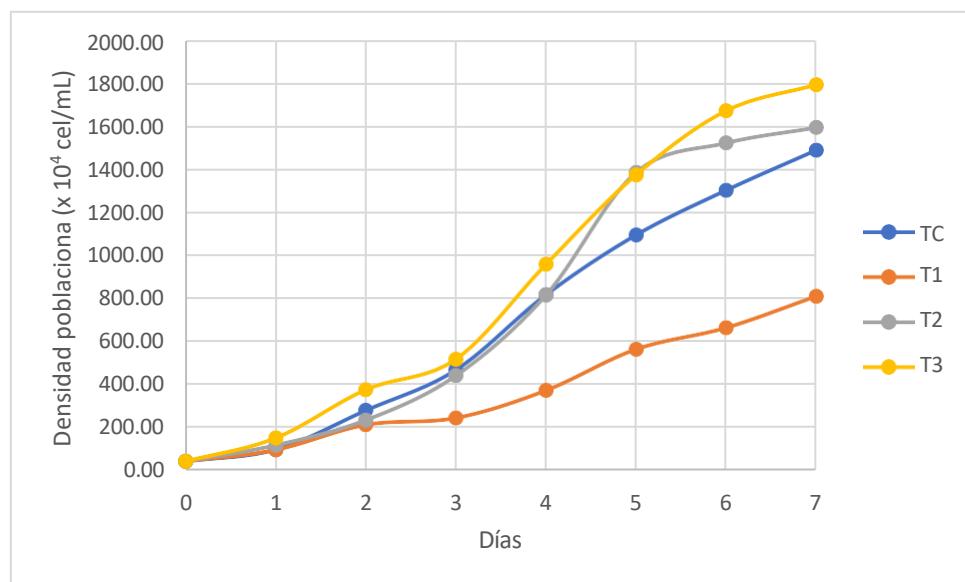


Figura 2. Curvas de crecimiento de los cultivos de *S. acutus*.

Por otro lado, el tratamiento T2 (20 mL/L de vinaza) exhibió un crecimiento más acelerado, que superó al tratamiento control desde el cuarto día, superando al control y al

T1, con una densidad máxima de $1593.33 \pm 65.26 \times 10^4$ células/mL. Esto sugiere un efecto promotor más significativo de la vinaza en la concentración de 20 mL/L; mientras que, el tratamiento T3 (20 mL/L de vinaza) mostró el mayor crecimiento, con una marcada aceleración a partir del tercer día y alcanzando la densidad poblacional más alta de todos los tratamientos, con $1793.33 \pm 36.86 \times 10^4$ células/mL. Estos resultados enfatizan el potencial de la vinaza, especialmente a 30 mL/L, para maximizar la densidad poblacional de *S. acutus*; sin embargo es necesario evaluar mayores concentraciones.

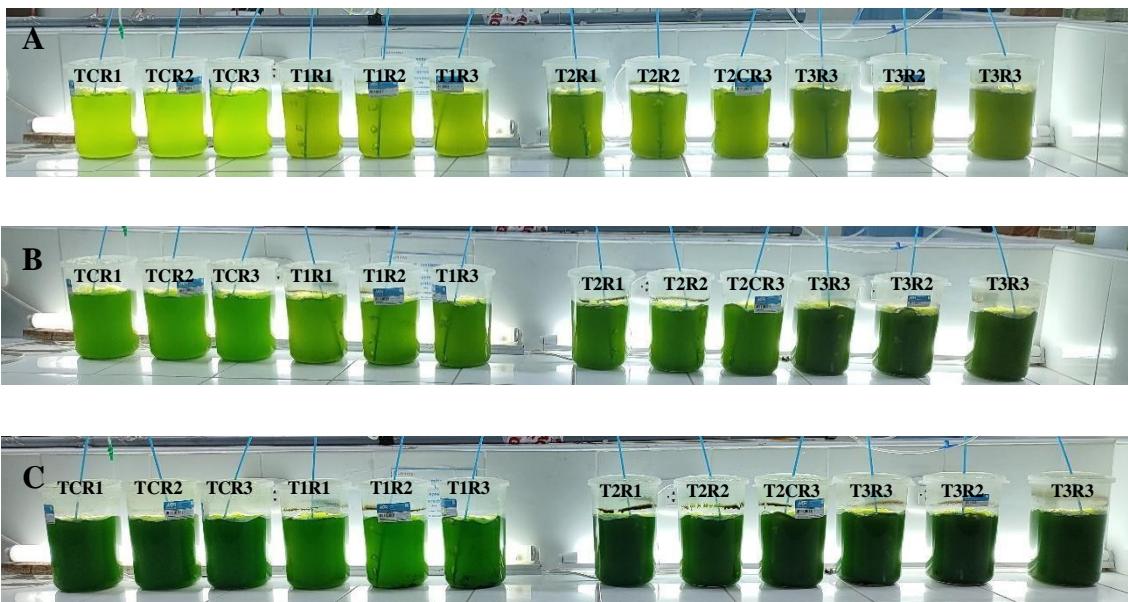


Figura 3. Crecimiento de los cultivos experimentales de *S. acutus*. A) Cultivos de *S. acutus* al inicio del experimento. B) Cultivos de *S. acutus* con vinaza en el día 4. C) Cultivos experimentales en el día 7.

La Figura 4 ilustra visualmente el progreso del crecimiento de los cultivos experimentales de *S. acutus* a lo largo de un período de 7 días, correspondiente a los tratamientos descritos previamente (TC, T1, T2, T3). Cada panel representa un momento distinto en la línea de tiempo del experimento: 3A) muestra los cultivos al inicio del experimento (día 0), 3B) exhibe los cultivos en el día 4, y 3C) muestra los cultivos al final del período de observación (día 7).

En la Figura 3A, se puede observar una homogeneidad en la coloración y turbidez entre los cultivos controles y experimentales, que aumenta ligeramente con la dosis. Esto indica que al inicio del experimento no hay diferencias notables atribuibles a la vinaza. De esta forma se establece una línea base uniforme para comparar los efectos posteriores de los tratamientos.

En la Figura 3B, se observan cambios en la densidad de color de los cultivos después de 4 días de cultivo con vinaza (T1, T2 y T3). Es notable que los cultivos T2 y T3, que contienen concentraciones más altas de vinaza (20 y 30 mL/L respectivamente), muestran una coloración más intensa comparada con el control y T1, lo cual podría correlacionarse con un aumento en la densidad celular, como se reflejaba en la Figura 2.

Finalmente, la Figura 3C muestra el claro efecto de la vinaza en la densidad de los cultivos al día 7. Los cultivos T3, con la mayor concentración de vinaza (30 mL/L), presentan la coloración más oscura, sugiriendo la mayor densidad poblacional, lo cual concuerda con los datos de la Figura 2, que también indica el máximo crecimiento para este tratamiento. Los cultivos T1 y T2 también muestran un aumento en la densidad, pero en una menor medida en comparación con T3. El tratamiento control mantiene una menor intensidad de color, correspondiendo al crecimiento observable a lo largo de la experiencia.

Tabla 5. Análisis estadístico del crecimiento poblacional de los cultivos de *S. acutus* con vinaza.

| Días | Densidad celular ($\times 10^4$ células / mL) | | | |
|------|--|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | TC | T1 | T2 | T3 |
| | 0 mL/L | 10 mL/L | 20 mL/L | 30 mL/L |
| 0 | 40.00 \pm 0.0 ^a | 40.00 \pm 0.0 ^a | 40.00 \pm 0.0 ^a | 40.00 \pm 0.0 ^a |
| 1 | 94.33 \pm 7.09 ^a | 93.33 \pm 12.58 ^a | 115.00 \pm 20.00 ^b | 148.33 \pm 16.07 ^c |
| 2 | 276.67 \pm 7.64 ^a | 210.00 \pm 30.41 ^b | 231.67 \pm 32.53 ^c | 373.33 \pm 24.66 ^d |
| 3 | 465.00 \pm 39.69 ^a | 241.67 \pm 30.55 ^b | 438.33 \pm 40.72 ^c | 515.00 \pm 22.91 ^d |
| 4 | 815.00 \pm 18.03 ^a | 370.00 \pm 21.79 ^b | 813.33 \pm 37.53 ^a | 956.67 \pm 5.77 ^c |
| 5 | 1093.33 \pm 35.12 ^a | 561.67 \pm 47.26 ^b | 1385.00 \pm 170.22 ^c | 1373.33 \pm 30.55 ^c |
| 6 | 1301.67 \pm 67.88 ^a | 661.67 \pm 28.43 ^b | 1521.67 \pm 81.29 ^b | 1671.67 \pm 20.21 ^c |
| 7 | 1488.33 \pm 57.95 ^a | 808.33 \pm 24.66 ^b | 1593.33 \pm 65.26 ^c | 1793.33 \pm 36.86 ^d |

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

Además, el análisis estadístico del crecimiento poblacional de *S. acutus* reveló tendencias significativas en la respuesta de los cultivos a las diferentes concentraciones de vinaza (Tabla 5). Al inicio del experimento (día 0), todos los tratamientos, incluido el control (TC), iniciaron con una densidad poblacional igual de 40.00 ± 0.0 células/mL. A partir del primer día, se observó un incremento en todos los tratamientos; sin embargo, el T3 (30 mL/L de vinaza) empezó a mostrar un crecimiento significativamente mayor (148.33

$\pm 16.07 \times 10^4$ células/mL) en comparación con los otros tratamientos. En el día 2, el tratamiento T3 continuó liderando con una densidad significativamente más alta ($373.33 \pm 24.66 \times 10^4$ células/mL), mientras que T1 y T2 mostraron densidades menores (210.00 ± 30.41 y $231.67 \pm 32.53 \times 10^4$ células/mL, respectivamente). Por su parte, el control continúo incrementando de forma más modesta.

En el día 3 se evidencia un notable crecimiento exponencial de *S. acutus* para el T2 (438.33 ± 40.72 células/mL) y T3 (515.00 ± 22.91 células/mL), indicando un efecto claro de la vinaza en la dinámica del crecimiento. Interesantemente, el T1 mostró un crecimiento menor (241.67 ± 30.55 células/mL), lo cual puede atribuirse a las deficiencias de nutrientes.

A partir del día 4, T2 y T3 alcanzaron densidades comparables (813.33 ± 37.53 y 956.67 ± 5.77 células/mL respectivamente), no observándose diferencia significativa entre ellos ($p < 0.05$), pero sí con respecto al control y T1. Esto puede indicar un umbral en la concentración de vinaza a partir del cual no se observan aumentos significativos en la densidad poblacional. Luego, en los días 5 y 6, T2 y T3 mantuvieron densidades poblacionales significativamente más altas que el control y T1, con T3 alcanzando la mayor densidad (1671.67 ± 20.21 células/mL en día 6).

Finalmente, en el día 7, el tratamiento T3 obtuvo la mayor densidad poblacional con 1793.33 ± 36.86 células/mL, seguido de cerca por T2 con 1593.33 ± 65.26 células/mL, mientras que T1 y el control alcanzaron 808.33 ± 24.66 y 1488.33 ± 57.95 células/mL respectivamente. Las diferencias significativas entre los tratamientos (indicadas por distintas letras) a lo largo del experimento confirmaron el efecto positivo y dosis-dependiente de la vinaza en el crecimiento de *S. acutus*.

4.3 Biomasa y lípidos

Los resultados del análisis estadístico de las distintas concentraciones de vinaza en la biomasa y el contenido de lípidos de *S. acutus*. Los datos indican que la vinaza no solo afecta la densidad poblacional, como se mostró en estudios previos, sino también la biomasa total y el perfil lipídico de los cultivos (Tabla 6).

En términos de biomasa (g/L), el cultivo control (TC) sin adición de vinaza tuvo una biomasa promedio de 0.74 g/L. Al compararlo con los tratamientos experimentales, se observa una disminución significativa en la biomasa para el tratamiento T1 (0.51 g/L).

Sin embargo, al aumentar la concentración de vinaza a 20 mL/L (T2), se notó un ligero incremento en la biomasa (0.75 g/L) en comparación al control. Asimismo, el tratamiento T3, con la concentración más alta de vinaza (30 mL/L), superó a todos los tratamientos, alcanzando la mayor biomasa (0.81 g/L).

Tabla 6. Biomasa (g/L) y contenido de lípidos (%) de los cultivos de *S. acutus* con vinaza.

| Parámetro | Tratamientos | | | |
|---------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | TC | T1 | T2 | T3 |
| | 0 mL/L | 10 mL/L | 20 mL/L | 30 mL/L |
| Biomasa (g/L) | 0.74 ±0.05 ^a | 0.51 ±0.04 ^b | 0.75 ±0.02 ^a | 0.81 ±0.02 ^c |
| Lípidos (%) | 14.27±0.75 ^a | 22.87±1.52 ^b | 14.63 ±1.82 ^a | 10.73 ±0.21 ^c |

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

Con respecto al contenido de lípidos, el control mostró un contenido promedio de 14.27% de lípidos, mientras que el tratamiento T1 evidenció un aumento significativo hasta el 22.87%, el valor más alto entre todos los tratamientos; el cual está relacionado con el menor contenido de nitrógeno. Este notable incremento podría estar relacionado con un estrés metabólico inducido por la vinaza, que promueve la acumulación de lípidos en las células de *S. acutus*. Los tratamientos T2 y T3 mostraron porcentajes de lípidos de 14.63% y 10.73%, respectivamente, evidenciando la relación inversa del crecimiento y el contenido de lípidos. Estos hallazgos sugieren que la vinaza tiene un impacto sobre la biomasa y el contenido de lípidos de *S. acutus*, que es dependiente de la concentración, asociado a los nutrientes que este contiene; de tal forma de que si se disminuye la concentración aumentan los lípidos. Mientras que la biomasa parece incrementarse con la concentración de vinaza.

4.4 Temperatura y pH

La Figura 5 muestra las variaciones de temperatura (°C) para cada tratamiento (TC, T1, T2, T3) en los 7 días de cultivo. Las temperaturas se mantuvieron constantes durante el período de estudio, lo que indica que la temperatura no tuvo una incidencia significativa en el crecimiento poblacional de *S. acutus*. Los valores de temperatura oscilaron entre valores de 25.4 °C y 25.8 °C. Esto sugiere que se mantuvieron condiciones ambientales estables y que cualquier variación en el crecimiento poblacional y en la producción de biomasa y lípidos es atribuible a las concertaciones de vinaza y no a diferencias en la temperatura.

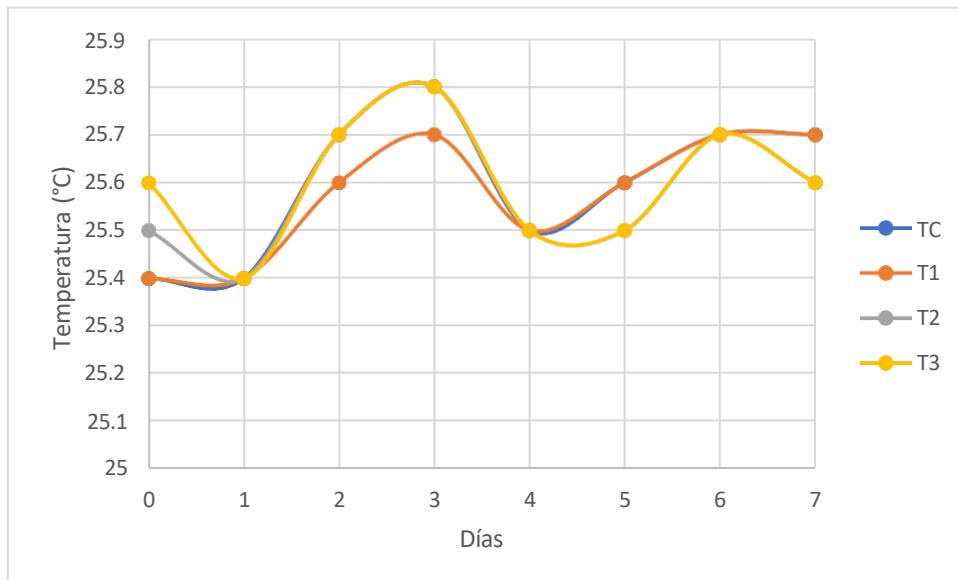


Figura 4. Variación de la temperatura de los cultivos de *S. acutus*.

La Figura 6 muestra las variaciones diarias de pH. Se observa que el tratamiento control (TC) comenzó con un pH de 6.66 unidades y experimentó un aumento constante hasta alcanzar un pH de 8.9 unidades. Los tratamientos con vinaza (T1, T2, T3), que tienen mayor acidez, muestran una tendencia similar, incrementando el pH a lo largo de los días, pero con valores iniciales y finales más bajos en comparación con el control.

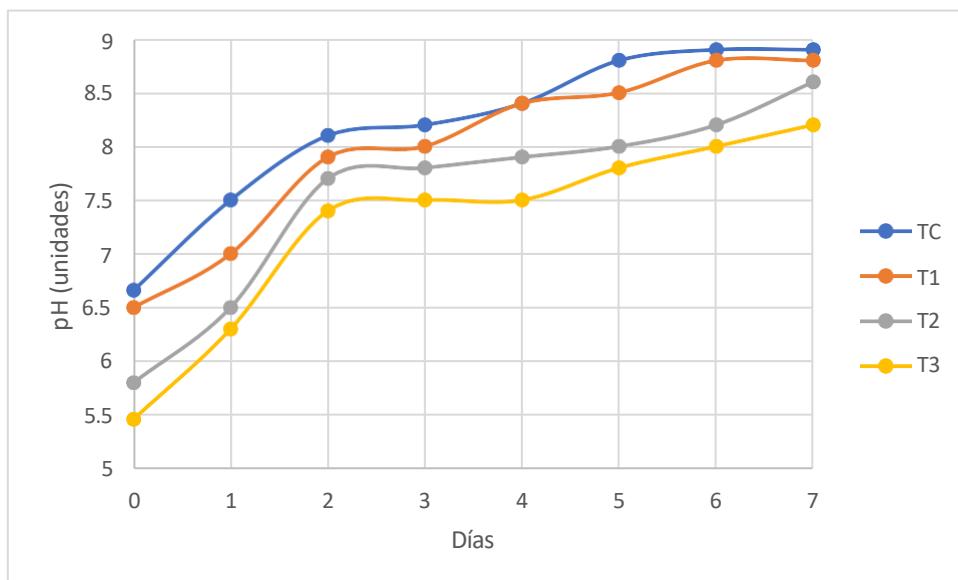


Figura 5 Variación del pH de los cultivos de *S. acutus*.

El tratamiento T3, con la concentración más alta de vinaza (30 mL/L), comenzó con el pH más bajo de 5.46 unidades, lo cual es consistente con una mayor acidez inicial debido a la mayor concentración de vinaza. Sin embargo, al final del período de estudio, el pH

de T3 aumentó a 8.2 unidades, lo que indica una moderación de la acidez a lo largo del tiempo, posiblemente debido a la adaptación metabólica de *S. acutus* y la degradación o dilución de componentes ácidos. Por su parte, los tratamientos T1 y T2, con concentraciones intermedias de vinaza, comenzaron con valores de pH de 6.5 y 5.8 unidades, respectivamente, y alcanzaron valores de 8.8 y 8.6 unidades al final del experimento.

Estos resultados sugieren que *S. acutus* es capaz de resistir y posiblemente neutralizar la acidez de la vinaza, ajustando potencialmente el pH del medio a un rango más favorable para su crecimiento. Esta capacidad de modulación del pH puede ser una consideración importante para aplicaciones industriales donde se utiliza la vinaza, ya que indica la robustez de *S. acutus* y su potencial uso en bioprocessos que involucran sustratos ácidos.

V. DISCUSIÓN

La presente investigación consideró en primer lugar evaluar la composición química del medio alternativo (vinaza) para determinar su posible uso en la producción de biomasa microalgal. El análisis reveló bajos niveles de metales pesados, como Arsénico (As) y Berilio (Be), lo cual es favorable, dado que las altas concentraciones de metales pesados suelen ser tóxicas para las microalgas, inhibiendo el crecimiento o incluso causando la muerte celular (Gerardo *et al.*, 2024; Benítez-Fernández *et al.*, 2023). La presencia de estos elementos en niveles inferiores a los límites de toxicidad sugiere que la vinaza es segura para el cultivo de microalgas a gran escala.

Por otro lado, la presencia de altas concentraciones de Calcio (Ca) y Potasio (K) es beneficiosa, ya que estos cationes cumplen funciones esenciales como cofactores en diversas rutas metabólicas y en el mantenimiento de la homeostasis celular (Aguinaga y Calderón, 2023; Farkha, 2023). Su abundancia puede facilitar un crecimiento robusto de las microalgas, lo que es un aspecto positivo para la producción a gran escala. De Paepe *et al.* (2023), reporta un requerimiento de calcio de 12.2 mg/L para las microalgas; mientras que, Islami y Assareh (2020), reportan un requerimiento de 100 mg/L de potasio para el cultivo de microalgas. Utilizando la vinaza como medio alternativo, nuestro estudio ha determinado que se suministran estos nutrientes por encima de los mínimos requeridos.

Similarmente, la presencia significativa de Sodio (Na) y Magnesio (Mg) puede ser ventajosa, ya que ambos elementos son fundamentales para la fotosíntesis y otros procesos metabólicos (Fan *et al.*, 2023). El Hierro (Fe), que se encontró en concentraciones de 12.32 mg/L, es esencial para la síntesis de clorofila y el Fósforo (P) es un componente crítico de las moléculas de ATP y de los ácidos nucleicos (Dalmonte *et al.*, 2023). Para el crecimiento de las microalgas, los nutrientes más importantes que se cuantificaron son el potasio (K) a 596.2 mg/L, fósforo (P) a >25 mg/L, y magnesio (Mg) a 43.59 mg/L, ya que son esenciales para procesos metabólicos y estructurales (Ermis *et al.*, 2020). La presencia de estos nutrientes en concentraciones adecuadas favorece la proliferación y productividad de las microalgas. La adecuada concentración de estos nutrientes indica que la vinaza proporciona un medio de cultivo nutricionalmente rico, con la ventaja de aumentar la producción de biomasa en *S. acutus*, como se ha corroborado en este trabajo.

Por otro lado, la concentración elevada de Cobre (Cu), a pesar de su papel crítico en numerosas enzimas como las oxidases, puede ser motivo de preocupación debido a su toxicidad en niveles altos. La cuantificación del cobre en el medio fue de 20 mg/L, que resulta en una concentración final de 0.4 mg/L en el tratamiento de 30 mL/L de vinaza (mayor concentración). Esta concentración está por debajo del umbral de toxicidad de 0.5 mg/L para muchas especies de microalgas (Budi *et al.*, 2020), indicando que no debería ser tóxica y podría ser adecuada para el crecimiento algal. Es crucial evaluar la tolerancia de *S. acutus* al cobre y determinar si se requiere un tratamiento previo de la vinaza para ajustar su concentración; además de la fuente de este en la vinaza, ya que su vertimiento al medio ambiente representa un peligro. Es importante considerar que los metales pueden bioacumularse (Chakravorty *et al.*, 2023), por lo cual, también es necesario monitorear su concentración. Además, se requiere determinar los niveles de dicho metal en la biomasa para su posterior uso.

Un aspecto fundamental en los cultivos algales es la optimización del medio para favorecer el crecimiento y la producción de metabolitos valiosos de las microalgas, mientras se minimizan los efectos negativos de los componentes tóxicos (Maltsev *et al.*, 2023). Esto puede significar implementar un tratamiento de la vinaza para ajustar la concentración de elementos específicos antes de su uso en cultivos a gran escala.

La marcada diferencia en el crecimiento entre los tratamientos con vinaza y el control sugiere además que la vinaza suministra nutrientes esenciales que pueden no estar presentes en el medio HM o que están en concentraciones subóptimas, pudiendo ser algunos componentes orgánicos que adicionan una fuente de carbono a los cultivos. El Calcio (Ca), por ejemplo, que no se encuentra en el HM, cuantificado en altas concentraciones en la vinaza, es un nutriente crítico para el crecimiento celular y podría haber contribuido al aumento sustancial en la densidad poblacional observado en T3.

La evaluación del crecimiento poblacional de *S. acutus* con distintas concentraciones de vinaza revela una relación importante de la concentración de la vinaza, corroborada por los análisis estadísticos (Tabla 5). A medida que se introdujo la vinaza, se observó un incremento diferencial en la densidad celular, con T3 (30 mL/L) presentando una respuesta significativamente más robusta desde el primer día, lo que puede atribuirse a la mayor disponibilidad de nutrientes esenciales como calcio y potasio en esta concentración de vinaza (Tabla 4).

El notable crecimiento exponencial en T3, que persistió a lo largo del estudio, también podría estar relacionado con la capacidad de *S. acutus* para no solo tolerar, sino también para metabolizar eficientemente los componentes de la vinaza, incluyendo aquellos con potencial tóxico como el cobre (en concentración mayor a 20 mg/L). En ese sentido, se ha demostrado la habilidad de *S. acutus* para adecuarse a un medio alternativo como la vinaza, el cual además presento un pH ácido (3.97 unidades de pH). Esto también pudo haber contribuido a un ambiente más propicio para el crecimiento celular, especialmente en las etapas medias a tardías del cultivo, ya que se conoce que esta microalga tiene un pH óptimo cercano a la neutralidad, aunque puede tolerar niveles ligeramente ácidos, cercanos a 6.5 (Shayesteh *et al.*, 2023).

Por otro lado, el crecimiento moderado en T1 (10 mL/L) muestra una limitación de nutrientes, lo que destaca la importancia de un equilibrio entre el aporte de nutrientes, principalmente de nitrógeno y fósforo. En nuestros análisis se ha determinado un nivel de 500 mg/L de nitrógeno y >25 mg/L de fosforo; concentraciones adecuadas para el cultivo de microalgas (Quian *et al.*, 2024). Sin embargo, es necesario destacar los mayores niveles de lípidos a esta concentración ($14.27 \pm 0.75\%$). El T2, aunque mostró un crecimiento superior al control y a T1, no superó significativamente a T3 en los últimos días del experimento, lo que indica un posible umbral de saturación de nutrientes o la activación de mecanismos de resistencia a la toxicidad. Futuros estudios deberían centrarse en profundizar los mecanismos bioquímicos específicos que permiten a *S. acutus* aprovechar los recursos nutricionales de la vinaza y en desarrollar estrategias para mitigar los efectos de los componentes tóxicos, permitiendo así la expansión a una producción a gran escala más eficiente y sostenible.

La producción de biomasa de *S. acutus* en respuesta a la adición de vinaza mostró una tendencia interesante que refleja la importancia de las concentraciones de nutrientes en el medio de cultivo. El tratamiento T3, con la mayor concentración de vinaza (30 mL/L), lideró en la producción de biomasa, alcanzando 0.81 g/L, superando al control y a las otras concentraciones de vinaza. Este aumento puede atribuirse a la abundancia de macronutrientes como el calcio y el potasio en la vinaza, además de otras fuentes orgánicas que contiene la vinaza (alcohol, ácido acético, etc.), que son esenciales para el crecimiento celular. Sin embargo, el decremento observado en T1 podría indicar que hay un límite en la capacidad de las microalgas para procesar los nutrientes disponibles.

Además, la disminución en la biomasa observada en T1 sugiere que una concentración baja de vinaza no proporciona suficientes nutrientes o introduce factores de estrés que inhiben la producción de biomasa. En contraste, T2 mostró una recuperación en la biomasa producida, incluso superando ligeramente al control. Este comportamiento indica que existe una concentración umbral de vinaza que optimiza la producción de biomasa en *S. acutus*, posiblemente por un balance más adecuado entre nutrientes y elementos potencialmente tóxicos.

El contenido de lípidos más alto en T1 podría ser el resultado del estrés metabólico causado por la vinaza a diferentes concentraciones. Las microalgas a menudo acumulan lípidos como mecanismo de defensa ante el estrés (Suparmaniam *et al.*, 2023), lo que podría explicar el incremento al 22.87%. Esta respuesta al estrés puede estar influenciada por la composición de la vinaza, específicamente el contenido de nitrógeno, que es conocido por regular la síntesis de lípidos en las microalgas. A medida que se incrementa la concentración de vinaza, el contenido de lípidos desciende, posiblemente debido a que el aumento de nutrientes favorece la biomasa sobre la producción de lípidos.

La relación inversa observada entre la biomasa y el contenido de lípidos en los tratamientos con vinaza sugiere que *S. acutus* puede priorizar el crecimiento celular sobre la acumulación de lípidos cuando se encuentra en un ambiente rico en nutrientes. El contenido decreciente de lípidos en T2 y T3 puede deberse a que, bajo condiciones de menor estrés y mayor disponibilidad de nutrientes, las células se enfocan en la proliferación más que en la acumulación de reservas energéticas. Este fenómeno destaca la necesidad de optimizar las condiciones de cultivo (concentración del medio) para alcanzar un equilibrio deseado entre la producción de biomasa y lípidos, lo que es crucial para aplicaciones biotecnológicas, como la producción de biocombustibles a partir de microalgas.

Además, el pH de la vinaza podría haber jugado un papel significativo en la regulación del crecimiento poblacional. Aunque *S. acutus* demostró su capacidad para ajustar el pH del medio, es posible que las diferencias iniciales en la acidez debido a la vinaza influyeran en la eficiencia de la utilización de nutrientes al principio del experimento, lo que podría haber contribuido a las tasas de crecimiento diferenciadas entre los tratamientos.

La variación del pH en función del tiempo tiene un impacto significativo en el crecimiento de las microalgas, ya que el pH del medio de cultivo puede cambiar debido a la actividad metabólica de las algas y la interacción con el entorno. Durante las fases iniciales de crecimiento, las microalgas pueden alterar el pH a través de la fotosíntesis, incrementando el pH al consumir dióxido de carbono (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017). A medida que el cultivo avanza y las algas proliferan, la acumulación de productos metabólicos como ácidos orgánicos puede reducir el pH (Muchut, 2020), afectando el ambiente de cultivo. Por lo tanto, el cambio continuo del pH en los cultivos influye en la disponibilidad de nutrientes, determinando el ritmo de crecimiento de las microalgas.

VI. CONCLUSIONES

- El mayor crecimiento poblacional ($1793.33 \pm 36.86 \times 10^4$ células / mL) y biomasa se obtuvo con 30 mL/L de vinaza. Mientras que, la menor concentración ($808.33 \pm 24.66 \times 10^4$ células / mL) se observó con 10 mL/L, siendo diferente estadísticamente.
- La mayor concentración de lípidos ($22.87 \pm 1.52\%$) se obtuvo con 10 mL /L de vinaza, mientras que no se identificaron diferencias entre los tratamientos de 20 y control mL/L (14.63 ± 1.82 y $14.27 \pm 0.75\%$, respectivamente). La menor concentración de lípidos ($10.73 \pm 0.21\%$) se obtuvo con 30 mL/L.
- La vinaza presentó un pH ácido (3.97 unidades) que a diferentes concentraciones modifíco los valores de pH al inicio del experimento.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda investigar, en futuros estudios, mayores y menores rangos de concentraciones de vinaza, para determinar con precisión el punto óptimo para el crecimiento de *S. acutus* y la producción de lípidos.
- Realizar experimentos de duración extendida con mayor frecuencia de toma de datos para observar la estabilidad del crecimiento y la producción de biomasa y lípidos, así como la capacidad de *S. acutus* para mantener el pH en presencia de vinaza a largo plazo.
- Estudiar los mecanismos de adaptación de *S. acutus* en condiciones ácidas generadas por la incorporación de vinaza.
- Para determinar la sostenibilidad y la viabilidad comercial de esta estrategia, se debe examinar el impacto ambiental y el costo-beneficio del uso de vinaza en la producción de biomasa de *S. acutus*.
- Explorar e uso de la biomasa y los lípidos producidos en aplicaciones industriales, como la producción de bioenergía o bioproductos, dentro del marco de la economía circular.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abalde, J., Cid, A., Fidalgo Paredes, P., Torres, E., & Herrero, C. (1995). Microalgas: Cultivo y aplicaciones.
- Abiusi, F., Trompeter, E., Pollio, A., Wijffels, R. H., & Janssen, M. (2022). Acid tolerant and acidophilic microalgae: an underexplored world of biotechnological opportunities. *Frontiers in microbiology*, 13, 820907.
- Aguinaga Chonlon, K. E., & Calderon Barrios, F. E. (2023). Eficiencia de la microalga *Chlorella* sp. en la remoción de coliformes presentes en las aguas residuales del dren 3100.
- Alzate, C. E. A. (2015). Caracterización físico-química de una vinaza resultante de la producción de alcohol de una industria licorera, a partir del aprovechamiento de la caña de azúcar. *Ingenierías USBMed*, 6(2), 36-41.
- Angulo, K. L. C. (2024). Soluciones tecnológicas para el Tratamiento de agua. Una aproximación desde las políticas públicas. *Dominio de las Ciencias*, 10(2), 460-480.
- Ballarte, B. A. A. (2024). Tratamiento de efluentes líquidos del Camal Municipal para mitigar contaminación del Rio Huallaga. Huánuco, 2023.
- Barroso, Y. M. M., Mantilla, P. A. P., & Pérez, J. F. B. (2019). Remoción de cromo en aguas residuales industriales mediante el uso de biomasa de *Spirulina* sp, sedimentación primaria y precipitación química. *RIAA*, 10(1), 1.
- Beltrán-Rocha, Julio C, Guajardo-Barbosa, Claudio, Barceló-Quintal, Icela D, & López-Chuken, Ulrico J. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO₂. *Revista de biología marina y oceanografía*, 52(3), 417-427.
<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572017000300001>
- Benítez-Fernández, N. C., Pérez-Legaspi, I. A., & Rubio-Franchini, I. (2023). Transfer of lead through different trophic levels: Microalgae (*Nannochloropsis oculata*), rotifer (*Brachionus plicatilis*), and prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 39.
- Bermúdez, R. C., Hoyos, J. A., & Rodríguez, S. (2000). Evaluación de la disminución de la carga contaminante de la vinaza de destilería por tratamiento anaerobio. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 16(3), 103-107.
- Budi, R. M. S., Rahardja, B. S., & Masithah, E. D. (2020, February). Potential concentration of heavy metal copper (cu) and microalgae growth Spirulina plantesis in culture media. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 441, No. 1, p. 012147). IOP Publishing.
- Calvo Bayo, I., Cuberos Cáceres, L., Ruiz Ruiz, M. B., Yebra Rodríguez, A. M., Bolívar Galiano, F. C., & Romero-Noguera, J. (2023). Cambiando el paradigma del biodeterioro. Las microalgas de la Alhambra y el Generalife como

oportunidad para la creación de nuevas técnicas artísticas. La Ciencia y el Arte IX. Ciencias y tecnologías aplicadas a la conservación del patrimonio.

Cardenas-Gutierrez, I. Y., Machuca-Martinez, F., & García-Martínez, J. B. (2021).

Protocolo para el mantenimiento de cepas y escalamiento en la producción de microalgas de interés industrial. Ingeniería y competitividad, 23(1).

Cerón, G. C. (2005). Economía aplicada a la valoración de impactos ambientales. Universidad de Caldas.

Chakravorty, M., Nanda, M., Bisht, B., Sharma, R., Kumar, S., Mishra, A., ... & Kumar, V. (2023). Heavy metal tolerance in microalgae: detoxification mechanisms and applications. Aquatic Toxicology, 260, 106555.

Cordova, R. J. W. (2018). Utilización de la Vinaza de Caña Azúcar para Estabilizar Suelos Cohesivos, Huancayo. Repositorio Institucional - UPLA.
<http://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/1035>

Dalmonte, T., Vecchiato, C. G., Biagi, G., Fabbri, M., Andreani, G., & Isani, G. (2023). Iron Bioaccessibility and Speciation in Microalgae Used as a Dog Nutrition Supplement. Veterinary Sciences, 10(2), 138.

Díaz, M., Gualtieri, M., & Semprún, A. (2003). Producción de proteína unicelular a partir de desechos de vinaza. Rev. Fac. Farm.(Merida), 23-26.

De Paepe, J., Gragera, D. G., Jimenez, C. A., Rabaey, K., Vlaeminck, S. E., & Gòdia, F. (2023). Continuous cultivation of microalgae yields high nutrient recovery from nitrified urine with limited supplementation. Journal of Environmental Management, 345, 118500.

Ermis, H., Guven-Gulhan, U., Cakir, T., & Altinbas, M. (2020). Effect of iron and magnesium addition on population dynamics and high value product of microalgae grown in anaerobic liquid digestate. Scientific reports, 10(1), 3510.

Fan, J., Feng, S., Tang, Q., Guo, S., & Cai, Z. (2023). Using steel slag as Ca²⁺ supplement to trigger microalgae growth and wastewater treatment. Biochemical Engineering Journal, 197, 108982.

Farkha, T. K. (2023). Fatty Acids, Minerals Composition, and Antimicrobial Activity of the Blue-Green Microalga (*Spirulina platensis*) Isolated from Qilyasan Stream, Sulaimani, Kurdistan, Iraq. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 27(6), 187-201.

Gerardo, S. G., Alelie, C. T. A., Luis, C. G., & Carmen, M. (2024). Prediction of the toxic impact on the freshwater microalgae *Scenedesmus intermedius* produced by the interaction of copper sulfate and copper oxychloride in a binary mixture with glyphosate. Limnetica, 43(1), 000-000.

González, J. A., Buedo, S. E., Prado, F. E., & Álvarez, S. (2018). Efecto de la vinaza sobre el crecimiento y productividad de la Soja (*Glycine max*) en condiciones semicontroladas. Boletín de la Sociedad Argentina de botánica, 53(4), 1-10.

- Hernández-Reyes, B. M., Rodríguez-Palacio, M. C., Lozano-Ramírez, C., & Castilla-Hernández, P. (2012). Remoción de nutrientes por tres cultivos de microalgas libres e inmovilizados. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal*, 3(1), 80-94.
- Hidalgo, K., Rodríguez, B., Valdivié, M., & Febles, M. (2009). Utilización de la vinaza de destilería como aditivo para pollos en ceba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 43(3), 281-284.
- Hors, J. P. C. (2009). Una visión integrada sobre el cultivo de microalgas para la producción de biocombustibles.
- Islami, H. R., & Assareh, R. (2020). Enhancement effects of ferric ion concentrations on growth and lipid characteristics of freshwater microalga *Chlorococcum oleofaciens* KF584224. 1 for biodiesel production. *Renewable Energy*, 149, 264-272.
- Jacobo García, F. del R. (2018). Aguas residuales urbanas y sus efectos en la comunidad de Paso Blanco, municipio de Jesús María, Aguascalientes. *Revista de El Colegio de San Luis*, 8(16), 267-293.
<https://doi.org/10.21696/rcls19162018760>
- Lazarte Chicata, Y. I. (2021). Determinación de la capacidad de absorción de grasas y aceites de la etapa de pre-curtido de pieles del parque industrial de Río Seco mediante microalgas en fotobiorreactores a escala de laboratorio.
- Luna, L. M. G. (2007). Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de química*, 19(2), 3-20.
- Maltsev, Y., Kulikovskiy, M., & Maltseva, S. (2023). Nitrogen and phosphorus stress as a tool to induce lipid production in microalgae. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 239.
- Manikandan, A., Suresh Babu, P., Shyamalagowri, S., Kamaraj, M., Muthukumaran, P., & Aravind, J. (2021). Emerging role of microalgae in heavy metal bioremediation. *Journal of Basic Microbiology*, jobm.202100363.
<https://doi.org/10.1002/jobm.202100363>
- Montoya Terreros, H. (2018). Evaluación de la capacidad de remoción de nitratos y fosfatos de la microalga, *Desmodesmus asymmetricus*, en aguas residuales de PETAR-TABOADA Callao. [Tesis de Licenciatura, Universidad Ricardo Palma].
<https://repositorio.urp.edu.pe/handle/20.500.14138/1675>
- Muchut, R. J. (2020). Estudio de estructura-función y regulación en enzimas del metabolismo del carbono y de la generación del poder reductor en células autótrofas.
- Qian, W., Yang, Y., Chou, S., Ge, S., Li, P., Wang, X., ... & Zhang, J. (2024). Effect of N/P ratio on attached microalgae growth and the differentiated metabolism along the depth of biofilm. *Environmental Research*, 240, 117428.
- Quincho, L. C. M., Matías, P. M. R., & Cruzado, O. F. A. (2017). Diagnóstico del uso del agua y vertimientos de efluentes líquidos en el Perú (2013-2015). *Revista del*

Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas, 20(39), Art. 39. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v20i39.14175>

Quiroz Guerrero, I., & Pérez Vázquez, A. (2013). Vinaza y compost de cachaza: Efecto en la calidad del suelo cultivado con caña de azúcar. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 4(SPE5), 1069-1075.

Rai, S. K. (2013). Occurrence of genus *Scenedesmus* Mayen (Chlorophyceae) from East Nepal. Nepalese Journal of Biosciences, 3(1), 26-37.

Rendón, M. E., Noguera, R. R., & Posada, S. L. (2014). Vinaza de caña como aditivo acidificante en la elaboración de ensilaje de maíz (*Zea mays*). Livestock Research for Rural Development, 26(1), 2014.

Sendra, M., & Moreno-Garrido, I. (2019). Nanopartículas y microalgas.

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), 300.
<https://doi.org/10.1186/s13068-017-0977-8>

Shayesteh, H., Raeisossadati, M., Vadiveloo, A., Bahri, P. A., & Moheimani, N. R. (2023). Culture depth effect on *Scenedesmus* sp. growth, photo-physiology and nutrient removal rate in anaerobically digested abattoir effluent. Journal of applied phycology, 35(2), 567-580.

Suparmaniam, U., Lam, M. K., Lim, J. W., Yusup, S., Tan, I. S., Lau, S. Y., ... & Kachhwaha, S. S. (2023). Influence of environmental stress on microalgae growth and lipid profile: a systematic review. Phytochemistry Reviews, 22(4), 879-901.

Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., & Roessler, P. (1998). A look back at the US Department of Energy's aquatic species program: Biodiesel from algae. National Renewable Energy Laboratory, 328, 1-294.

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.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101661>

Vargas Paz, R. M. (2020). Biorremediación de aguas residuales domésticas aplicando la microalga *Scenedesmus* sp.

Venkataraman, L. V. (2017). Blue-green algae as biofertilizer. En CRC Handbook of microalgal mass culture (pp. 455-472). CRC Press.

World Bank. (2020). El agua residual puede generar beneficios para la gente, el medioambiente y las economías, según el Banco Mundial [Text/HTML]. World Bank. <https://www.bancomundial.org/es/news/press-release/2020/03/19/wastewater-a-resource-that-can-pay-dividends-for-people-the-environment-and-economies-says-world-bank>

Yang, H., & Abbaspour, K. C. (2007). Analysis of wastewater reuse potential in Beijing. Desalination, 212(1-3), 238-250.
<https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.10.012>

Yu, H., Kim, J., Rhee, C., Shin, J., Shin, S. G., & Lee, C. (2022). Effects of different pH control strategies on microalgae cultivation and nutrient removal from anaerobic digestion effluent. Microorganisms, 10(2), 357.

ANEXOS

Anexo 1. Pre-ensayo experimental de los cultivos de *S. acutus* con vinaza.



Anexo 2. Conteos celulares de los tratamientos experimentales.



Anexo 3. Reporte del análisis químico de la vinaza.

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



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS
CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES

“COLECBi” S.A.C.

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

INFORME DE ENSAYO N° 20231017-014

Pág. 1 de 3

| | |
|---|---|
| SOLICITADO POR | : EZIO FABRIZIO REQUENA PASTORELLI. |
| DIRECCIÓN | : Jr. Tangay N° 137 Urb. Buenos Aires Segunda Etapa Nuevo Chimbote. |
| NOMBRE DEL CONTACTO DEL CLIENTE | : NO APLICA |
| PRODUCTO (DECLARADO POR EL CLIENTE) | : BIMASA DE PISCO. |
| LUGAR DE MUESTREO | : NO APLICA |
| MÉTODO DE MUESTREO | : NO APLICA |
| PLAN DE MUESTREO | : NO APLICA. |
| ACTA DE MUESTREO | : NO APLICA. |
| CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE EL MUESTREO | : NO APLICA |
| FECHA DE MUESTREO | : NO APLICA |
| CANTIDAD DE MUESTRA | : 01 muestra. |
| PRESENTACIÓN DE LA MUESTRA | : En bolsa de polietileno transparente cerrada. |
| CONDICIÓN DE LA MUESTRA | : En buen estado. |
| FECHA DE RECEPCIÓN | : 2023-10-17 |
| FECHA DE INICIO DEL ENSAYO | : 2023-10-17 |
| FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO | : 2023-10-29 |
| ENSAYOS REALIZADOS EN | : Laboratorio Físico Químico. |
| CÓDIGO COLECBi | : SS 231017-6 |

RESULTADOS

| ENSAYO | MUESTRA |
|------------------------|-----------------|
| | BIMASA DE PISCO |
| Nitrogeno Total (mg/L) | 500 |

COLECBi S.A.C.

Urb. Buenos Aires Mz. A - Lt. 7 I 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



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° 20231017-014

Pág. 2 de 3

ENSAYOS DE METALES

| METALES TOTALES (mg/L) | Límite de Cuantificación (mg/L) | BIMASA DE PISCO |
|----------------------------|---------------------------------|-----------------|
| Plata (Ag) | 0,002 | 0,006 |
| Aluminio (Al) | 0,02 | 7,43 |
| Arsénico (As) | 0,005 | <0,005 |
| Boro (B) | 0,003 | 1,019 |
| Bario (Ba) | 0,003 | 0,110 |
| Berilio (Be) | 0,0002 | <0,0002 |
| Calcio (Ca) | 0,02 | 148,00 |
| Cadmio (Cd) | 0,0001 | <0,0001 |
| Cerio (Ce) | 0,009 | <0,009 |
| Cobalto (Co) | 0,0006 | 0,0058 |
| Cromo (Cr) | 0,0003 | 0,0184 |
| Cobre (Cu) | 0,002 | >20 |
| Hierro (Fe) | 0,002 | 12,320 |
| Mercúrio (Hg) | 0,001 | <0,001 |
| Potasio (K) | 0,1 | 596,2 |
| Litio (Li) | 0,003 | 0,021 |
| Magnesio (Mg) | 0,02 | 43,59 |
| Manganoso (Mn) | 0,0003 | 0,6576 |
| Molibdeno (Mo) | 0,002 | 0,012 |
| Sodio (Na) | 0,06 | 65,69 |
| Níquel (Ni) | 0,0006 | 0,0185 |
| Fósforo (P) | 0,01 | >25 |
| Plomo (Pb) | 0,002 | 0,080 |
| Antimonio (Sb) | 0,003 | 0,009 |
| Selenio (Se) | 0,005 | 0,006 |
| Silice (SiO ₂) | 0,01 | 63,99 |
| Estaño (Sn) | 0,003 | 0,067 |
| Estroncio (Sr) | 0,0003 | 1,0089 |
| Titanio (Ti) | 0,0007 | 0,4304 |
| Talio (Tl) | 0,002 | <0,002 |
| Vanadio (V) | 0,001 | 0,038 |
| Zinc (Zn) | 0,002 | 0,570 |

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

COLECBI S.A.C.

Urb. Buenos Aires Mz. A - Lt. 7 I 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

Anexo 4. Conteos celulares de *S. acutus* cultivado con vinaza.

| Dia | TCR1 | TCR2 | TCR3 | T1R1 | T1R2 | T1R3 | T2R1 | T2R2 | T2R3 | T3R1 | T3R2 | T3R3 |
|-----|---------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 0 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 | 40.00 |
| 1 | 93.00 | 102.00 | 88.00 | 80.00 | 95.00 | 105.00 | 95.00 | 115.00 | 135.00 | 130.00 | 155.00 | 160.00 |
| 2 | 275.00 | 285.00 | 270.00 | 190.00 | 195.00 | 245.00 | 230.00 | 200.00 | 265.00 | 345.00 | 385.00 | 390.00 |
| 3 | 450.00 | 435.00 | 510.00 | 235.00 | 215.00 | 275.00 | 420.00 | 410.00 | 485.00 | 495.00 | 510.00 | 540.00 |
| 4 | 795.00 | 820.00 | 830.00 | 380.00 | 345.00 | 385.00 | 770.00 | 835.00 | 835.00 | 950.00 | 960.00 | 960.00 |
| 5 | 1060.00 | 1090.00 | 1130.00 | 545.00 | 525.00 | 615.00 | 1200.00 | 1535.00 | 1420.00 | 1340.00 | 1380.00 | 1400.00 |
| 6 | 1230.00 | 1310.00 | 1365.00 | 630.00 | 670.00 | 685.00 | 1450.00 | 1610.00 | 1505.00 | 1650.00 | 1690.00 | 1675.00 |
| 7 | 1435.00 | 1550.00 | 1480.00 | 780.00 | 820.00 | 825.00 | 1520.00 | 1645.00 | 1615.00 | 1835.00 | 1765.00 | 1780.00 |

Anexo 5. Valores determinados de biomasa y lípidos de *S. acutus*.

| Parámetro | TCR1 | TCR2 | TCR3 | T1R1 | T1R2 | T1R3 | T2R1 | T2R2 | T2R3 | T3R1 | T3R2 | T3R3 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Biomasa | 0.78 | 0.69 | 0.74 | 0.55 | 0.49 | 0.48 | 0.68 | 0.66 | 0.64 | 0.79 | 0.82 | 0.81 |
| Lípidos | 14.30 | 15.00 | 13.50 | 21.50 | 22.60 | 24.50 | 16.60 | 14.30 | 13.00 | 10.50 | 10.90 | 10.80 |