

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera

“ESTUDIO COMPARATIVO DEL RENDIMIENTO DE BIOMASA
DE *Isochrysis galbana* Y *Chaetoceros* sp. UTILIZANDO
DIFERENTES TIPOS DE LUZ EN LA REGIÓN
TACNA, 2017”

TESIS

Presentada por:

Bach. Jhosselyne Kiara Magali Fuentes Espinoza

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO PESQUERO

TACNA - PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

TESIS

**“ESTUDIO COMPARATIVO DEL RENDIMIENTO DE BIOMASA DE
Isochrysis galbana Y *Chaetoceros sp.* UTILIZANDO
DIFERENTES TIPOS DE LUZ EN LA REGIÓN
TACNA, 2017”**

Tesis sustentada y aprobada el 27 de diciembre del 2018; estando el jurado calificador y asesor integrado por:

Presidente :

.....

Ing. Nikita Iván Morales Cabrera

Secretario :

.....

Dr. Lorenzo-Walter Ibárcena Fernández

Vocal :

.....

Dra. Justa Agapita Machaca Mamani

Asesor :

.....

Dr. Julio César Isique Calderón

DEDICATORIA

A Jehová Dios por ser mi guía, por darme fuerzas para seguir adelante permitiéndome cumplir con mis metas y poder dar este paso tan importante para mi desarrollo profesional.

A mi familia que siempre me ha demostrado su amor y me ha brindado su apoyo incondicional día a día en el transcurso de cada año de mi carrera profesional, en especial a mi madre Rosario Nancy Espinoza Soto quien siempre ha estado a mi lado dándome su amor y confianza.

AGRADECIMIENTOS

Un muy sincero y especial agradecimiento al Dr. Julio César Isique Calderón, asesor de la presente tesis por su valiosa orientación y apoyo, durante la formulación, realización y culminación del presente trabajo.

A la Dra. Sheyla Amanda Zevallos Feria, Co-asesora e investigadora del Instituto del Mar del Perú – Ilo, por compartir conocimientos, por sus buenos consejos, enseñanzas y por su apoyo incondicional durante toda la ejecución de la tesis como especialista en microalgas.

Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann por el financiamiento de la presente tesis de investigación mediante los fondos del canon.

A la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann por las facilidades brindadas en sus instalaciones para realizar el presente trabajo de investigación.

A la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional de Moquegua por las facilidades brindadas con los equipos para los análisis de las muestras de microalgas.

Al Ing. Víctor Franco Chili Layme, responsable del Centro de Acuicultura Morro Sama - FONDEPES- Tacna, por las facilidades brindadas, consejos y buena disposición durante el desarrollo de mi tesis.

A todas las personas que me brindaron su apoyo directa e indirectamente. Mil gracias a todos y mis más sinceros agradecimientos.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xvii
RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xx
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema	7
1.2.1. Interrogante general.....	7
1.2.2. Interrogantes secundarias.....	7
1.3. Justificación e importancia.....	8
1.4. Objetivos.....	9

1.4.1. Objetivo general.....	9
1.4.2. Objetivos específicos	9
1.5. Hipótesis.....	10
1.5.1. Hipótesis general	10
1.5.2. Hipótesis específicas	10
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes del estudio	5
2.2. Bases teóricas.....	18
2.1.1. Las microalgas.....	18
2.1.2. Composición bioquímica de las microalgas	20
2.1.3. Microalgas utilizadas en esta investigación	24
2.1.4. Cultivo de biomasa de microalgas	28
2.1.5. Factores abióticos.....	30
2.1.6. Uso y aplicaciones de las microalgas	37
2.1.7. Microalgas en biocombustibles	38
2.1.8. Otras aplicaciones de las microalgas.....	40
2.1.9. Fotometría.....	41
2.1.10. La energía de la luz	42

2.1.11. Los pigmentos y la fotosíntesis.....	44
2.1.12. Luz y su importancia para la fotosíntesis.....	45
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	48
3.1. Lugar de ejecución	48
3.2. Tipo, diseño y nivel de investigación	48
3.3. Operacionalización de variables.....	53
3.3.1. Variable dependiente: indicadores.....	53
3.3.2. Variable independiente: indicadores.....	53
3.4. Población y muestra	54
3.4.1. La población.....	54
3.4.2. Muestra.....	54
3.5. Materiales, equipos e instrumentos.....	54
3.5.1. Materiales	54
3.5.2. Métodos	58
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	63
4.1. Composición química	63
4.2. Otros análisis químicos	64
4.3. Densidad celular.....	64

4.4. Tasa específica de crecimiento	79
4.5. Tiempo de duplicación.....	80
CAPÍTULO V: DISCUSIONES	82
5.1. Composición química	82
5.2. Otros análisis químicos	82
5.3. Densidad celular	83
5.4. Tasa específica de crecimiento	84
5.5. Tiempo de duplicación.....	85
CONCLUSIONES	86
RECOMENDACIONES.....	88
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
ANEXOS.....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química de la fase de crecimiento exponencial (a) y estacionario (b) de las microalgas evaluadas.	22
Tabla 2. Diseño Experimental para: “Estudio comparativo del rendimiento de biomasa de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> utilizando diferentes tipos de luz, en la Región Tacna 2017”.	49
Tabla 3. Análisis químico de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca	63
Tabla 4. Análisis químico de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul	64
Tabla 5. Réplica 1, <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz blanca. ...	65
Tabla 6. Réplica 1, <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz azul	66
Tabla 7: Réplica 1, <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca.....	67
Tabla 8. Réplica 1, <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul.....	68
Tabla 9: Réplica 2, <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz blanca	69
Tabla 10: Réplica 2, <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz azul	70

Tabla 11: Réplica 2, <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca.....	71
Tabla 12: Réplica 2, <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul.....	72
Tabla 13: Réplica 3, <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz blanca ..	73
Tabla 14: Réplica 3, <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz azul	74
Tabla 15: Réplica 3, <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca.....	75
Tabla 16: Réplica 3, <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul.....	76
Tabla 17: Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> por tratamientos	77
Tabla 18: Densidad celular de <i>Chaetoceros sp.</i> por tratamientos	78
Tabla 19: Tasa específica de crecimiento de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca	79
Tabla 20: Tasa específica de crecimiento de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul	80
Tabla 21: Tiempo de duplicación de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca, según las réplicas.....	80
Tabla 22: Tiempo de duplicación de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul, según las réplicas.....	81

Tabla 23: Análisis de varianza (ANVA) en el mes de febrero del rendimiento de biomasa	99
Tabla 24: Prueba de contraste múltiple de Tukey para el rendimiento de biomasa en el mes de febrero.....	100
Tabla 25: Análisis de varianza (ANVA) en el mes de mayo del rendimiento de biomasa	100
Tabla 26: Prueba de contraste múltiple de Tukey para el rendimiento de biomasa en el mes de mayo	101
Tabla 27: Análisis de varianza (ANVA) en el mes de agosto del rendimiento de biomasa	102
Tabla 28: Prueba de contraste múltiple de Tukey para el rendimiento de biomasa en el mes de agosto	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proyección de la demanda de combustible en el Perú.	6
Figura 2. Especies de microalgas	20
Figura 3. Contenido en ácidos grasos y lípidos totales de microalgas....	23
Figura 4. Microfotografías de la especie <i>Isochrysis galbana</i>	25
Figura 5. Microfotografías de <i>Chaetoceros sp.</i>	28
Figura 6. Diagrama general de producción de microalgas.....	36
Figura 7. Diagrama: Evaluación de biodiesel en microalgas.....	40
Figura 8. Espectro electromagnético.....	43
Figura 9. Espectro de absorción de los pigmentos	44
Figura 10. Pigmentos microalgales y espectro de absorción.	46
Figura 11. Diseño experimental. A: Luz blanca, B: Luz azul, I: <i>Isochrysis galbana</i> y C: <i>Chaetoceros sp.</i>	49
Figura 12. Cámara Neubauer.....	60
Figura 13. Recuento en la Cámara Neubauer.	61

Figura 14. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz blanca, réplica 1	65
Figura 15. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz azul, réplica 1	66
Figura 16. Densidad celular de <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca, réplica 1.....	67
Figura 17. Densidad celular <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul, réplica 1	68
Figura 18. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz blanca, réplica 2.....	69
Figura 19. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz azul, réplica 2.....	70
Figura 20. Densidad celular de <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca, réplica 2.....	71
Figura 21. Densidad celular de <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul, réplica 2.....	72
Figura 22. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz blanca, réplica 3.....	73

Figura 23. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> con tratamiento de luz azul, réplica 3.....	74
Figura 24. Densidad celular de <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz blanca, réplica 3.....	75
Figura 25. Densidad celular <i>Chaetoceros sp.</i> con tratamiento de luz azul, réplica 3.	76
Figura 26. Densidad celular de <i>Isochrysis galbana</i> según réplicas y tratamientos.	77
Figura 27. Densidad celular de <i>Chaetoceros sp.</i> según réplicas y tratamientos.	78
Figura 28. Mantenimiento de cepas de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> en medio sólido (placas petri)	103
Figura 29. Mantenimiento de cepas de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> en medio líquido (contenidas en tubos de ensayo).	103
Figura 30. Cultivo inicial de <i>Isochrysis galbana</i> en matraces de 250 y 500 ml. de capacidad.....	103
Figura 31. Cultivo inicial de <i>Chaetoceros sp.</i> en matraces de 250 y 500 ml. de capacidad.....	104

Figura 32. (a) Cultivo de <i>Isochrysis galbana</i> en matraces de 1 L. con tratamiento de luz blanca, (b) Cultivo de <i>Chaetoceros sp.</i> en matraces de 1 L, con tratamiento de luz blanca, (c) Cultivo de <i>Chaetoceros sp.</i> en matraces de 1 L. con tratamiento de luz azul y (d) Cultivo de <i>Isochrysis galbana</i> en matraces de 1 L, con tratamiento de luz azul.	104
Figura 33. (a) Cultivo de <i>Chaetoceros sp.</i> en botellas de 7 L, con tratamiento de luz blanca, (b) Cultivo de <i>Isochrysis galbana</i> en botellas de 7 L, con tratamiento de luz blanca, (c) Cultivo de <i>Chaetoceros sp.</i> en botellas de 7 L, con tratamiento de luz azul y (d) Cultivo de <i>Isochrysis galbana</i> en botellas de 7 L, con tratamiento de luz azul.	105
Figura 34. Repiques de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> en el laboratorio	105
Figura 35. Observación de la calidad de las microalgas (a) <i>Isochrysis galbana</i> y (b) <i>Chaetoceros sp.</i>	105
Figura 36. Recuento microalgal en la Cámara de Neubauer de (a) <i>Isochrysis galbana</i> y (b) <i>Chaetoceros sp.</i>	106

Figura 37. Estante con cultivo de microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> por tratamiento de luz blanca y luz azul... 106	106
Figura 38. Centrífuga industrial adaptada para microalgas y el proceso de centrifugado	107
Figura 39. Ultracongelador con las muestras de microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> previamente centrifugadas.	108
Figura 40. Liofilización de las muestras de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i>	110
Figura 41. Muestras liofilizadas de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> , por tratamiento de luz blanca y luz azul	110

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia	98
Anexo 2: Análisis estadístico	99
Anexo 3: Fase de cepario: cepas de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i>	103
Anexo 4: Fase de cultivo inicial	103
Anexo 5: Fase de cultivo intermedio	104
Anexo 6: Repiques de microalgas	105
Anexo 7: Observación y conteo de las microalgas: <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i>	105
Anexo 8: Sala de cultivo de microalgas	106
Anexo 9: Proceso de centrifugado de microalgas	107
Anexo 10: Proceso de ultracongelado de microalgas	108
Anexo 11: Proceso de liofilización de microalgas	109
Anexo 12: Muestras de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> envasadas y selladas	110

RESUMEN

La presente investigación tuvo por finalidad evaluar el rendimiento de la biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* utilizando dos tipos de luz: luz blanca (T_1) y luz azul (T_2), cada uno con tres réplicas. Los cultivos se realizaron desde la fase inicial, en matraces de 250 y 500 ml. hasta la fase intermedia en matraces de 1 L. y botellas de plástico de 7 L., utilizando medio de cultivo F/2 Guillard. Se irradiaron con fluorescentes de luz blanca y azul para determinar los efectos de los espectros de luz en la cantidad de proteínas y en el crecimiento de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*

La luz blanca concentró la mayor cantidad de proteínas para ambas microalgas, con valores de 33,73% para *Isochrysis galbana* y 25,03% para *Chaetoceros sp.* En el crecimiento, la luz blanca favoreció el crecimiento de *Isochrysis galbana* con una tasa específica de crecimiento (μ) de 0,42 divisiones/día y un tiempo de duplicación (T_d) de 1,65 días, mientras que la luz azul favoreció el crecimiento de *Chaetoceros sp.* con un μ de 0,49 divisiones/día y un T_d de 2,17 días.

El diseño experimental fue un DCA (Diseño Completamente al Azar) con cuatro tratamientos (T₁: *Isochrysis galbana* con luz blanca, T₂: *Isochrysis galbana* con luz azul, T₃: *Chaetoceros sp.* con luz blanca y T₄: *Chaetoceros sp.* con luz azul) y tres réplicas, empleando la prueba estadística de Tukey, los tratamientos mostraron diferencias significativas. En este estudio se demuestra que la variación del tipo de luz es un factor determinante en el crecimiento y en la composición bioquímica de las microalgas.

Palabras clave: Microalgas, luces, biomasa, densidad celular, tasa específica de crecimiento, tiempo de duplicación.

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the biomass yield of the microalgae *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros sp.* using two types of light: white light (T₁) and blue light (T₂), each with its three replicas. The cultures were made from the initial phase, in flasks of 250 and 500 ml. until the intermediate phase in flasks of 1 L. and plastic bottles of 7 L., using the culture medium F/2 Guillard. They were irradiate with fluorescents of white and blue light to determine the effects of the light spectra on the amount of proteins and on the growth of the microalgae *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros sp.*

The white light concentrated the highest amount of proteins for both microalgae, with values of 33,73% for *Isochrysis galbana* and 25,03% for *Chaetoceros sp.* In growth, white light favored the growth of *Isochrysis galbana* with a specific growth rate (μ) of 0,42 divisions / day and a doubling time (T_d) of 1,65 days, while blue light favored growth of *Chaetoceros sp.* with a μ of 0,49 divisions/day and a T_d of 2,17 days.

The experimental design was a DCA (Completely Random Design) with four treatments (T₁: *Isochrysis galbana* with white light, T₂: *Isochrysis galbana*

with blue light, T₃: *Chaetoceros sp.* with white light and T₄: *Chaetoceros sp.* with blue light) and three replications, using Tukey's statistical test, the treatments showed significant differences. This study shows that the variation of the type of light is a determining factor in the growth and biochemical composition of microalgae.

Key words: Microalgae, lights, biomass, cell density, specific growth rate, doubling time.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son una fuente de alimento esencial en la crianza de todas las etapas de los moluscos bivalvos marinos (almejas, ostras, machas, conchas de abanico), las etapas larvales de algunos gasterópodos marinos (abalones, caracoles, lapas) y equinoideos (erizos de mar), larvas de varias especies de peces marinos y camarones, y zooplancton (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Un sistema acuícola inicia la cadena alimenticia con la producción de microalgas. Para desarrollar proyectos de acuicultura es importante la producción de alimento vivo, con métodos eficientes que garanticen la cantidad y calidad de la producción para la continuidad del sistema (Band Schmidt, 1999).

Microalgas como *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*, confieren un importante valor nutricional rico en proteínas que favorece la supervivencia y el crecimiento de larvas de peces, camarones, moluscos o equinoideos, solucionando un problema que aqueja a esta industria (Astudillo, Rosas, Velásquez, Cabrera, & Maneiro, 2005).

Las microalgas son organismos unicelulares fotoautótrofos, es decir, utilizan la energía lumínica junto con la materia inorgánica para la producción de biomasa mediante un proceso anabólico conocido como fotosíntesis. Para llevar a cabo este proceso vinculado a su crecimiento, requieren la incidencia de factores físico-químicos como la disponibilidad de luz y nutrientes, además de dióxido de carbono (Chisti, 2007).

La luz utilizada por las microalgas para realizar la fotosíntesis está limitada a longitudes de onda entre los 400 - 700 nm, un rango conocido como radiación fotosintéticamente activa, la cual abarca los espectros de luz azul (450-475 nm), roja (620-700nm) y verde (529-497 nm), relacionados directamente con el crecimiento y la síntesis bioquímica de metabolitos primarios como carbohidratos, lípidos y proteínas que constituyen la base para el desarrollo de numerosas aplicaciones biotecnológicas e industriales en las cuales pueden intervenir las microalgas (Palacios Bohórquez, 2016).

De esta forma, el estudio comparativo del rendimiento de biomasa de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* utilizando diferentes tipos de luz en la región Tacna, representa una valiosa alternativa con un enorme potencial acuícola, siendo las especies trabajadas de alto contenido proteico, de fácil

manejo y rápido crecimiento, que se adaptan a las condiciones del laboratorio para su producción en grandes cantidades, además de ser esenciales en el desarrollo de los cultivos principales en la etapa de producción larval. Por este motivo y ante la falta de estudios similares con *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*, se plantea esta investigación para determinar el tipo de luz idóneo (luz blanca o luz azul) que estimule una mejor tasa de crecimiento en *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*, además de sentar un precedente del potencial de ambas microalgas (Romo Piñera, 2002).

Esta investigación fue realizada en la Sala de Microalgas del Laboratorio de Acuicultura de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Las microalgas marinas son muy importantes como alimento de larvas y juveniles de organismos marinos en sus primeros estadios. Bianchini Derner, Ohse, Villela, Matos de Carvalho, & Fett, (2006) reportaron que las microalgas son utilizadas para obtener biomasa en alimentos y acuicultura, en colorantes, antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados, enzimas, polímeros, además de ser usadas en el tratamiento de aguas residuales, remoción de metales pesados, bioindicadores, en la producción de biocombustibles y también en la absorción del CO₂.

Las microalgas han despertado un enorme interés debido a que son microorganismos fotosintéticos que se caracterizan por su rápido crecimiento, las células se duplican en un periodo de 1 a 10 días, tienen un alto contenido lipídico y utilizan menos superficie para su cultivo (Brennan & Owende, 2010).

Otro problema presente es la existencia de un cambio climático a nivel planetario. El cambio climático involucra, entre otros, sequías, inundaciones y/o acidificación de los océanos, a nivel local y global, siendo la actividad humana la principal responsable, en especial, por la combustión de combustibles fósiles (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). Surge la necesidad de desarrollar alternativas energéticas por la crisis energética mundial y problemas ambientales ocasionados por el uso de los recursos como el carbón y petróleo, que no solo significa el consumo de recursos no sustentables, sino que también aumentan las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) responsables del calentamiento global. La utilización de biocombustibles puede reducir considerablemente la emisión de CO₂, debido a que la fotosíntesis implicada en la producción de biomasa, absorbe el CO₂ de la atmósfera (Brennan & Owende, 2010).

El Perú está mejor preparado para la producción de etanol. Sin embargo, la tendencia es que habría mayor demanda de biodiesel. Sumado a ello, es sabido que el uso de plantaciones agrícolas para la producción de biocombustibles presentan una serie de desventajas y cuestionamientos, ya que estas materias primas deberían priorizarse para alimentación humana, como el uso de los recursos suelo y agua dulce para su cultivo; por lo tanto, es evidente que el impacto negativo

social y ambiental es altísimo (Sociedad Peruana de Derecho Ambiental (SPDA), 2009).

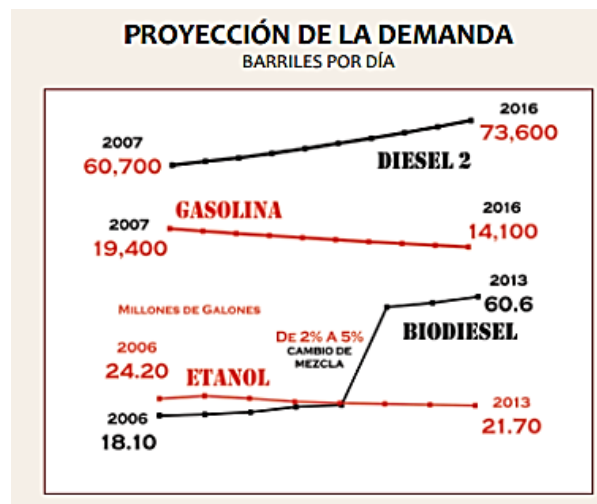


Figura 1. Proyección de la demanda de combustible en el Perú.

Fuente: Sociedad Peruana de Derecho Ambiental (SPDA), (2009)

Para lograr la obtención de biodiesel a partir de microalgas por las ventajas que presentan, es necesario superar algunos retos en una primera etapa: que sean factibles de ser cultivadas en grandes cantidades, que presenten velocidades de crecimiento rápido, adaptadas a las condiciones ambientales locales (García Cubero, 2014).

La elección de las especies a cultivar depende directamente de la finalidad que se le desea brindar a la biomasa resultante. Los tipos de microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* tienen una

composición química alta en proteínas, lípidos y su ciclo biológico es muy corto, esto coadyuvaría a suplir la deficiencia energética de combustible en la región de Tacna, sobre todo en el sector rural. Además, éstas son comercialmente interesantes para la alimentación humana y/o animal, la obtención de biocombustibles, aceites esenciales, pigmentos, entre otros usos (Borowitzka, 1999).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Interrogante general

¿Cuál es el rendimiento comparativo del cultivo de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con diferentes tipos de luz a escala experimental en la región Tacna?

1.2.2. Interrogantes secundarias

- ¿Cómo será el rendimiento comparativo de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*?
- ¿Cuál es la influencia del tipo de luz usada para el crecimiento comparativo de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*?

1.3. Justificación e importancia

Se necesita un estudio comparativo del cultivo de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* a escala experimental aprovechando dos diferentes tipos de luz, para la obtención de biomasa, siendo de gran valor como alimento vivo por su gran aporte proteico brindando un alto contenido nutricional para peces, crustáceos y moluscos.

También, constituye una alternativa interesante para la utilización posterior de estas microalgas en la generación de energías limpias y renovables tales como el biodiesel, por presentar mejores rendimientos de lípidos por unidad de área que las plantas oleaginosas tradicionales, además de las ventajas que implica el hecho de utilizar terrenos eriazos en vez de espacios destinados a la agricultura y el empleo de agua de mar en vez de agua dulce, ambos fundamentales para el consumo humano; permitiendo el establecimiento de las bases científicas y técnicas para el posterior escalamiento a un nivel piloto de una alternativa energética ambientalmente sostenible y tecnológicamente limpia en nuestra región de Tacna.

Los trabajos de investigación realizados en la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna, en el área de acuicultura están orientados básicamente a cultivos de trucha, tilapia, entre otros, pero no se han realizado trabajos sobre microalgas, este proyecto de investigación de tesis será un gran aporte y servirá como un antecedente para trabajos de investigación posteriores.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Realizar un estudio comparativo y evaluar el rendimiento de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* utilizando dos diferentes tipos de luz a escala experimental en la región de Tacna.

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el rendimiento comparativo de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*
- Realizar un estudio empleando dos diferentes tipos de luz durante la realización del experimento.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis general

- El estudio comparativo y rendimiento de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp* a escala experimental varía según el tipo de luz utilizado.

1.5.2. Hipótesis específicas

- El rendimiento comparativo de las dos especies de microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp* será óptimo en el cultivo experimental.
- El tipo de luz influye significativamente en el estudio de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

En el 2016 fue presentada la tesis de grado, a la Universidad de Guayaquil para la obtención del título de Biólogo por David Palacios Bohórquez, de título: "Efecto de los espectros de luz azul, roja y verde en la multiplicación celular y síntesis bioquímica de *Rhodomonas spp.* y *Tetraselmis spp.* en condiciones in vitro".

El objetivo general de esta investigación fue:

- Determinar el efecto que provocan los espectros de luz roja, azul, blanca y verde en el crecimiento y la síntesis bioquímica de *Rhodomonas spp.*, y *Tetraselmis spp.*

Y los objetivos específicos fueron:

- Determinar el crecimiento de *Rhodomonas spp.*, y *Tetraselmis spp.*, bajo el efecto de los espectros de luz roja, azul, blanca y verde.
- Cuantificar los lípidos, proteínas y carbohidratos en los cultivos de *Rhodomonas spp.*, y *Tetraselmis spp.*, con los diferentes espectros de luz.

- Determinar los cambios en la síntesis celular de clorofila a y carotenos totales en función de los espectros de luz.

Se concluyó lo siguiente:

- Las velocidades de crecimiento con luz roja, azul y verde superiores al control, demuestran que los espectros de luz fueron un factor determinante en el crecimiento de *Tetraselmis spp.*, y *Rhodomonas spp.*
- Las mayores velocidades de crecimiento en *Tetraselmis spp.*, se obtuvieron con los tratamientos de luz roja y azul.
- El mayor tiempo de duplicación en *Tetraselmis spp.*, se obtuvo en los cultivos expuestos a luz verde. Estos cultivos fueron productivos en términos de crecimiento.
- La mayor producción de lípidos y proteínas en *Tetraselmis spp.*, se obtuvo con luz azul y roja respectivamente.
- La mayor síntesis de lípidos se obtuvo con luz verde en los cultivos de *Tetraselmis spp.*
- La mayor producción de lípidos, proteínas y carbohidratos en *Rhodomonas spp.*, se obtuvo con el control.
- Las ficobilinas presentes en *Rhodomonas spp.*, ampliaron el rango de absorción espectral, permitiendo el crecimiento bajo condiciones de luz verde.

- La diferente composición pigmentaria de *Tetraselmis spp.*, y *Rhodomonas spp.*, fue determinante en el crecimiento y síntesis bioquímica ante el estímulo de los espectros de luz.
- Por lo antes señalado se acepta la hipótesis alterna ya que los espectros de luz influyeron en el crecimiento y producción de metabolitos en *Tetraselmis spp.*, y *Rhodomonas spp.*

En el 2012, fue presentada la tesis doctoral a la Universidad de Sevilla para optar al grado de Doctor en Biología por Rafael García Cubero, cuyo título fue: "Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO₂".

El objetivo general de esta investigación fue:

- Evaluar la viabilidad de sistemas de cianobacterias y/o microalgas para la producción de materia orgánica rica en carbohidratos, acoplada a la eliminación del CO₂ presente en mezclas gaseosas procedentes de emisiones industriales.

Y los objetivos específicos fueron:

- Preseleccionar estirpes de microalgas y cianobacterias con elevada tasa de crecimiento y fijación de CO₂. Evaluar estas estirpes en diferentes regímenes de cultivo para verificar dichas

bondades y seleccionar un organismo para su caracterización posterior.

- Con la estirpe seleccionada, estudiar de forma exhaustiva las condiciones de cultivo que permitan maximizar la fijación fotosintética de CO₂ y su acumulación en forma de carbohidratos. Los resultados deben permitir modelizar el crecimiento de la estirpe seleccionada con vistas a evaluar el comportamiento en cultivos al exterior.
- Proceder a una completa caracterización bioquímica de la biomasa generada en las experiencias anteriores, con especial atención a carbohidratos fermentables a etanol.
- Evaluar la capacidad de crecimiento de la estirpe seleccionada usando gases de combustión con alto porcentaje de CO₂ y COV (compuestos orgánicos volátiles).
- Verificar la viabilidad de la estirpe seleccionada en cultivos a la intemperie empleando diferentes biorreactores y en diferentes condiciones ambientales optimizando su operación para maximizar de la tasa de fijación de CO₂ y la productividad en carbohidratos.

Se concluyó lo siguiente:

- De entre once cianobacterias y microalgas, *Scenedesmus vacuolatus* y *Chlorella vulgaris* son las especies cuyas

características son las más adecuadas para destinarlas a la generación de biomasa rica en carbohidratos con CO₂ como fuente de carbono.

- El régimen de operación en continuo es el más idóneo para conseguir la mayor eficiencia en los cultivos de microalgas. Para *Scenedesmus vacuolatus*, en condiciones óptimas, se alcanzan valores de 0,6 g l⁻¹ d⁻¹ para la productividad de biomasa y de 1,2 g l⁻¹ d⁻¹ para la tasa de fijación de CO₂. Su facilidad para flocular es una ventaja añadida para la elección de *Scenedesmus vacuolatus* como el organismo potencialmente más adecuado al propósito de este trabajo.
- El principal factor condicionante tanto del crecimiento de *Chlorella vulgaris*, como de la producción de biomasa y fijación de CO₂ por sus cultivos es la irradiancia promedio, seguido en importancia por temperatura, disponibilidad de nitrógeno y pH. Operando en las condiciones fijadas como óptimas, la productividad resultante es de 0,7 g l⁻¹ d⁻¹, siendo la tasa de fijación de CO₂ de 1,3 g l⁻¹ d⁻¹.
- La generación de modelos de comportamiento respecto a distintas variables permite predecir la productividad de biomasa y tasa de fijación de CO₂ de los cultivos en función de dichas variables. El modelo propuesto, tanto para *Scenedesmus vacuolatus* como para

Chlorella vulgaris, asigna los mayores valores de productividad para el valor más elevado de irradiancia incidente máxima (3000 mE m⁻² s⁻¹) y para una velocidad de dilución de 0,5 d⁻¹. Los valores predichos son análogos a los registrados experimentalmente.

- Resulta factible cultivar *Scenedesmus vacuolatus* y *Chlorella vulgaris* utilizando como fuente de carbono el CO₂ contenido en mezclas de gases que simulan emisiones de origen industrial. Sin embargo, para garantizar la viabilidad de los cultivos, dicha mezcla gaseosa debe bien diluirse convenientemente con aire o suministrarse a pulsos en respuesta a la demanda del cultivo, monitorizada como aumento del pH del medio.

En el 2013, fue presentada la tesis en la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa; como requisito para optar el título de Biólogo Acuicultor, por Bach. José Arturo González Ferrer y Bach. Lincol Roller Polo Bordonabe, cuyo título fue: “Rendimiento de biomasa y contenido de lípidos de *Tetraselmis suecica* utilizando diferentes concentraciones de efluentes de bodegas de embarcaciones anchoveteras industriales en condiciones de laboratorio”

El objetivo general de esta investigación fue:

- Evaluar el rendimiento de biomasa y contenido de lípidos de *Tetraselmis suecica* utilizando diferentes concentraciones de efluentes de bodegas de embarcaciones anchoveteras industriales en condiciones de laboratorio.

Y los objetivos específicos fueron:

- Determinar el rendimiento de biomasa y velocidad de crecimiento de *T. suecica* utilizando diferentes concentraciones de efluentes de bodegas de embarcaciones anchoveteras industriales (EEA) en condiciones de laboratorio.
- Determinar el contenido de lípidos de *Tetraselmis suecica* utilizando diferentes concentraciones de EEA en condiciones de laboratorio.

Se concluyó lo siguiente:

- Los mayores valores de μ (Tasa de crecimiento) para *Tetraselmis suecica* al quinto día de cultivo se presentaron en los tratamientos dosificados con 2 y 5 % de EEA, con 0,54 y 0,55 día⁻¹, respectivamente; y el menor valor se presentó en el tratamiento dosificado con 1 % de EEA, con 0,49 día⁻¹.

- El mayor valor de TD (Tiempo de duplicación diaria) para *Tetraselmis suecica* en el quinto día de cultivo, se obtuvo en el tratamiento con 1 % de EEA, con 1,40 día; mientras que los menores valores se presentaron en los tratamientos con 2 y 5 % de EEA, con 1,29 y 1,27 día, respectivamente.
- El mayor contenido en porcentaje de lípidos para *T. suecica* al quinto día de cultivo, se obtuvo en el tratamiento dosificado con 1 % de EEA con 26,73 %; y con dosificaciones de 2 % y 5 % de EEA se obtuvieron menores porcentajes con el 23,39 % y 23,18 %, respectivamente.
- Los mayores rendimientos en biomasa de lípidos para *T. suecica* al quinto día de cultivo, se obtuvieron en los tratamientos dosificados con 2 % y 5 % de EEA, con 133,1 y 140,6 mg L⁻¹, respectivamente; y con el 1 % de EEA se obtuvo una menor biomasa de lípidos con 116,1 mg L⁻¹.

2.2. Bases teóricas

2.1.1. Las microalgas

Se define como microalgas a organismos microscópicos, con clorofila a, que realizan fotosíntesis oxigénica y sin diferenciación en raíces, tallo y hojas. Incluyen tanto a microorganismos eucariotas

como a procariotas. Son responsables de al menos la mitad de la productividad primaria del planeta (García Cubero, 2014). La reproducción es generalmente por división binaria con tiempos de duplicación de una hora o menos para los procariotas cianobacterias y de 8 a 24 horas o más para las eucariotas (Romo Piñera, 2002).

Las microalgas tienen un rol crucial para el mantenimiento del planeta. Son los principales fijadores de CO₂ y productores de oxígeno. Las microalgas como productores primarios son la base de la cadena trófica que permite el sostenimiento de la vida en los océanos, por ser alimento del plancton, moluscos, crustáceos, peces y para los seres humanos a través de la cadena alimenticia (Palacios Bohórquez, 2016).

Las microalgas son los más eficientes conversores de energía solar debido a su sencilla estructura celular. Además al estar suspendidas en agua, tienen un mejor acceso al CO₂ y otros nutrientes. Se encuentran ampliamente distribuidas en la biósfera adaptadas a una gran cantidad de condiciones (Torres Badillo & Flores Tomala, 2011).

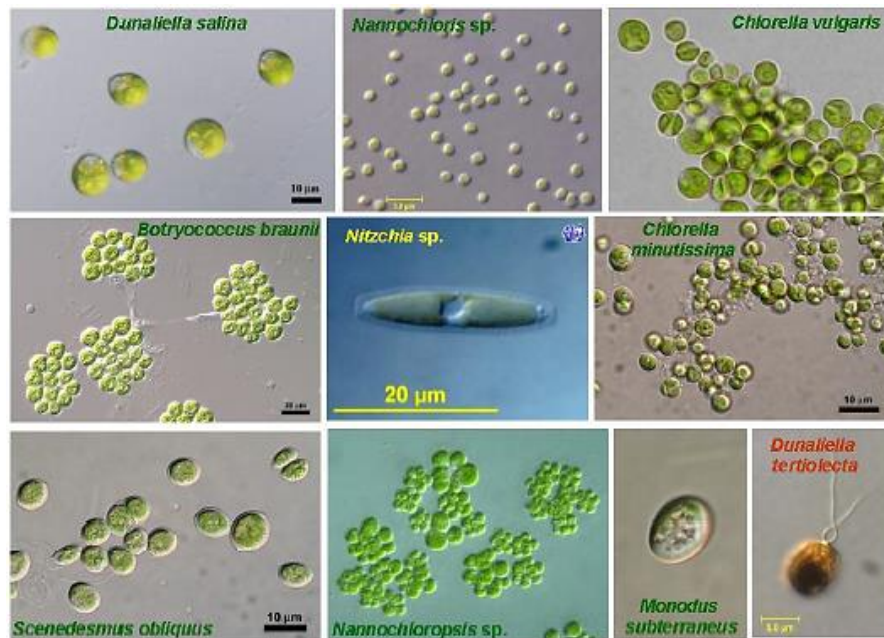


Figura 2. Especies de microalgas

Fuente: Olguin & Loera-Quezada, (2012).

2.1.2. Composición bioquímica de las microalgas

La composición bioquímica de las microalgas varía entre las diferentes clases de microalgas y especies, sin embargo el principal constituyente orgánico son las proteínas, seguido generalmente por los lípidos y luego por los carbohidratos. Expresado como porcentaje de peso seco, el rango para el nivel de proteínas, lípidos y carbohidratos son 12 - 35%, 7,2 - 23% y 4,6 - 23%, respectivamente. El contenido proteínico por célula es uno de los factores más importantes al momento de la valoración nutricional como alimento y también es el más susceptible a variaciones del medio de cultivo a

diferencia de los otros constituyentes celulares (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Se constituyen así en el producto del más eficiente estado de producción de biomasa en el ciclo de la naturaleza, siendo reconocidas como un excelente recurso medioambiental y biotecnológico entre los microorganismos por varias razones:

- Entre los distintos grupos de organismos fotosintéticos, las microalgas resultan ser uno de los más eficientes en utilizar la energía solar. Por lo general, las plantas superiores presentan una eficiencia fotosintética alrededor del 2% o también menos. Las microalgas, gracias a su simplicidad estructural tienen una eficacia fotosintética claramente superior y según las condiciones ambientales y de cultivo, pueden alcanzar hasta 4 - 8%.
- Las microalgas pueden ser cultivadas todo el año, y cosechadas continuamente. Las microalgas crecen al igual que las bacterias, es decir, de manera exponencial. Es un crecimiento muy rápido, ningún vegetal terrestre da un crecimiento de ese tipo.
- Por ser organismos unicelulares, su biomasa entera posee los productos de interés. Debido a esto, la inducción fisiológica para la producción de compuestos de interés comercial como

proteínas, lípidos, glicerol, pigmentos, enzimas y biopolímeros es fácilmente realizable (Jaramillo Obando, 2011).

Tabla 1: Composición química de la fase de crecimiento exponencial (a) y estacionario (b) de las microalgas evaluadas.

Composición Química	<i>Isochrysis galbana</i>		<i>Chaetoceros muelleri</i>		<i>Tetraselmis suecica</i>		<i>Dunaliella salina</i>	
	a	b	a	b	a	b	a	b
(%)	a	b	a	b	a	b	a	b
Proteínas	83	57	71	33	86	82	76	69
CHO	12	21	9	47	4	11	14	26
Lípidos	5	22	20	20	10	7	10	5

Fuente: Shain Mercado, Torres Ariño, & Serrano Guzmán, (2007)

Las microalgas marinas son muy extendidas. Acumulan altas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados: omega 3. Aportan ácidos grasos poliinsaturados, principalmente el ácido eicosapentaenoico y el ácido docosahexaenoico como alternativa a los aceites de pescado (Batista, Gouveia, Bandarra, Franco, & Raymundo, 2013).

Una microalga en particular puede carecer de un nutriente, mientras que otro puede contener ese nutriente y carecer de uno diferente. De esta manera, una mezcla de ambas especies de algas suministra a los animales una cantidad adecuada de ambos nutrientes (Brown, Jeffrey, Volkman, & Dunstan, 1997)

	Clase	% EPA	% DHA	% ARA	% Lípidos
	Bacillariophyceae				
	<i>Chaetoceros</i>	4,1	0,0	0,0	10%-20%
	<i>Skeletonema</i>	6,3	1,1	0,0	
	<i>Phaeodactylum</i>	14	0,3	0,0	
<i>Thalassiosira</i>	7	1,5	0,1		
	Dinophyceae				12%-25%
	<i>Cryptocodinium</i>	0,0	30	0,0	
	Criptophyceae				
	<i>Rhodomonas</i>	13	5,0	0,0	10%-14%
	<i>Cryptomonas</i>	12	0,3	0,9	
	Primmnesiophyceae				18%-25%
	<i>Isochrysis</i>	0,8	7,0	0,2	
	Prasinophyceae				
	<i>Tetraselmis</i>	3,9	0,0	0,2	12%-16%
	<i>Pyramimonas</i>	3,2	0,0	0,1	
	Chlorophyceae				
	<i>Dunaliella</i>	0,2	0,1	0,0	8%-25%
	<i>Nannochloris</i>	0,2	0,1	0,2	
<i>Chlorella</i>	2,9	0,1	0,3		
	Eustigmatophyceae				18%-30%
	<i>Nannochloropsis</i>	18	0,0	2,5	
	Rhodophyceae				8%-12%
	<i>Porphyridium</i>	17	0,0	10	

Figura 3. Contenido en ácidos grasos y lípidos totales de microalgas.


Fuente: Villegas Montero, (2014).

La combinación de diferentes especies de microalgas provee un mejor balance nutricional y mejora el crecimiento a diferencia de una dieta compuesta solo por una especie de microalga. Comercialmente, las especies de mayor uso en hatchery para la alimentación de larvas de bivalvos incluye los flagelados: *Isochrysis galbana* y *Pavlova lutheri*; y la diatomea *Chaetoceros sp.*, las cuales cumplen con las propiedades nutricionales para ser utilizadas como alimento en acuicultura (Vivanco, Oliva, & Abarca, 2014).

2.1.3. Microalgas utilizadas en esta investigación

2.1.3.1. *Isochrysis galbana*

- Clasificación Taxonómica

<i>Isochrysis galbana</i>	
	
Clasificación Científica	
Reino:	Chromalveolata
Filo:	Haptophyta
Clase:	Prymnesiophyceae
Orden:	Isochrysidales
Familia:	Isochrysidaceae
Género:	<i>Isochrysis</i>
Especie:	<i>I. galbana</i>
Nombre Binomial	
<i>Isochrysis galbana</i>	

• Descripción

Es una célula flagelada de color amarillo con dos flagelos móviles, sin pared celular, que tiene un tamaño de entre 6 y 8 micras. Es un alga que crece a temperaturas entre 16 y 35°C, salinidades entre 25 a 28 e iluminación intermedia (4000 lux).

Esta especie es muy importante como alimento para las larvas de moluscos bivalvos y larvas de camarón. *Isochrysis galbana* constituye una especie de enorme interés dentro de la acuicultura, que por sus altos contenidos de ácidos grasos poli-insaturados, ácido ecosapentanoico (EPA) y ácido docosahexanoico (DHA) respectivamente, desempeñan un papel fundamental en el área de la alimentación larvaria (Moreno Bayón, 2010).

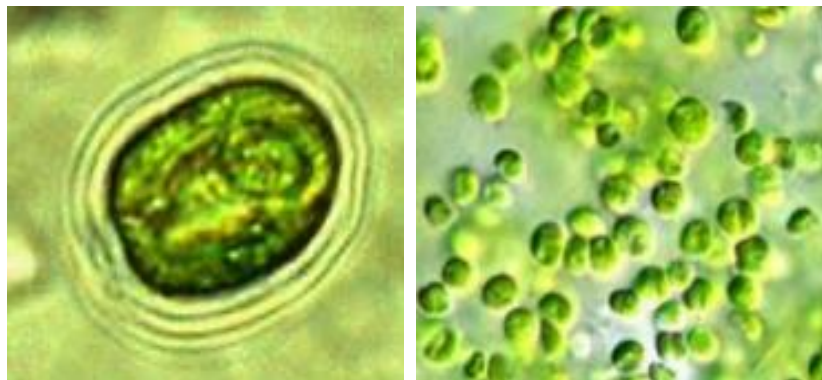



Figura 4. Microfotografías de la especie *Isochrysis galbana*.

Fuente: Villegas Montero, (2014).

2.1.3.2. *Chaetoceros sp.*

• Clasificación Taxonómica

<i>Chaetoceros sp.</i>	
	
Clasificación Científica	
Dominio:	Eukaryota
Reino:	Chromalveolata
Filo:	Heterokontophyta
Clase:	Bacillariophyceae
Orden:	Centrales
Suborden:	Biddulphiineae
Familia:	Chaetocerotaceae
Género:	<i>Chaetoceros</i> (Ehrenberg, 1844)

- **Descripción**

Chaetoceros sp. es una microalga unicelular, pero puede formar cadenas al interconectar las espinas con células adyacentes. Al observar las células lateralmente presentan una forma cuadrada, 12-14 μm de largo y 15-17 μm de ancho, con espinas que sobresalen de las esquinas. Las células pueden formar cadenas de 10-20 células alcanzando una longitud de 200 μm . Cuando se cultiva con aireación fuerte no forma cadenas. Se utiliza como alimento en cultivos de rotíferos, almejas, ostiones y larvas de camarón (Band Schmidt, 1999).

Las condiciones de cultivo son: temperatura entre 16 y 40°C, salinidades entre 28 y 40, con iluminación constante y fotoperiodo natural.

Esta especie es ampliamente utilizada como alimento en los primeros estadios larvarios de camarones peneidos y durante todo el ciclo de vida de moluscos bivalvos. *Chaetoceros sp* presenta los niveles más altos de producción de carotenoides en cultivos batch, con alta iluminación durante la etapa exponencial de su curva de

crecimiento, siendo la luz blanca la más eficiente para promover su crecimiento. La concentración de clorofila es más alta durante el crecimiento exponencial que en el estacionario y en todos los casos los carotenoides mantienen una tendencia inversa a las clorofilas (Moreno Bayón, 2010).



Figura 5. Microfotografías de *Chaetoceros sp.*

Fuente: Bryant, (2012).

2.1.4. Cultivo de biomasa de microalgas

Las microalgas son capaces de crecer en un amplio rango de condiciones por la que se las encuentra en cualquier zona del planeta: dentro de plantas acuáticas, sobre sustrato artificial como madera o botellas, en lagunas, ciénagas, pantanos, nieve, lagos de agua dulce o salina, sobre rocas, etc. Por lo que no es difícil encontrar zonas para cultivarlas (Jaramillo Obando, 2011).

Las cepas que se usan para fines comerciales se obtienen generalmente de colecciones ya establecidas y conocidas, pero existen varios motivos para seguir aislando especies de microalgas de poblaciones naturales locales, en parte porque se encuentran más adaptadas a las condiciones ambientales dominantes en cada región (Agencia de Desarrollo TECNOPLADES, 2010).

Atendiendo a la fuente de energía y de carbono las microalgas se pueden cultivar en distintos modos:

- **Autotrófico:** Utiliza luz, natural o artificial, como fuente de energía y CO₂ como fuente de carbono.
- **Heterotrófico:** La energía y el carbono se obtienen de la oxidación de sustratos orgánicos. No todas las especies de microalgas pueden crecer en heterotrofia.

Los costes de operación y riesgos de contaminación son elevados pero el control del proceso es máximo rindiendo elevadas productividades.

- **Mixotrófico:** Las microalgas realizan la fotosíntesis pero en presencia de una fuente de carbono orgánico (García Cubero, 2014).

2.1.5. Factores abióticos

El cultivo a gran escala de microalgas persigue la obtención de cantidades importantes de un producto de valor, por tanto, la productividad del sistema debe ser máxima. Los factores que determinan el crecimiento óptimo son:

- **La Luz**

Las algas absorben la luz y utilizan su energía para fabricar moléculas de azúcar y producir oxígeno a partir de dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), en un proceso denominado fotosíntesis.

Esta habilidad de las algas para absorber y utilizar la luz en las reacciones fotoquímicas se debe a que ellas poseen pigmentos fotosintéticos como las clorofilas, capaces de captar y conducir la energía de la luz hacia la maquinaria fotosintética.

La intensidad de luz recibida por las algas incide directamente sobre la actividad fotosintética. Si la luz es insuficiente, el alga no obtiene suficiente energía para el crecimiento. Al aumentar la intensidad, aumenta la fotosíntesis hasta un límite en que las

algas se saturan y un mayor incremento en la iluminación no va a producir un aumento en la fotosíntesis. Una exagerada iluminación es perjudicial para el alga, es inhibitoria para el crecimiento y daña los tejidos. Es la llamada foto inhibición o foto inactivación definida como un descenso de la capacidad fotosintética provocado por elevadas intensidades de luz, implicando la foto destrucción de pigmentos fotosintéticos. Los efectos dañinos de la iluminación pueden ser intensificados por otros factores, como deficiencia de nutrientes o temperatura elevadas.

En el caso de cultivos en ambientes controlados la luz es suministrada por diferentes tipos de luces, las que reproducen las condiciones más adecuadas para el desarrollo y crecimiento del cultivo (Bulboa & Olivares, 2008).

- **El Fotoperiodo**

Es la cantidad de horas de luz que recibe un organismo al día, siendo una medida de la alternancia natural (u artificial) día/noche a la que están sometidas las algas, lo cual incide sobre los ritmos

diarios de las algas y que generalmente son reproducidos para su cultivo (Bulboa & Olivares, 2008).

- **La Temperatura**

La temperatura es una medida del calor dentro de un sistema y es expresado en °C en la escala de Celsius o en K en la escala de Kelvin. Altas temperaturas resultan en la desnaturalización de las proteínas, el deterioro enzimas y membranas celulares. Bajas temperaturas pueden causar la alteración de las proteínas y lípidos de las membranas celulares y daños mecánicos a las células por la producción de cristales de hielo.

El calor es la energía del movimiento molecular. Es así como la temperatura regula la velocidad de los procesos biológicos a través de la actividad metabólica. Dentro del rango de tolerancia de cada especie, a menor temperatura el metabolismo es frenado o inhibido, mientras que este aumenta con el aumento de la temperatura, hasta llegar al máximo de aceptación, más allá del cual todo aumento de temperatura es perjudicial (Bulboa & Olivares, 2008).

La temperatura óptima para los cultivos de fitoplancton está entre 20 y 24 °C, aunque esto puede variar con la composición del medio de cultivo, la especie y la cepa cultivada. Las especies de microalgas comúnmente cultivadas toleran temperaturas entre 16 y 27 °C. Las temperaturas inferiores a 16 °C ralentizarán el crecimiento, mientras que las superiores a 35 °C son letales para varias especies. Si es necesario, los cultivos de algas se pueden enfriar con un flujo de agua fría sobre la superficie del recipiente de cultivo o controlando la temperatura del aire con unidades de aire acondicionado refrigeradas (Lavens & Sorgeloos, 1996).

- **Salinidad**

El fitoplancton marino es extremadamente tolerante a los cambios en la salinidad. La mayoría de las especies crecen mejor con una salinidad ligeramente más baja que la de su hábitat nativo, que se obtiene al diluir el agua de mar con agua del grifo. Se ha encontrado que las salinidades de 20-24 g/L. son óptimas (Lavens & Sorgeloos, 1996).

- **Los Nutrientes**

Son los compuestos inorgánicos que absorben las algas directamente del agua a través de la superficie de toda la planta,

a partir de los cuales las algas sintetizan todos los elementos necesarios para su crecimiento y desarrollo. Los nutrientes esenciales son aquellos cuya ausencia en el medio provocan una imposibilidad de las algas en crecer, o completar su desarrollo vegetativo o su ciclo reproductivo. Además del carbono inorgánico disuelto en el agua, los nutrientes requeridos en mayores concentraciones son los nitratos y fosfatos. A estos se suma la necesidad de nutrientes tales como el hierro, metales y vitaminas. Para las algas en cultivo, el uso de determinados métodos de esterilización del agua de mar y las altas densidades de algas en los sistemas reduce la disponibilidad de nutrientes en el agua, por lo cual se hace necesario enriquecerla artificialmente con medios de cultivo ya que la carencia de ciertos nutrientes esenciales es limitante para el crecimiento algal (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Un medio de cultivo contiene cantidades conocidas de fuente de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y otras sales inorgánicas, además algún elemento adicional, particularmente metales en óptimas cantidades que son requeridos en cantidades trazas, pueden ser comerciales o prepararse en cada laboratorio a partir de la mezcla de sus componentes (Bulboa & Olivares, 2008).

- **pH Y CO₂**

El rango de pH para la mayoría de las especies de algas cultivadas está entre 7 y 9, con un rango óptimo de 8,2 - 8,7. El colapso completo del cultivo puede ocasionarse por no mantener un pH aceptable produciendo la interrupción de muchos procesos celulares. En el caso del cultivo de algas de alta densidad, la adición de dióxido de carbono permite corregir el aumento del pH, alcanzando valores de pH 9 durante el crecimiento de algas (Lavens & Sorgeloos, 1996).

El pH del cultivo está influenciado por varios factores como la productividad algal, la respiración, la alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica y la eficiencia del sistema de adición de CO₂. El pH puede controlarse con un sistema automatizado de inyección de CO₂, o la adición de ácido o base permitiendo además, suministrar CO₂ necesario para cultivos de alta productividad. La adición de CO₂ ha demostrado mejorar la productividad a escala experimental en tratamiento de aguas residuales, aumentando la productividad incluso a más del doble. Se trata de hecho, de una práctica estándar en todos los sistemas para producción de algas comerciales (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

- **Oxígeno disuelto**

La intensa fotosíntesis realizada durante el día en sistemas de cultivo puede aumentar los niveles de oxígeno disuelto a saturación > 200%. Se cree que una elevada saturación podría afectar la productividad de algas. A una saturación del 200% existe una reducción del 17% en la productividad, mientras que a 300% se reduce en un 25%. Todavía se requiere más investigación para demostrar el efecto de altos niveles de oxígeno (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

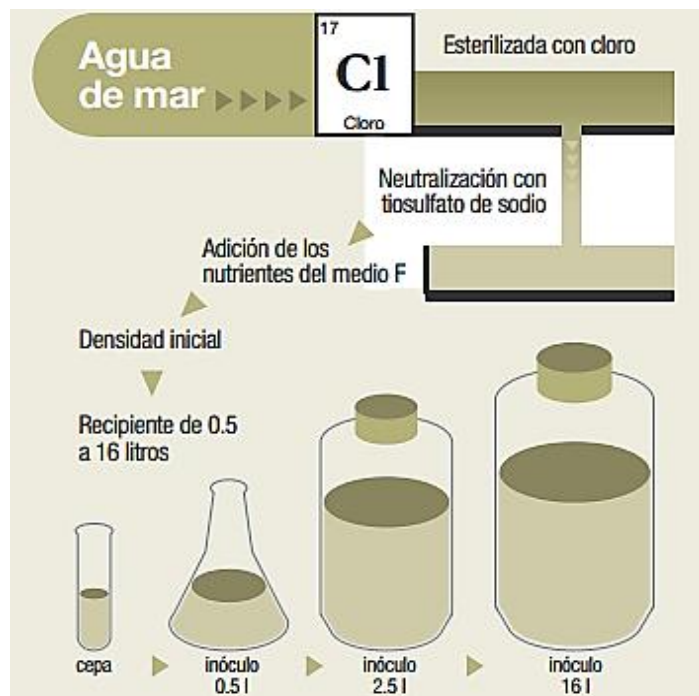


Figura 6. Diagrama general de producción de microalgas.

Fuente: Medina Jasso, Piña Valdez, Nieves Soto, Arzola González, & Guerrero Ibarra, (2012).

2.1.6. Uso y aplicaciones de las microalgas

Las microalgas se cultivan para diferentes fines:

- **Acuicultura:** Las microalgas constituyen la principal fuente de alimento utilizada en la nutrición de moluscos, rotíferos y fases larvianas de crustáceos, siendo además utilizadas como complemento en las dietas de peces o como medio para mantener la calidad del agua.
- **Tratamiento de agua:** Las microalgas se emplean en el tratamiento de aguas residuales, detoxificación biológica y control de metales pesados en aguas naturales o en aguas industrialmente contaminadas.
- **Agricultura:** Utilización de la biomasa microalgal como biofertilizante.
- **Biomedicina y farmacología:** Utilización en dietas de adelgazamiento y tratamientos de heridas; algunas microalgas presentan efectos hipocolesterolémicos, actividad antibacteriana, inmunoreguladora, antifúngica y antitumoral.

- **Alimentación humana y pienso animal:** Las microalgas representan una fuente de proteína con posibles aplicaciones en nutrición humana, pero principalmente se utiliza como complemento de piensos animales. Los hidrolizados proteicos son de gran utilidad en la industria médico farmacéutica.
- **Industria química y alimenticia:** Producción de sustancias de interés comercial, tales como vitaminas, pigmentos, fitol, aminoácidos, polisacáridos, glicerol, enzimas, promotores de crecimiento en industrias de fermentación, ceras, biosurfactantes, fosfolípidos y lecitinas, ácidos grasos esenciales y prostaglandinas, o la utilización de los lípidos algales para la producción de combustibles líquidos (Gómez Luna, 2007).

2.1.7. Microalgas en biocombustibles

La tendencia mundial es reducir al máximo el uso de combustibles fósiles y reemplazarlos por biocombustibles que sean renovables, que no contaminen y que resulten de carbono neutro. En la actualidad, los biocombustibles en los que se ha invertido el mayor esfuerzo son el etanol, extraído de caña de azúcar y del maíz, y el

biodiesel, que se obtiene a partir de aceite de soya, girasol y canola (Medina Jasso et al., 2012).

Las microalgas oleaginosas son consideradas como fuente de biocombustibles y contribuyen en el ambiente ecológico de manera importante para la fijación de bióxido de carbono (CO₂). Pueden ser utilizadas para producir una amplia gama de combustibles como bioetanol, biodiesel y biometano, debido a que almacenan la energía química en forma de aceites como lípidos; posteriormente su biomasa sería transformada en biodiesel (Chisti, 2007).

Se han reportado alrededor de 30 especies de microalgas de origen marino o dulceacuícola que podrían ser utilizadas para la extracción de biocombustibles por su capacidad de almacenar lípidos en sus células. Existen diversos estudios que describen la importancia y las ventajas de la utilización de las microalgas en cultivo para la obtención de biodiesel en comparación con los grupos mencionados. Desde un punto de vista práctico, la producción de microalgas es sencilla, no requiere de mucho cuidado y en determinadas condiciones se puede emplear el agua inadecuada para el consumo humano (Medina Jasso et al., 2012).

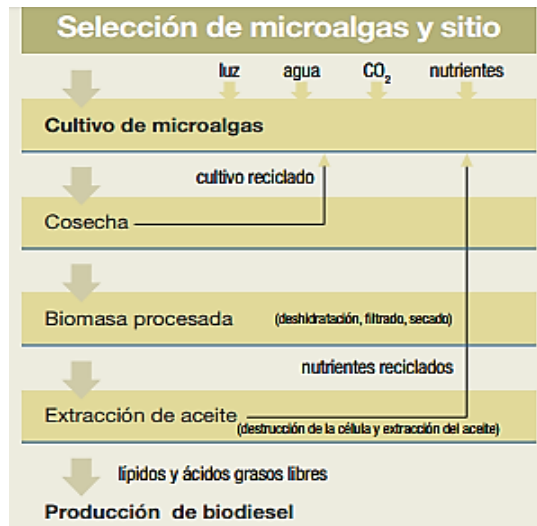


Figura 7. Diagrama: Evaluación de biodiesel en microalgas.

Fuente: Medina Jasso et al., (2012).

2.1.8. Otras aplicaciones de las microalgas

La biomasa de algas, además de contener proteínas, lípidos esenciales, pigmentos, carbohidratos, minerales y vitaminas, posee excelentes cualidades para la obtención de productos naturales. La mayor parte de esta biomasa se comercializa como alimentos medicinales en forma de tabletas o polvo como aditivos. También se pueden extraer compuestos con aplicaciones como pigmentos, aditivos alimentarios, antioxidantes, cosméticos y biofertilizantes. Algunas tecnologías de conversión de la biomasa de las algas, especialmente la pirólisis, originan un residuo carbonoso que tiene aplicaciones potenciales en agricultura como biofertilizante, aprovechando la capacidad de las cianobacterias para fijar el

nitrógeno atmosférico y para controlar la erosión (Santos, González-Arechavala, & Martín-Sastre, 2014)

2.1.9. Fotometría

Para el estudio del efecto de la luz en el rendimiento de biomasa de las microalgas y por lo tanto, en su crecimiento, es necesario conocer algunos conceptos que explican cómo es esta interacción, descritos a continuación (Ruíz et al., 2008).

La energía proveniente del sol se propaga en el espacio en forma de onda electromagnética o radiación electromagnética (unidad Joule), la distancia entre dos crestas sucesivas es llamada longitud de onda (λ) y el número de veces que crestas contiguas pasan por un punto dado es la frecuencia (ν) (Cardoso, 2009).

La distribución de la radiación electromagnética en función de las respectivas longitudes de onda (nanómetros) o frecuencias, se denomina espectro electromagnético, el cual se divide en regiones que van desde radiaciones gama ($\lambda \sim 10^{-3}\text{nm}$) hasta ondas de radio ($\lambda > 10^9\text{nm}$) pasando por el espectro visible. Este último comprende la parte de radiación que el ser humano consigue ver, situado aproximadamente entre las longitudes de onda 380 nm correspondiente al violeta y 770 nm al rojo lejano (Cardoso, 2009).

La mayor parte de la radiación ultravioleta (UV) e infrarroja (IR) es absorbida por los gases de la atmósfera: en el caso de la radiación UV por el ozono (O₃) en la estratósfera y en el caso de la infrarroja, por el vapor de agua y el CO₂. De esta forma, la radiación solar que alcanza la biosfera presenta una mayor proporción de radiación visible que en la región superior de la atmósfera (Meisel, Urbina, & Pinto, 2011).

De todo el espectro visible, las plantas utilizan para la fotosíntesis solo una región comprendida entre 400 hasta 700 nm, la cual es denominada radiación fotosintéticamente activa o de crecimiento (RFA). Esto ocurre debido a que los seres vivos evolucionaron en relación a sistemas fotoquímicos capaces de utilizar estas longitudes de onda. El efecto que estas ejercen sobre la planta varía dependiendo de la hora del día y fase de crecimiento, afectando propiedades como el aspecto o valores farmacéuticos y nutricionales (Martin Ramos et al., 2010).

2.1.10. La energía de la luz

La luz es una forma de radiación electromagnética, un tipo de energía que viaja en ondas electromagnéticas. Todos los tipos de radiación electromagnética conforman el espectro electromagnético.

Cada onda electromagnética tiene una longitud de onda particular. Los tipos de radiación con longitudes de onda larga, como las ondas de radio, llevan menos energía que las longitudes de onda corta, como los rayos X (Pérez, 2016).

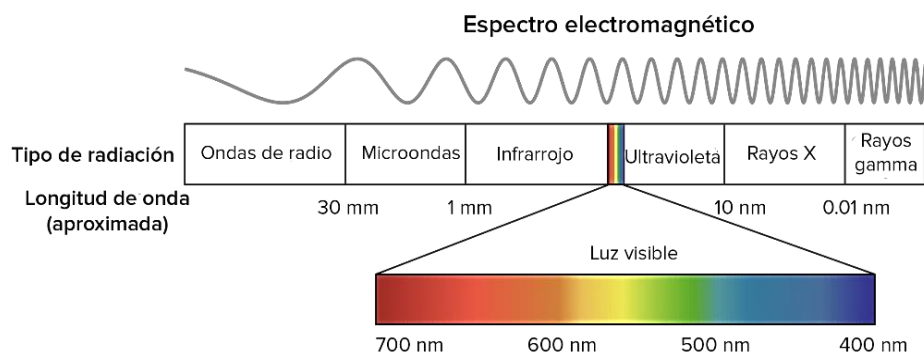


Figura 8. Espectro electromagnético. **Fuente:** Khan Academy, (2018)

El espectro visible es la única parte del espectro electromagnético que puede ver el ojo humano. Incluye la radiación electromagnética cuya longitud de onda está entre 400 nm y 700 nm. La luz visible del sol parece blanca, pero en realidad se compone de varias longitudes de onda (colores) de luz. La luz roja tiene la longitud de onda más larga y la menor cantidad de energía, mientras que la luz violeta tiene la longitud de onda más corta y la mayor cantidad de energía (Slaney, 2007).

Cada partícula de radiación electromagnética, llamada fotón, tiene una cantidad fija de energía. Los tipos de radiación con longitud de onda corta tienen fotones de alta energía, mientras que aquellos con

longitud de onda larga tienen fotones de baja energía (Khan Academy, 2018).

2.1.11. Los pigmentos y la fotosíntesis

Un pigmento es cualquier sustancia que absorbe luz. El color de un pigmento es el resultado de la longitud de onda reflejada (no absorbida). La clorofila, el pigmento verde de todas las células fotosintéticas, absorbe todas las longitudes de onda de la luz visible excepto el verde, el cual es reflejado y percibido por nuestros ojos. Un cuerpo negro absorbe todas las longitudes de onda que recibe. El pigmento blanco o colores claros reflejan todo o casi todas las longitudes de onda (Hernández Gil, 2014).

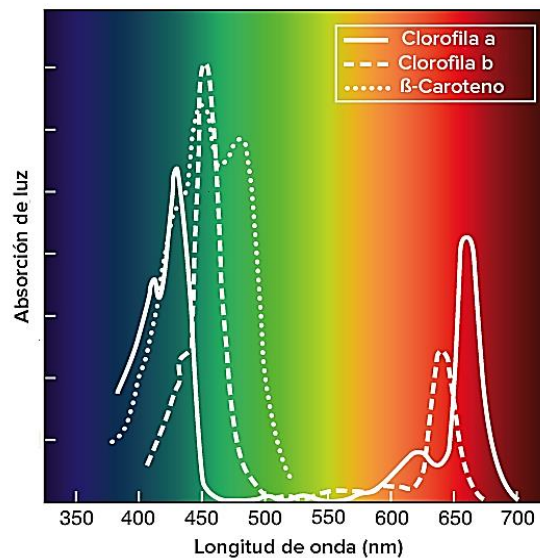


Figura 9. Espectro de absorción de los pigmentos.

Fuente: Khan Academy, (2018)

El conjunto de longitudes de onda que absorbe un pigmento se conoce como espectro de absorción. El conjunto de longitudes de onda que un pigmento no absorbe, se refleja, y la luz reflejada es lo que vemos como color (Meisel et al., 2011).

La mayoría de organismos fotosintéticos tienen una diversidad de pigmentos, lo cual les permite absorber energía de una amplia gama de longitudes de onda (Khan Academy, 2018).

2.1.12. Luz y su importancia para la fotosíntesis

En todos los organismos fotoautótrofos, el crecimiento, consumo de nutrientes y la actividad metabólica dependen directamente de la disponibilidad de luz tanto en intensidad como en calidad lumínica. La actividad fotosintética aumenta con el incremento de la intensidad lumínica hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento para cada especie en el punto de saturación por luz. Pasado este punto, se alcanza el punto de fotoinhibición, con resultados perjudiciales para la misma célula e incluso la muerte, implicando pérdida de eficiencia fotosintética y productividad (Hernández-Pérez & Labbé, 2014).

Los pigmentos fotosintéticos son los encargados de la recepción de los fotones de luz y cada variedad posee un pico de absorbancia

específico a una longitud de onda del espectro luz visible. Los pigmentos como clorofila a, clorofila b, carotenos, xantofilas, ficoeritrinas, ficocianinas, aloficocianinas son característicos de los diferentes grupos algales (Palacios Bohórquez, 2016).

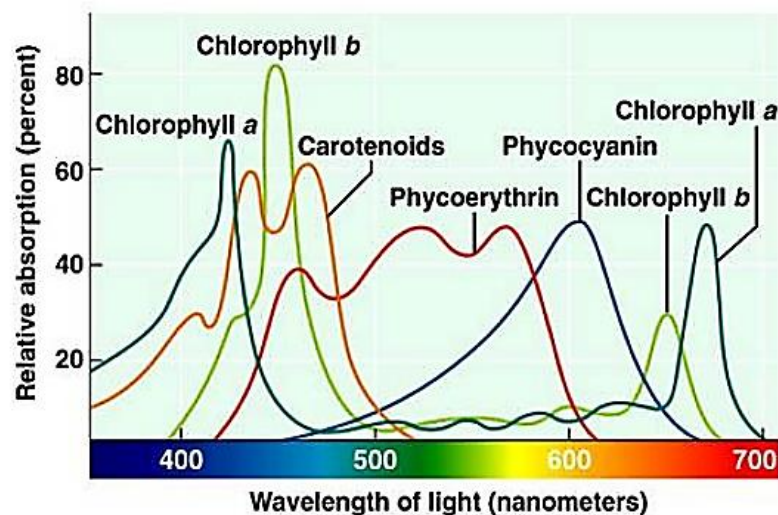


Figura 10. Pigmentos microalgales y espectro de absorción.

Fuente: Palacios Bohórquez, (2016)

Esta diversidad de pigmentos en microalgas permite una adaptación diferente ante el estímulo de los espectros de luz. Las microalgas del grupo de las clorófitas crecerán de manera óptima con luz roja o azul ya que los picos de absorción de la clorofila a su principal pigmento, se encuentra en esa región del espectro. Este mismo principio se aplica a grupos como las rodofitas y criptofitas aunque

estas poseen pigmentos más diversos que las clorofitas, permitiéndoles una mayor adaptabilidad a diferentes espectros de luz (Palacios Bohórquez, 2016).

Aún no se conoce totalmente el efecto de los espectros de luz sobre la fisiología de las células microalgales que involucre y relacione el crecimiento con la ruta metabólica de proteínas, lípidos o carbohidratos. Sin embargo, muchas investigaciones han demostrado un alto crecimiento e incremento de proteínas y carbohidratos con luz roja y azul (Abiusi et al., 2014).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en la Sala de Microalgas del Laboratorio de Acuicultura de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna. Este ambiente fue diseñado y acondicionado, específicamente para estos fines.

Los procesos de centrifugado, ultracongelación y liofilización se realizaron en el Laboratorio de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional de Moquegua (UNAM) - Sede Ilo.

Los análisis físico-químicos de determinación de proteínas y humedad de las muestras de microalgas de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* por cada tratamiento (luz blanca y luz azul) se realizaron en el Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María.

3.2. Tipo, diseño y nivel de investigación

El tipo de investigación fue experimental aplicativo.

Diseño experimental

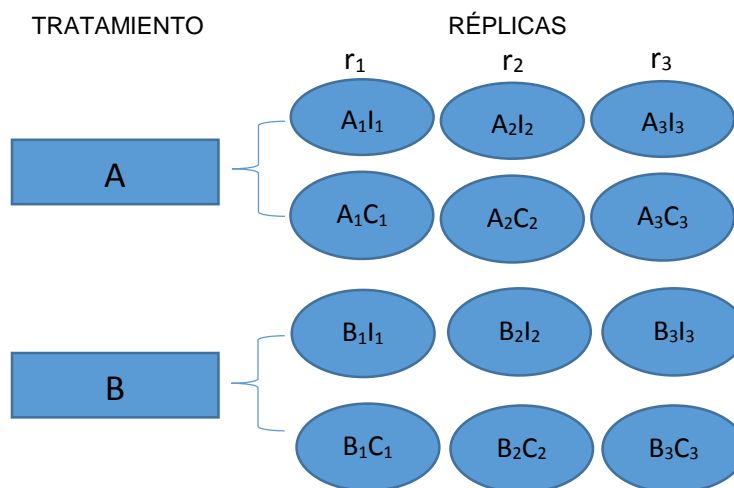


Figura 11. Diseño experimental. A: Luz blanca, B: Luz azul, I: *Isochrysis galbana* y C: *Chaetoceros sp.*

Fuente: Elaboración propia.

Donde: r₁, r₂, r₃: réplicas

A₁, A₂, A₃: Luz blanca con repeticiones

B₁, B₂, B₃: Luz azul con repeticiones

I₁, I₂, I₃: *Isochrysis galbana* con repeticiones

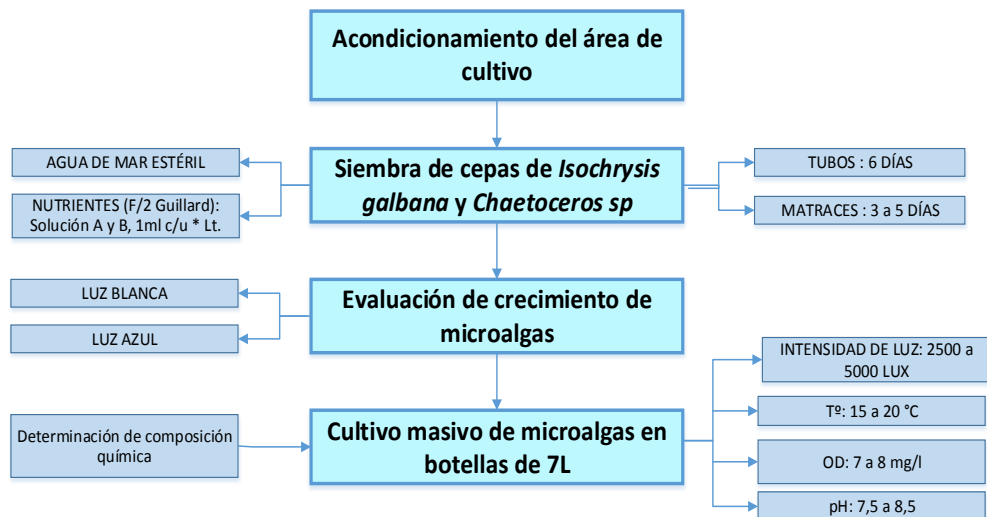
C₁, C₂, C₃: *Chaetoceros sp.* con repeticiones

Tabla 2. Diseño Experimental para: “Estudio comparativo del rendimiento de biomasa de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* utilizando diferentes tipos de luz, en la Región Tacna 2017”.

	I	C
A	A ₁ I ₁	A ₁ C ₁
	A ₂ I ₂	A ₂ C ₂
	A ₃ I ₃	A ₃ C ₃
B	B ₁ I ₁	B ₁ C ₁
	B ₂ I ₂	B ₂ C ₂
	B ₃ I ₃	B ₃ C ₃

Fuente: Elaboración propia

El diseño experimental está representado por el siguiente diagrama:



Fuente: Elaboración propia 2016, a partir del Protocolo del Cultivo de microalgas (FONDEPES, 2010)

El diseño del experimento se detalla a continuación:

3.2.1.1. Medio controlado

A. El cultivo se realizó sembrando las diferentes especies de microalgas a partir de inóculos de cepario para cada botella conteniendo agua de mar estéril y enriquecida con F/2 Guillard, utilizando 02 tipos de luz para comparar su crecimiento, además estuvo sujeto a las condiciones ambientales de cada unidad experimental como temperatura, intensidad lumínica, oxígeno disuelto en agua, pH; los mismos que serán registrados periódicamente.

- B.** El diseño experimental fue un DCA (Diseño Completamente al Azar) con dos factores y $r=3$ (tres repeticiones cada una de ellas); siendo los factores: 1) Luz blanca y 2) Luz azul.
- C.** Para tal efecto, se implementó una sala con estantería provista de luz artificial, donde se distribuyeron 6 botellas de plástico de capacidad de 7 L. por cada tratamiento conteniendo agua de mar estéril, con aire suministrado por un generador de aire (01 blower 1/2 HP).
- D.** Se rotularon las botellas plásticas de acuerdo a los dos tratamientos y repeticiones previstas.
- E.** Se acondicionaron las unidades experimentales, luego se realizó el cultivo a escala desde la fase de cepa hasta el cultivo intermedio con botellas de 7 L. de acuerdo al diseño experimental.
- F.** La adición de nutriente, de volumen constante, se realizó 1 vez por semana de 1 ml nutriente F/2 Guillard/ litro de agua de mar esterilizada. Hasta que alcance el pico máximo.

- G.** El conteo (cel/ml) se realizó para los cultivo en las botellas de 7 L. de forma diaria y el procedimiento fue extraer una muestra de cada unidad experimental, luego se procedió a realizar el conteo en la cámara Neubauer para determinar la curva de crecimiento durante la ejecución del proyecto experimental.
- H.** La limpieza del lugar de cultivo se realizó de forma diaria.
- I.** Los parámetros abióticos del agua, se registraron en forma diaria durante el tiempo que duró el trabajo experimental.
- J.** Se determinó el análisis químico (% proteínas y %humedad) de las microalgas estudiadas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*

Nivel de investigación

El proyecto de tesis fue de nivel experimental comparativo, explicativo.

3.3. Operacionalización de variables

3.3.1. Variable dependiente: indicadores

- Crecimiento experimental de microalgas: Conteo del número de microalgas por volumen (células/ml).

3.3.2. Variable independiente: indicadores

- Tipo de luz (2) utilizado durante el experimento: Color de la luz (luz blanca y luz azul); según el diseño experimental propuesto.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
VARIABLE DEPENDIENTE Crecimiento experimental de microalgas	Las microalgas son los organismos vegetales de más rápido crecimiento en la naturaleza y tienen muchos usos potenciales. Se cultivan con agua de mar natural tratada y enriquecida con nutrientes adicionales. Tienen un crecimiento exponencial.	Aumento de biomasa	Conteo de microalgas: • <i>Isochrysis galbana</i> • <i>Chaetoceros sp.</i>	• Cel/ml • Cel/ml
VARIABLE INDEPENDIENTE Tipo de luz empleado: experimento	Las algas requieren de luz para crecer. Sin embargo, estas plantas son mucho más adaptables que otras a los distintos tipos y colores de luz. La iluminación para el crecimiento de los cultivos de microalgas se obtiene de lámparas fluorescentes, montadas normalmente fuera de los matraces, botellas de cultivo.	Tipo de luz	Color de la luz	• Luz blanca • Luz azul

Fuente: Elaboración propia

3.4. Población y muestra

3.4.1. La población

La población estuvo constituida por todo el conjunto de cepas de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*, en las unidades de estudio.

3.4.2. Muestra

Fueron el conjunto de células de microalgas inoculadas en cada uno de los 2 tratamientos y 3 réplicas.

3.5. Materiales, equipos e instrumentos

3.5.1. Materiales

a) Materiales de laboratorio.

- Vaso de precipitado, marca Pyrex de 250ml de capacidad.
- Tubo de ensayo, marca PYREX con labio.
- Tubos de ensayo con tapa rosca, sin graduación.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Pipeta serológica marca PYREX de 0,5ml, 1ml, 2ml, 5ml y 10 ml de capacidad.
- Pipeta Pasteur de vidrio.
- Pera Pipeteadora Universal Brand.

- Matraz Erlenmeyer graduado, marca Pyrex de 250ml y 500ml.
- Matraz Erlenmeyer graduado, marca HJLABS de 1L de capacidad.
- Láminas porta objetos Slide.
- Láminas cubre objetos.
- Placas de Petri marca Pyrex.
- Pizeta de plástico de 500 ml.
- Botellas de vidrio de 250 ml., 500 ml., 1 L.
- Botellas de plástico de 7 L. de capacidad.
- Bidones de plástico de 30 L. de capacidad.
- Gotero.
- Sorbetes blancos
- Papel aluminio.
- Papel toalla.
- Alcohol yodado de 1000 ml.
- Alcohol desinfectante en gel

b) Equipos para acondicionamiento de infraestructura

- Blower ½ HP Marca Resun. Modelo: ACO-001
- 06 lámparas fluorescentes color blanco.

- 06 lámparas fluorescentes color azul.
- Estante metálico de 0,40 m x 2,00 m x 1,50 m. con vidrio de 6 mm. de espesor, con 4 divisiones y techo metálico.

c) Equipos de laboratorio

- Cámara Neubauer con espejo. Marca: Marienfeld
- Medidor de Oxígeno Disuelto. Modelo: Starter 300D. Marca: Ohaus. Rango de medición: 0,00 – 19,99; 20,0 – 45,0 mg / L; 200 - 400%; 0 - 50 ° C. Exactitud: $\pm 0,3$ mg / L; $\pm 1\%$; $\pm 0,3$ ° C
- Termómetro digital Tbt-10h Rango de medida: -50°C a + 150°C. Precisión: $\pm 1\%$ en todo el rango de medida.
- pH metro Hanna Checker (HI 98103). Rango: de 0,0 a 14,0 pH. Precisión (a 20°C): $\pm 0,2$ pH
- Luxómetro GM1020, Marca: OEM, Rango total de medición: 0 ~ 200000 Lux. Precisión de iluminancia: $\pm 3\%$ lectura (por debajo 10000 Lux), $\pm 4\%$ lectura (por encima de 10000 Lux),
- Microscopio Digital LCD Lavender. Marca: Micros Austria. Modelo: MCX100 LCD. Cabezal: Binocular

- Estufa eléctrica MEMMERT, rango de temperatura de 30°C a 220°C.
- Destilador de agua. Marca: GFL. Capacidad: 2 litros/ 2 horas.
- Balanza analítica. Marca: Sartorius; capacidad: 210 g; sensibilidad 0,1 mg.
- Centrífuga industrial alemana adaptada para microalgas. Marca: GEA. Modelo: OTC 3-02-137.
- Liofilizadora. Marca Labconco. Free Zone 2,5 L. - 50 °C
- Ultracongelador. Marca: VWR. Rango de temperatura: – 86 a –50°C (–123 a –58°F).

d) Material biológico

- Cepas de microalgas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp., procedentes del laboratorio de microalgas de IMARPE - ILO.

e) Insumos

- Nutrientes (F/2 Guillard).
- Lugol.
- Agua de mar filtrada y esterilizada con lámparas de luz UV procedente de FONDEPES-MORRO SAMA-TACNA.

3.5.2. Métodos

3.5.2.1.1. Determinación de parámetros de crecimiento y supervivencia

El crecimiento poblacional en los cultivos se determinó por conteos diarios del número de células en alícuotas con seis réplicas por muestra tomada. Para ello se colocó una muestra de la suspensión microalgal en una cámara Neubauer con una micropipeta Pasteur para ser observado en un Microscopio Digital LCD Lavender marca Micros Austria a un aumento de 100X.

Para ver la supervivencia y el estado de las microalgas se realizó el siguiente procedimiento:

- Se tomó una muestra de cada especie de microalga por tratamiento de luz, de 1 ml. cada una en un tubo de ensayo.
- Las muestras se observaron en el microscopio sin fijar para efecto de observación in vivo, siendo el objetivo verificar las condiciones de la microalga.

- También esto se realizó cada semana con el cepario solo para efectos de revisión del cultivo inicial.

3.5.2.1.2. Registro de parámetros abióticos

El registro de parámetros abióticos (luz, temperatura, pH, oxígeno disuelto), se realizó en forma diaria durante el periodo experimental.

3.5.2.1.3. Composición química

a. Determinación de proteínas (%). Según el método Kjeldahl.

b. Determinación de humedad (%). Por diferencia de peso de muestra húmeda y muestra seca.

3.5.2.2. Densidad celular

La densidad celular (células/ml) fue evaluada a diario en todos los tratamientos, empleando la técnica de recuento celular a través del microscopio usando un hematocitómetro o cámara de Neubauer.

La Cámara de Neubauer presenta dos cámaras. En la cara superior del portaobjetos se encuentran cuatro canales longitudinales y un canal transversal central a cuyos lados superior e inferior existen grabados dos cuadros de 9 mm² de superficie subdivididos a su vez en una cuadrícula más fina.

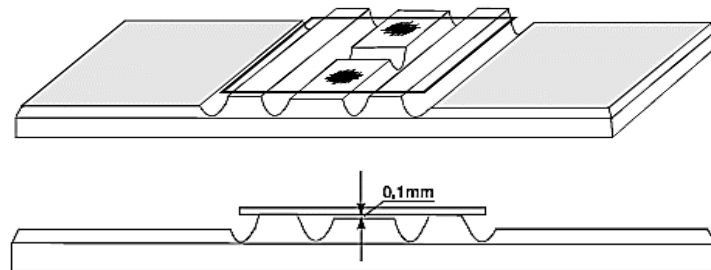


Figura 12. Cámara Neubauer.

Fuente: Marienfeld Laboratory Glassware, (2010).

Al colocar el cubreobjetos encima de la superficie donde se encuentra grabada la cuadrícula, existe una distancia fija de profundidad de 0,1 mm.

El procedimiento para el conteo es el siguiente:

- Se toma una muestra de 1 ml en un tubo de ensayo.
- La muestra se fija con lugol, 1 gota en cada tubo de ensayo.
- Cuando se cuenta el cuadro del centro (las 5 E en diagonal), la fórmula para obtener el número de células por mililitro es:

$$(N^{\circ} \text{ de células contadas}) (10\ 000) (5)$$

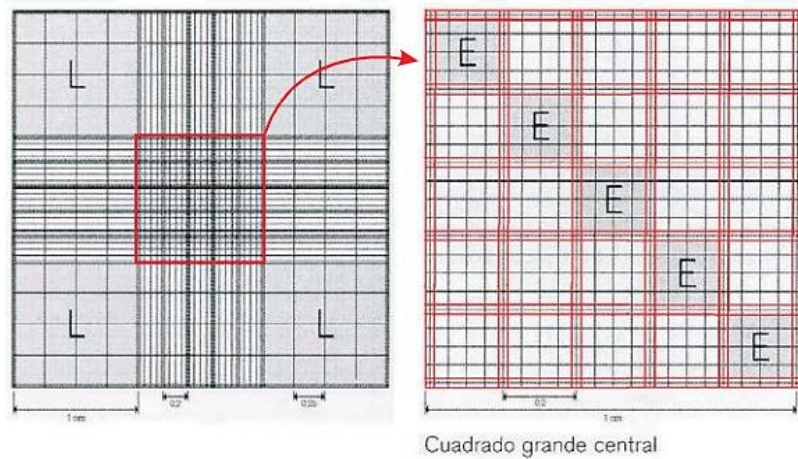


Figura 13. Recuento en la Cámara Neubauer.

Fuente: GAB Sistemática Analítica, (2016)

3.5.2.3. Tasa específica de crecimiento

La tasa específica de crecimiento o tasa de división celular (μ) de cada una de las repeticiones en los diferentes tratamientos se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula (Nieves, Voltolina, & Barreras, 1998):

$$\mu = \left(\frac{3.322}{\Delta t} \right) \left(\log \frac{N_2}{N_1} \right)$$

Donde:

μ = Tasa específica de crecimiento (divisiones/día)

N_2 = Densidad celular en t_2

N_1 = Densidad celular en t_1

t_1 = Tiempo inicial

t_2 = Tiempo final

Δt = Diferencia de tiempo final y tiempo inicial

3.5.2.4. Tiempo de duplicación

- El tiempo de duplicación (T_d) en el cultivo fue expresado en las mismas unidades de tiempo que μ , calculada a partir de una estimación de μ con el uso de la siguiente ecuación:

$$T_d = \frac{\text{Ln}(2)}{\mu} = \frac{(0.6931)}{\mu}$$

- Donde:

T_d = Tiempo de duplicación

$\text{Ln}(2)$ = Logaritmo natural de 2 (constante)

μ = Tasa específica de crecimiento (divisiones/día)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Composición química

En la tabla N° 3, se muestran los resultados de la composición química de proteínas y humedad de las microalgas utilizadas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca (T₁); los valores para el % de proteínas en base seca fueron de 33,73 para *Isochrysis galbana* y 25,03 para *Chaetoceros sp.*

Tabla 3. Análisis químico de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp* con tratamiento de luz blanca

ANÁLISIS	<i>Isochrysis galbana</i>		<i>Chaetoceros sp.</i>	
	Base Húmeda	Base Seca	Base Húmeda	Base Seca
Proteínas (%)	31,80	33,73	24,44	25,03
Humedad (%)	5,72	0	2,37	0

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 4, se muestran los resultados de la composición química de proteínas y humedad de las microalgas utilizadas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul (T₂); los valores

para el % de proteínas en base seca fueron de 32,01 para *Isochrysis galbana* y 13,31 para *Chaetoceros sp.*

Tabla 4. Análisis químico de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul

ANÁLISIS	<i>Isochrysis galbana</i>		<i>Chaetoceros sp.</i>	
	Base Húmeda	Base Seca	Base Húmeda	Base Seca
Proteínas (%)	30,85	32,01	13,00	13,31
Humedad (%)	3,62	0	2,31	0

Fuente: Elaboración propia

4.2. Otros análisis químicos

a. pH

Los valores de pH fluctuaron entre 8 y 9 unidades, con un promedio de $8,4 \pm 0,01$.

4.3. Densidad celular

En la tabla N° 5, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca (T₁), de la primera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $1,00 \times 10^6$ a $1,79 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 5. Réplica 1, *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca.

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	20/02/2018	1,00 x 10 ⁶
2	21/02/2018	1,20 x 10 ⁶
3	22/02/2018	1,79 x 10 ⁶
4	23/02/2018	1,39 x 10 ⁶
5	24/02/2018	1,08 x 10 ⁶
6	26/02/2018	0,42 x 10 ⁶

Fuente: Elaboración propia

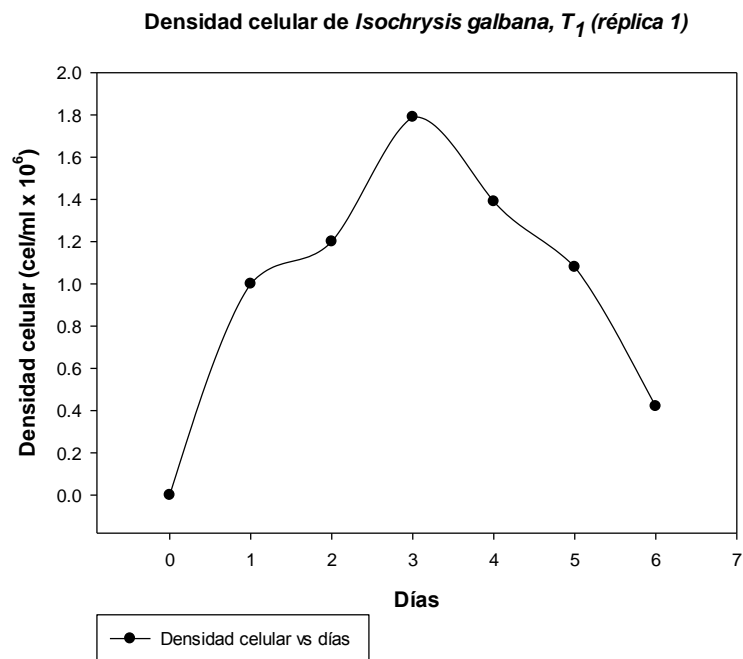


Figura 14. Densidad celular de *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca, réplica 1

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 5.

En la tabla N° 6, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul (T₂), de

la primera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $0,75 \times 10^6$ a $0,98 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 6. Réplica 1, *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	20/02/2018	$0,75 \times 10^6$
2	21/02/2018	$0,80 \times 10^6$
3	22/02/2018	$0,83 \times 10^6$
4	23/02/2018	$0,98 \times 10^6$
5	24/02/2018	$0,32 \times 10^6$
6	26/02/2018	$0,10 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

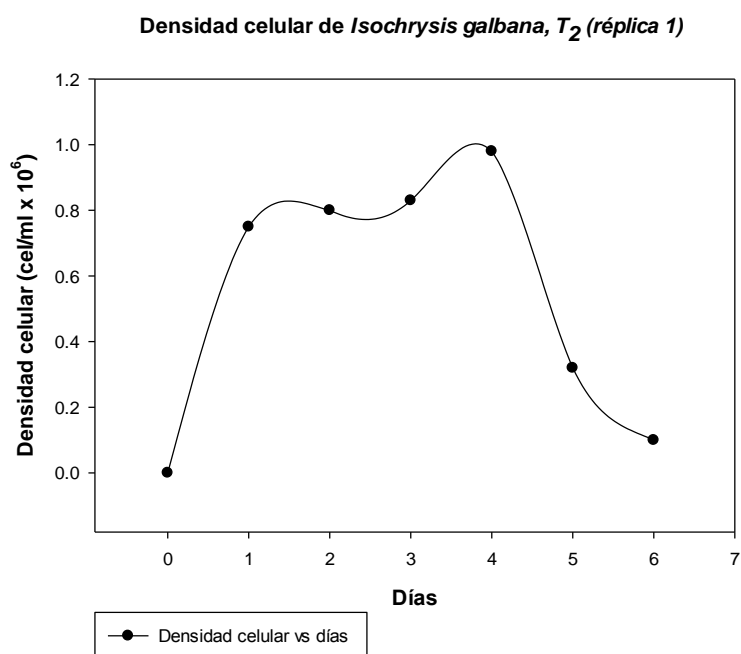


Figura 15. Densidad celular de *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul, réplica 1

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 6.

En la tabla N° 7, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp* con tratamiento de luz blanca (T₁), de la primera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $0,85 \times 10^6$ a $1,65 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 7: Réplica 1, *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	20/02/2018	$0,85 \times 10^6$
2	21/02/2018	$1,21 \times 10^6$
3	22/02/2018	$1,55 \times 10^6$
4	23/02/2018	$1,65 \times 10^6$
5	24/02/2018	$1,53 \times 10^6$
6	26/02/2018	$1,38 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

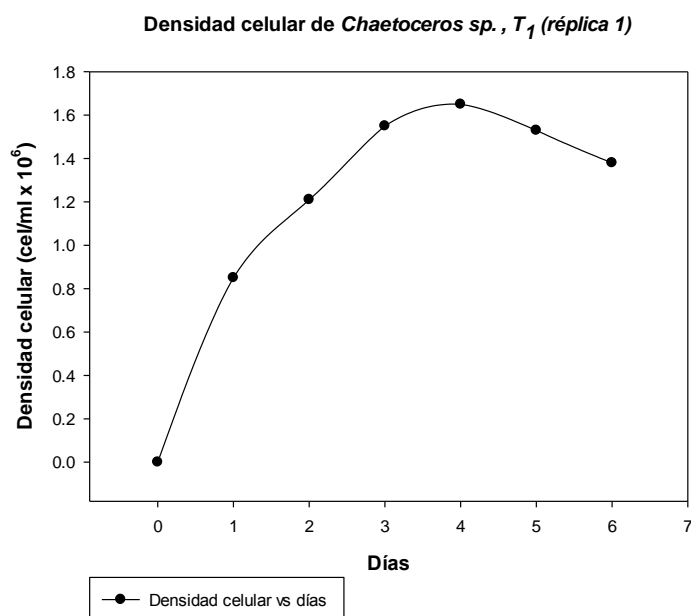


Figura 16. Densidad celular de *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca, réplica 1.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 7.

En la tabla N° 8, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp* con tratamiento de luz azul (T₂), de la primera réplica; los cuales estuvieron en un rango de 0,82 x 10⁶ a 1,28 x 10⁶ cel/ml.

Tabla 8. Réplica 1, *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	20/02/2018	0,82 x 10 ⁶
2	21/02/2018	0,98 x 10 ⁶
3	22/02/2018	0,99 x 10 ⁶
4	23/02/2018	1,28 x 10 ⁶
5	24/02/2018	1,25 x 10 ⁶
6	26/02/2018	1,00 x 10 ⁶

Fuente: Elaboración propia

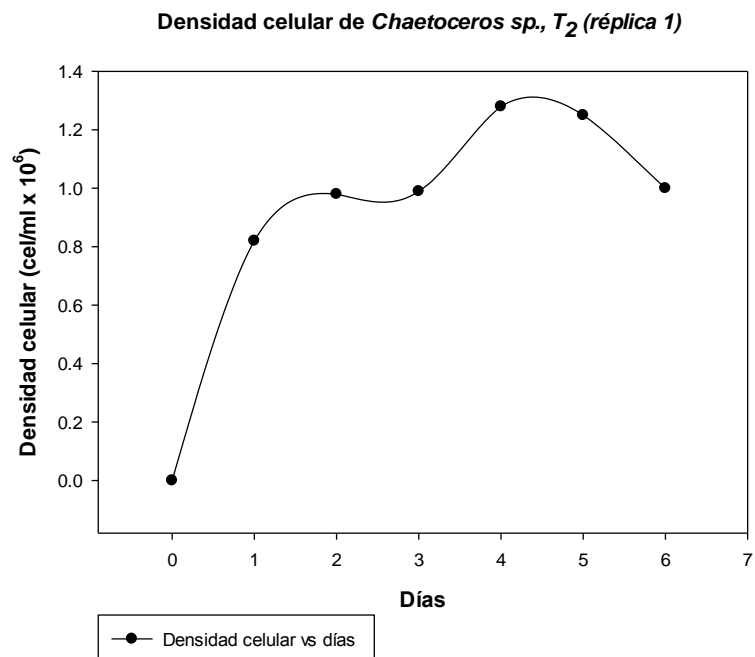


Figura 17. Densidad celular *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul, réplica 1

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 8.

En la tabla N° 9, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca (T_1), de la segunda réplica; los cuales estuvieron en un rango de $1,01 \times 10^6$ a $1,98 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 9: Réplica 2, *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	04/05/2018	$1,01 \times 10^6$
2	05/05/2018	$1,26 \times 10^6$
3	06/05/2018	$1,45 \times 10^6$
4	07/05/2018	$1,78 \times 10^6$
5	08/05/2018	$1,98 \times 10^6$
6	09/05/2018	$0,75 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

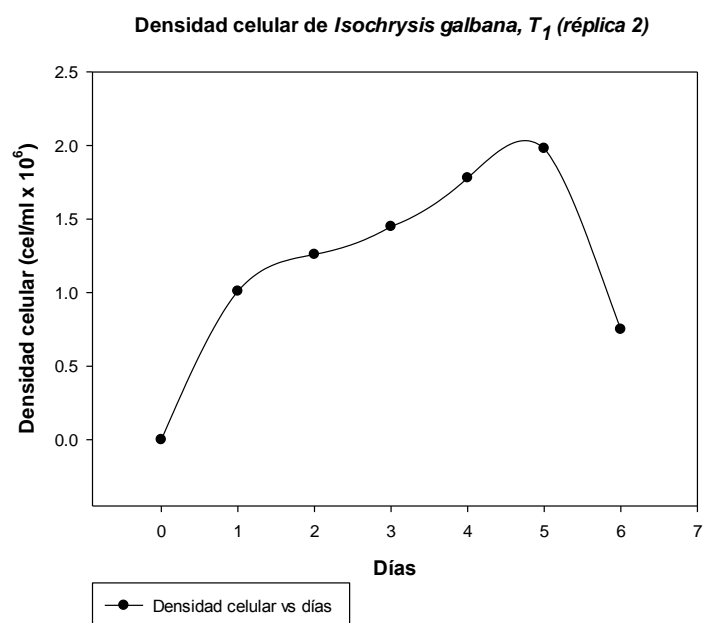


Figura 18. Densidad celular de *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca, réplica 2.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 9.
 En la tabla N° 10, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul (T₂), de la segunda réplica; los cuales estuvieron en un rango de $0,98 \times 10^6$ a $1,42 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 10: Réplica 2, *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	04/05/2018	$0,98 \times 10^6$
2	05/05/2018	$1,20 \times 10^6$
3	06/05/2018	$1,35 \times 10^6$
4	07/05/2018	$1,42 \times 10^6$
5	08/05/2018	$1,01 \times 10^6$
6	09/05/2018	$0,65 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

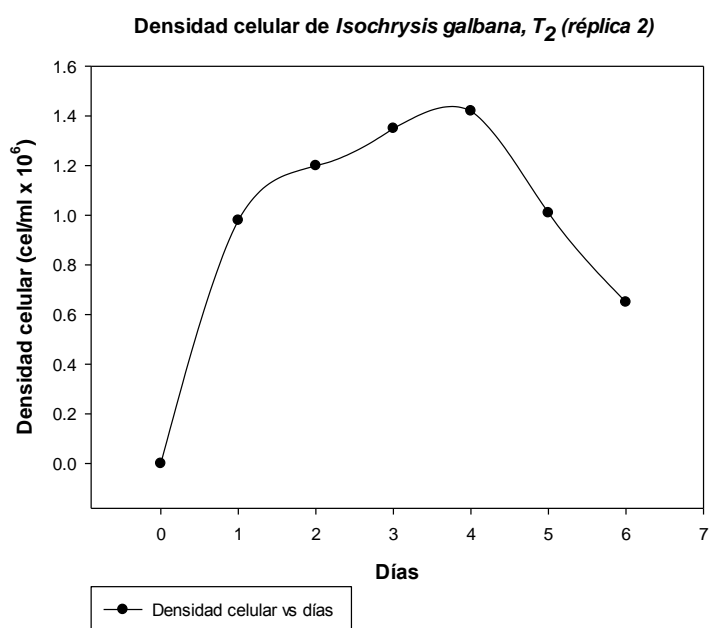


Figura 19. Densidad celular de *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul, réplica 2

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 10.

En la tabla N° 11, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca (T_1), de la segunda réplica; los cuales estuvieron en un rango de $0,65 \times 10^6$ a $1,52 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 11: Réplica 2, *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	04/05/2018	$0,65 \times 10^6$
2	05/05/2018	$0,88 \times 10^6$
3	06/05/2018	$0,99 \times 10^6$
4	07/05/2018	$1,25 \times 10^6$
5	08/05/2018	$1,52 \times 10^6$
6	09/05/2018	$1,51 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

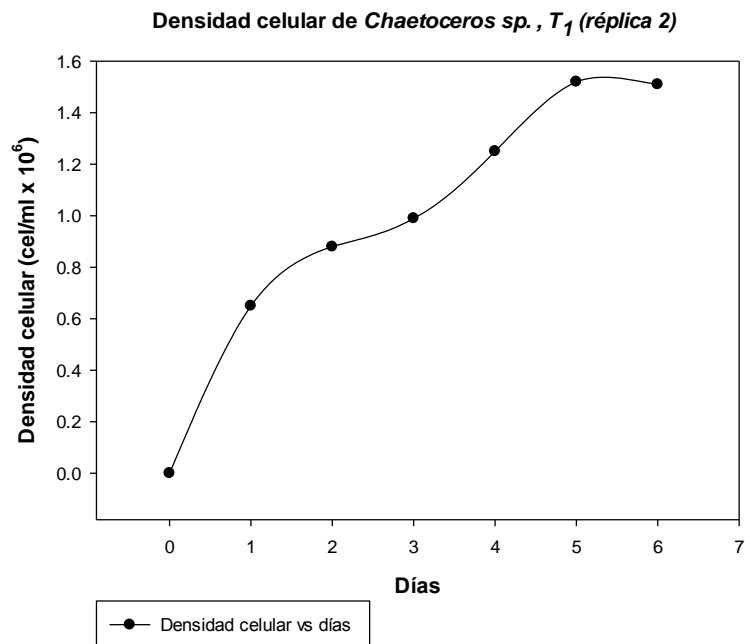


Figura 20. Densidad celular de *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca, réplica 2

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 11.

En la tabla N° 12, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul (T_2), de la segunda réplica; los cuales estuvieron en un rango de $0,63 \times 10^6$ a $1,25 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 12: Réplica 2, *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul

Días	Fecha de control	Densidad Celular (cel/ml)
1	04/05/2018	$0,63 \times 10^6$
2	05/05/2018	$0,82 \times 10^6$
3	06/05/2018	$1,25 \times 10^6$
4	07/05/2018	$0,98 \times 10^6$
5	08/05/2018	$0,70 \times 10^6$
6	09/05/2018	$0,56 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

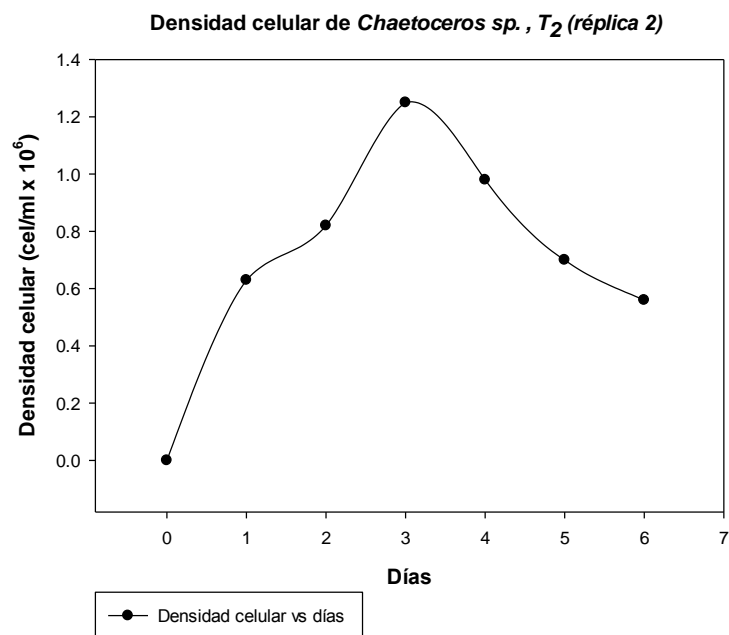


Figura 21. Densidad celular de *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul, réplica 2.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 12.

En la tabla N° 13, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca (T_1), de la tercera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $1,35 \times 10^6$ a $1,99 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 13: Réplica 3, *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	04/08/2018	$1,35 \times 10^6$
2	05/08/2018	$1,43 \times 10^6$
3	06/08/2018	$1,60 \times 10^6$
4	07/08/2018	$1,80 \times 10^6$
5	08/08/2018	$1,99 \times 10^6$
6	09/08/2018	$1,82 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

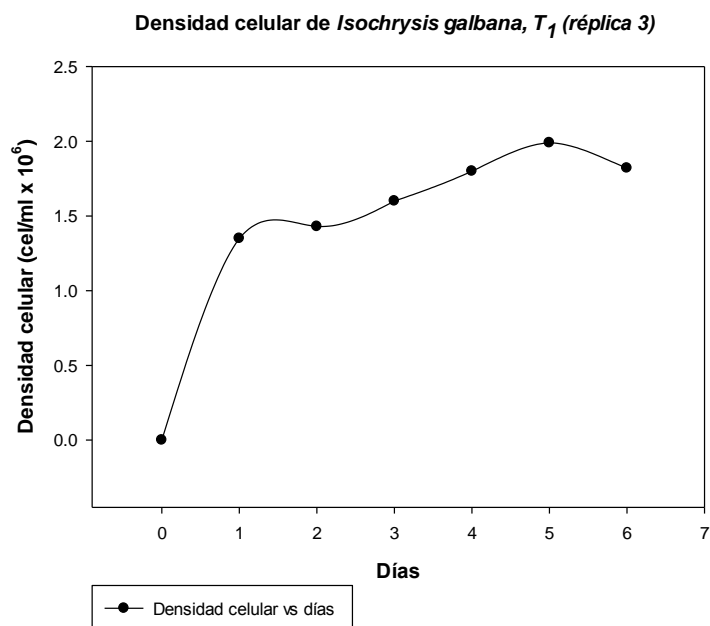


Figura 22. Densidad celular de *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz blanca, réplica 3.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 13.

En la tabla N° 14, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul (T₂), de la tercera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $1,32 \times 10^6$ a $1,80 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 14: Réplica 3, *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	04/08/2018	$1,32 \times 10^6$
2	05/08/2018	$1,38 \times 10^6$
3	06/08/2018	$1,50 \times 10^6$
4	07/08/2018	$1,70 \times 10^6$
5	08/08/2018	$1,80 \times 10^6$
6	09/08/2018	$1,75 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

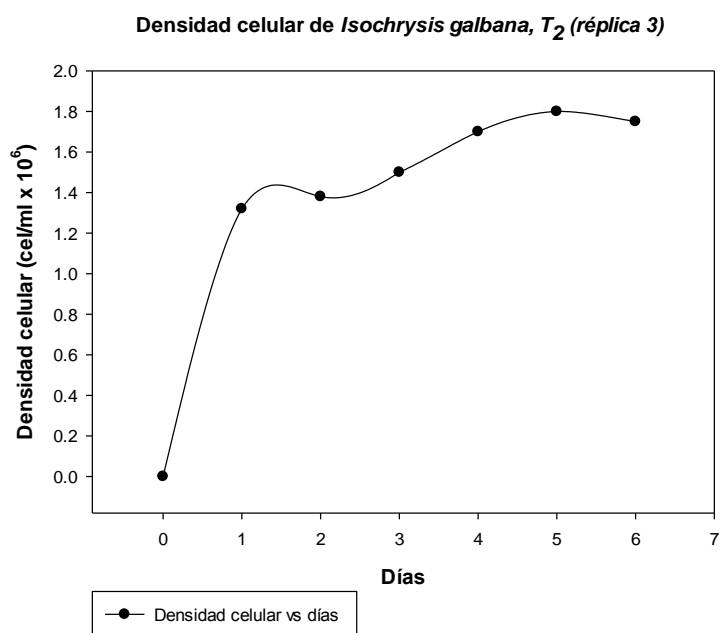


Figura 23. Densidad celular de *Isochrysis galbana* con tratamiento de luz azul, réplica 3.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 14.

En la tabla N° 15, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca (T_1), de la tercera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $1,55 \times 10^6$ a $1,99 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 15: Réplica 3, *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca

Días	Fecha de control	Densidad celular (cel/ml)
1	04/08/2018	$1,55 \times 10^6$
2	05/08/2018	$1,70 \times 10^6$
3	06/08/2018	$1,79 \times 10^6$
4	07/08/2018	$1,85 \times 10^6$
5	08/08/2018	$1,99 \times 10^6$
6	09/08/2018	$1,90 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

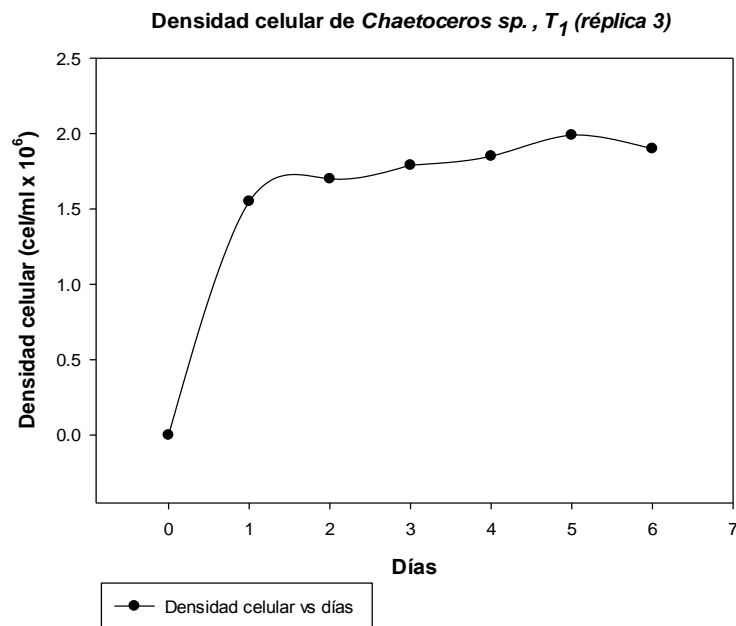


Figura 24. Densidad celular de *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca, réplica 3.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 15.

En la tabla N° 16, se muestran los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul (T_2), de la tercera réplica; los cuales estuvieron en un rango de $1,54 \times 10^6$ a $1,85 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 16: Réplica 3, *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul

Días	Fecha de control	Densidad Celular (cel/ml)
1	04/08/2018	$1,54 \times 10^6$
2	05/08/2018	$1,62 \times 10^6$
3	06/08/2018	$1,75 \times 10^6$
4	07/08/2018	$1,80 \times 10^6$
5	08/08/2018	$1,85 \times 10^6$
6	09/08/2018	$1,78 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia

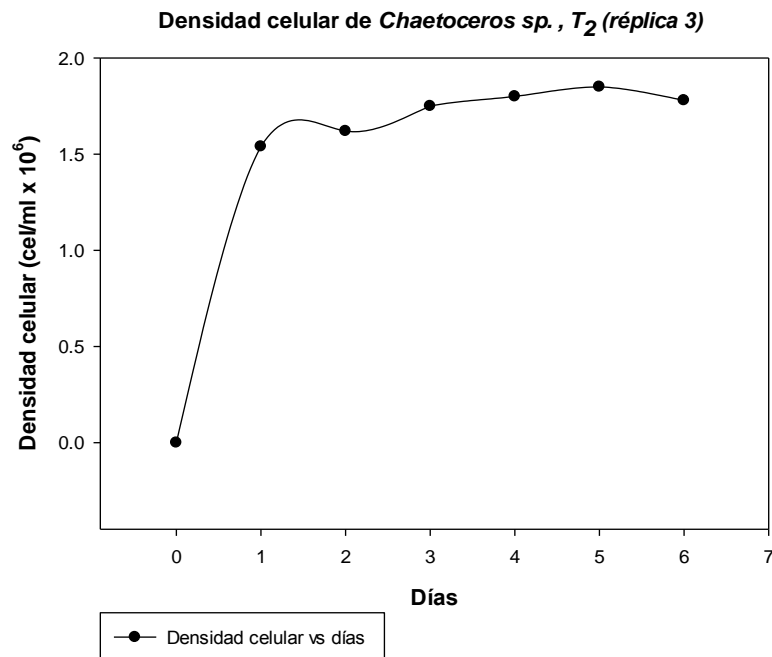


Figura 25. Densidad celular *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul, réplica 3.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 16.

En la tabla N° 17, se muestran todos los valores de las densidades celulares de la microalga *Isochrysis galbana* por tratamiento y réplicas; siendo su valor mínimo $0,75 \times 10^6$ cel/ml y máximo $1,99 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 17: Densidad celular de *Isochrysis galbana* por tratamientos

<i>Isochrysis galbana</i>						
Días	T1 R1	T2 R1	T1 R2	T2 R2	T1 R3	T2 R3
1	1,00	0,75	1,01	0,98	1,35	1,32
2	1,20	0,80	1,26	1,20	1,43	1,38
3	1,79	0,83	1,45	1,35	1,60	1,50
4	1,39	0,98	1,78	1,42	1,80	1,70
5	1,08	0,32	1,98	1,01	1,99	1,80
6	0,42	0,10	0,75	0,65	1,82	1,75

Fuente: Elaboración propia

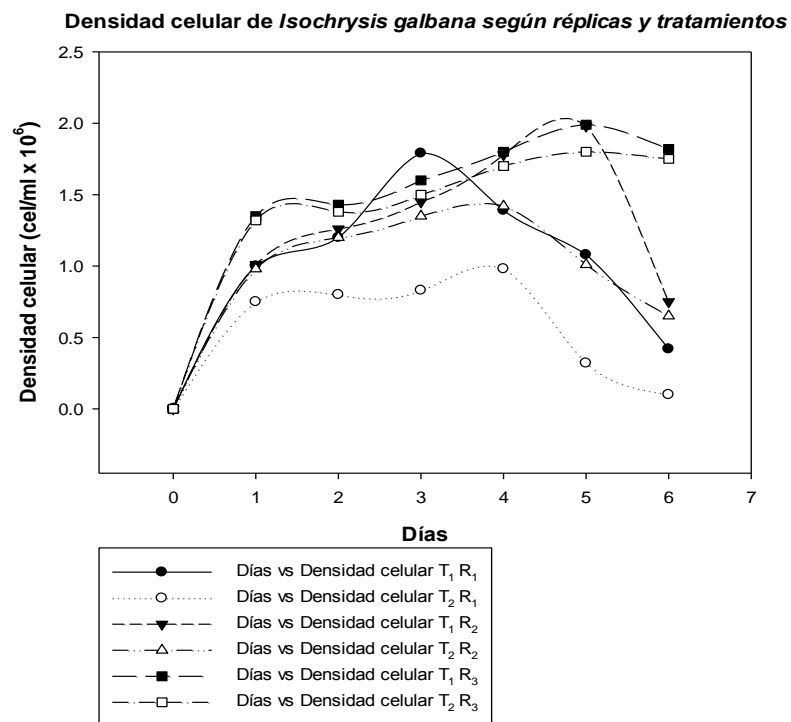


Figura 26. Densidad celular de *Isochrysis galbana* según réplicas y tratamientos.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 17.

En la tabla N° 18, se muestran todos los valores de las densidades celulares de la microalga *Chaetoceros sp.* por tratamiento y réplicas; siendo su valor mínimo $0,65 \times 10^6$ cel/ml y máximo $1,99 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 18: Densidad celular de *Chaetoceros sp.* por tratamientos

<i>Chaetoceros sp.</i>						
Días	T1 R1	T2 R1	T1 R2	T2 R2	T1 R3	T2 R3
1	0,85	0,82	0,65	0,63	1,55	1,54
2	1,21	0,98	0,88	0,82	1,70	1,62
3	1,55	0,99	0,99	1,25	1,79	1,75
4	1,65	1,28	1,25	0,98	1,85	1,80
5	1,53	1,25	1,52	0,70	1,99	1,85
6	1,38	1,00	1,51	0,56	1,90	1,78

Fuente: Elaboración propia

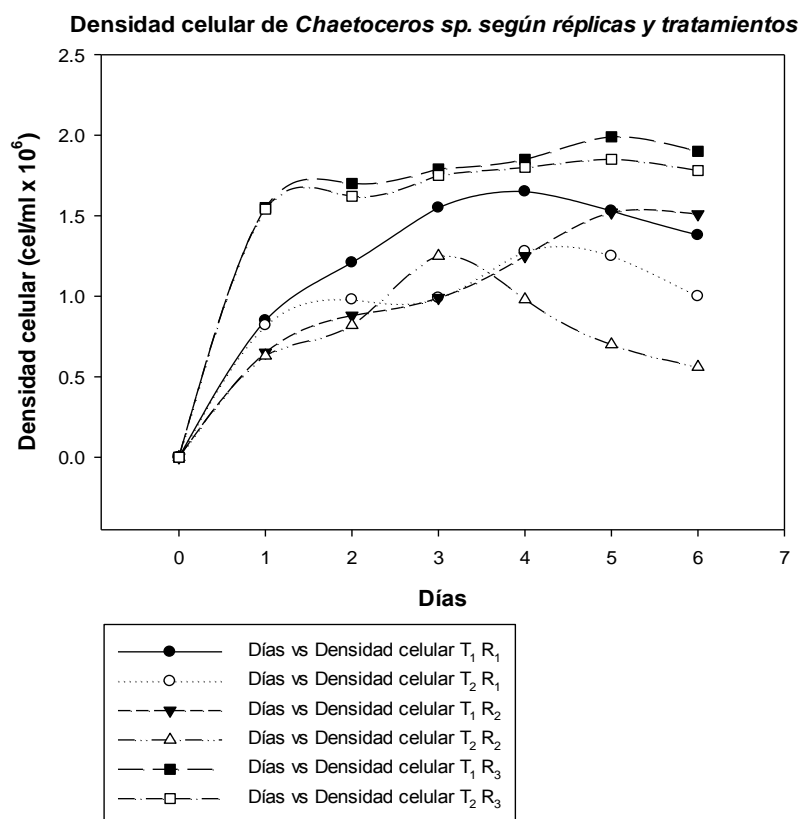


Figura 27. Densidad celular de *Chaetoceros sp.* según réplicas y tratamientos.

Fuente: Elaboración propia, basada en la tabla N° 18.

4.4. Tasa específica de crecimiento

En la tabla N° 19, se muestran los valores de la tasa específica de crecimiento (μ) de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca, según las réplicas (R₁, R₂ y R₃); obteniendo el valor más alto de 0,42 divisiones/día y el más bajo 0,14 divisiones/día para *Isochrysis galbana* mientras que para *Chaetoceros sp.* fue de 0,32 divisiones/día el valor más alto y 0,09 divisiones/día el más bajo.

Tabla 19: Tasa específica de crecimiento de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca

Tasa específica de crecimiento - Tratamiento luz blanca					
<i>Isochrysis galbana</i>			<i>Chaetoceros sp.</i>		
R₁	R₂	R₃	R₁	R₂	R₃
0,42	0,24	0,14	0,32	0,31	0,09

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla N° 20, se muestran los valores de la tasa específica de crecimiento (μ) de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul, según las réplicas (R₁, R₂ y R₃); obteniendo el valor más alto de 0,18 divisiones/día y el más bajo 0,11 divisiones/día

para *Isochrysis galbana* mientras que para *Chaetoceros sp.* fue de 0,49 divisiones/día el valor más alto y 0,07 divisiones/día el más bajo.

Tabla 20: Tasa específica de crecimiento de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul

Tasa específica de crecimiento - Tratamiento luz azul					
<i>Isochrysis galbana</i>			<i>Chaetoceros sp.</i>		
R₁	R₂	R₃	R₁	R₂	R₃
0,13	0,18	0,11	0,21	0,49	0,07

Fuente: Elaboración Propia

4.5. Tiempo de duplicación

En la tabla N° 21, se muestran los valores de los tiempos de duplicación (T_d) de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca, según las réplicas (R₁, R₂ y R₃); los menores tiempos de duplicación se obtuvieron en la primera réplica con 1,65 días para *Isochrysis galbana* y 2,17 días para *Chaetoceros sp.*

Tabla 21: Tiempo de duplicación de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz blanca, según las réplicas

Tiempo de duplicación – Tratamiento luz blanca	
<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Chaetoceros sp.</i>

R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
1,65	2,85	4,95	2,17	2,26	7,69

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 22, se muestran los valores de los tiempos de duplicación (T_d) de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul, según las réplicas (R₁, R₂ y R₃); los menores tiempos de duplicación se obtuvieron en la segunda réplica con 3,89 días para *Isochrysis galbana* y 1,40 días para *Chaetoceros sp.*

Tabla 22: Tiempo de duplicación de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* con tratamiento de luz azul, según las réplicas

Tiempo de duplicación - Tratamiento luz azul					
<i>Isochrysis galbana</i>			<i>Chaetoceros sp.</i>		
R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
5,39	3,89	6,20	3,24	1,40	10,48

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO V

DISCUSIONES

5.1. Composición química

Los valores del porcentaje de proteínas mostraron que *Isochrysis galbana* presentó porcentajes mayores de proteínas que *Chaetoceros sp.* y el tratamiento de luz blanca (T₁) obtuvo un mayor porcentaje de proteínas que el tratamiento de luz azul (T₂). Flores Santana, (2008) reportó valores de proteínas en cultivos de 31,82 % para *Isochrysis galbana* y 23,45 % para *Chaetoceros sp.*, datos similares a los encontrados en el presente trabajo con el tratamiento de luz blanca con 33,73 % y con el tratamiento de luz azul con 32,01 % para la microalga *Isochrysis galbana*, sin embargo, para la microalga *Chaetoceros sp.* los datos fueron similares con el tratamiento de luz blanca con 25,03 % pero mayores que los datos encontrados con el tratamiento de luz azul con 13,31 % en el presente trabajo.

5.2. Otros análisis químicos

Los valores de pH obtenidos en esta investigación que fluctuaron entre 8 y 9 unidades, con un promedio de $8,4 \pm 0,01$, se consideran adecuados, coincidiendo los datos con la investigación de Piña, Medina, Nieves, Leal, & López-Elías, (2007), cuyos valores de pH se

mantuvieron entre 7,5 y 9,5 para estos cultivos, con valores promedio que iban aumentando en la medida que transcurrían los días, obteniendo para *Chaetoceros muelleri* valores entre $8,2133 \pm 0,08$ y $9,7267 \pm 0,34$ y para *Isochrysis sp.* valores entre $7,6200 \pm 0,15$ y $9,4300 \pm 0,14$.

5.3. Densidad celular

En la investigación realizada por Panta Vélez, Macay García, Moncayo Zambrano, & Vélez Chica, (2016) en su estudio: “Crecimiento de las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* con fertilizantes agrícolas, en laboratorio”, determinaron que la densidad celular en el cultivo de las dos especies de microalgas en el medio F/2 Guillard, mostraron un máximo valor de $2,4 \times 10^6$ cel/ml. para *Chaetoceros gracilis* y $2,3 \times 10^6$ cel/ml. para *Isochrysis galbana*; valores cercanos a los obtenidos en la presente investigación con la que se obtuvieron un valor máximo de $1,99 \times 10^6$ cel/ml para la microalga *Chaetoceros sp.* y un valor máximo también de $1,99 \times 10^6$ cel/ml para la microalga *Isochrysis galbana*.

5.4. Tasa específica de crecimiento

Al comparar los valores obtenidos en esta investigación con la investigación realizada por Panta Vélez et al., (2016) en su estudio: “Crecimiento de las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* con fertilizantes agrícolas, en laboratorio”, quienes para el cultivo de *Chaetoceros gracilis* obtuvieron, como el valor más alto de las tasas de crecimiento (μ), 0,66 divisiones/día con el medio F/2 Guillard; se puede notar que el valor que más se asemeja es el obtenido con el tratamiento de luz azul durante la segunda réplica siendo este 0,49 divisiones/día para *Chaetoceros sp.*

Mientras que el valor más alto de las tasas de crecimiento (μ) en el cultivo de *Isochrysis galbana* fue de 0,67 divisiones/día obtenido con el medio de cultivo F/2 Guillard; se puede notar que el valor que más se asemeja es el obtenido con el tratamiento de luz blanca durante la primera réplica siendo este 0,42 divisiones/día para *Isochrysis galbana*.

5.5. Tiempo de duplicación

En la investigación realizada por Panta Vélez et al., (2016) obtuvieron que los menores tiempos promedios de duplicación en el medio F/2 Guillard fueron de $1,05 \pm 1,16$ días en el cultivo de *Chaetoceros gracilis* y $1,03 \pm 1,13$ días en el cultivo *Isochrysis galbana*; siendo los valores más similares los obtenidos como menor tiempo de duplicación en la primera réplica con el tratamiento de luz blanca con 1,65 días para *Isochrysis galbana* y el obtenido en la segunda réplica con el tratamiento de luz azul con un valor de 2,17 días para *Chaetoceros sp.*

CONCLUSIONES

1. Se realizó un estudio comparativo y se evaluó el rendimiento de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* empleando dos diferentes tipos de luz a escala experimental.
2. Al evaluar el rendimiento comparativo de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* se encontró diferencias en los tratamientos de luz azul y luz blanca, favoreciendo la luz blanca al crecimiento de la microalga *Isochrysis galbana* con una tasa específica de crecimiento (μ) de 0,42 divisiones/día, mientras que la microalga *Chaetoceros sp.* obtuvo un mejor rendimiento con el tratamiento de luz azul obteniendo una tasa específica de crecimiento de 0,49 divisiones/día.

De igual manera, se obtuvo el menor tiempo de duplicación (T_d) con un valor de 1,65 días para *Isochrysis galbana* con el tratamiento de luz blanca, mientras que *Chaetoceros sp.* obtuvo el menor tiempo de duplicación con un valor de 2,17 días empleando el tratamiento de luz azul.

3. Del estudio comparativo empleando luz blanca y luz azul para las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*, se concluye que:
- La luz blanca favorece el crecimiento de *Isochrysis galbana*, frente a la luz azul.
 - La luz azul favorece el crecimiento de *Chaetoceros sp.*, frente a la luz blanca.

RECOMENDACIONES

Se recomienda a futuros tesisistas de la especialidad de Ingeniería Pesquera que en trabajos de investigación futuros en el área de la fotometría con microalgas se recomienda el empleo de la luz roja y luz verde como tratamientos en los cultivos de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* para la evaluación de los efectos.

Se recomienda a tesisistas que puedan tomar en cuenta en el cultivo de microalgas el mejoramiento de su composición bioquímica (lípidos, proteínas, carbohidratos) que se podría lograr con la variación de las concentraciones de los nutrientes tales como nitratos y fosfatos en el medio de cultivo. Surgiendo la necesidad de realizar investigaciones que combinen la eficiencia en el crecimiento mediante el uso de los espectros de luz y la calidad nutricional con la variación de nutrientes en el medio de cultivo.

Asimismo, probar con la adición de CO₂ a los cultivos es otra metodología a tomar en cuenta. La combinación de estas variables permitirá la elaboración de un protocolo de cultivo eficiente para microalgas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abiusi, F., Sampietro, G., Marturano, G., Biondi, N., Rodolfi, L., D'Ottavio, M., & Tredici, M. R. (2014). Growth, photosynthetic efficiency, and biochemical composition of *Tetraselmis suecica* F&M-M33 grown with LEDs of different colors. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(5), 956-964. <https://doi.org/10.1002/bit.25014>

Agencia de Desarrollo TECNOPLADES (Ed.). (2010). PROTOCOLO DE MICROALGAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO EN LAS INSTALACIONES DEL CRIP, MANZANILLO COLIMA, 25.

Astudillo, D., Rosas, J., Velásquez, A., Cabrera, T., & Maneiro, C. (2005). Crecimiento y supervivencia de larvas de *Echinometra lucunter* (Echinoidea: Echinometridae) alimentadas con las microalgas. *Rev. Biol. Trop.*, 53, 9.

Band Schmidt, C. J. (1999). *Efecto de la composición bioquímica de microalgas sobre el valor nutritivo de dos cepas de artemia* (Maestría en Ciencias Marinas Tesis). Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B. C. S. Recuperado de <http://www.repositoriodigital.ipn.mx//handle/123456789/14808>

- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., & Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164-173. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.01.004>
- Bianchini Derner, R., Ohse, S., Villela, M., Matos de Carvalho, S., & Fett, R. (2006). Microalgae, products and applications. *Ciência Rural*, 36(6), 1959-1967. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600050>
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1), 313-321. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00083-8)
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557-577. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., & Dunstan, G. A. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151, 315-331.
- Bryant, P. J. (2012). Centric Diatom, *Chaetoceros* sp. Recuperado 12 de diciembre de 2018, de

<http://nathistoc.bio.uci.edu/Diatoms/Chaetoceros%20sp.htm>

Bulboa, C., & Olivares, C. (2008). Manual técnico para modulo demostrativo: Cultivo de Algas. *Universidad Carolina del Norte. Facultad de Ciencias del Mar.*, 9-12.

Cardoso, V. J. M. (2009). FOTOMETRIA PARA BIOLOGISTAS. *Oecologia Brasiliensis*, 13(4), 545-553.
<https://doi.org/10.4257/oeco.2009.1304.01>

Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294-306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>

Flores Santana, R. E. (2008). VARIACIÓN EN EL CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS DEL COPÉPODO CALANOIDE *Pseudodiaptomus euryhalinus* (JOHNSON, 1939) ALIMENTADO CON LAS MICROALGAS *Chaetoceros calcitrans* E *Isochrysis galbana*. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)*, 63.

GAB Sistemática Analítica. (2016). CÁMARA THOMA Y NEUBAUER IMPROVED PARA EL RECuento. Recuperado 13 de diciembre de 2018, de <https://docplayer.es/15753903-Camara-thoma-y-neubauer-improved-para-el-recuento-de-levaduras-tiraje.html>

- García Cubero, R. (2014). Producción de biomasa de microalgas rica en hidratos de carbono acoplada a la eliminación fotosintética de CO₂. Recuperado de <https://digital.csic.es/handle/10261/101928>
- Gómez Luna, L. M. (2007). MICROALGAS: ASPECTOS ECOLÓGICOS Y BIOTECNOLÓGICOS. *Revista Cubana de Química*, XIX(2), 3-20.
- Hernández Gil, R. (2014). FOTOSINTESIS. Recuperado 19 de noviembre de 2018, de <http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/fotosintesis/>
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Jaramillo Obando, J. J. (2011). *Evaluación tecno-económica de la producción de biocombustibles a partir de microalgas*. Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/6751/1/8110005.2012.pdf>
- Khan Academy. (2018). Luz y pigmentos fotosintéticos. Recuperado 19 de noviembre de 2018, de <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-light-dependent-reactions-of-photosynthesis/a/light-and-photosynthetic-pigments>

- Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture* (FAO Fisheries Technical Paper No. 361). Roma: FAO. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/285237285_Manual_on_the_Production_and_Use_of_Live_Food_for_Aquaculture
- Marienfeld Laboratory Glassware (Ed.). (2010). Cámara de recuento. Recuperado de <https://www.slideshare.net/LuisChiclla1/2010-marienfeldinfocamarasderecuento-1>
- Martin Ramos, P., Navas Gracia, L. M., Hernandez-Navarro, S., Correa-Guimaraes, A., Martin Gil, J., Martin Bravo, E., ... Duran Altisent, J. M. (2010). Diodos emisores de luz para irradiación de plantas. *Scribd*. Recuperado de <http://oa.upm.es/7044/>
- Medina Jasso, A. P., Piña Valdez, P., Nieves Soto, M., Arzola González, J. F., & Guerrero Ibarra, M. (2012). La importancia de las microalgas. *CONABIO. Biodiversitas.*, 103, 1-5.
- Meisel, L. A., Urbina, D. C., & Pinto, M. E. (2011). Fotorreceptores y Respuestas de Plantas a Señales Lumínicas. *Fisiología Vegetal* (F.A. Squeo & L. Cardemil, eds.) Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile, 1-10.

Moreno Bayón, J. P. (2010). *Evaluación del crecimiento y carotenogénesis de cuatro cepas de microalgas marinas bajo condiciones de estrés por iluminación a temperatura y salidad constantes*. Universidad de Sonora, Hermosillo, México. Recuperado de <http://www.bidi.uson.mx/TesisIndice.aspx?tesis=20804>

Nieves, M., Voltolina, D., & Barreras. (1998). A new parameter for comparison of microalgae growth. *Rivista Italiana Acquacoltura*, 33, 177-184.

Olguín, E. J., & Loera-Quezada, M. M. . (2012). Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal. Instituto de Ecología A. C. INELCOL*, 1, 91-116.

Palacios Bohórquez, D. E. (2016). Efecto de los espectros de luz azul, roja y verde en la multiplicación celular y síntesis bioquímica de *Rhodomonas* spp. Y *Tetraselmis* spp. en condiciones in vitro. *Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil*, 77.

Panta Vélez, R. P., Macay García, A. G., Moncayo Zambrano, E. M., & Vélez Chica, J. C. (2016). Crecimiento de las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* con fertilizantes agrícolas, en laboratorio. *Revista La Técnica*, 16, 44-55.

Pérez, L. M. (2016). ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA DE LUZ LED EN LA GERMINACIÓN DE UNA ORQUÍDEA *Encyclia* sp., 49.

Piña, P., Medina, M. A., Nieves, M., Leal, S., & López-Elías, J. A. (2007). CULTIVO DE CUATRO ESPECIES DE MICROALGAS CON DIFERENTES FERTILIZANTES UTILIZADOS EN ACUICULTURA., 12.

Romo Piñera, A. K. (2002). MANUAL PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS. Recuperado de <http://biblio.uabcs.mx/tesis/TE1366.pdf>

Ruíz, B. C., Laguna, C. A., Iglesias, A. L. G., Damon, A., Marín, H., Azpíroz, R. H. S., & Moreno, M. J. L. (2008). Germinación in vitro de semillas de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr (Orchidaceae). *Phyton (Buenos Aires)*, 77, 203-215.

Santos, A. M., González-Arechavala, Y., & Martín-Sastre, C. (2014). Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. *Anales de mecánica y electricidad, XCI*, 20-28.

Shain Mercado, A. J., Torres Ariño, A., & Serrano Guzmán, S. J. (2007). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL CULTIVO MASIVO DE

MICROALGAS EN CONDICIONES SEMI-CONTROLADAS.

Laboratorio de Biotecnología de Microalgas, Universidad del Mar-Campus Puerto Ángel. Recuperado de

https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_I/II/Orales/OIII-16.pdf

Sliney, D. H. (2007). Radiometric Quantities and Units Used in Photobiology and Photochemistry: Recommendations of the Commission Internationale de l'Eclairage (International Commission on Illumination). *Photochemistry and Photobiology*, 83(2), 425-432. <https://doi.org/10.1562/2006-11-14-RA-1081>

Sociedad Peruana de Derecho Ambiental (SPDA) (Ed.). (2009). Cuestión de perspectiva: Conciliando Visiones de Conservación y Desarrollo, 28.

Torres Badillo, R. G., & Flores Tomala, D. G. (2011). Control de procesos de energías renovables: proceso de producción de biodiesel usando algas. una alternativa para no afectar el ecosistema o la cadena alimentaria. Aspectos técnicos y económicos. Recuperado de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/20018>

Villegas Montero, L. I. A. (2014). Isochrysis galbana. Recuperado 12 de diciembre de 2018, de <https://prezi.com/jtlxzmdijaed/isochrysis-galbana/>

Vivanco, G., Oliva, D., & Abarca, A. (2014). Efecto de dietas en base a microalgas tradicionales, nativas y dietas artificiales sobre el crecimiento y supervivencia en larvas velígeras de la almeja taquilla, *Mulinia edulis*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 339-349.

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

TÍTULO: “ESTUDIO COMPARATIVO DEL RENDIMIENTO DE BIOMASA DE *Isochrysis galbana* Y *Chaetoceros sp* UTILIZANDO DIFERENTES TIPOS DE LUZ EN LA REGIÓN TACNA, 2017”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>Pregunta general:</p> <p>¿Cuál es el rendimiento comparativo del cultivo de <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> con diferentes tipos de luz a escala experimental en la región Tacna?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Realizar un estudio comparativo y evaluar el rendimiento de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> utilizando dos diferentes tipos de luz a escala experimental en la región de Tacna.</p>	<p>Hipótesis general:</p> <p>El estudio comparativo y rendimiento de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> a escala experimental varía según el tipo de luz utilizado.</p>	<p><u>V. DEPENDIENTE</u></p> <p>Crecimiento experimental de microalgas.</p>	<p>Conteo de microalgas (cel/ml).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de parámetros de crecimiento y de supervivencia. • Registro de los parámetros abióticos.
<p>Preguntas específicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo será el rendimiento comparativo de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i>? • ¿Cuál es la influencia del tipo de luz usada para el crecimiento comparativo de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i>? 	<p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el rendimiento comparativo de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> • Realizar un estudio empleando dos diferentes tipos de luz durante la realización del experimento 	<p>Hipótesis específicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El rendimiento comparativo de las dos especies de microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> será óptimo en el cultivo experimental. • El tipo de luz influye significativamente en el estudio de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros sp.</i> 	<p><u>V. INDEPENDIENTE</u></p> <p>Tipo de luz (2) utilizado durante el experimento</p>	<p>Color de la luz: la luz blanca y luz azul.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cámara Neubauer • Microscopio • Termómetro • pH metro • Luxómetro

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 2: Análisis estadístico

Las pruebas estadísticas del análisis de varianza (ANVA) y las comparaciones múltiples de Tukey se efectuaron para los datos de rendimiento de biomasa, obtenidos en el mes de febrero, mayo y agosto. Se trabajó un DCA (Diseño Completamente al Azar) con cuatro tratamientos y tres réplicas.

Según la tabla N° 23, el análisis de varianza reporta que existe una elevada diferencia significativa entre los tratamientos, al menos uno de ellos fue diferente al otro con un 99% de confianza y con un coeficiente de variabilidad de 7,07%, por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula en el rendimiento de biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* durante el mes de febrero.

Tabla 23: Análisis de varianza (ANVA) en el mes de febrero del rendimiento de biomasa

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	2,96	3	0,99	376,50	<0,0001
Tratamiento	2,96	3	0,99	376,50	<0,0001
Error	0,02	8	2,6 E-03		
Total	2,99	11			
CV	7,07				

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla N° 24, la prueba de contraste múltiple de Tukey referido al crecimiento de la biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* en el mes de febrero reportó que en el tratamiento 3 (*Chaetoceros sp.* con luz blanca) tuvo el máximo rendimiento con $1,38 \times 10^6$ cel/ml y se diferenció con respecto a los demás tratamientos; el

tratamiento 4 (*Chaetoceros sp.* con luz azul) ocupó el segundo lugar con $1,00 \times 10^6$ cel/ml; el tratamiento 1 (*Isochrysis galbana* con luz blanca) ocupó el tercer lugar con $0,42 \times 10^6$ cel/ml y el tratamiento 2 (*Isochrysis galbana* con luz azul) obtuvo el mínimo rendimiento con $0,10 \times 10^6$ cel/ml ocupando el último lugar.

Tabla 24: Prueba de contraste múltiple de Tukey para el rendimiento de biomasa en el mes de febrero

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T3	1,38	3	0,03	A
T4	1,00	3	0,03	B
T1	0,42	3	0,03	C
T2	0,10	3	0,03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla N° 25, el análisis de varianza reporta que existe una elevada diferencia significativa entre los tratamientos, al menos uno de ellos fue diferente al otro con un 99% de confianza y con un coeficiente de variabilidad de 3,55%, por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula en el rendimiento de biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* durante el mes de mayo.

Tabla 25: Análisis de varianza (ANVA) en el mes de mayo del rendimiento de biomasa

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	1,71	3	0,57	593,19	<0,0001
Tratamiento	1,71	3	0,57	593,19	<0,0001
Error	0,01	8	9,6 E-04		
Total	1,71	11			
CV	3,55				

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla N° 26, la prueba de contraste múltiple de Tukey referido al crecimiento de la biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* en el mes de mayo reportó que en el tratamiento 3 (*Chaetoceros sp.* con luz blanca) tuvo el máximo rendimiento con $1,51 \times 10^6$ cel/ml y se diferenció con respecto a los demás tratamientos; el tratamiento 1 (*Isochrysis galbana* con luz blanca) ocupó el segundo lugar con $0,75 \times 10^6$ cel/ml; el tratamiento 2 (*Isochrysis galbana* con luz azul) ocupó el tercer lugar con $0,65 \times 10^6$ cel/ml; y el tratamiento 4 (*Chaetoceros sp.* con luz azul) obtuvo el mínimo rendimiento con $0,56 \times 10^6$ cel/ml ocupando el último lugar.

Tabla 26: Prueba de contraste múltiple de Tukey para el rendimiento de biomasa en el mes de mayo

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T3	1,51	3	0,02	A
T1	0,75	3	0,02	B
T2	0,65	3	0,02	C
T4	0,56	3	0,02	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla N° 27, el análisis de varianza reporta que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, al menos uno de ellos fue diferente al otro con un 95% de confianza y con un coeficiente de variabilidad de 2,55%, por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula en el rendimiento de biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* durante el mes de agosto.

Tabla 27: Análisis de varianza (ANVA) en el mes de agosto del rendimiento de biomasa

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	3	0,01	5,88	0,0202
Tratamiento	0,04	3	0,01	5,88	0,0202
Error	0,02	8	2,2 E-03		
Total	0,06	11			
CV	2,55				

Fuente: Elaboración propia

Según la tabla N° 28, la prueba de contraste múltiple de Tukey referido al crecimiento de la biomasa de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* en el mes de agosto reportó que en el tratamiento 3 (*Chaetoceros sp.* con luz blanca) obtuvo el máximo rendimiento en biomasa con $1,90 \times 10^6$ cel/ml y no se diferenció con respecto al tratamiento 1 (*Isochrysis galbana* con luz blanca) que obtuvo $1,82 \times 10^6$ cel/ml y el tratamiento 4 (*Chaetoceros sp.* con luz azul) que obtuvo un valor de $1,78 \times 10^6$ cel/ml, pero si con respecto al tratamiento 2 (*Isochrysis galbana* con luz azul) el cual ocupó el último lugar con $1,755 \times 10^6$ cel/ml.

Tabla 28: Prueba de contraste múltiple de Tukey para el rendimiento de biomasa en el mes de agosto

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
T3	1,90	3	0,03	A	
T1	1,82	3	0,03	A	B
T4	1,78	3	0,03	A	B
T2	1,75	3	0,03		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Fuente: Elaboración Propia

En los 3 casos se acepta la hipótesis alterna existiendo diferencias entre los tratamientos.

Anexo 3: Fase de cepario: cepas de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*

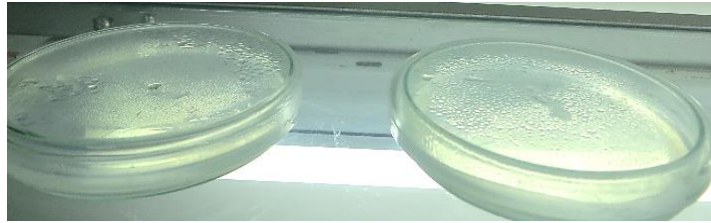


Figura 28. Mantenimiento de cepas de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* en medio sólido (placas petri)



Figura 29. Mantenimiento de cepas de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* en medio líquido (contenidas en tubos de ensayo).

Anexo 4: Fase de cultivo inicial



Figura 30. Cultivo inicial de *Isochrysis galbana* en matraces de 250 y 500 ml. de capacidad.



Figura 31. Cultivo inicial de *Chaetoceros sp.* en matraces de 250 y 500 ml. de capacidad.

Anexo 5: Fase de cultivo intermedio

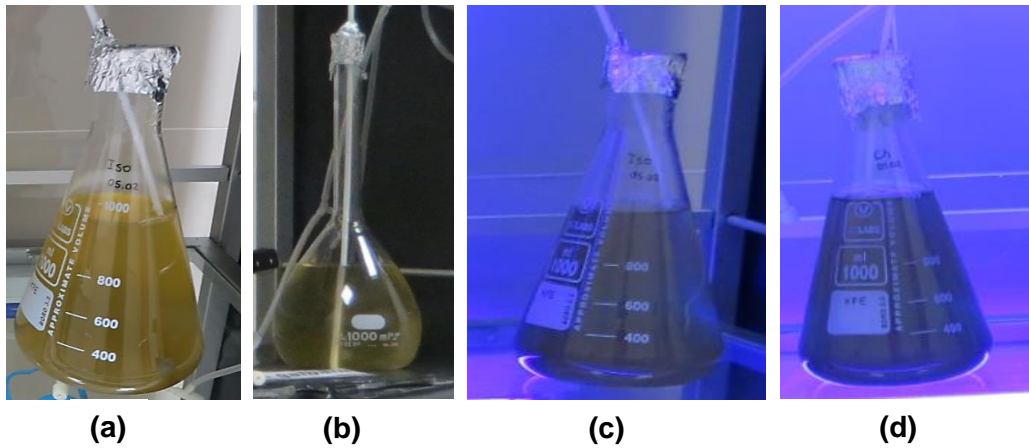


Figura 32. (a) Cultivo de *Isochrysis galbana* en matraces de 1 L. con tratamiento de luz blanca, (b) Cultivo de *Chaetoceros sp.* en matraces de 1 L, con tratamiento de luz blanca, (c) Cultivo de *Chaetoceros sp.* en matraces de 1 L. con tratamiento de luz azul y (d) Cultivo de *Isochrysis galbana* en matraces de 1 L, con tratamiento de luz azul.

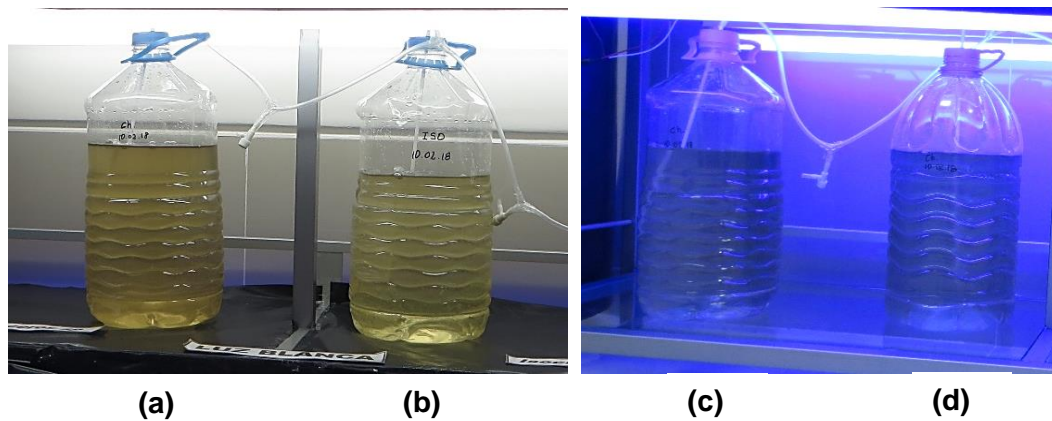


Figura 33. (a) Cultivo de *Chaetoceros sp.* en botellas de 7 L, con tratamiento de luz blanca, (b) Cultivo de *Isochrysis galbana* en botellas de 7 L, con tratamiento de luz blanca, (c) Cultivo de *Chaetoceros sp.* en botellas de 7 L, con tratamiento de luz azul y (d) Cultivo de *Isochrysis galbana* en botellas de 7 L, con tratamiento de luz azul.

Anexo 6: Repiques de microalgas



Figura 34. Repiques de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* en el laboratorio

Anexo 7: Observación y conteo de las microalgas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*

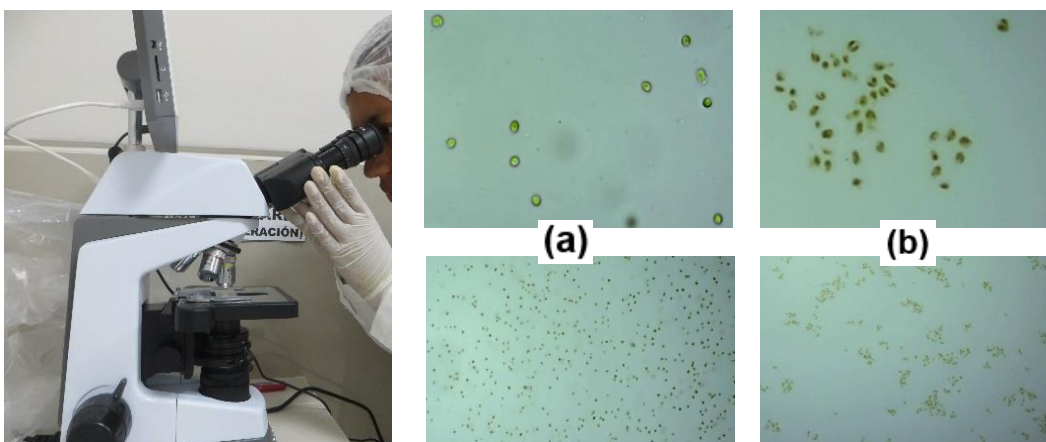


Figura 35. Observación de la calidad de las microalgas (a) *Isochrysis galbana* y (b) *Chaetoceros sp.*

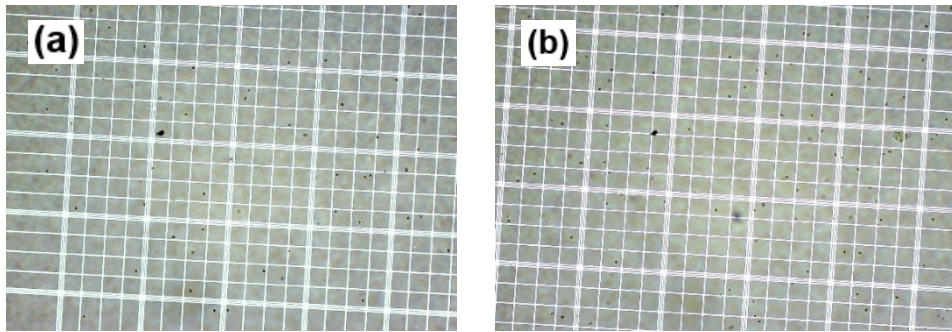


Figura 36. Recuento microalgal en la Cámara de Neubauer de **(a)** *Isochrysis galbana* y **(b)** *Chaetoceros sp.*

Anexo 8: Sala de cultivo de microalgas



Figura 37. Estante con cultivo de microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* por tratamiento de luz blanca y luz azul.

Anexo 9: Proceso de centrifugado de microalgas

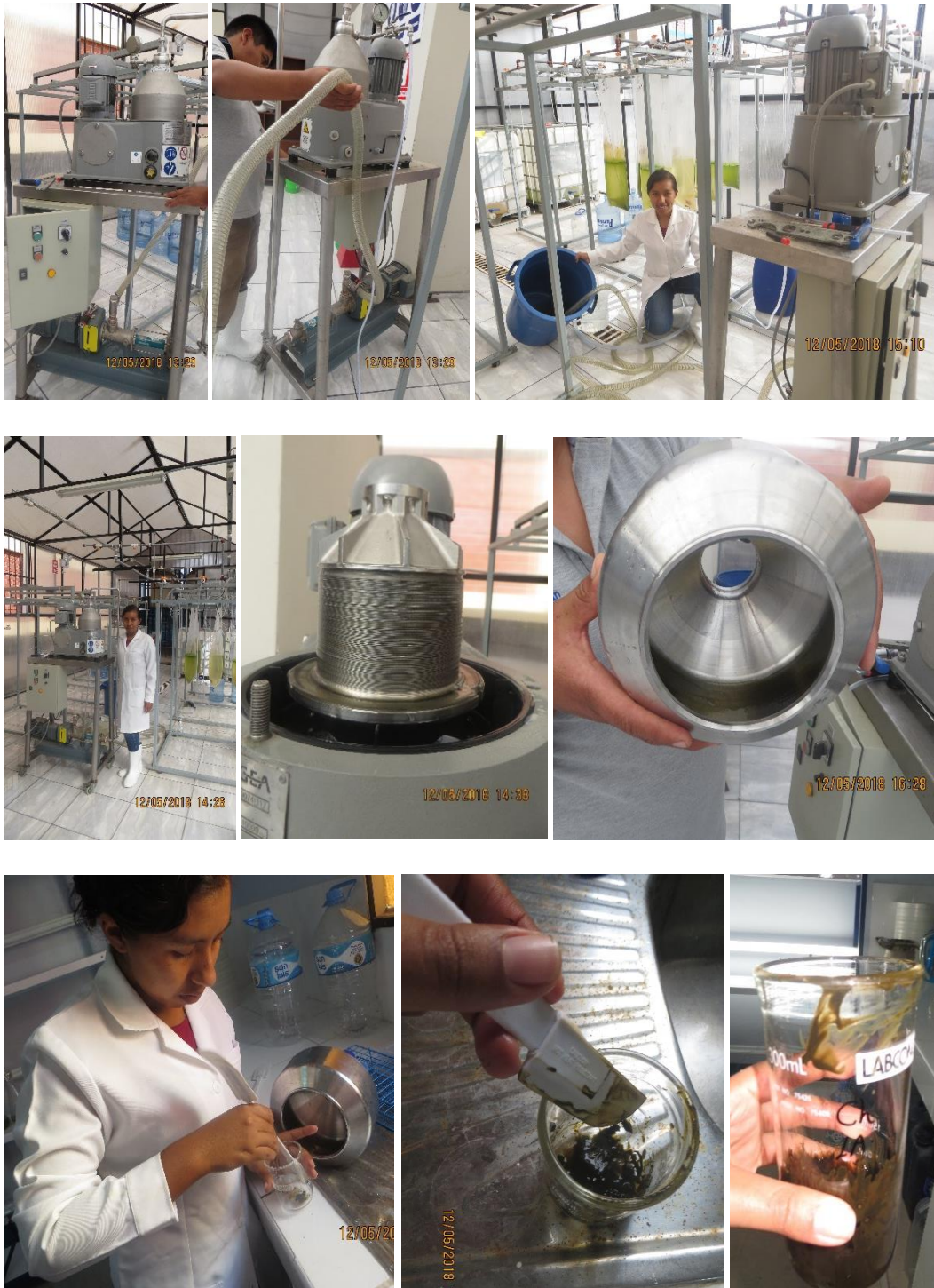


Figura 38. Centrífuga industrial adaptada para microalgas y el proceso de centrifugado

Anexo 10: Proceso de ultracongelado de microalgas



Figura 39. Ultracongelador con las muestras de microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* previamente centrifugadas.

Anexo 11: Proceso de liofilización de microalgas





Figura 40. Liofilización de las muestras de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*

Anexo 12: Muestras de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.* envasadas y selladas



Figura 41. Muestras liofilizadas de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros sp.*, por tratamiento de luz blanca y luz azul