

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

Efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ácido acético en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de *Scenedesmus acutus*

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

Autores

Bach. Caruajulca Vegas, Angie Merrysu

Bach. Robles Acuña, Milagros Yoceline

Asesor

Dr. Merino Moya, Juan Fernando

ORCID: 0000-0002-4848-3190

Nuevo Chimbote – Perú

2023

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



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

Efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ácido acético en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de *Scenedesmus acutus*


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

Autores

Bach. Caruajulca Vegas, Angie Merryshu

Bach. Robles Acuña, Milagros Yoceline

REVISADO Y APROBADO POR EL ASESOR



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

Nuevo Chimbote – Perú

2023

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



UNS


UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA


Efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ácido acético
en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de
Scenedesmus acutus


Sustentado por

Bach. Caruajulca Vegas, Angie Merryshu
Bach. Robles Acuña, Milagros Yoceline

Jurado evaluador


Dr. Rómulo Eugenio Doayza Aguilar
DNI N° 32813194
ORCID: 0000-0002-1247-8277
Presidente


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


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

ACTA DE LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES POSTERIOR A LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS Y CERTIFICACIÓN

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Laboratorio de Biología Acuática....., dando cumplimiento a la Resolución N° 339-2023-UNS-FC, siendo las 12:00 horas del día 19/12/23 se reunió el Jurado Evaluador presidido por Dr. Romulo Loayza Aguilar....., teniendo como miembros a MSc. Sorayda Mendoza Espinoza..... (secretario) (a) y Dr. Juan Fernando Merino Moya..... (Integrante), para el levantamiento de observaciones posterior a la sustentación de tesis, presentada por (el), (la), (los) tesisistas Bach. Hplagos Yaceline Robles Auzá y Bach. Argie Merryshu Carruagolca Uegas..... quien (es) expuso (ieron) el trabajo intitulado: Efecto del extracto de valvas de Argopecten purpuratus con ácido acético sobre el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de Scenedesmus acutus.....

Terminada la revisión se observa que (el), (la), (los) tesisistas han cumplido con levantar las observaciones, por tanto se CERTIFICA LA APROBACIÓN DE LA TESIS EN MENCIÓN.

Siendo las 13:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad.

.....
Nombre: Romulo Loayza Aguilar
Presidente

.....
Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza
Secretario

.....
Nombre: Juan Fernando Merino Moya
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (03), tesisistas (02) y archivo FC (02).



ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUTENTACIÓN DE LA TESIS

En el Distrito de Nuevo Chimbote, en la Universidad Nacional de Santa, en el Laboratorio de Biología Acuática, siendo las 11:00 horas del día 04 de diciembre del 2023, dando cumplimiento a la Resolución N° 339-2023-UNS-R, se reunió el Jurado Evaluador presidido por Dr. Romulo Loayza Aguilar, teniendo como miembros a M.Sc. Sorayda Mendoza Espinoza (secretario) (a), y Dr. Juan Fernando Merino Moya (integrante), para la sustentación de tesis a fin de optar el título de Biólogo Acuicultor, realizado por el, (la), (los) tesista (as) Bach. Milagros Yaceline Robles Aariza y Bach. Angie Merryshe Caruaglan Vegas, quien (es) sustentó (aron) la tesis intitulada: Efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ácido acético sobre el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de *Scenedesmus acutus*

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

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como EXCELENTE asignándole un calificativo de 19 puntos, según artículo 111° del Reglamento General de Grados y Títulos vigente (Resolución N° 580-2022-CU-R-UNS)

Siendo las 12:00 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad

Nombre: Romulo Loayza Aguilar
Presidente

Nombre: Sorayda Mendoza Espinoza
Secretario

Nombre: Juan Fernando Merino Moya
Integrante

Distribución: Integrantes J.E (03), tesis (02) y archivo (02).



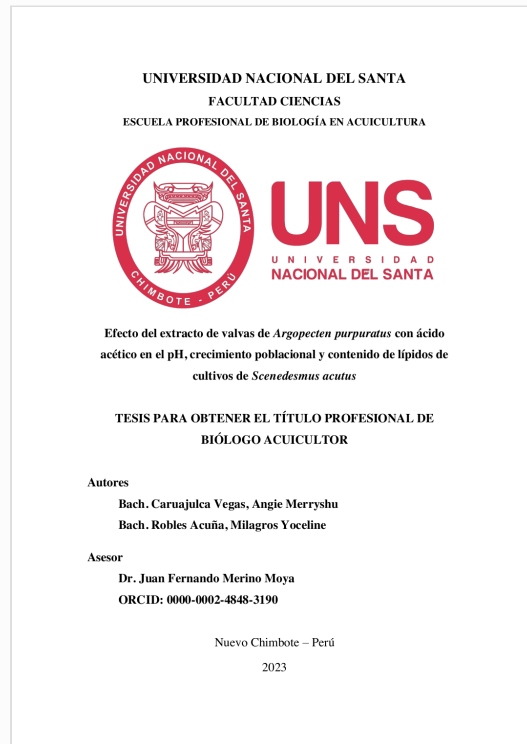


Recibo digital

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

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Milagros Yoceline Robles Acuña
Título del ejercicio: TRABAJOS DE TESIS
Título de la entrega: Efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ...
Nombre del archivo: TESIS-CARUAJULCA-ROBLES--.pdf
Tamaño del archivo: 1.15M
Total páginas: 51
Total de palabras: 14,551
Total de caracteres: 78,397
Fecha de entrega: 21-dic.-2023 09:15a. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 2241985446



Efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ácido acético en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de *Scenedesmus acutus*

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	7%
2	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	2%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	zaloamati.azc.uam.mx Fuente de Internet	<1%
5	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	<1%
6	repository.lppm.unila.ac.id Fuente de Internet	<1%
7	repositorio.uisek.edu.ec Fuente de Internet	<1%
8	uvadoc.uva.es Fuente de Internet	<1%

Dedicatoria

A Dios, por ser mi guía para cumplir mis propósitos y metas.

A mis padres Edelmira y Ricardo y mi mami Catalina, por su sacrificio, por su esfuerzo, dedicación, amor, comprensión y confianza, por ser mi ejemplo a seguir y ser mi motor para no rendirme a pesar de las circunstancias.

A mis hermanos Zumiko y Edwar por ser el apoyo más grande que cualquier hermana puede tener en el mundo.

A mi Oddy por ser ese ser de luz que llego a mi vida para ordenarla y hacer de mí una mejor persona.

Milagros Yoceline Robles Acuña

Dedico mi tesis a Dios, por darme la fuerza necesaria para poder seguir cumplimiento mis metas.

A mis padres, María y Angel, por su amor, por el esfuerzo y sacrificio que hicieron para poder brindarme la educación que pensaron, es la adecuada para mí.

A mis hermanos, Andhelo y Antonella, quienes me enseñaron que si se trabaja en equipo todo se puede.

A mi sobrinita, Angela, por llegar en el momento menos pensado, pero convertirse en la luz e impulso de la familia, para seguir adelante.

A mi mamita Tempora, por siempre estar incondicionalmente con su apoyo, su amor, sus oraciones, y a mi papito Fidel, por siempre soñar con mis logros en vida, y ahora guiarme desde el cielo.

A mis amigos, Bryan, Cinthia, Grecia, Magnolia y Xiomara, por alentarme a continuar con mis metas, y recordarme que todo lo que verdaderamente se propone, es posible.

A Carmen Chimbor y Milthon Lujan, por ser mis mentores y confiar en mi siempre.

Angie Merryshu Caruajulca Vegas

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad Nacional del Santa, Facultad de Ciencias – Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura, por habernos brindado la oportunidad de ejecutar la tesis en sus instalaciones y aportar con nuestra formación profesional.

Al Dr. Fernando Merino Moya, por ser nuestro asesor y su importante labor al brindarnos los conocimientos necesarios para ejecutar con éxito nuestra investigación.

Al Dr. Luis Campoverde Vigo, por compartirnos sus conocimientos como nuestro profesor y por su apoyo en todo momento con los tramites, como director de escuela.

A la profesora Sorayda, por su apoyo incondicional y compartirnos sus conocimientos.

Al Dr. Romulo Loayza, por ser un excelente profesor, y apoyarnos a desarrollar nuestro criterio.

A la señora Maribel, por apoyarnos con los materiales de laboratorio necesarios y tratar siempre de contagiarnos con su entusiasmo que la caracteriza.

Al Dr. Gustavo Vargas y a la empresa COLECBI SAC, por apoyarnos con la realización de los análisis químicos.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	4
Agradecimientos	5
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
I. INTRODUCCION	1
Planteamiento del problema	4
Hipótesis	4
Objetivos	5
II. MARCO TEORICO	6
III. MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1 Diseño experimental	9
3.2 Procedencia del inóculo	9
3.3 Medio de cultivo experimental EVCA	10
3.4 Acondicionamiento de los cultivos experimentales	10
3.5 Crecimiento poblacional	11
3.6 Determinación de la biomasa	11
3.7 Evaluación del pH y temperatura	12
3.8 Determinación de lípidos	12
3.9 Análisis estadístico	12
IV. RESULTADOS	13
4.1 Caracterización del EVCA	13
4.2 Crecimiento poblacional	13
4.3 Producción de biomasa	16
4.4 Contenido de lípidos	17
4.5 Parámetros físico-químicos de los cultivos	17
V. DISCUSIÓN	20
VI. CONCLUSIONES	26
VII. RECOMENDACIONES	27
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
ANEXOS	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curvas de crecimiento de los cultivos de <i>S. acutus</i> con el medio EVCA.....	15
Figura 2. Crecimiento de los cultivos de <i>S. acutus</i> con medio HM y EVCA en el día 7.	16
Figura 3. Variación de la temperatura de los cultivos de <i>S. acutus</i> con medio HM y EVCA.	18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental para los cultivos de <i>S. acutus</i>	9
Tabla 2. Composición del medio de cultivo HM.....	9
Tabla 3. Composición química del medio EVCA utilizado en los cultivos de <i>S. acutus</i>	13
Tabla 4. Análisis estadístico del crecimiento poblacional de los cultivos de <i>S. acutus</i> con el medio EVCA.	14
Tabla 5. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento específico y tiempo de duplicación de los cultivos de <i>S. acutus</i> con medio HM y EVCA, en el día 6.....	16
Tabla 6. Biomasa total de los cultivos de <i>S. acutus</i> en el día 7.	16
Tabla 7. Contenido de lípidos totales de los cultivos de <i>S. acutus</i> con medio HM y EVCA.	17
Tabla 8. Análisis estadístico del pH de los cultivos de <i>S. acutus</i> con el medio HM y EVCA.	18

RESUMEN

Los residuos de *Argopecten purpuratus* son una fuente de sales minerales que tienen diversas aplicaciones, incluido el cultivo de microalgas. En este trabajo, se evaluó el efecto del extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus*. Para ello, se elaboró un patrón de extracto acuoso de valvas de concha de abanico (EVCA) con ácido acético. Los cultivos experimentales se realizaron en fotobiorreactores con 1000 mL de volumen, aireación a un flujo de 1.5 L min⁻¹ e iluminación a 1500 Lux. Las concentraciones del medio experimental fueron de 2.5, 5.0 y 7.5 mL L⁻¹, y como medio control se utilizó HM. Se determinó el crecimiento poblacional, la biomasa y los lípidos de los cultivos. Los resultados indican que con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA se obtiene el máximo crecimiento poblacional ($1164 \pm 64 \times 10^4$ cel mL⁻¹) que superó al control HM ($1090 \pm 53 \times 10^4$ cel mL⁻¹) y a los demás tratamientos en el día 6. Asimismo, con 7.5 mL L⁻¹ se obtiene la mayor biomasa (0.93 ± 0.17 g L⁻¹) en comparación con el control HM (0.65 ± 0.11 g L⁻¹). En cuanto al contenido de lípidos, los tratamientos con 2.5 mL L⁻¹ y 5.0 mL L⁻¹ de EVCA exhibieron los contenidos de lípidos más altos (30.61 ± 2.48 y $29.47 \pm 5.54\%$, respectivamente) en comparación con el control HM ($18.88 \pm 2.50\%$). Estos resultados demuestran la factibilidad de utilizar las valvas de *A. purpuratus* diluidas con ácido acético para mejorar los cultivos de *S. acutus*.

Palabras clave: microalgas, concha de abanico, lípidos, biomasa. *Scenedesmus*.

ABSTRACT

The residues of *Argopecten purpuratus* are a source of mineral salts that have diverse applications, including microalgae culture. In this work, the effect of *A. purpuratus* shell extract with acetic acid on pH, population growth and lipid content of *Scenedesmus acutus* was evaluated. For this purpose, an aqueous extract standard of fan shell aqueous extract (EVCA) with acetic acid was prepared. Experimental cultures were performed in photobioreactors with 1000 mL volume, aeration at a flow rate of 1.5 L min⁻¹ and illumination at 1500 Lux. The concentrations of the experimental medium were 2.5-, 5.0-, and 7.5-mL L⁻¹, and HM was used as control medium. The population growth, biomass and lipids of the cultures were determined. The results indicate that with 7.5 mL L⁻¹ EVCA the maximum population growth ($1164 \pm 64 \times 10^4$ cells mL⁻¹) was obtained, which exceeded the HM control ($1090 \pm 53 \times 10^4$ cells mL⁻¹) and the other treatments on day 6. Likewise, at 7.5 mL L⁻¹ the highest biomass (0.93 ± 0.17 g L⁻¹) was obtained compared to the HM control (0.65 ± 0.11 g L⁻¹). As for lipid content, the treatments with 2.5 mL L⁻¹ and 5.0 mL L⁻¹ EVCA exhibited the highest lipid contents (30.61 ± 2.48 and $29.47 \pm 5.54\%$, respectively) compared to the HM control ($18.88 \pm 2.50\%$). These results demonstrate the feasibility of using *A. purpuratus* shells diluted with acetic acid to enhance *S. acutus* cultures.

Key words: microalgae, fan shell, lipids, biomass. *Scenedesmus*.

I. INTRODUCCION

Argopecten purpuratus es uno de los moluscos más importantes a nivel mundial para la acuicultura (Ramajo *et al.*, 2022). En el Perú, su producción es exitosa debido a las buenas condiciones climáticas para su producción y la alta productividad primaria (Alcázar & Mendo, 2008). En el 2021, se posicionó como el segundo exportador de este molusco, con el 12% de las exportaciones en Latinoamérica, siendo las principales regiones de producción Piura (73%) y Ancash (18%). Además, se ha reportado que, hasta mayo del 2022, el sector productivo de *A. purpuratus* superó los US\$ 50 millones en exportación, y se estima que para el fin del 2022 se alcance los US\$ 130 millones (MINCETUR, 2022); revelando la importancia de esta actividad para la economía del país. Sin embargo, Loayza *et al.* (2023), estimaron un volumen de producción de residuos de *A. purpuratus* en forma de valvas, que en el 2013 fue de 40616 t.

La producción de *A. purpuratus* se enfrenta a significativos desafíos ambientales, tanto durante su cultivo como en las etapas de procesamiento. Uno de los problemas destacados es el biofouling, un fenómeno que implica la acumulación de organismos marinos en las estructuras utilizadas para el cultivo de conchas de abanico el cual no solo afecta la eficiencia del cultivo, sino que también contribuye al deterioro de las bahías donde se lleva a cabo la acuicultura (Loayza & Tresierra, 2014). Además, el proceso de procesamiento de esta especie genera volúmenes sustanciales de desechos orgánicos, planteando desafíos relacionados con la gestión ambiental de estos residuos (Chulle, 2017). Estos problemas destacan la necesidad de abordar no solo los aspectos productivos de la acuicultura de *A. purpuratus*, sino también las consideraciones ambientales y de sostenibilidad a lo largo de toda la cadena de producción, desde el cultivo hasta el procesamiento.

Dentro de los impactos ambientales más significativos derivados de las actividades de procesamiento de *A. purpuratus*, se encuentra el problema de los residuos de las valvas (Chulle, 2017). Se estima que solo el 15% de la biomasa de esta especie se aprovecha (tallo y gónada), dejando un 85% que se compone de residuos de valvas y vísceras (Carrillo-Siancas, 2017). Los residuos blandos (visceras) constituyen aproximadamente el 15% de la biomasa (Colán-Ramos *et al.*, 2019), lo que significa que aproximadamente el 70% del peso corresponde a las valvas. Teniendo en cuenta los volúmenes de producción, que alcanzaron las 13.3 mil toneladas métricas en 2021 (PRODUCE, 2021),

es evidente que nos enfrentamos a un grave problema debido a las enormes cantidades de desechos de valvas, que considerando los porcentajes de biomasa que se aprovechan, se estarían generando 9.31 millones anuales, aproximadamente.

La bahía de Sechura es uno de los principales cuerpos de aguas en donde se desarrolla el cultivo de *A. purpuratus*, en sistemas de corrales y long line (Yenquen, 2021). En este lugar se evidencia el problema de contaminación por las valvas de *A. purpuratus*, las cuales son arrojadas a botaderos informales situados alrededor de la bahía, generando olores fétidos, presencia de moscas, roedores y cucarachas (Chu, 2019). Además, un estudio de la presencia de valvas en el fondo de la bahía ha determinado que estas modifican la comunidad del macrobentos, al modificar la estructura del fondo y los parámetros fisicoquímicos del agua (Lomovasky *et al.*, 2015). Esto representa un problema para el medio ambiente, pero también para la salud de los habitantes de esta zona, porque las valvas originan la presencia de vectores que pueden transmitir enfermedades (Carrillo-Siancas, 2017). Aunque no se dispone de reportes sobre los efectos de la industria de *A. purpuratus* en Ancash, se infiere que ocurren problemas similares. Un estudio reporta su disposición en botaderos, a disposición para su reutilización (Farfán-Raymundo, 2015). En ese sentido, es necesario desarrollar medidas dirigidas a reducir el impacto de las valvas, como por ejemplo mediante su reutilización en otras actividades. Tomando como ejemplo la producción de conchas de abanico en el 2013 (67 694 t), en este año se habría producido un volumen de 40 616 t de valvas (Loayza *et al.*, 2023).

Las valvas de concha de abanico, también conocidas como vieiras, presentan una estructura compleja y resistente. Se componen principalmente de carbonato de calcio, estas conchas poseen un diseño laminar que consiste en capas concéntricas, las cuales otorgan fuerza y durabilidad a la estructura (Yauri & Anderson, 2021). Algunas investigaciones han sido conducidas para reutilizar las valvas. Un estudio sobre materiales alternativos de construcción ha sugerido la posibilidad de utilizar valvas molidas de *A. purpuratus* como un sustituto del agregado fino en la elaboración del concreto (Carrillo-Siancas, 2017). En otro estudio, han utilizado las valvas en artesanías y para el afirmamiento de caminos (Díaz & Veintimilla, 2019). También, se ha desarrollado un agente floculante a partir de las valvas de *A. purpuratus*, mediante su calcinación para obtener óxido de calcio, que posteriormente se utiliza para la floculación de contaminantes en aguas residuales (Siswoyo *et al.*, 2021). No obstante, es importante

destacar que el proceso de calcinación conlleva la emisión de CO₂ al medio ambiente, lo que contribuye al problema del cambio climático. Otro estudio propone el uso de las valvas como agente de eliminación de metales pesados del agua mediante el uso de valvas calcinadas (Moreno, 2016).

Por otro lado, también se ha propuesto la reutilización de las valvas de *A. purpuratus* como una alternativa viable para el cultivo de microalgas. Su cultivo representa una alternativa prometedora para la recuperación de entornos contaminados y el tratamiento de residuos sólidos y líquidos (Sánchez, 2022; Buitrón, 2021; Pardo, 2020). Entre las microalgas más fáciles de cultivar se tiene a *Scenedesmus acutus*, la cual puede ser cultivada con diferentes medios elaborados a partir de residuos orgánicos (Vereau & Quiroz, 2015; Cam & Mostacer, 2019; Esquivel, 2023), incluido el extracto de valvas de concha de abanico (10 mL L⁻¹ de EVCA) (López & Ríos, 2014).

S. acutus es una microalga valiosa en biotecnología y alimentación. Se conoce que, su cultivo se ve influido significativamente por el pH del medio, teniendo un papel fundamental en el desarrollo y la producción de esta microalga (González-Falfán *et al.*, 2021). Por lo tanto, el mantenimiento de un pH óptimo en el medio de cultivo es vital para maximizar su crecimiento, metabolismo y calidad de producción. Desviaciones considerables en los niveles de pH pueden afectar negativamente su viabilidad y la producción de biomasa de los cultivos microalgales (Abalde, 1995), lo que destaca la importancia de controlar cuidadosamente este parámetro en los sistemas de cultivo, para obtener rendimientos óptimos y sostenibles.

Reutilizar las valvas de concha de abanico para extraer extractos y luego utilizar esos extractos en la producción de cultivos de algas como *Scenedesmus acutus* representa una forma de reciclaje y aprovechamiento de recursos. Esto puede reducir la cantidad de desechos orgánicos y contribuir a un enfoque más sostenible en la gestión de residuos. El estudio puede proporcionar información importante sobre el potencial de los extractos de valvas de concha de abanico en el cultivo de algas, lo que podría tener implicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica o de biocombustibles. Además, esta investigación podría ser el punto de partida para futuros estudios que exploren aún más el uso de estos recursos en diferentes campos.

Además, el ácido acético tiene ventajas que podrían ser relevantes para el estudio. El ácido acético tiene propiedades conservantes y antimicrobianas (Knudson-Ospina et al., 2017). En el presente estudio, podría ayudar a preservar los extractos de valvas de concha de abanico, evitando la descomposición o el crecimiento microbiano no deseado. Además, el ácido acético puede funcionar como un agente modulador del pH. Controlar el pH es fundamental para asegurar las condiciones óptimas para el crecimiento de las algas (Fernandes et al., 2022). Un estudio similarmente, utilizó valvas de concha de abanico diluidas con HCl (10%) a una concentración de 10 mL L^{-1} , con los que obtuvieron buenos crecimientos en *S. acutus*.

Planteamiento del problema

Dentro de este contexto, surge la necesidad de abordar el potencial de las valvas de *A. purpuratus* en el cultivo de microalgas. Así, planteamos la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál será el efecto del extracto de valvas de *A. purpuratus* tratadas con ácido acético en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de los cultivos de *S. acutus*?

Hipótesis

Si empleamos concentraciones de 2.5, 5.0 y 7.5 mL L^{-1} de extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético en el cultivo de *S. acutus*, se obtendrá mayor crecimiento poblacional y contenido de lípidos con la concentración de 5.0 mL L^{-1} y menor pH con la concentración de 7.5 mL L^{-1} .

Las concentraciones evaluadas fueron estimadas mediante pre ensayos en el laboratorio.

Variable independiente: Concentración de extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético.

Variable dependiente: crecimiento poblacional (C), contenido de lípidos [L] y [pH].

Ho: $CT1 = CT2 = CT3$; $[L]T1 = [L]T2 = [L]T3$; $[pH]T1 = [pH]T2 = [pH]T3$

Hi: $CT1 < CT2 > CT3$; $[L]T1 < [L]T2 > [L]T3$; $[pH]T1 < [pH]T2 < [pH]T3$

Donde T1, T2 y T3, representan los tratamientos 1, 2 y 3.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto del extracto de valvas de *Argopecten purpuratus* con ácido acético en el pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos de cultivos de *Scenedesmus acutus*.

Objetivos específicos

- Caracterizar el extracto de valvas de *A. purpuratus* elaborado con ácido acético.
- Determinar el efecto de diferentes concentraciones 2.5, 5.0 y 7.5 mL L⁻¹ del extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético en el pH de los cultivos de *S. acutus*.
- Determinar el efecto del extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético sobre el crecimiento poblacional *S. acutus*.
- Determinar el efecto del extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético sobre el contenido de lípidos de *S. acutus*.

II. MARCO TEORICO

Las microalgas son organismos fotosintéticos unicelulares que viven en el mar o agua dulce, convirtiendo la energía solar, el agua y el dióxido de carbono en biomasa algal (Ruane *et al.*, 2010). Pueden ser clasificadas como eucariotas o procariotas (Mata *et al.*, 2010). La producción de microalgas se considera como una de las actividades más prometedoras para la captura de CO₂ debido a la extraordinaria productividad de la biomasa, la cual tiene la ventaja adicional de producir diversos metabolitos de interés comercial (Hadipoor *et al.*, 2021). En la actualidad, se han reportado más de 50,000 especies de microalgas, dentro de las cuales las más cultivadas son las de los géneros *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chaetoceros*, entre otras (Sathasivam *et al.*, 2019).

En las últimas décadas, su cultivo viene experimentado un crecimiento significativo, siendo empleadas tanto en la producción de proteínas, vitaminas y otros suplementos nutricionales, como en la purificación de aguas residuales, la mejora de la calidad del agua y su aplicación como biofertilizantes (Mutanda *et al.*, 2020). Se ha registrado que algunas especies de microalgas son un excelente complemento alimenticio para el hombre, por ejemplo, las harinas de *Spirulina* y *Scenedesmus* se caracterizan por su alto valor proteico y sin efectos tóxicos (Teuling *et al.*, 2017), además, como alimento para la acuicultura resaltan *Chaetoceros* y *Thalassiosira* (Saxena *et al.*, 2022), por su interés comercial *Dunaliella* para la producción de biodiesel (Sugumar *et al.*, 2020) y algunas especies con importancia como *Gymnodinium* por ser causante de mareas rojas (Medina *et al.*, 2012).

Las microalgas requieren varios componentes nutricionales para su crecimiento (Chowdury *et al.*, 2020). Dichas necesidades suelen determinarse por métodos experimentales en cultivos a pequeña escala, mediante los cuales se optimiza el medio de cultivo (de Carvalho *et al.*, 2019). En la actualidad, las investigaciones se han centrado en proponer modificaciones de los medios de cultivo con el fin de lograr una mayor productividad (González-Delgado *et al.*, 2017), sin embargo, la modificación del medio de cultivo tiene un impacto sobre la calidad y composición química de la biomasa (Morales *et al.*, 2020).

La microalga *S. acutus* (Meyen, 1829) se encuentra clasificada dentro de la División Chlorophyta, la Clase Chlorophyceae, el Orden Chlorococcales y la Familia

Scenedesmaceae. Esta microalga puede encontrarse tanto de forma individual como en colonias, donde forma cenobios, especialmente en condiciones propicias de crecimiento, como una temperatura de alrededor de 28 ± 2 °C y un pH que oscila entre 6.5 y 9.5 (Garibay *et al.*, 2009). Lo que la distingue es su capacidad para tolerar altas concentraciones de nutrientes presentes en aguas residuales, su metabolismo activo y su resistencia a las fluctuaciones ambientales, lo que le permite sobrevivir incluso en entornos extremos (Geng *et al.*, 2014).

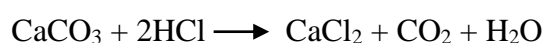
S. acutus está facultada para sintetizar sustancias orgánicas, y su cultivo se ha realizado al aire libre en la Planta de Producción de Microalgas en Sausal-Trujillo, en piletas de 10, 500 y 1000 m² utilizando como medio de cultivo la fórmula desarrollada por Heussler y Merino (medio HM) (Merino, 2002), obteniéndose rendimientos de aproximadamente 10 g m² día⁻¹. Crece formando cenobios de 1, 2, 4 y/o 8 células. Esta forma de crecimiento ha sido sugerida como un mecanismo para evitar a los predadores (Lürling, 2011). Además, la presencia de un mayor número de células de 8 cenobios indica un mejor crecimiento de las microalgas.

Estudios experimentales han demostrado que las microalgas pueden aprovechar eficientemente el CO₂ obtenido de la disolución ácida de las valvas de *A. purpuratus*. En *Tetraselmis suecica*, se ha evaluado concentraciones de 1, 5 y 10 % de CO₂ a partir de valvas de *A. purpuratus*, logrando mayor biomasa (250 mg L⁻¹) con 10% (Merino-Moya *et al.*, 2014). Asimismo, como resultado de la disolución de las valvas con ácido clorhídrico (HCl) se ha obtenido un extracto acuoso de valvas, denominado EVCA, el cual fue utilizado como medio de cultivo para *S. acutus* con rendimientos de 15×10^4 células mL⁻¹ (López y Ríos., 2014).

Resulta importante considerar que el medio de cultivo para las microalgas debe aportar nutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, hierro, entre otros, en cantidades específicas. En tal sentido, es común recurrir al uso de nutrientes químicos de alto grado de pureza y de altos costos (Paniagua *et al.*, 1986). Sin embargo, en la actualidad, se suele recurrir a la elaboración de medios alternativos que se elaboran de residuos orgánicos, como desechos de pescado (Shanthi *et al.*, 2021), mariculturales (Hawrot-Paw *et al.*, 2019) o sedimentos (Nguyen *et al.*, 2020), previo tratamiento térmico o químico a fin de evitar la presencia de microorganismos patógenos, demostrando la versatilidad de las algas para aprovechar los nutrientes presentes en diversas fuentes y abaratando los costos de

producción. En este campo, resulta importante evaluar la bromatología de las microalgas ya que diferentes medios alternativos pueden conducir a un metabolismo diferente en las microalgas (Chen *et al.*, 2017).

Uno de los principales usos de las valvas de *A. purpuratus* es para la obtención de CO₂ (Merino *et al.*, 2014). Esto se da mediante una reacción química con una solución ácida. Comúnmente, se ha utilizado ácido clorhídrico por ser uno de los ácidos más potentes (Scandiffio *et al.*, 2018), cuya reacción se describe en la siguiente fórmula:



Sin embargo, también es posible usar el ácido acético para disolver las valvas de *A. purpuratus*, con lo que obtenemos una reacción similar:



El principal componente que permanece en la solución ácida en la segunda reacción es el acetato de calcio, el cual puede ser aprovechado para el crecimiento de las microalgas. Experimentos con *Chlorella vulgaris* demuestran que la incorporación de acetato de calcio ejerce un efecto positivo sobre la producción de carbohidratos y lípidos (Ardila-Álvarez *et al.*, 2017). Asimismo, otro estudio demuestra que una fuente de carbono como el acetato de sodio mejora los rendimientos (biomasa) de los cultivos (Ortega, 2004).

El pH es uno de los aspectos más importantes en el cultivo de microalgas (García-Romera *et al.*, 2017). Una característica relevante durante la captación de nutrientes y fijación fotosintética de CO₂ en el cultivo de microalgas, es que el proceso tiende a inducir un aumento en el pH del medio (Franchino *et al.* 2013), de esta manera los cultivos más viejos tienden a tener un pH más alcalino. Por tal motivo, resulta necesario considerar el pH inicial del medio, el cual se suele reducir a valores cercanos a 7.0 para un crecimiento óptimo (Guedes *et al.*, 2011). Algunos estudios también señalan que es posible evitar algunos microorganismos contaminantes bajo condiciones de pH ligeramente ácidos o alcalinos que desfavorecen su propagación (Zu *et al.*, 2020).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño experimental

La investigación tuvo un diseño experimental de estímulo creciente (Arroyo, 1984) con tres tratamientos experimentales y un tratamiento control, que fueron trabajados por triplicado. Las concentraciones que se emplearon fueron de 2.5, 5.0 y 7.5 mL L⁻¹ de extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético (descrito en detalle en 3.3), también denominado como extracto acuoso de valvas de concha de abanico (EVCA). Dichas concentraciones fueron determinadas previamente, mediante pre-ensayos en el laboratorio (Anexo 1 y 2). En todos los tratamientos se usó agua potable sin tratar.

Tabla 1. Diseño experimental para los cultivos de *S. acutus*.

Tratamientos	Tratamiento experimental
TC	Cultivos de <i>S. acutus</i> con medio HM
T1	Cultivos <i>S. acutus</i> con 2.5 mL L ⁻¹ EVCA
T2	Cultivos <i>S. acutus</i> con 5.0 mL L ⁻¹ EVCA
T3	Cultivos <i>S. acutus</i> con 7.5 mL L ⁻¹ EVCA

T = tratamiento, C = control.

3.2 Procedencia del inóculo

La cepa de *S. acutus* provino del cepario del Laboratorio de Cultivo de Especies Auxiliares de la Universidad Nacional del Santa. La cepa fue mantenida bajo condiciones asépticas de cultivo en fotobiorreactores de 1000 mL de volumen, con aireación a un flujo de 1.5 L min⁻¹, provista por un blower de 0.5 HP, e iluminación (24:0) con un fluorescente de 40 watts emitiendo ~1500 Lux.

Tabla 2. Composición del medio de cultivo HM.

Componente	Concentración
Urea	206 g L ⁻¹
Ácido fosfórico	30 mL L ⁻¹
Cloruro de potasio	19 g L ⁻¹
Solución de Hierro*	2.5 g L ⁻¹

Nota: se suministró 1 mL L⁻¹ de cada componente del medio HM para fertilizar los cultivos. * La solución se preparó disolviendo 2.5 g de clavos de hierro en 250 mL de HCl (10%).

El medio de cultivo usado para el mantenimiento de la cepa fue el medio HM (Tabla 2), el cual se prepara con fertilizantes agrícolas y agua potable para cada uno de los componentes.

3.3 Medio de cultivo experimental EVCA

Las valvas de *A. purpuratus* fueron colectadas de la Bahía de Samanco, localizada en el distrito de Nuevo Chimbote, provincia del Santa, departamento Áncash. Se colectó 1 Kg de valvas para la preparación del EVCA. Para la preparación del medio experimental se siguieron los siguientes pasos: 1) se lavó y removieron los epibiontes de las valvas de concha de abanico y dejó secar al ambiente, 2) se pesó 500 g de valvas, 3) se molieron las valvas finamente con ayuda de un molino mecánico, 4) se tamizó las partículas más finas con un tamiz de 10 micras, 5) se pesó nuevamente 100 g del material tamizado y se disolvió en 100 mL de ácido acético, 6) se dejó en la solución por 48 horas. Finalmente, se realizó un análisis para caracterizar químicamente al medio (24 elementos, Tabla 3), mediante el método ICP (inductively coupled plasma) (Beauchemin, 2008), el cual fue realizado en los laboratorios acreditados de la empresa COLECBI SAC.

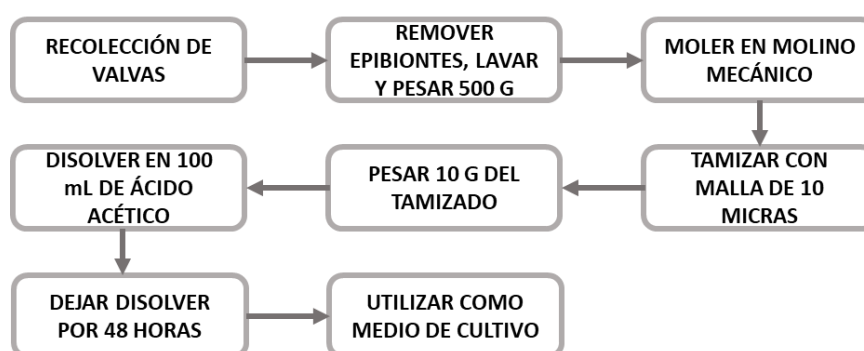


Figura 1. Flujograma de la elaboración del medio EVCA con ácido acético.

3.4 Acondicionamiento de los cultivos experimentales

Los cultivos experimentales se realizaron en fotobiorreactores (botellas plásticas) de 3000 mL de volumen total, con un volumen efectivo de 1000 mL. Los cultivos fueron inoculados con *S. acutus* a una proporción de 2:10 v/v y se estimó la densidad celular inicial mediante conteos al microscopio con ayuda de una cámara Neubauer (como se detalla en 3.5). La disposición de las unidades experimentales se realizó por sorteo al azar. Posteriormente, las unidades experimentales fueron acondicionadas con aireación mediante un sistema de aireación con blower, y el flujo se reguló con un flujómetro a 1.5 L min⁻¹ para evitar la sedimentación de las microalgas. Asimismo, la iluminación fue

provista por un fluorescente de 40 watts, colocado en forma paralela a los cultivos de *S. acutus*. El tratamiento control fue dosificado con medio HM, con 1 mL L⁻¹ de cada solución (urea, ácido fosfórico, cloruro de potasio y patrón hierro), como se detalla en la Tabla 2, y los cultivos experimentales fueron dosificados conforme se detalla en la Tabla 1. Para evitar contaminación del medio ambiente, las unidades experimentales estuvieron cubiertas con algodón.

3.5 Crecimiento poblacional

El crecimiento poblacional de los tratamientos se determinó mediante conteos diarios con un microscopio óptico y una cámara Neubauer. Para ello se tomó una muestra de la suspensión algal de cada tratamiento con ayuda de una pipeta Pasteur, luego se fijó la muestra en el microscopio y se realizó el conteo a un objetivo de x40. Los cálculos de la densidad celular (cel mL⁻¹) se realizaron con la siguiente fórmula (Oscanoa *et al.*, 2020):

$$\text{Densidad celular (cel mL}^{-1}\text{)} = P \times 10^4 * D$$

Donde: P es el número promedio de células de los campos contados, D es la dilución y 10⁴ es la constante usada para expresar el volumen en mL. La dilución sólo se realizó cuando los cultivos fueron altamente densos.

Para determinar la tasa de crecimiento poblacional (μ) y el tiempo de duplicación (TD) se emplearon las siguientes fórmulas (Guillard, 1975):

$$\mu = \ln (N_f - N_0 / T_f - T_0)$$

Donde: N_f y N₀ representa el número de células final e inicial, respectivamente, T_f y T₀ representan el tiempo final e inicial del número de células, respectivamente.

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

3.6 Determinación de la biomasa

La biomasa de los cultivos se determinó mediante el método gravimétrico con una balanza analítica de ± 0.001 g. Para ello, se tomaron muestras de 50 mL de cada cultivo y se colocaron en tubos Falcon. Las muestras fueron centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, el sobrenadante fue removido cuidadosamente para obtener el pellet. Luego, los tubos fueron colocados en una estufa a 60°C por 5 horas y se pesaron en la abalanza. La biomasa se determinó mediante diferencias de pesos.

3.7 Evaluación del pH y temperatura

Se registró la variación del pH en todos los tratamientos, con una frecuencia diaria. Para ello, se utilizó un pH-metro digital de ± 0.01 de sensibilidad. Asimismo, se registró la temperatura de los cultivos para determinar fluctuaciones ligeras que ocurren dentro del laboratorio, con un termómetro digital de ± 0.01 de sensibilidad.

3.8 Determinación de lípidos

La determinación del contenido total de lípidos se llevó a cabo utilizando un método de un solo paso (Axelsson & Gentili, 2014). En este proceso, se tomó una muestra de 15 mL de cada cultivo y se colocó en tubos de ensayo previamente pesados, los cuales se sometieron a una centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos. Luego, se eliminó la fase líquida para aislar el pellet, el cual se secó posteriormente en un horno a 55 °C durante toda la noche. El peso de cada muestra se midió para determinar la biomasa mediante la diferencia en peso. A continuación, se añadieron 3 mL de una solución de extracción (compuesta por cloroformo y metanol en una proporción de 2:1 v/v), se agitó energicamente y se permitió reposar durante 5 horas, en refrigeración a 4°C. La mezcla se centrifugó, se retiró cuidadosamente el sobrenadante y el pellet se secó nuevamente para registrar su nuevo peso. El contenido de lípidos se calculó como un porcentaje (%) restando el peso inicial al peso después de la extracción.

3.9 Análisis estadístico

Con la finalidad de determinar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Shapiro-Wilk. Posteriormente, los datos de pH, crecimiento poblacional y contenido de lípidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con la post prueba Tukey para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Para ello se empleó el software SPSS v20.

IV. RESULTADOS

4.1 Caracterización del EVCA

En esta investigación, se examinaron los niveles de nutrientes del medio EVCA que se utilizó en los cultivos de *S. acutus*. Con relación a aquellos elementos que desempeñan un papel crítico en el desarrollo y la proliferación de la microalga, se destaca el calcio (Ca) con la mayor concentración, de 17220 ppm. Asimismo, se observó una concentración significativa de magnesio (Mg) de 271 ppm. Cabe destacar la alta presencia de nitrógeno (123 ppm). Además, el fósforo (P) tuvo una concentración de 58 ppm, el hierro (Fe) se cuantificó en 213 ppm, mientras que el sodio (Na) en 560 ppm (Tabla 3). Estos elementos ayudaron se derivan de las valvas de *A. purpuratus* y fueron la fuente de nutrientes para el crecimiento de *S. acutus*.

Tabla 3. Composición química del medio EVCA utilizado en los cultivos de *S. acutus*.

Elemento	Concentración (ppm)	Elemento	Concentración (ppm)
Plata (Ag)	<0.4	Potasio (k)	<32
Aluminio (Al)	17	Magnesio (Mg)	271
Arsénico (As)	<2	Manganeso (Mn)	3
Boro (B)	<12	Molibdeno (Mo)	<1
Bario (Ba)	<2	Sodio (Na)	560
Calcio (Ca)	17220	Niquel (Ni)	<0.2
Cadmio (cd)	<0.4	Fosforo (P)	58
Cobalto (Co)	<0.1	Plomo (Pb)	<0.7
Cromo (Cr)	<0.2	Antimonio (Sb)	<2
Cobre (Cu)	1.9	Talio (Tl)	<2
Hierro (Fe)	213	Vanadio (V)	<0.6
Mercurio (Hg)	<0.5	Zinc (Zn)	1.5
Nitrógeno	123.00	-	-

Fuente: COLECBI SAC.

4.2 Crecimiento poblacional

Los resultados del análisis estadístico del crecimiento poblacional de los cultivos de *S. acutus* en el medio EVCA se presentan en la Tabla 4. En el día 0, todos los grupos de cultivo mostraron una población inicial de $152 \pm 0.00 \times 10^4$ cel mL⁻¹. Sin embargo, a medida que transcurrieron los días, se observaron variaciones significativas en el crecimiento poblacional entre los grupos.

En el día 1, se registraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el crecimiento entre los grupos de cultivo, con valores de $249 \pm 61.1 \times 10^4$ cel mL⁻¹ para el

grupo control (HM), 225 ± 38 , 237 ± 57 y $255 \pm 80 \times 10^4$ cel mL⁻¹ para los tratamientos experimentales con 2.5, 5.0 y 7.5 mL L⁻¹ de EVCA, respectivamente. A lo largo de los días 2, 3, 4, 5 y 6, se mantuvieron diferencias significativas en el crecimiento poblacional entre los grupos, principalmente con el tratamiento control (Figura 2). En el día 7, aunque persistieron diferencias, la tendencia fue hacia una convergencia en los valores de crecimiento poblacional (Tabla 4 y Figura 2).

Estos resultados indican que la concentración de nutrientes en el medio EVCA influyó significativamente en el crecimiento poblacional de *S. acutus* a lo largo de los días estudiados, lo que tiene implicaciones importantes para el cultivo y la comprensión de su dinámica poblacional en este entorno específico.

Tabla 4. Análisis estadístico del crecimiento poblacional de los cultivos de *S. acutus* con el medio EVCA.

Días	Densidad poblacional ($\times 10^4$ cel mL ⁻¹)			
	HM	(2.5 mL L ⁻¹)	(5.0 mL L ⁻¹)	(7.5 mL L ⁻¹)
0	152 ± 0.00^a	152 ± 0.00^a	152 ± 0.00^a	152 ± 0.00^a
1	249 ± 61^a	225 ± 38^a	237 ± 57^a	255 ± 80^a
2	590 ± 170^a	705 ± 85^b	740 ± 146^c	682 ± 62^d
3	771 ± 79^a	741 ± 79^a	787 ± 176^b	771 ± 127^b
4	740 ± 66^a	730 ± 73^a	813 ± 66^b	795 ± 3^c
5	876 ± 154^a	741 ± 22^b	787 ± 84^c	971 ± 227^d
6	1090 ± 53^a	950 ± 156^b	860 ± 271^c	1164 ± 64^d
7	1012 ± 8^a	770 ± 74^b	817 ± 91^c	858 ± 254^d

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

Los datos de crecimiento poblacional de *S. acutus* muestra una clara dinámica que sigue las fases típicas de crecimiento microalgal. En la fase lag, que corresponde al primer día, todos los cultivos se adaptaron al entorno de trabajo, tanto con el experimental como al control, con una densidad entre 225 y 255×10^4 cel mL⁻¹. Después del día 1, los cultivos entraron en la fase logarítmica, donde se observa un rápido aumento en la densidad celular. El tratamiento T2 (5.0 mL L⁻¹ de EVCA) destaca con un crecimiento especialmente vigoroso durante esta fase. Sin embargo, en el día 6, comenzamos a observar una transición hacia la fase estacionaria, donde el crecimiento se desacelera y se

acerca a un equilibrio. El tratamiento T3 (7.5 mL L⁻¹ de EVCA) muestra la población más alta en este punto, lo que sugiere un crecimiento más sostenido. Por último, en el día 7, todos los tratamientos continúan creciendo, pero las diferencias entre ellos disminuyen, marcando el final de la fase estacionaria y la entrada en una posible fase de muerte o declive (Figura 2 y 3). Estos resultados ilustran la importancia de comprender la dinámica del crecimiento microalgal y cómo los tratamientos pueden influir en cada fase del proceso.

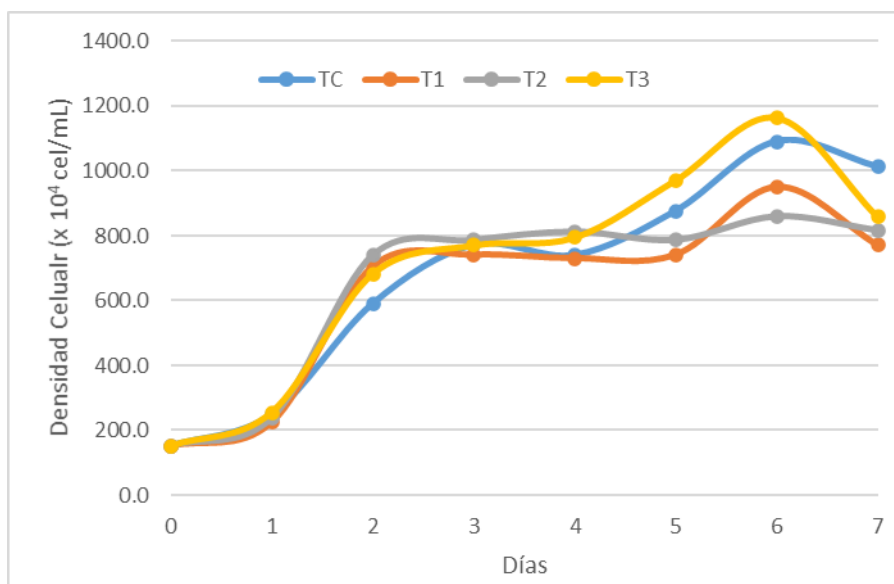


Figura 2. Curvas de crecimiento de los cultivos de *S. acutus* con el medio EVCA.

Además, se calculó la tasa de crecimiento específico (μ) y el tiempo de duplicación (TD) para los cultivos de *S. acutus* (Tabla 5). Se observó que el tratamiento con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA presentó la tasa de crecimiento más alta (1.15 ± 0.01 día⁻¹), indicando un crecimiento más rápido en comparación con los tratamientos con EVCA. Este valor fue similar al encontrado con el tratamiento control con HM (1.14 ± 0.01 día⁻¹), lo que sugiere un crecimiento más rápido en esta concentración.

Los valores del μ se corresponden con los del tiempo de duplicación TD. Observamos que el menor tiempo de duplicación (0.60 ± 0.01 días) se obtiene con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA y el mayor (0.64 ± 0.05) con 5.0 mL L⁻¹ de EVCA. Por su parte, en los cultivos con medio HM se encontró un valor de TD = 0.61 ± 0.01 días. Sin embargo, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el tratamiento control y el tratamiento con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA.

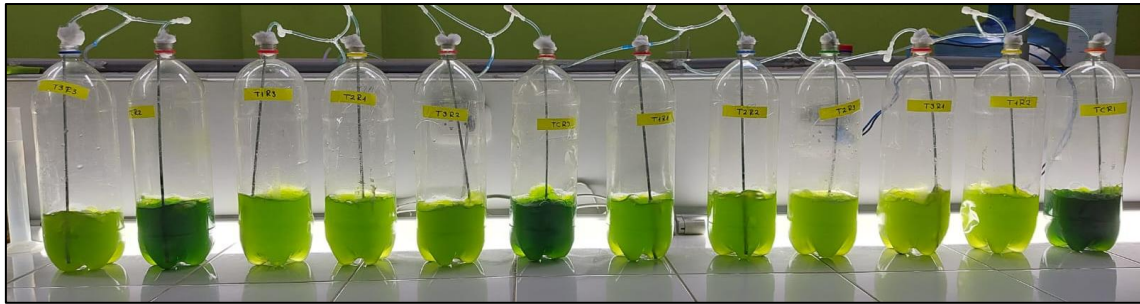


Figura 3. Crecimiento de los cultivos de *S. acutus* con medio HM y EVCA en el día 7.

Tabla 5. Análisis estadístico de la tasa de crecimiento específico y tiempo de duplicación de los cultivos de *S. acutus* con medio HM y EVCA, en el día 6.

PARAMETRO	HM	EVCA		
		2.5 mL L ⁻¹	5.0 mL L ⁻¹	7.5 mL L ⁻¹
No	152 ± 0.00	152 ± 0.00	152 ± 0.00	152 ± 0.00
Nf	1090 ± 53	950 ± 156	860 ± 271	1164 ± 64
μ (día ⁻¹)	1.14 ± 0.01 ^a	1.11 ± 0.03 ^a	1.08 ± 0.07 ^b	1.15 ± 0.01 ^a
TD (días)	0.61 ± 0.01 ^a	0.62 ± 0.02 ^a	0.64 ± 0.05 ^b	0.60 ± 0.01 ^a

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

4.3 Producción de biomasa

La tabla 6 presenta una comparación de los valores de biomasa de cultivos microalgales después de 7 días, utilizando los dos medios, HM (control) y el EVCA. Los resultados revelan diferencias significativas en la biomasa acumulada entre los distintos medios y concentraciones.

Tabla 6. Biomasa total de los cultivos de *S. acutus* en el día 7.

Días	Biomasa (g L ⁻¹)			
	HM	(2.5 mL L ⁻¹)	(5.0 mL L ⁻¹)	(7.5 mL L ⁻¹)
7	0.65 ± 0.11 ^a	0.55 ± 0.07 ^b	0.64 ± 0.06 ^a	0.93 ± 0.17 ^c

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

Con el medio HM, se obtuvo una biomasa de 0.65 ± 0.11 g L⁻¹, que sirve como punto de referencia inicial. En contraste, el medio EVCA a diferentes concentraciones muestra variaciones significativas en los niveles de biomasa. El medio EVCA a 5.0 mL L⁻¹ (0.64 ± 0.06 g L⁻¹) muestra biomasa ligeramente menor que el control HM, aunque

estadísticamente similar ($p < 0.05$). Sin embargo, el medio EVCA a 7.5 mL L^{-1} ($0.93 \pm 0.17 \text{ g L}^{-1}$) muestra un aumento sustancial en la biomasa en comparación con los otros tratamientos, siendo significativamente superior ($p < 0.05$); lo que indica que esta concentración específica de EVCA promueve un mayor crecimiento de microalgas. Por otro lado, con el tratamiento de 2.5 mL L^{-1} se obtuvo la menor biomasa ($0.55 \pm 0.07 \text{ g L}^{-1}$) que fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en comparación a los demás tratamientos.

4.4 Contenido de lípidos

En relación al contenido de lípidos de *S. acutus*, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. En el medio de control HM, se determinó un contenido de lípidos totales del $18.88 \pm 2.50\%$. En contraste, el medio EVCA a diferentes concentraciones muestra variaciones significativas en los niveles de lípidos. El medio EVCA a 2.5 y 5.0 mL L^{-1} produce $30.61 \pm 2.48\%$ y $29.47 \pm 5.54\%$, respectivamente, sin diferencia estadística significativa entre ellos. Mientras que, con 7.5 mL L^{-1} se obtiene $27.83 \pm 2.32\%$, el cual es menor y estadísticamente diferente a los dos anteriores tratamientos (Tabla 7).

Tabla 7. Contenido de lípidos totales de los cultivos de *S. acutus* con medio HM y EVCA.

Días	Lípidos totales (%)			
	HM	EVCA		
		(2.5 mL L^{-1})	(5.0 mL L^{-1})	(7.5 mL L^{-1})
7	18.88 ± 2.50^a	30.61 ± 2.48^b	29.47 ± 5.54^b	27.83 ± 2.32^c

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

4.5 Parámetros físico-químicos de los cultivos

En relación al pH de los cultivos, se observa diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos desde el inicio de los cultivos y a lo largo del tiempo. En el día 0, se observa la mayor diferencia del pH entre los tratamientos. Los tratamientos con HM tuvieron un pH de 7.36 ± 0.56 , mientras los tratamientos con el medio EVCA a diferentes concentraciones muestra pH significativamente más alto: 8.55 ± 0.11 , 8.40 ± 0.27 y 8.29 ± 0.15 para las concentraciones de 2.5 , 5.0 y 7.5 mL L^{-1} .

A medida que avanzan los días, se mantienen las diferencias en el pH entre los tratamientos. El control con medio HM tiende a mantener un pH más bajo a lo largo del

tiempo, mientras que con el medio EVCA, especialmente a 2.5 mL L⁻¹, mantiene un pH significativamente más alto. En el día 7, las diferencias en el pH entre los tratamientos se mantienen, con el control HM en 7.81 ± 0.19, y con el medio EVCA a 2.5 mL L⁻¹ en 8.60 ± 0.04, a 5.0 mL L⁻¹ en 8.60 ± 0.02 y a 7.5 mL L⁻¹ en 8.56 ± 0.04 (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis estadístico del pH de los cultivos de *S. acutus* con el medio HM y EVCA.

Días	pH (unidades)			
	HM	(2.5 mL L ⁻¹)	(5.0 mL L ⁻¹)	(7.5 mL L ⁻¹)
0	7.36 ± 0.56 ^a	8.55 ± 0.11 ^b	8.40 ± 0.27 ^c	8.29 ± 0.15 ^d
1	8.40 ± 0.19 ^a	8.79 ± 0.05 ^b	8.73 ± 0.03 ^c	8.62 ± 0.04 ^c
2	8.29 ± 0.27 ^a	8.81 ± 0.15 ^b	8.74 ± 0.05 ^c	8.65 ± 0.03 ^d
3	7.73 ± 0.12 ^a	8.72 ± 0.06 ^b	8.68 ± 0.03 ^c	8.63 ± 0.04 ^c
4	7.86 ± 0.03 ^a	8.72 ± 0.10 ^b	8.67 ± 0.01 ^c	8.63 ± 0.03 ^d
5	7.80 ± 0.02 ^a	8.72 ± 0.06 ^b	8.78 ± 0.03 ^b	8.67 ± 0.04 ^c
6	7.83 ± 0.01 ^a	8.63 ± 0.10 ^b	8.62 ± 0.06 ^b	8.62 ± 0.06 ^b
7	7.81 ± 0.19 ^a	8.60 ± 0.04 ^b	8.60 ± 0.02 ^b	8.56 ± 0.04 ^c

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

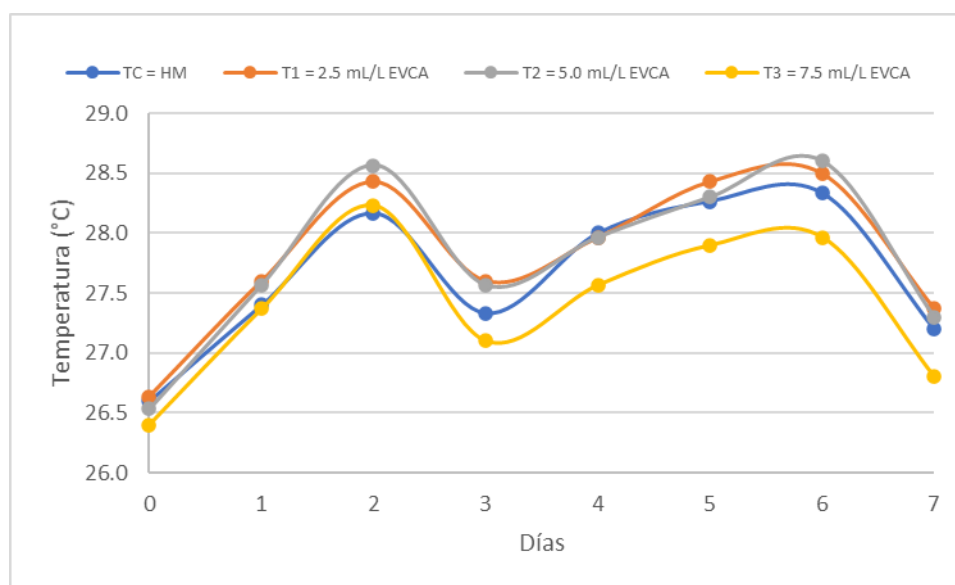


Figura 4. Variación de la temperatura de los cultivos de *S. acutus* con medio HM y EVCA.

Finalmente, en relación a la fluctuación de la temperatura, notamos que estas fluctuaron ligeramente debido a las condiciones de confinamiento dentro del laboratorio, ya que no

se observó fluctuaciones mayores a 0.5 °C entre los tratamientos (Figura 4). A pesar de la fluctuación de la temperatura, obtuvimos valores dentro del rango óptimo para el cultivo de *S. acutus*, con valores entre 26.4 y 28.6 °C (Figura 4).

V. DISCUSIÓN

Los datos recopilados sobre el pH, el crecimiento poblacional y el contenido de lípidos de los cultivos de *S. acutus*, sometidos a diferentes tratamientos con extracto de valvas de *A. purpuratus* en ácido acético, han revelado tendencias y patrones significativos que requieren un análisis detallado. En ese sentido, nuestros datos sugieren una influencia de los tratamientos experimentales con el medio EVCA, sobre las variables de estudio, con una importante implicancia en la biomasa y lípidos, relevantes especialmente para la producción masiva de esta microalga.

En esta investigación, se ha determinado los niveles de nutrientes presentes en el medio EVCA utilizado para los cultivos de *S. acutus* (Tabla 3). Hasta la fecha, no se disponían de reportes sobre la composición química de las valvas de *A. purpuratus*, por lo que nuestros datos significan el primer reporte, con 24 elementos analizados.

La composición de nutrientes en el medio es un factor crítico que determina el éxito de los cultivos de microalgas, ya que estos organismos dependen de una serie de elementos para su crecimiento y desarrollo (Soto-Sánchez *et al.*, 2023). En particular, hemos identificado una concentración excepcionalmente alta de calcio (Ca) en el medio EVCA, alcanzando 17220 ppm (Tabla 3). Sin embargo, las concentraciones específicas de calcio pueden variar entre diferentes especies de moluscos y pueden oscilar en torno al 95% o más del peso seco de la valva (Ríos & Velasquez, 2016). El calcio desempeña un papel esencial en la formación de la pared celular de las microalgas (Rendon *et al.*, 2015), y su presencia en cantidades significativas, como se ha observado en mayores concentraciones de EVCA, ha contribuido al rápido desarrollo de las células de *S. acutus* en nuestros cultivos. Este hallazgo coincide con investigaciones previas que han destacado la importancia del calcio en el cultivo de microalgas, subrayando su influencia en la estabilidad de la pared celular y, por lo tanto, en el crecimiento poblacional (Tang *et al.*, 2022; Santomauro *et al.*, 2012).

También observamos niveles sustanciales de magnesio (Mg) en el medio, con una concentración de 271 ppm (Tabla 3). El magnesio es un cofactor esencial en muchas reacciones bioquímicas, incluida la fotosíntesis, un proceso crítico en las microalgas (Radzun *et al.*, 2015). Además, la presencia de magnesio en el medio proporciona un elemento clave para la actividad fotosintética de *S. acutus*, lo que podría haber contribuido

significativamente a su crecimiento saludable durante el experimento. En cultivos experimentales enriquecidos con magnesio realizados en *S. dimorphus*, se han encontrado tiempos de duplicación de 0.59 ± 0.04 día⁻¹ (Schwenk, 2012), similar a lo encontrado en los tratamientos con EVCA.

En cuanto a la concentración de fósforo (P), en el medio se registró en 58 ppm, y la del hierro (Fe) alcanzó los 213 ppm (Tabla 3). La presencia de fósforo (P) y hierro (Fe) en el medio de cultivo desempeña un papel crucial en el crecimiento y desarrollo de *S. acutus*, como lo reflejan los resultados de esta investigación. El fósforo es un nutriente esencial para las microalgas, ya que forma parte de moléculas críticas como el ATP (adenosina trifosfato) y el ADN (Yaakob *et al.*, 2021). La concentración de fósforo en el medio (58 ppm) proporcionó una fuente adecuada de este nutriente, lo que probablemente contribuyó al metabolismo activo y al crecimiento de *S. acutus*, pues se observa que a mayor concentración del medio hubo mayor crecimiento. Además, la presencia de una cantidad adecuada de fósforo es fundamental para las microalgas, ya que regula una variedad de procesos bioquímicos necesarios para su crecimiento y reproducción; mientras que su ausencia ocasiona acumulación de lípidos en las microalgas (Lovio-Fragoso *et al.*, 2021). Asimismo, el hierro es un cofactor esencial para muchas enzimas involucradas en procesos metabólicos y, específicamente, en la fotosíntesis (Polat *et al.*, 2020), lo que les habría permitido mayor eficiencia de crecimiento (Figura 2).

La presencia abundante de estos nutrientes esenciales provenientes de las valvas de *A. purpuratus* proporcionó ventajas significativas para el cultivo de *S. acutus*. El calcio y el magnesio, en particular, son fundamentales para el fortalecimiento estructural y el metabolismo celular (Valdiviezo, 2023), respectivamente, fomentando un crecimiento robusto de la microalga. Asimismo, la alta concentración de nitrógeno y fósforo potenció la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, elementos cruciales para la expansión celular y la vitalidad del cultivo (Pineda, 2023).

Los resultados obtenidos en este estudio sobre el crecimiento poblacional de *S. acutus* utilizando el medio EVCA concuerdan con un estudio previo. López y Ríos (2014) emplearon una preparación similar de EVCA utilizando HCl en el cultivo de *S. acutus*; no obstante, en su enfoque metodológico neutralizaron el pH del medio con hidróxido de sodio, logrando un máximo crecimiento poblacional de 122×10^4 cel mL⁻¹ con una concentración de 15 mL L⁻¹ de EVCA. En nuestro experimento, se observó una densidad

celular considerablemente mayor, alcanzando hasta 1164×10^4 cel mL⁻¹ con una concentración de 7.5 mL L⁻¹ de EVCA, lo cual posiblemente se deba al aporte nutricional proporcionado por el ácido acético con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA, lo cual puede atribuirse al aporte nutricional del ácido acético, el cual también incorpora carbono orgánico.

Es importante resaltar la estabilización del crecimiento entre los días 3, 4 y 5 en los tratamientos con extracto de valvas de concha de abanico (EVCA) y el control (HM), que puede sugerir un período prolongado de adaptación inicial, donde las condiciones de cultivo proporcionaron un entorno similar para el desarrollo de las microalgas. Este equilibrio se reflejó en un crecimiento lineal parecido en todos los grupos (Figura 2). Asimismo, podemos atribuir esta estabilización a problemas con el fluido eléctrico que no logró ser controlado durante las 24 horas, lo cual pudo afectar la iluminación y agitación de los cultivos, influenciando en la dinámica del crecimiento poblacional. Sin embargo, a partir del día 5, se observaron diferencias significativas, sugiriendo que los nutrientes específicos del EVCA comenzaron a influir en el crecimiento celular, desencadenando un crecimiento más notorio en comparación con el control con HM.

El ácido acético, al ser un compuesto orgánico, proporciona una fuente adicional de carbono para las microalgas (Figueroa-Torres *et al.*, 2022) lo cual dirige un metabolismo mixotrófico en *S. acutus*, reportado en estudios previos (Kamalanathan *et al.*, 2018; Urbina-Suárez, 2022), lo que habría contribuido a su crecimiento acelerado, pudiendo ser heterotrófico. Asimismo, la presencia de carbono en forma de ácido acético podría haber mejorado la disponibilidad de sustrato para la fotosíntesis (Znachor & Nedoma, 2010) y, por lo tanto, aumentado la tasa de crecimiento de *S. acutus*. Además, es importante mencionar que el ácido acético también puede tener efectos positivos en la absorción de nutrientes por parte de las microalgas al acidificar ligeramente el medio, lo que facilita la disolución de minerales y nutrientes esenciales, por ejemplo, el calcio a pH ente 5.3-5.8 se solubiliza más rápido (McMahon *et al.*, 2005).

En *Acutodemus obliquus* (chlorophyta) se ha determinado que el acetado (derivado del ácido acético en nuestra reacción) es un sustrato adecuado para su crecimiento mixotrófico, lo que aumenta la tasa de crecimiento. Sin embargo, a pH < 5 el crecimiento se inhibe en presencia de acetato, sin consumo aparente de acetato; mientras que a niveles de pH entre 9 y 10 se consume todo el acetato (Lacroux *et al.*, 2020). Estos resultados concuerdan con los datos registrados de crecimiento y pH, por lo que podemos inferir

que, usar acetato en vez de HCl, resulta más ventajoso pues provee un pH adecuado, por encima del límite inferior que tolera esta especie; además de proporcionar una fuente de carbono orgánico.

Los resultados de biomasa mejores rendimientos con el medio EVCA en altas dosis (7.5 mL L⁻¹), en comparación con el medio HM (Tabla 6). El medio HM produjo una biomasa de 0.65 ± 0.11 g L⁻¹, ya que es el medio estándar, lo que nos brinda un punto de partida en términos de productividad de biomasa. Por otro lado, el medio EVCA a 2.5 mL L⁻¹ (0.55 ± 0.07 g L⁻¹) y 5.0 mL L⁻¹ (0.64 ± 0.06 g L⁻¹) muestra biomasa ligeramente inferior en comparación con el control HM (Tabla 6). Jiménez & Rojas (2015), obtuvieron 0.443 g L⁻¹ con medio HM, Vásquez & Zavaleta (2017), determinaron 0.68 g L⁻¹ y Huertas & Mazza (2019), estimaron 0.65 g L⁻¹ en cultivos de *S. acutus* con medio HM similarmente. Estos resultados sugieren que, en la concentración específica de 2.5 mL L⁻¹ de EVCA, es posible que algunos componentes del medio estén limitados, restringiendo el crecimiento y la producción de biomasa en esta microalga.

El medio EVCA a 7.5 mL L⁻¹ (0.93 ± 0.17 g L⁻¹) revela un aumento sustancial en la biomasa en comparación con los otros tratamientos (0.28 g L⁻¹ más en promedio). Esto indica que esta concentración específica de EVCA promueve un mayor crecimiento de microalgas, posiblemente debido a la presencia de nutrientes y compuestos beneficiosos, como el ácido acético, que pueden haber actuado como fuentes de carbono y energía adicionales para *S. acutus*.

Además, los resultados revelaron un aumento sustancial en el contenido de lípidos de *S. acutus* cuando se cultivó en medios enriquecidos con EVCA. Esto es especialmente evidente en los tratamientos con 2.5 mL L⁻¹ y 5.0 mL L⁻¹ de EVCA, que exhibieron contenidos de lípidos significativamente mayores en comparación con el medio de control HM. Estos datos son consistentes con reportes previos que afirman que las microalgas pueden acumular lípidos en respuesta a condiciones de estrés, como la disponibilidad limitada de nutrientes (Song *et al.*, 2022; Trivedi *et al.*, 2022) o la presencia de compuestos orgánicos (Song & Pei, 2018), como también ocurrió con el ácido acético.

Resulta interesante que el tratamiento con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA muestra una disminución en el contenido de lípidos en comparación con los tratamientos anteriores (Tabla 7). Este fenómeno podría estar relacionado con la complejidad de las respuestas metabólicas de

las microalgas a diferentes concentraciones de nutrientes y compuestos orgánicos (Cobos *et al.*, 2016). Se podría hipotetizar que, a una concentración más alta de EVCA, los recursos podrían estar más disponibles, lo que podría llevar a una menor necesidad de acumulación de lípidos como fuente de almacenamiento de energía. Esto implica la disponibilidad de nitrógeno y fósforo, ya que a menos contenido de estos nutrientes se incrementa la producción de lípidos (Yaakob *et al.*, 2021).

Comparando estos resultados con otras especies de *Scenedesmus*, es importante destacar que diferentes especies pueden mostrar respuestas variadas a los mismos estímulos. Algunas especies pueden tener una mayor capacidad para acumular lípidos en presencia de ácido acético, mientras que otras pueden no responder de la misma manera. Como en *S. obliquus* se ha determinado concentraciones de lípidos de hasta 36.7% (Leyla *et al.*, 2022) y en *S. rubescens* hasta 42.9% (Lin & Lin, 2011), porcentajes que superaron nuestros resultados con el EVCA (Tabla 7). Esto puede deberse a diferencias genéticas y metabólicas entre las especies de *Scenedesmus*, lo cual resalta la necesidad de estudiar y seleccionar especies específicas para aplicaciones biotecnológicas basadas en lípidos.

Los resultados que muestran diferencias significativas en el pH de los cultivos de los cultivos de *S. acutus* bajo diferentes tratamientos sugieren una influencia directa de ambos medios de cultivo en el equilibrio ácido-base del sistema. En el día 0, se observa una diferencia inicial en el pH entre los tratamientos, en donde los cultivos con el medio HM presentando un pH más bajo en comparación con los tratamientos con el medio EVCA (Tabla 8). Este fenómeno podría estar relacionado con la composición química del medio, ya que el HM incorpora HCl de la solución de Hierro y H_3PO_4 de la solución de fósforo (Tabla 2).

El ácido acético es un compuesto orgánico, que actúa como un ácido débil en solución acuosa (Schiavoni *et al.*, 2021). Cuando se disuelve en agua, el ácido acético libera iones hidroxilo (OH^-) durante su disociación parcial (Teijón, 2006). Esto puede resultar en un aumento en el pH del medio, ya que la formación de iones hidroxilo puede neutralizar parte de la acidez inicial. Por lo tanto, es plausible que la adición de EVCA con ácido acético haya contribuido a elevar los valores de pH en los cultivos de *S. acutus*.

A medida que avanzaron los días, se observó una tendencia consistente en la que los cultivos con EVCA mantuvieron valores de pH significativamente más altos en

comparación con el medio HM (Tabla 8). Esta persistencia en las diferencias de pH a lo largo del tiempo sugiere que el efecto del ácido acético en el pH del medio fue duradero, además del crecimiento de las microalgas, las cuales incrementan el pH con la actividad fotosintética (Rojas, 2023). En ese sentido, se puede argumentar que la interacción entre el ácido acético y otros componentes del medio, como los tampones y los iones en el agua, contribuyeron a mantener el pH en niveles más alcalinos en los cultivos con EVCA.

En relación a la temperatura, los resultados relativos a la fluctuación de la temperatura en el laboratorio revelan que esta variable experimentó variaciones menores a lo largo del período experimental, principalmente debido a las condiciones de confinamiento en el entorno de laboratorio. A pesar de estas fluctuaciones, es importante destacar que los valores de temperatura se mantuvieron dentro del rango óptimo para el cultivo de *S. acutus* (Silva *et al.*, 2020), oscilando entre 26.4 y 28.6 °C (Figura4).

La estabilidad de la temperatura en este rango óptimo es fundamental para el éxito de los cultivos de microalgas, ya que las variaciones extremas de temperatura pueden tener un impacto significativo en su crecimiento y metabolismo (Abalde *et al.*, 1995). Las temperaturas más bajas pueden reducir la tasa de crecimiento, mientras que las temperaturas más altas pueden aumentar la evaporación del agua y generar estrés térmico en las microalgas (Loera-Quezada & Olgúin, 2010). En este sentido, los resultados indican que las condiciones de cultivo se mantuvieron adecuadas para el desarrollo de *S. acutus* a pesar de las fluctuaciones observadas. Sin embargo, es importante recalcar que existieron fluctuaciones de hasta 0.5 °C (Figura 4) debido a los microclimas que ocurren dentro del laboratorio, insignificante para nuestro estudio.

VI. CONCLUSIONES

- Se caracterizó químicamente el medio experimental EVCA, el cual presenta los nutrientes necesarios para el crecimiento de *S. acutus*, como calcio (17220 ppm), magnesio (271 ppm), hierro (213 ppm.), nitrógeno (123 ppm) y fósforo (58 ppm).
- El tratamiento con 7.5 mL L⁻¹ de EVCA presentó el crecimiento más alto, con una densidad máxima de $1164 \pm 64 \times 10^4$ cel mL⁻¹ en el día 6, significativamente superior al control HM ($1090 \pm 53 \times 10^4$ cel mL⁻¹). Los niveles más bajos de crecimiento se vieron en los tratamientos con 2.5 mL L⁻¹ ($950 \pm 156 \times 10^4$ cel mL⁻¹) y 5.0 mL L⁻¹ ($860 \pm 271 \times 10^4$ cel mL⁻¹) de EVCA, aunque aún superaron al control en densidad celular. Estas diferencias se atribuyen al mayor aporte de nutrientes en los medios con dosis más altas de EVCA.
- Los niveles de biomasa variaron significativamente según las concentraciones del medio. El uso de EVCA a 7.5 mL L⁻¹ resultó en la mayor biomasa (0.93 ± 0.17 g L⁻¹) en comparación con el control HM (0.65 ± 0.11 g L⁻¹) y otros tratamientos, mostrando un gran potencial para aumentar la producción de biomasa de *S. acutus*. Este aumento se atribuye al aporte de carbono orgánico del ácido acético, que puede estimular un metabolismo heterotrófico.
- Los tratamientos con EVCA afectaron el contenido de lípidos en *S. acutus*. Las concentraciones de 2.5 mL L⁻¹ y 5.0 mL L⁻¹ de EVCA mostraron los niveles más altos de lípidos (30.61 ± 2.48 y $29.47 \pm 5.54\%$, respectivamente) en comparación con el control HM ($18.88 \pm 2.50\%$).
- Los tratamientos con EVCA tuvieron un impacto significativo en el pH de los cultivos de *S. acutus*. Se observó una disparidad en el pH entre los tratamientos: el medio HM mostró un pH inicial más bajo que los tratamientos con EVCA debido a la naturaleza ácida del medio. Esta influencia del ácido acético en el pH se mantuvo constante durante todo el experimento, con los cultivos de EVCA manteniendo valores de pH significativamente superiores en comparación con el medio HM.
- Estos resultados indican que el uso de EVCA, en concentraciones específicas, aumenta el crecimiento, la biomasa y la acumulación de lípidos en *S. acutus*.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar experimentos con mayores concentraciones de extracto de valvas de *A. purpuratus* con ácido acético (EVCA) para evaluar las posibilidades de maximizar el crecimiento y la producción de biomasa de *S. acutus*, y en otras especies. Esto podría ayudar a identificar la concentración más beneficiosa para aplicaciones industriales.
- Realizar estudios adicionales para evaluar el impacto específico del calcio (Ca) y el magnesio (Mg) en el crecimiento de *S. acutus*. Esto podría ayudar a desentrañar su influencia en el desarrollo de las microalgas.
- Comparar el comportamiento de diferentes especies de *Scenedesmus* en respuesta a tratamientos similares, para determinar si existen diferencias significativas en su capacidad de crecimiento y producción de lípidos.
- Realizar investigaciones sobre el impacto de otros ácidos orgánicos además del ácido acético en el crecimiento y la acumulación de lípidos en *S. acutus*, lo que podría proporcionar opciones adicionales para mejorar la producción.
- Realizar análisis metabólicos detallados para comprender mejor los mecanismos bioquímicos subyacentes a la acumulación de lípidos en *S. acutus* en presencia de EVCA, que incluyan estudios transcriptómicos.
- Profundizar en la relación entre el pH del medio y la disponibilidad de nutrientes para entender cómo estos factores se relacionan y afectan al crecimiento de microalgas.
- Escalar los resultados en cultivos al aire libre, con la finalidad de terminar los rendimientos a mayores escalas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abalde, J., Cid, Á., Fidalgo Paredes, P., Torres, E. & Herrero, C. (1995). Microalgas: cultivo y aplicaciones. Universidade da Coruña, Servizo de Publicacións.
- Alcázar, Z. J. A. & Mendo, A. J. (2008). Crecimiento y supervivencia de juveniles de *Argopecten purpuratus* en sistemas de fondo y suspendido en la zona de Casma, Perú. *Ecología aplicada*, 7(1-2), 71-80.
- Ardila-Álvarez, A. M., López-Matos, Y., Vásquez-Cáceres, M. E., González-Delgado, Á. D. & Barajas-Solano, A. F. (2017). Obtención de lípidos y carbohidratos a partir de microalgas mediante el diseño de medios de cultivo selectivos. *TecnoLógicas*, 20(38), 85–96.
- Arroyo, R. (1984). Estadística aplicada a la investigación: Diseños experimentales. Instituto de investigaciones de la Amazonía Peruana. Iquitos. 160p
- Axelsson, M. & Gentili, F. (2014). A single-step method for rapid extraction of total lipids from green microalgae. *PloS one*, 9(2), e89643.
- Buitrón, G. (2021). Procesos basados en microalgas: Tratamiento de agua y obtención de biocombustibles gaseosos. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 12(2), 50-52.
- Beauchemin, D. (2008). Inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 80(12), 4455-4486.
- Cam, Z. P. C. & Mostacero, R. F. P. (2019). Efecto de tres concentraciones del extracto acuoso de residuos de *Manihot esculenta* “yuca” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus acutus*, en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3541>
- Carrillo-Siancas, S. (2017). Viabilidad del reciclaje de la concha de abanico en la industria de la construcción. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Piura. Piura, Perú.
- Chen, H., Zheng, Y., Zhan, J., He, C. & Wang, Q. (2017). Comparative metabolic profiling of the lipid-producing green microalga *Chlorella* reveals that nitrogen and carbon metabolic pathways contribute to lipid metabolism. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1), 153. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0839-4>
- Chowdury, K. H., Nahar, N. & Deb, U. K. (2020). The growth factors involved in microalgae cultivation for biofuel production: a review. *Computational Water, Energy, and Environmental Engineering*, 9(4), 185-215.
- Chu, S. (2019). Impactos ambientales negativos en el proceso primario del cultivo de la concha de abanico *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) en la bahía de Sechura – Piura – Perú. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Piura. Piura, Perú.

- Chulle, L. W. F. (2017). Contaminación por residuos de conchas de abanico y efectos en la salud de los pobladores de la zona noroeste de Sechura-Piura 2016. Tesis de Licenciatura. Universidad Alas Peruanas. Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/2327>
- Colán-Ramos, C., Gómez-Sánchez, M., Alcazar-Zamora, J. A. & Aguirre-Velarde, A. (2019). Aprovechamiento de los residuos blandos de concha de abanico, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), para producir harina de alto contenido proteico. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2), 961–966. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16085>
- de Carvalho, J. C., Sydney, E. B., Assú Tessari, L. F. & Soccol, C. R. (2019). Culture media for mass production of microalgae. In *Biofuels from Algae* (pp. 33–50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64192-2.00002-0>
- Díaz, J. L. C. & Veintimilla, D. F. G. (2019). Gestión de residuos sólidos en la empresa acuícola Acuicultura y Pesca S.A.C., Guaynuna. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Esquivel, V. N. (2023). Efecto de diferentes concentraciones del efluente de camal en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/4343>
- Farfán-Raymundo, P. R. (2016). Uso de concha de abanico triturada para mejoramiento de subrasantes arenosas. Disponible en : <https://pirhua.udep.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/a7570936-ce52-48e2-83a4-d51ad0c81a89/content>
- Fernandes, F., Silkina, A., Gayo-Peláez, J. I., Kapoore, R. V., de La Broise, D., & Llewellyn, C. A. (2022). Microalgae cultivation on nutrient rich digestate: The importance of strain and digestate tailoring under pH control. *Applied Sciences*, 12(11), 5429.
- Figuroa-Torres, G. M., Pittman, J. K. & Theodoropoulos, C. (2022). A highly productive mixotrophic fed-batch strategy for enhanced microalgal cultivation. *Sustainable Energy & Fuels*, 6(11), 2771-2782.
- Franchino, M. E., Comino, F. B. & Riggio, A. B. (2013). Growth of three microalgae strains and nutrient removal from an agro-zootechnical digestate. *Chemosphere*, 92(6), 738-744.
- García-Romeral, J., Pavía-Gómez, M., Sanz, T. G., Chirivella-Martorell, J. & Serrano-Aroca, Á. (2017). Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas: importancia, problemas tecnológicos, tipos y sistemas de cultivos, crecimiento, factores limitantes, selección, aislamiento, escalado y caracterización bioquímica. *Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.*, (9), 115-129
- Garibay, A., R. Vasquez-Duhalt; M. Sánchez; L. Serrano & A. Martínez. (2009). Biodiesel a partir de Microalgas. *Biotecnología*, 13(3), 38-61.

- Geng, L., Zhang, J., Qin, B. & Yang, Z. (2014). No difference in colony formation of *Scenedesmus obliquus* exposed to lakes with different nutrient levels. *Biochemical Systematics and Ecology*, 57, 178-182.
- González, R. G. (2014). Mecanismos genéticos de adaptación de microalgas al cambio ambiental brusco: Extinciones masivas y Antropoceno. Universidad Complutense de Madrid. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=183375>
- González-Delgado, Á. D., Barajas-Solano, A. F. & Ardila-Álvarez, A. M. (2017). Evaluación de la producción de lípidos y carbohidratos de microalgas con potencial para la obtención de biocombustibles. *Tecnura*, 21(48), 96-107.
- Guedes, A. C., Amaro, H. M., Pereira, R. D., & Malcata, F. X. 2011. Effects of temperature and pH on growth and antioxidant content of the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Biotechnology progress*, 27 (5), 1218-1224.
- González-Falfán, K. A., Guerrero-Barajas, C., Badillo-Corona, J. A. & Fernández-Linares, L. C. (2021). Production of metabolites from *Scenedesmus* sp. and a microalgal consortium cultured in unconventional media. *Ciencias marinas*, 47(2), 89-103.
- Guillard, R. R. L. (1975). Culture of Phytoplankton for feeding marine invertebrates. In W. L. Smith & M. H. Chanley (Eds.), *Culture of marine invertebrate animals* (pp. 29-60). Plenum Book Publ. Corp., New York, U.S.A.
- Hadipoor, M., Keivanimehr, F., Baghban, A., Ganjali, M. R. & Habibzadeh, S. (2021). Carbon dioxide as a main source of air pollution: Prospective and current trends to control. In *Sorbents Materials for Controlling Environmental Pollution* (pp. 623-688). Elsevier.
- Hawrot-Paw, M., Koniuszy, A., Gałczyńska, M., Zając, G. & Szyszlak-Bargłowicz, J. (2019). Production of microalgal biomass using aquaculture wastewater as growth medium. *Water*, 12(1), 106.
- Huertas, G. M. C. & Mazza, C. W. F. (2014). Efecto del “chilcano” de residuos sólidos de pescado en el crecimiento poblacional y contenido de clorofila α y β de la microalga *Scenedesmus acutus* en laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2744>
- Jiménez, A. M. L. & Rojas, S. I. G. (2015). Efecto de cuatro concentraciones del extracto del ensilado de partes blandas de *Argopecten purpuratus* “Concha de abanico”, en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos totales de *Scenedesmus* sp. cultivada en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2581>
- Kamalanathan, M., Chaisutyakorn, P., Gleadow, R. & Beardall, J. (2018). A comparison of photoautotrophic, heterotrophic, and mixotrophic growth for biomass production by the green alga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae). *Phycologia*, 57(3), 309-317.
- Knudson-Ospina, A., Skantria-Salazar, Á., Tabares, J. H., Restrepo, C. A., Ruiz, M. Á., & López, M. C. (2017). Preservación de huevos de *Necator americanus* con acetato

- de sodio-ácido acético-formalina (SAF). Estudio de caso. *Revista de la Facultad de Medicina*, 65(2), 367-371.
- Lacroux, J., Trably, E., Bernet, N., Steyer, J-P. & van Lis, R. (2020). Mixotrophic growth of microalgae on volatile fatty acids is determined by their undissociated form. *Algal Research*, 47, 101870.
- Leyla, U. S. L. U., Oya, I. Ş. I. K., Bariş, Y. & Sayin, S. (2022). Effects of nitrogen and phosphorus concentrations on the growth and lipid accumulation of microalgae *Scenedesmus obliquus*. *Marine Science and Technology Bulletin*, 11(2), 194-201.
- Lin, Q., & Lin, J. (2011). Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga. *Bioresource Technology*, 102(2), 1615-1621.
- Loayza, R., & Tresierra, Á. (2014). Variación del “biofouling” en linternas de cultivo de “concha de abanico” *Argopecten purpuratus* en bahía Samanco, Ancash, Perú. *Revista Ciencia Y Tecnología*, 10(2), 19-34.
- Loayza, A. R. E., Valencia Cruz, R., & Valencia Cruz, G. (2023). Carbono inmovilizado en las valvas provenientes de cultivos industriales de *Argopecten purpuratus* en el Perú y su potencial en el mercado de carbono. *Ecosistemas*, 32(2), 2461. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2461>
- Loera-Quezada, M., & Olguín, E. J. (2010). Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal*, 1(1), 91-116.
- López, S. S. B., & Ríos Peña, J. J. (2014). Efecto de la concentración celular de *Scenedesmus acutus* cultivado con extracto acuoso de valvas de concha de abanico, *Argopecten Purpuratus*, en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de *Brachionus Calyciflorus* en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2756>
- Lomovasky, B. J., Gamero, P. A., Romero, L., Firstater, F. N., Salazar, A. G., Hidalgo, F., ... & Iribarne, O. O. (2015). The role of *Argopecten purpuratus* shells structuring the soft bottom community in shallow waters of southern Peru. *Journal of Sea Research*, 106, 14-26.
- Lovio-Fragoso, J. P., de Jesús-Campos, D., López-Elías, J. A., Medina-Juárez, L. Á., Fimbres-Olivarría, D. & Hayano-Kanashiro, C. (2021). Biochemical and molecular aspects of Phosphorus limitation in diatoms and their relationship with biomolecule accumulation. *Biology*, 10(7), 565.
- Lürling, M. (2011). Metribuzin impairs the unicell-colony transformation in the green alga *Scenedesmus obliquus*. *Chemosphere*, 82(3), 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.070>
- Mata, T. M., Martins, A. A. & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>

- McMahon, D. J., Paulson, B. & Oberg, C. J. (2005). Influence of calcium, pH, and moisture on protein matrix structure and functionality in direct-acidified nonfat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3754-3763.
- Medina, A., Piña Valdez, P., Nieves soto, M., Arzola Gonzales, J. F. & Guerrero Ibarra, M. (2012). La importancia de las microalgas. *CONABIO. Biodiversidad*, 103, 1-5.
- Merino, F. (2002). Informe de Año Sabático 2022. Universidad Nacional del Santa.
- Merino-Moya, J., Alva-López, F., Román-Ramos, A., & Mendoza-Espinoza, S. (2014). Efecto de tres concentraciones de CO₂, obtenido de valvas de *Argopecten purpuratus* “Concha de abanico”, en el crecimiento poblacional de *Tetraselmis suecica* en condiciones de laboratorio. *Sagasteguiana*, 2(1), 37-46.
- Meyen, F. J. F. (1829). Beobachtungen über einige niedere Algenformen. *Nova Acta Physico-Medica Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Naturae*, 14, 768-778, pl. XLIII [43].
- MINCETUR. (2022). Exportación peruana de conchas de abanico supera los US\$ 50 millones a mayo del 2022. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/mincetur/noticias/632710-exportacion-peruana-de-conchas-de-abanico-supera-los-us-50-millones-a-mayo-del-2022>
- Morales, J. G., Elías, J. A. L., Félix, D. M., Lagunas, N. G. & Olivarría, D. F. (2020). Efecto del estrés por nitrógeno y salinidad en el contenido de β-caroteno de la microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Biotecnia*, 22(2), 13-19.
- Moreno, D. (2016). Evaluación de la temperatura de calcinación y el tamaño de partícula de valvas de concha de abanico sobre el porcentaje de remoción de cromo trivalente en soluciones acuosas artificiales de Cr³⁺ mediante un proceso de precipitación. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Trujillo. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2557>
- Mutanda, T., Naidoo D., Bwapwa, J.K. & Anandraj, A. (2020). Biotechnological Applications of Microalgal Oleaginous Compounds: Current Trends on Microalgal Bioprocessing of Products. *Front. Energy Res.*, 8, 598803. doi: 10.3389/fenrg.2020.598803
- Nguyen, T. T., Binh, Q. A., Bui, X. T., Ngo, H. H., Vo, H. N. P., Lin, K. Y. A., ... & Breider, F. (2020). Co-culture of microalgae-activated sludge for wastewater treatment and biomass production: Exploring their role under different inoculation ratios. *Bioresource Technology*, 314, 123754.
- Ortega, J. (2004). Influencia del Acetato Sobre el Crecimiento y Contenido de Pigmentos de la Microalga *Chlorella* sp. *Ciencia*, 12(1). <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9206>
- Oscanoa, H. A., Cervantes, M. & Febrero, P. (2020). Manual para la producción de biomasa microalgal en condiciones de invernadero.

- Paniagua, J., Biickle, L., Granador C. & Loyola D. (1986). Manual de Metodologías y Alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE-Acuicultura. Ensenada Baja California. México, 89 pp.
- Pardo, C. M. C. (2020). Valoración de microalgas para el tratamiento de lixiviados generados a partir de residuos sólidos urbanos (RSU). Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo. Oviedo, España.
- Pineda, R. Y. Y. (2023). Respuestas fisiológicas y bioquímicas de *Limnospira maxima* a la exposición a diferentes espectros de luz y fuentes de nitrógeno. Disponible en: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/7649>
- PRODUCE. (2021). PRODUCE y el Banco Interamericano de Desarrollo socializan importante documento para el desarrollo de una Acuicultura Sostenible en el Perú. https://rnia.produce.gob.pe/wp-content/uploads/2022/03/BOL_81_RNIA.pdf
- Polat, E., Yüksel, E. & Altınbaş, M. (2020). Effect of different iron sources on sustainable microalgae-based biodiesel production using *Auxenochlorella protothecoides*. Renewable Energy, 162, 1970-1978.
- Radzun, K. A., Wolf, J., Jakob, G., Zhang, E., Stephens, E., Ross, I. & Hankamer, B. (2015). Automated nutrient screening system enables high-throughput optimization of microalgae production conditions. Biotechnology for biofuels, 8(1), 1-17.
- Ramajo, L., Sola-Hidalgo, C., Valladares, M., Astudillo, O. & Inostroza, J. (2022). Size matters: physiological sensitivity of the scallop *Argopecten purpuratus* to seasonal cooling and deoxygenation upwelling-driven events. Frontiers in Marine Science, 9, 2621.
- Rendón, C. L. J., Ramírez, C. M. E. & Vélez, S. Y. (2015). Microalgas para la industria alimenticia.
- Ríos, O. W. E. & Velásquez, V. M. (2016). Obtención de carbonato de calcio a partir de valvas residuales de caracol (*Thais Chocolata*). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional San Agustín de Arequipa. Disponible en: <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/6d162e01-674a-49ec-b0f3-2c90ebb04441>
- Rojas, C. A. P. (2023). Caracterización fisiológica y transcriptómica de la respuesta metabólica a variaciones de pH en la diatomea *Phaeodactylum tricornutum*.
- Ruane, J., Sonnino, A. & Agostini, A. (2010). Bioenergy and the potential contribution of agricultural biotechnologies in developing countries. Biomass and Bioenergy, 34(10), 1427–1439. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.04.011>
- Sanchez, A. K. P. (2022). Efecto del porcentaje *Spirulina* sp. sobre la recuperación de aguas contaminados por Cadmio y Arsénico mediante biorremediación en la laguna Piás. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Trujillo. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/4742994>
- Sandoval, J. A., Morales Granados, M. A. & Rubio, D. (2020). Breve revisión del uso de microalgas para la remoción de contaminantes emergentes en aguas residuales. Gestión y Ambiente, 23(1). <https://doi.org/10.15446/ga.v23n1.84034>

- Santomauro, G., Baier, J., Huang, W., Pezold, S. & Bill, J. (2012). Formation of calcium carbonate polymorphs induced by living microalgae. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3(04), 413.
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A. & Abd_Allah, E. F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 709–722. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003>
- Saxena, A., Singh, P. K., Bhatnagar, A. & Tiwari, A. (2022). Growth of marine diatoms on aquaculture wastewater supplemented with nanosilica. *Bioresource Technology*, 344, 126210.
- Scandiffio, P., Mantilla, T., Amaral, F., França, F., Basting, R. & Turssi, C. (2018). Anti-erosive effect of calcium carbonate suspensions. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 10 (8), e776.
- Schiavoni, M. D. L. M., Laurella, S. L. & Caputo, M. (2021). Análisis de acidez y basicidad en compuestos orgánicos. *Libros de Cátedra*.
- Schwenk, J. R. (2012). Effects of magnesium sulfate, digestate, and other inorganic nutrients on the phototrophic growth of the green microalga *Scenedesmus dimorphus*. Tesis Doctoral. Cleveland State University. Disponible en: http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=csu1340910219
- Shanthi, G., Premalatha, M. & Anantharaman, N. (2021). Potential utilization of fish waste for the sustainable production of microalgae rich in renewable protein and phycocyanin-*Arthrospira platensis*/Spirulina. *Journal of Cleaner Production*, 294, 126106.
- Silva, A. J., Cavalcanti, V. L. R., Porto, A. L. F., Gama, W. A., Brandão-Costa, R. M. P., & Bezerra, R. P. (2020). The green microalgae *Tetradismus obliquus* (*Scenedesmus acutus*) as lectin source in the recognition of ABO blood type: purification and characterization. *Journal of Applied Phycology*, 32, 103-110.
- Siswoyo, E., Tanjung, D. S. & Jauhari Hamidil Jalaly, M. (2021). Development of Natural Coagulant for Turbidity Removal Created from Marine Product Solid Waste. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 799(1), 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/799/1/012038>
- Song, M. & Pei, H. (2018). The growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* during batch mixotrophic/heterotrophic cultivation using xylose as a carbon source. *Bioresource Technology*, 263, 525-531.
- Song, X., Liu, B. F., Kong, F., Ren, N. Q. & Ren, H. Y. (2022). Overview on stress-induced strategies for enhanced microalgae lipid production: Application, mechanisms and challenges. *Resources, Conservation and Recycling*, 183, 106355.
- Soto-Sánchez, O., Hidalgo, P., González, A., Oliveira, P. E., Hernández Arias, A. J. & Dantagnan, P. (2023). Microalgae as raw materials for aquafeeds: Growth kinetics and improvement strategies of polyunsaturated fatty acids production. *Aquaculture Nutrition*, 2023.

- Sugumar, S., Rajesh, R., Kannan, P. & Venkatesan, P. (2020). Biodiesel production from the biomass of *Dunaliella salina* green microalgae using organic solvent. *Materials Today: Proceedings*, 33, 3260-3264.
- Tang, C. C., Zhang, X. Y., Wang, R., Wang, T. Y., He, Z. W. & Wang, X. C. (2022). Calcium ions-effect on performance, growth and extracellular nature of microalgal-bacterial symbiosis system treating wastewater. *Environmental Research*, 207, 112228.
- Teijón, J. M. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Editorial Tébar.
- Teuling, E., Wierenga, P. A., Schrama, J. W. & Gruppen, H. (2017). Comparison of protein extracts from various unicellular green sources. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(36), 7989-8002.
- Trivedi, J., Agrawal, D., Atray, N. & Ray, A. (2022). Enhanced lipid production in *Scenedesmus obliquus* via nitrogen starvation in a two-stage cultivation process and evaluation for biodiesel production. *Fuel*, 316, 123418.
- Urbina-Suárez, N. A. (2022). Efecto de diferentes fuentes de nitrógeno en el cultivo autotrófico y mixotrófico de *Scenedesmus* sp para la producción de biomasa y carotenoides utilizando efluentes ácidos de drenaje de minas de carbón. *Ingeniería y Competividad*, 24(1), NA-NA.
- Valdiviezo Pérez, F. A. (2023). Extracto de microalgas en la producción y calidad en ají escabeche (*Capsicum baccatum* var. *Pendulum*). Disponible en: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/6017>
- Vásquez de la Cruz, E. D. & Zavaleta Gámez, T. H. (2017). Crecimiento poblacional y contenido de lípidos de la microalga *Scenedesmus acutus* cultivada con diferentes concentraciones de aguas residuales municipales en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2577>
- Vereau, N. E. W. & Quiroz, R. K. F. (2015). Efecto de diferentes concentraciones de extracto acuoso del sedimento de la bahía “El Ferrol” en el crecimiento poblacional y contenido de lípidos de la microalga *Scenedesmus Acutus* en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Santa. Disponible en: <https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/2776>
- Yaakob, M. A., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana-Gokare, R. & Ambati, R. R. (2021). Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview. *Cells*, 10(2), 393.
- Yauri, P., & Anderson, J. (2021). Diseño de un biofiltro compuesto de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) Arcilla para la remoción de bacterias del agua en el Anexo de Cahuide-CP Cascajal-Santa. Disponible en: <http://publicaciones.usanpedro.edu.pe/handle/20.500.129076/20538>
- Yenque, M. L. G. (2021). Análisis comparativo del crecimiento de la concha de abanico, *Argopecten Purpuratus* con respecto del sistema de cultivo suspendido y el sistema

de cultivo de fondo en la empresa Asociación de pescadores artesanales acuicultores Chulliyachi–Sechura.

Znavor, P. & Nedoma, J. (2010). Importance of dissolved organic carbon for phytoplankton nutrition in a eutrophic reservoir. *Journal of plankton research*, 32(3), 367-376.

Zhu, Z., Jiang, J. & Fa, Y. (2020). Overcoming the Biological Contamination in Microalgae and Cyanobacteria Mass Cultivations for Photosynthetic Biofuel Production. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(22), 5220. <https://doi.org/10.3390/molecules25225220>

ANEXOS

Anexo 1. Ensayos pre-experimentales realizados en el laboratorio.



Anexo 2. Crecimiento poblacional ($\times 10^4$ células mL^{-1}) estimado en los ensayos pre-experimentales.

Días	Tratamientos con EVCA (mL L^{-1})				
	Control	2.5	5.0	7.5	10.0
0	75	75	75	75	75
7	852	775	745	1123	696

Anexo 3. Conteos microscópicos de *S. acutus* en los diferentes cultivos experimentales.



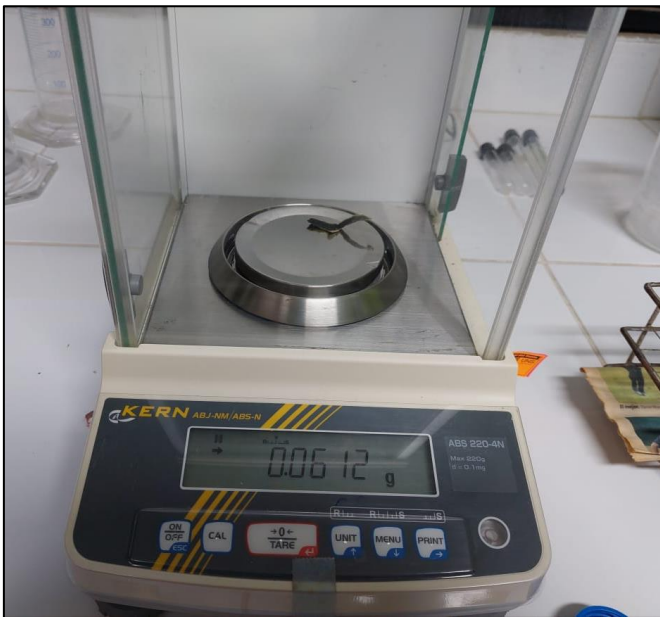
Anexo 4. Determinación del pH de los cultivos de *S. acutus*.



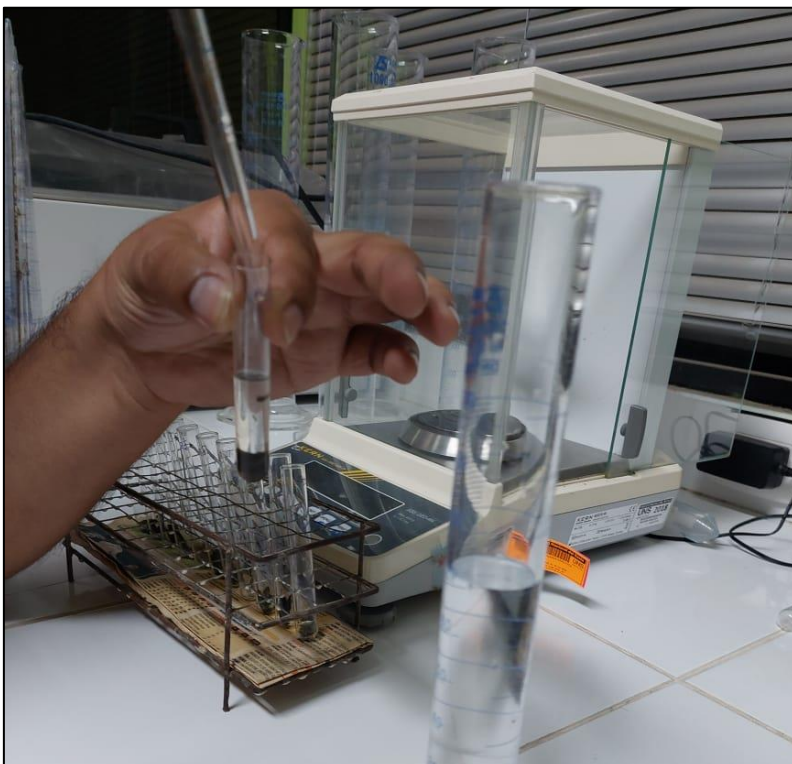
Anexo 5. Secado de la biomasa de *S. acutus* en la estufa.



Anexo 6. Determinación de la biomasa de los cultivos experimentales por método gravimétrico.



Anexo 7. Determinación de lípidos por extracción con cloroformo-metanol.



Anexo 8. Valores del crecimiento poblacional de *S. acutus*.

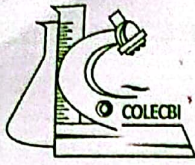
Días	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3
0	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152
1	319	206	222	268	196	210	274	266	172	260	332	173
2	786	505	479	664	802	648	616	900	703	687	618	742
3	738	862	714	662	741	820	919	587	854	673	725	914
4	815	713	692	814	691	686	785	888	765	792	794	798
5	730	1037	861	759	747	717	754	725	883	961	750	1203
6	1140	1035	1096	1105	952	793	556	946	1078	1102	1161	1230
7	1004	1014	1019	704	850	757	839	895	717	778	654	1143

Anexo 9. Valores del pH de los cultivos de *S. acutus*.

Días	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3
0	7.82	6.74	7.51	8.55	8.65	8.44	8.11	8.44	8.65	8.46	8.21	8.2
1	8.62	8.27	8.3	8.75	8.84	8.78	8.75	8.69	8.74	8.63	8.58	8.65
2	8.61	8.13	8.14	8.68	8.77	8.98	8.79	8.7	8.74	8.68	8.62	8.64
3	7.8	7.59	7.79	8.65	8.74	8.77	8.71	8.67	8.66	8.64	8.66	8.59
4	7.83	7.88	7.86	8.66	8.66	8.84	8.68	8.66	8.67	8.65	8.65	8.6
5	7.79	7.8	7.82	8.65	8.75	8.76	8.81	8.79	8.75	8.62	8.7	8.68
6	7.83	7.83	7.84	8.68	8.7	8.52	8.66	8.55	8.64	8.61	8.68	8.57
7	7.92	7.59	7.91	8.64	8.57	8.58	8.61	8.62	8.58	8.55	8.6	8.52

Anexo 10. Valores de la temperatura de los cultivos de *S. acutus*.

Días	TCR1	TCR2	TCR3	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3
0	26.3	26.8	26.7	26.7	26.6	26.6	26.6	26.5	26.5	26.3	26.3	26.6
1	27.3	27.5	27.4	27.6	27.4	27.8	27.9	27.5	27.3	27.3	27.3	27.5
2	27.8	28.8	27.9	28.3	27.8	29.2	28.8	28.5	28.4	27.8	28.3	28.6
3	27.2	27.7	27.1	27.3	27.3	28.2	27.9	27.5	27.3	27.1	27.3	26.9
4	27.8	28.4	27.8	27.8	27.6	28.5	28.3	27.8	27.8	27.3	27.8	27.6
5	28.1	28.6	28.1	28.3	28.2	28.8	28.6	28.2	28.1	28.1	28.1	27.5
6	28.3	28.6	28.1	28.3	28.1	29.1	28.9	28.6	28.3	27.8	28.5	27.6
7	26.9	27.9	26.8	27.1	26.8	28.2	27.9	27.1	26.9	26.5	27.3	26.6



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS
CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES

“COLECBI” S.A.C.

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

INFORME DE ENSAYO N° 20230612-013

Pág. 1 de 2

SOLICITADO POR : GUSTAVO ENRIQUE OLIVOS RAMIREZ
DIRECCIÓN : Prolongación Alfonso Ugarte Mz. 10 Lote 15 N° 1788 Chimbote.
NOMBRE DEL CONTACTO DEL CLIENTE : NO APLICA.
PRODUCTO (DECLARADO POR EL CLIENTE) : EXTRACTO DE VALVAS CONCHA ABANICO.
LUGAR DE MUESTREO : NO APLICA.
MÉTODO DE MUESTREO : NO APLICA.
PLAN DE MUESTREO : NO APLICA.
CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE EL MUESTREO : NO APLICA.
FECHA DE MUESTREO : NO APLICA.
CANTIDAD DE MUESTRA : 02 muestras
PRESENTACIÓN DE LA MUESTRA : Tubo de ensayo.
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : En buen estado.
FECHA DE RECEPCIÓN : 2023-06-12
FECHA DE INICIO DEL ENSAYO : 2023-06-12
FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO : 2023-06-24
ENSAYOS REALIZADOS EN : Laboratorio Físico Químico e Instrumental.
CÓDIGO COLECBI : SS 230612-7

RESULTADOS

ENSAYOS FÍSICO QUÍMICOS

ENSAYOS	MUESTRA
	EXTRACTO DE VALVAS CONCHA ABANICO
(*) Nitrógeno (mg/Kg)	<0,5

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

COLECBI S.A.C.

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



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS
CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES

“COLECBI” S.A.C.

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

INFORME DE ENSAYO N° 20230812-013

Pág. 2 de 2

ENSAYOS DE METALES

METALES TOTALES	L. C. (mg/Kg)	EXTRACTO DE VALVAS CONCHA ABANICO
Plata (Ag)	0,4	<0,4
Aluminio (Al)	13	17
Arsénico (As)	2	<2
Boro (B)	12	<12
Barlo (Ba)	2	<2
Calcio (Ca)	10	17220
Cadmio (Cd)	0,4	<0,4
Cobalto (Co)	0,1	<0,1
Cromo (Cr)	0,2	<0,2
Cobre (Cu)	0,6	1,9
Hierro (Fe)	2	213
Mercurio (Hg)	0,5	<0,5
Potasio (K)	32	<32
Magnesio (Mg)	13	271
Manganeso (Mn)	1	3
Molibdeno (Mo)	1	<1
Sodio (Na)	29	560
Niquel (Ni)	0,2	<0,2
Fósforo (P)	5	58
Plomo (Pb)	0,7	<0,7
Antimonio (Sb)	2	<2
Talio (Tl)	2	<2
Vanadio (V)	0,6	<0,6
Zinc (Zn)	0,4	1,5

Resultados en base seca

METODOLOGIA EMPLEADA

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

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

NOTA :

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

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

GVR/jms

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

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

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

FIN DEL INFORME

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

COLECBI S.A.C.

Urb. Buenos Aires Mz. A - Lt. 7 | Etapa - Nuevo Chimbote - Teléfono: 043 310752

Celular: 998392893 - 998393974 - Apartado 127

e-mail: colecbi@speedy.com.pe / medioambiente_colecbi@speedy.com.pe

Web: www.colecbi.com



CORPORACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYOS
CLÍNICOS, BIOLÓGICOS E INDUSTRIALES

“COLECBI” S.A.C.

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

INFORME DE ENSAYO N° 20231004-003

Pág. 1 de 1

SOLICITADO POR : MILAGROS YOCELINE ROBLES ACUÑA
ANGIE MERRYSHU CARUAZULCA VEGAS.

DIRECCIÓN : Urb. Nicolás Garatea Mz. 71 Lote 19 Nuevo Chimbote.

NOMBRE DEL CONTACTO DEL CLIENTE : NO APLICA

PRODUCTO (DECLARADO POR EL CLIENTE) : VALVAS DE ARGOPecten PURPURECTUS CON ACIDO ACETICO.

LUGAR DE MUESTREO : NO APLICA

MÉTODO DE MUESTREO : NO APLICA

PLAN DE MUESTREO : NO APLICA.

ACTA DE MUESTREO : NO APLICA.

CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE EL MUESTREO : NO APLICA

FECHA DE MUESTREO : NO APLICA

CANTIDAD DE MUESTRA : 01 muestra.

PRESENTACIÓN DE LA MUESTRA : En bolsa de polietileno transparente cerrada.

CONDICIÓN DE LA MUESTRA : En buen estado.

FECHA DE RECEPCIÓN : 2023-10-04

FECHA DE INICIO DEL ENSAYO : 2023-10-04

FECHA DE TÉRMINO DEL ENSAYO : 2023-10-05

ENSAYOS REALIZADOS EN : Laboratorio Físico Químico.

CÓDIGO COLECBI : SS 231004-3

RESULTADOS

ENSAYO	MUESTRA
	MEDIO DE CULTIVO EVCA
Nitrogeno Total (mg/L)	123,0

METODOLOGÍA EMPLEADA

Nitrogeno Total : SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 4500-Norg C, 24th Ed. 2023.

NOTA :

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

Fecha de Emisión: Nuevo Chimbote, Octubre 06 del 2023.
GVR/jms

LC-MP -HRIE
Rev. 10
Fecha 2023-09-15

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

A. Gustavo Vargas Ramos
Gerente de Laboratorio
BIOLÓGICO MICROBIOLÓGICO
L. B. P. 128
COLECBI S.A.C.

FIN DEL INFORME

COLECBI S.A.C.

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