



Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología con Mención en Biotecnología

Optimización en el cultivo de cepa nativa de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar

Tesis

Para optar el Título Profesional de Biólogo con Mención en Biotecnología

Autora

Bertha Cecilia Felix Tarazona

Asesor

Dr. William Andres Guzmán Sánchez

**Huacho – Perú
2025**

Univ. Nacional José Faustino Sánchez Carrión
FACULTAD DE CIENCIAS
[Firma]
Dr. William Andrés Guzmán Sánchez
Docente Principal COLIBO N° 1263



Reconocimiento - No Comercial – Sin Derivadas - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Reconocimiento: Debe otorgar el crédito correspondiente, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se realizaron cambios. Puede hacerlo de cualquier manera razonable, pero no de ninguna manera que sugiera que el licenciante lo respalda a usted o su uso. **No Comercial:** No puede utilizar el material con fines comerciales. **Sin Derivadas:** Si remezcla, transforma o construye sobre el material, no puede distribuir el material modificado. **Sin restricciones adicionales:** No puede aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros de hacer cualquier cosa que permita la licencia.



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

LICENCIADA

(Resolución de Consejo Directivo N° 012-2020-SUNEDU/CD de fecha 27/01/2020)

FACULTAD DE CIENCIAS




ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

INFORMACIÓN

| DATOS DEL AUTOR (ES): | | |
|---|------------|------------------------------|
| NOMBRES Y APELLIDOS | DNI | FECHA DE SUSTENTACIÓN |
| Bertha Cecilia Felix Tarazona | 72956977 | 07/02/2025 |
| | | |
| DATOS DEL ASESOR: | | |
| NOMBRES Y APELLIDOS | DNI | CÓDIGO ORCID |
| Dr. William Andrés Guzmán Sánchez | 06015776 | 0000-0003-1424-4287 |
| DATOS DE LOS MIEMBROS DE JURADOS – PREGRADO/POSGRADO-MAESTRÍA-DOCTORADO: | | |
| NOMBRES Y APELLIDOS | DNI | CÓDIGO ORCID |
| Msc. Eduardo Sigifredo Benites Requena | 25664823 | 0000-0003-4764-1000 |
| Blgo. Desiderio Elias Cotos Duran | 07243334 | 0000-0001-7456-5379 |
| Dr. Mirtha Soledad Ferrer Ventocilla | 45588716 | 0000-0002-7061-9410 |

Bertha Cecilia Felix Tarazona_2025-001836

Optimización en el cultivo de cepa nativa de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar

-  Quick Submit
-  Quick Submit
-  Facultad de Ciencias

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::1:3140019218

Fecha de entrega

28 ene 2025, 4:19 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

28 ene 2025, 4:33 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

2025-001836_FELIX_TARAZONA_BERTHA_CECILIA.pdf

Tamaño de archivo

848.1 KB

66 Páginas

12,182 Palabras

73,601 Caracteres



Página 2 of 73 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid:::1:3140019218

16% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 16%  Fuentes de Internet
- 10%  Publicaciones
- 12%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS



**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA CON MENCIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA**

Optimización en el cultivo de cepa nativa de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar

MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR:

MsC. Eduardo Sigifredo Benites Requena

PRESIDENTE

Blgo. Desiderio Elías Cotos Duran

SECRETARIO

Dr. Mirtha Soledad Ferrer Ventocilla

VOCAL

Dr. William Andrés Guzmán Sánchez

ASESOR

AGRADECIMIENTO

A mis profesores de la universidad; al Dr. Guzmán Sánchez, William Andrés, Dr. Miguel Machahua, MSc. Benites Requena Eduardo y Cotos Duran Desiderio; por el apoyo y orientación durante toda mi formación académica.

A mis compañeros de investigación y laboratorio de Biotecnología; Valeria García, Thais Quevedo, Angela Sanchez, Diego Mendoza, Josué Mezarina y Yeltzin Torres; por su apoyo y pasión por la ciencia.

Al Blgo. Anthony Cortez quien estuvo presente en toda mi formación académica, como un amigo y tutor; su dedicación y compromiso fueron fundamentales en mi desarrollo tanto académico como personal.

Finalmente agradezco a Gabriel Janampa Guzmán y William Paucar por su invaluable apoyo en el desarrollo del fotobiorreactor.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, por haberme permitido avanzar con fortaleza y alcanzar mis objetivos; también a mi madre, por ser la luz que guía y cuida mis pasos; a mi padre, porque siempre es él quien me incentiva a continuar con más retos profesionales; a mi hermana, por apoyarme y enseñarme a superar los obstáculos de la vida; finalmente dedico esta investigación a mis queridos tíos Humberto Tarazona y María Pachas por haber estado presente en mis momentos más difíciles.

INDICE

| | |
|---|-----------|
| Capítulo I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 11 |
| 1.1 Descripción de la realidad problemática | 11 |
| 1.2 Formulación del problema..... | 12 |
| 1.2.1 Problema general | 12 |
| 1.2.2 Problemas específicos..... | 12 |
| 1.3 Objetivos de la investigación..... | 12 |
| 1.3.1 Objetivo general | 12 |
| 1.3.2 Objetivos específicos | 12 |
| 1.4 Justificación de la investigación..... | 13 |
| 1.5. Delimitaciones del estudio | 14 |
| 1.6. Viabilidad del estudio | 14 |
| Capítulo II: MARCO TEORICO..... | 15 |
| 2.1. Antecedentes de la investigación..... | 15 |
| 2.1.1. Investigaciones internacionales | 15 |
| 2.1.2. Investigaciones nacionales | 17 |
| 2.2. Bases teóricas..... | 20 |
| 2.2.1. Descripción del cultivo de <i>Chlorella</i> sp | 20 |
| 2.2.1.1. Taxonomía | 20 |
| 2.2.2. Morfología de <i>Chlorella</i> sp | 21 |
| 2.2.2.1. Reproducción de <i>Chlorella</i> sp | 22 |
| 2.2.2.2 <i>Chlorella</i> sp. Composición química | 22 |
| 2.2.3 Reproducción en microalgas | 22 |
| 2.2.4 Actividades metabólicas..... | 23 |
| 2.2.4.1 Fotosíntesis en microalgas | 23 |
| 2.2.4.2 Pigmentos fotosintéticos..... | 23 |
| 2.3 Parámetros para el cultivo de microalgas | 23 |
| 2.3.1 Nutrientes..... | 23 |
| 2.3.1.1 Luz..... | 24 |
| 2.3.1.2 Potencial de hidrógeno (pH)..... | 24 |

| | |
|---|----|
| 2.3.1.3 Aireación | 24 |
| 2.3.1.4 Salinidad..... | 25 |
| 2.3.1.5 Temperatura | 25 |
| 2.4 Fases de crecimiento | 25 |
| 2.4.1 Fase de adaptación | 25 |
| 2.4.2 Fase de aceleramiento | 25 |
| 2.4.3 Fase exponencial..... | 25 |
| 2.4.4 Fase de desaceleración | 26 |
| 2.4.5 Fase estacionaria | 26 |
| 2.4.6 Fase de muerte..... | 26 |
| 2.5 Manejo del cultivo..... | 27 |
| 2.5.1 Control de contaminación | 27 |
| 2.5.1.1 Cultivo discontinuo | 27 |
| 2.5.1.2 Ácido indol 3-acético (AIA) | 28 |
| 2.6 Efecto de agua de mar en cultivo de <i>Chlorella</i> sp | 28 |
| 2.7. Hipótesis de investigación..... | 29 |
| 2.7.1. Hipótesis general | 29 |
| 2.7.2. Hipótesis específicas | 29 |
| Capítulo III: METODOLOGÍA..... | 30 |
| 3.1. Diseño metodológico | 30 |
| 3.1.1. Tipo de investigación..... | 30 |
| 3.1.2. Nivel de investigación..... | 30 |
| 3.1.3. Diseño de investigación | 30 |
| 3.1.4. Enfoque | 30 |
| 3.2. Población y muestra | 30 |
| 3.2.1. Población..... | 30 |
| 3.3. Operacionalización de variable..... | 31 |
| 3.4. Técnicas e instrumento de recolección de datos..... | 31 |
| 3.4.1. Material biológico..... | 31 |
| 3.4.1.1. Repique y purificación de <i>Chlorella</i> sp | 31 |
| 3.4.1.2 Caracterización morfológica macroscópica..... | 32 |

| | |
|--|----|
| 3.4.1.3 Caracterización morfológica microscópica..... | 32 |
| 3.4.2.2 Cultivo en placas de agar..... | 33 |
| 3.4.2.3 Recolección de agua de mar | 33 |
| 3.4.3. Construcción y diseño de fotobiorreactor de cultivo de <i>Chlorella</i> sp..... | 34 |
| 3.4.4. Inoculación de cepa de <i>Chlorella</i> sp. sobre el fotobiorreactor..... | 34 |
| 3.4.3.1 Cinética de crecimiento de microalgas | 35 |
| 3.4.3.2 Producción de Biomasa de <i>Chlorella</i> sp | 36 |
| 3.4.3.3. Liofilización..... | 36 |
| 3.4.3.4 Recuperación por liofilización..... | 36 |
| 3.5 Viabilidad..... | 37 |
| 3.6 Preparación de los envases a liofilizar | 37 |
| 3.7 Descripción de los instrumentos | 38 |
| 3.8 Técnicas para el procesamiento de la información | 39 |
| Capítulo IV: RESULTADOS..... | 39 |
| 4.1 Caracterización morfológica de <i>Chlorella</i> sp | 41 |
| 4.2 Macroscópica..... | 42 |
| 4.3 Microscópica..... | 42 |
| 4.4 Construcción y diseño de fotobiorreactor de cultivo de <i>Chlorella</i> sp | 43 |
| 4.5 Evaluación de biomasa | 45 |
| 4.6 Evaluación de liofilización..... | 47 |
| 4.7 Rehidratación..... | 47 |
| 4.8 Evaluación de la viabilidad..... | 47 |
| Capítulo V: DISCUSIÓN..... | 48 |
| 5.1 Discusión de resultados..... | 48 |
| Capítulo VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 51 |
| 6.1 Conclusiones | 51 |
| 6.2 Recomendaciones | 52 |
| Capítulo VII: FUENTES DE INFORMACIÓN..... | 53 |
| 7.1 Fuentes bibliográficas | 53 |
| ANEXOS:..... | 64 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1: Ciclo de vida de <i>Chlorella</i> sp..... | 21 |
| Figura 2. Fases de reproducción de <i>Chlorella</i> sp..... | 22 |
| Figura 3. Fases del crecimiento celular en microalgas..... | 26 |
| Figura 4. Esquema de producción de un cultivo discontinuo en microalgas | 28 |
| Figura 5. Caracterización morfológica de <i>Chlorella</i> sp | 40 |
| Figura 6: Conteo celular en la cámara de recuento Sedgwick-Rafter..... | 41 |
| Figura 7: Gráfica de cinética de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp..... | 42 |
| Figura 8: Gráfica de cinética de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp..... | 43 |
| Figura 9: Gráfica de cinética de crecimiento de <i>Chlorella</i> sp..... | 43 |
| Figura 10. Diseño de fotobiorreactor de cultivo de <i>Chlorella</i> sp..... | 44 |
| Figura 11. Construcción y diseño de fotobiorreactor de cultivo de <i>Chlorella</i> sp..... | 45 |
| Figura 12. Evaluación de biomasa del T7 de <i>Chlorella</i> sp..... | 46 |
| Figura 13: Gráfica de valores absolutos de biomasa (g) de <i>Chlorella</i> sp..... | 47 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----------|
| Tabla 1. Operacionalización de variable | 31 |
| Tabla 2: Configuración de tratamientos..... | 35 |
| Tabla 3: Conteo celular de <i>Chlorella</i> sp | 41 |

RESUMEN

Debido a la creciente demanda de recursos sostenibles y la búsqueda de alternativas viables para satisfacer las necesidades industriales, las microalgas, se han destacado como una fuente prometedora de biomasa y diversos compuestos bioactivos con aplicaciones comerciales. Se tuvo como objetivo optimizar los parámetros de cultivo de *Chlorella* sp. en un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar a nivel de laboratorio. Además, se evaluaron parámetros óptimos maximizando su crecimiento y producción. La metodología incluyó 12 tratamientos y un control en un período de 21 días con conteo celular y monitoreo constante. Además, se diseñó un fotobiorreactor usando tecnología 3D para mejorar la producción de biomasa en menor tiempo. Así mismo se evaluó la liofilización como método de conservación utilizando agentes lioprotectores para preservar la viabilidad de la cepa. Los resultados mostraron que la temperatura óptima fue de 30°C, lo que favoreció la actividad fotosintética y metabólica ya que, a esta temperatura, la actividad enzimática y las reacciones metabólicas aceleran el proceso de fotosíntesis, también un fotoperiodo de 16/8 mejora la mayor producción de *Chlorella* sp., la dosificación de agua de mar al 25% proporcionó un equilibrio osmótico favorable, favoreciendo un crecimiento constante y el uso del fotobiorreactor permitió un control eficiente de las condiciones de cultivo, incrementando la productividad. Finalmente, la liofilización demostró una viabilidad de conservación del 80%.

Se concluye que los parámetros ambientales establecidos son fundamentales para un cultivo sostenible de *Chlorella* sp., con importantes implicancias en aplicaciones industriales sostenibles y ecológicas.

Palabras clave: Biomasa, *Chlorella* sp., cultivo sostenible, fotobiorreactor, liofilización.

ABSTRACT

Due to the growing demand for sustainable resources and the search for viable alternatives to meet industrial needs, microalgae have emerged as a promising source of biomass and various bioactive compounds with commercial applications. The objective was to optimize the cultivation parameters of *Chlorella* sp. in a photobioreactor system using seawater at the laboratory level. Additionally, optimal parameters were evaluated to maximize growth and production. The methodology included 12 treatments and a control over a 21-day period, with cell counting and constant monitoring. A photobioreactor was also designed using 3D technology to enhance biomass production in less time. Furthermore, lyophilization was evaluated as a preservation method, using lyoprotectant agents to preserve the viability of the strain. The results showed that the optimal temperature was 30°C, which favored photosynthetic and metabolic activity as this temperature accelerated enzyme activity and metabolic reactions, speeding up the photosynthesis process. A photoperiod of 16/8 improved the production of *Chlorella* sp. The seawater dosage at 25% provided a favorable osmotic balance, promoting constant growth. The use of the photobioreactor allowed efficient control of cultivation conditions, increasing productivity. Finally, lyophilization demonstrated a conservation viability of 80%. It was concluded that the established environmental parameters are fundamental for sustainable cultivation of *Chlorella* sp., with significant implications for sustainable and ecological industrial applications.

Keywords: Biomass, *Chlorella* sp., sustainable cultivation, photobioreactor, lyophilization.

INTRODUCCION

El incremento en la demanda de recursos sostenibles ha impulsado la búsqueda de alternativas biológicas viables para satisfacer las necesidades industriales. Las microalgas, debido a su versatilidad y productividad, han ganado relevancia como una fuente innovadora de biomasa y compuestos bioactivos con aplicaciones biotecnológicas en alimentación, energía, cosmética y medicina (Guaygua-Arroyo *et al.*, 2021).

Para maximizar el potencial de las microalgas, resulta imprescindible modificar y optimizar los parámetros de cultivo. Un elemento crucial en este procedimiento es la correcta gestión del sistema de luz en los fotobiorreactores; ya que la luz tiene un rol esencial en la fotosíntesis maximizando la eficiencia en la absorción de radiación fotosintéticamente activa (RFA) durante la fase luminosa. Una gestión eficaz de la luz tiene el potencial de incrementar significativamente la productividad de las microalgas (Gallardo *et al.*, 2015). Sin embargo, es importante administrar la luz de manera exacta, dado que un exceso como una falta de luz pueden obstaculizar la eficiencia fotosintética, lo que repercute de manera adversa en la producción de biomasa y los compuestos bioactivos como proteínas, ácidos grasos esenciales y antioxidantes (Albuja *et al.*, 2011).

En sistemas de cultivo de gran magnitud, las fluctuaciones en la intensidad de luz pueden provocar irregularidades en el desarrollo de las microalgas, impactando tanto en la cantidad como en la calidad de la biomasa generada (Olvera-Ramírez, 2006). Por esta razón, es crucial desarrollar métodos eficaces para el aumento y la regulación del cultivo, como la creación de fotobiorreactores con tecnología electrónica, que garanticen un alto rendimiento en la fotosíntesis y una homogenización uniforme de la biomasa (Gharib y Ahmed, 2023). Esta investigación tiene como objetivo optimizar los parámetros de cultivo de *Chlorella* sp. en un sistema de fotobiorreactor

empleando agua de mar a nivel de laboratorio, incrementando la producción de biomasa y fomentando la sostenibilidad en el sector industrial, diversificando los recursos disponibles.

Capítulo I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Debido al aumento de recursos sostenibles y la búsqueda de opciones factibles para satisfacer las necesidades de la industria. Las microalgas han surgido como una fuente prometedora de biomasa y compuestos bioactivos (Guaygua-Arroyo *et al.*, 2021). Además de aplicaciones industriales con una producción estimada de 2000 toneladas/año (Batista *et al.*, 2013).

Las técnicas tradicionales de producción presentan una baja eficiencia en la generación de biomasa, lo que impide explotar adecuadamente el potencial de *Chlorella* sp. en entornos de laboratorio, ya que limitan la síntesis de proteínas y pigmentos fotosintéticos, como las clorofilas y carotenoides, con relevancia comercial. (Pereira *et al.*, 2020)

Se ha optimizado el cultivo de *Chlorella* sp. en fotobiorreactores mejorando las condiciones de cultivo de manera eficiente en la obtención de biomasa y compuestos bioactivos de microalgas (Pereira *et al.*, 2020).

Resumiendo lo anterior, siendo un cultivo con escasos estudios relacionados, la adaptación del agua de mar a diferentes dosificaciones, conteniendo nutrientes esenciales como nitratos, fosfatos y minerales traza, posiblemente influya en el crecimiento y la producción de *Chlorella* sp. Utilizando un sistema de fotobiorreactor, se podrá optimizar parámetros como la temperatura y el fotoperiodo para obtener una mayor producción en menor tiempo y a menor costo bajo condiciones de laboratorio. (Emad *et al.*, 2015)

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

- ¿Es posible optimizar los parámetros en el cultivo de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuáles serán las condiciones de temperaturas óptimas para el crecimiento de *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio?
- ¿Cuáles serán las condiciones de fotoperiodos óptimos para el crecimiento de *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio?
- ¿Cuáles serán los porcentajes de dosificaciones de agua de mar en el crecimiento de *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio?
- ¿Es posible evaluar la efectividad de la liofilización para la conservación de la cepa de *Chlorella* sp.?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

- Optimizar los parámetros en el cultivo de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar las condiciones de temperatura de crecimiento de *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio.

- Evaluar las condiciones de fotoperiodo de crecimiento de *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio.
- Evaluar los porcentajes de dosificaciones de agua de mar en el cultivo de *Chlorella* sp. a nivel de laboratorio.
- Evaluar la efectividad de la liofilización para la conservación de la cepa de *Chlorella* sp.

1.4 Justificación de la investigación

El cultivo convencional de *Chlorella* sp. no suele alcanzar una alta producción de biomasa y su crecimiento es muy lento complicando su uso a grandes escalas. Así mismo, las condiciones tradicionales de cultivo requieren recursos, como nutrientes, parámetros y espacio, impactando en la producción de *Chlorella* sp. Bajo técnicas tradicionales, parámetros como la temperatura, el fotoperíodo y la disponibilidad de nutrientes tienen un impacto significativo en la eficiencia del cultivo, resultando en una producción limitada y alta variabilidad en los resultados obtenidos. Estos parámetros hacen imprescindible investigar métodos de cultivo más sofisticados, como la aplicación de fotobiorreactores, que optimicen las condiciones para incrementar la eficiencia en la producción. (Astocondor *et al.*, 2017)

Por lo tanto, la siguiente investigación permitirá profundizar conocimientos y evaluar factores y parámetros que influyen el crecimiento de *Chlorella* sp. La investigación permitirá brindar conocimiento sobre la optimización del cultivo en fotobiorreactores utilizando agua de mar así abriendo nuevas alternativas de producción con escalamiento de *Chlorella* sp. (Astocondor *et al.*, 2017)

La eficiencia en el cultivo de microalgas es esencial para maximizar su producción, y uno de los factores más influyentes es el sistema de iluminación empleado en los fotobiorreactores (Galdas *et al.*, 2021)

Por ello, se propone optimizar el cultivo de cepa nativa de *Chlorella sp.* bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar permitiendo un mejor control de los parámetros de crecimiento, en menor tiempo y con un monitoreo en tiempo real constante, lo que resulta en una mayor eficiencia en la producción de biomasa. (Lidder *et al.*,2012).

1.5. Delimitaciones del estudio

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, identificado con el código SL01LA09. La elección de este laboratorio fue determinada por la disponibilidad de equipos especializados, los cuales facilitaron la aplicación de los conocimientos requeridos para cumplir con los objetivos establecidos en el estudio.

1.6. Viabilidad del estudio

La tesis se enfoca en la optimización del cultivo de cepa nativa de *Chlorella sp.* bajo un sistema de fotobiorreactor empleado, empleando agua de mar. La tesista financió los materiales y reactivos necesarios para la investigación, el Laboratorio de Biotecnología, por su parte, proporcionó acceso a los equipos requeridos.

Capítulo II: MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Investigaciones internacionales

Rai *et al.* (2015), investigaron sobre el resultado de la salinidad, pH y fotoperiodo en desarrollo y obtención de lípidos para aplicaciones de bioenergía. Teniendo como objetivo mejorar su uso en la fabricación de biodiésel. Se cultivaron las algas bajo diferentes condiciones de luz y concentraciones de sal, y se evaluaron el crecimiento celular y la acumulación de biomoléculas clave como carbohidratos, proteínas, lípidos y clorofila. Los resultados mostraron que aumentar la salinidad incrementa la producción de lípidos hasta un 26.84%, lo que hace a *Chlorella* sp. una opción prometedora para generar más biomasa y aceite, esenciales para un biodiésel más eficiente y sostenible.

Zhai *et al* (2020), observaron que el agua de mar suplementada con bicarbonato permitió una producción más eficiente de microalgas marinas en un fotobiorreactor flotante en el océano. Su estudio tuvo como propósito emplear agua de mar como medio de cultivo, posibilitando la generación de grandes cantidades de biomasa sin necesidad de ocupar tierra ni consumir agua dulce. utilizaron bicarbonato como fuente de carbono, lo cual resultó beneficioso al facilitar la cosecha de microalgas mediante floculación. Los experimentos registraron una alta eficiencia de floculación del 98.9% en cultivos suplementados con bicarbonato. Además, el medio residual tras la floculación promovió un crecimiento superior en comparación con el medio fresco. El sistema de cultivo flotante en el océano mostró una mayor productividad en comparación con los sistemas terrestres, aprovechando el control natural de temperatura proporcionado por el agua y el sol. Estos hallazgos proponen que el aprovechamiento de recursos oceánicos, como el agua de mar y la

energía de las olas, forma una opción óptima con el fin de producir biomasa a mayores escalas industriales, contribuyendo al desarrollo sostenible.

Shafiqa Yusof *et al* (2021), determinaron el impacto de la intensidad de luz en el desarrollo y las respuestas antioxidantes que presentaron tres especies: *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis chuii*, cultivadas en agua de mar enriquecida. La investigación presentó como objetivo principal determinar la alteración del fotoperiodo en el crecimiento de microalgas así mismo en la metodología se demostró y comparo dos regímenes de luz/oscuridad (12:12 y 24:0 horas) a una temperatura constante de $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante un período de 8 días. Los resultados evidenciaron que la exposición continua a la luz (24:0 horas) promovió un aumento significativo en la densidad celular, la biomasa, y los niveles de clorofila a, clorofila b, carotenoides, ácido ascórbico (vitamina C) y α -tocoferol (vitamina E), particularmente en *Chlorella vulgaris* y *Tetraselmis chuii*. Estos hallazgos subrayan la importancia de la iluminación continua en la optimización del cultivo de microalgas, no solo para maximizar la biomasa, sino también para incrementar la producción de compuestos antioxidantes.

Ratomski y Hawrot-Paw (2021), evaluaron los efectos de diversos parámetros de cultivo en la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*. Con el objetivo de utilizar fotobiorreactores tubulares verticales determinando si existe una mayor biomasa en menor tiempo acondicionando parámetros dentro del medio de cultivo. Así mismo en la metodología evaluaron el impacto de distintos tipos de iluminación (luz de sodio de alta presión y diodos emisores de luz) y fotoperiodos (12/12, 18/6 y 24/0 h de luz/oscuridad) en el crecimiento de la biomasa. Los resultados determinaron los parámetros óptimos para la producción de biomasa se lograron con un fotoperiodo de 18 horas de luz y un pH neutro, alcanzando productividades máximas de biomasa de $27.08 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ y $25.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ bajo iluminación de sodio.

Asaad y Amer (2024), evaluaron la capacidad de biosorción de *Chlorella vulgaris* en la eliminación conformada por fosfatos y nitratos de aguas residuales. Teniendo como objetivo de obtener un método utilizando la microalga *Chlorella vulgaris* para eliminar nutrientes y luego usar como biofertilizante después del proceso de tratamiento. Así mismo en la metodología se evaluó moléculas biológicamente activas, como C=C y N-H amida. El tiempo ideal de equilibrio fue de 24 horas, con un pH óptimo de 7 y una proporción de masa del 80% entre las algas y la concentración de aniones. Los resultados indicaron que el modelo cinético de Elovich mostró que la tasa de adsorción era mucho mayor que la de desorción. Estos resultados determinaron la viabilidad de usar biosorbentes como *C. vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales, siendo una opción económica y ecológica con el medio ambiente.

2.1.2. Investigaciones nacionales

Astocondor et al. (2017) determinaron el desarrollo y la producción de biomasa de *Chlorella peruviana* en distintos grados de salinidad, con el objetivo de demostrar que el agua salina puede ser utilizada como medio de cultivo debido a su contenido de nutrientes y sales. En el estudio, se realizaron cultivos utilizando una serie de tratamientos con diferentes proporciones de salinidad, desde bajas concentraciones hasta niveles más elevados. Se utilizó un diseño experimental con varias réplicas para cada nivel de salinidad, y se midieron de manera sistemática parámetros clave como la densidad celular. Los resultados mostraron que una salinidad de 38‰ generó la mayor densidad celular, biomasa seca y clorofila.

Huarachi et al. (2017) investigaron el uso de celdas de combustible microbianas (MFCs) para producir bioelectricidad y realizar biorremediación, combinando la microalga *Chlorella vulgaris* y comunidades bacterianas en un sistema de doble cámara. El propósito fue analizar la eficacia en la generación de energía y el tratamiento de efluentes residuales. Durante 32 días, se

observó un aumento de la densidad de potencia. Las microalgas demostraron una alta capacidad para remover aceites y grasas en el electrodo negativo, mientras que la demanda química de oxígeno (DQO) experimentó una notable disminución tanto en el ánodo como en el cátodo. Además, la biomasa de *C. vulgaris* aumentó, lo que se correlacionó con una mayor actividad electrogénica. Estos resultados demuestran el potencial de las MFCs con *C. vulgaris* y bacterias para futuras aplicaciones en bioenergía y tratamiento de aguas residuales.

Oscanoa *et al* (2021), investigaron la capacidad y eficacia de *Chlorella vulgaris* y *Desmodesmus asymmetricus* durante la remoción de nitratos y fosfatos de los desechos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales en Callao, Lima. Esta investigación sostuvo como objetivo principal determinar el potencial de las cepas *Chlorella vulgaris* y *Desmodesmus asymmetricus* en el tratamiento de eliminación de nitrógeno y fósforo de aguas residuales. Se utilizaron diferentes proporciones de estas microalgas para determinar su eficiencia en la reducción de los niveles de nutrientes. La metodología incluyó el uso de cultivos monoespecíficos y consorcios de microalgas en condiciones controladas para analizar su capacidad de biorremediación. Los resultados demostraron que ambas cepas, especialmente en combinación, lograron una alta eficiencia en la reducción de nutrientes, proponiendo el empleo de microalgas como una opción económica y factible para incrementar la calidad del agua tratada.

Zegarra *et al* (2023), evaluaron la capacidad de *Chlorella vulgaris* para adsorber Pb y Zn presentes en los lixiviados del vertedero "El Porvenir". Con el objetivo de evaluar la efectividad de *Chlorella vulgaris* en la adsorción de metales pesados de lixiviados, ofreciendo un método de tratamiento accesible para regiones con recursos limitados. En la metodología se realizaron soluciones con diferentes concentraciones de lixiviado y cultivos de *Chlorella vulgaris*, midiendo la reducción de metales pesados y otros contaminantes a lo largo del tiempo mediante

espectrofotometría. Se obtuvieron como resultados hallazgos preliminares significativos en metales pesados, especialmente plomo y zinc, con una eficiencia de remoción superior al 95%, lo que resalta a *Chlorella vulgaris* como un bioadsorbente viable para el tratamiento de lixiviados, promoviendo prácticas de gestión de residuos sostenibles.

Mamani *et al* (2024), examinaron la capacidad de dos microalgas nativas, *Chlorella sp. MC18* y *Scenedesmus sp. MJ23-R*, para tratar efluentes de la producción de pólvora negra. Con el objetivo de explorar la biorremediación utilizando microalgas para tratar efluentes de producción de pólvora negra, un flujo ambientalmente significativo, pero poco estudiado en la metodología Se evaluaron dos microalgas nativas, *Chlorella sp. MC18* (CH) y *Scenedesmus sp. MJ23-R* (SC), en términos de cinética de crecimiento y capacidades de eliminación de nutrientes en medios de cultivo compuestos por diferentes proporciones de aguas residuales crudas sin tratar. Ambas especies se cultivaron en fotobiorreactores en forma de paralelepípedo, utilizando un 100 % de aguas residuales crudas como medio de cultivo. Se midieron parámetros en la metodología como la cinética de crecimiento usando cámara de cámara de Neubauer por medio de un conteo celular, el rendimiento de biomasa y la productividad de biomasa a lo largo del tiempo además de su eficacia para eliminar turbidez, sólidos suspendidos y necesidad química de oxígeno (DQO). Los resultados demostraron que ambas especies prosperaron en aguas residuales crudas, mostrando un crecimiento acelerado y una producción sustancial de biomasa. Además, el uso de estas aguas residuales eliminó la necesidad de agua dulce adicional, reduciendo así la huella hídrica.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Descripción del cultivo de *Chlorella* sp.

Pertenece a la familia de las Chlorellaceae es una microalga unicelular de cultivo mundial, ya que es muy valorada para la industria alimentaria debido a su alta concentración de nutrientes beneficiosos, además de ser una fuente valiosa para la producción de biocombustibles. (Silva *et al.*, 2019)

2.2.1.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica según Kanno (2005) de *Chlorella* es:

División: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlorococcales

Familia: Chlorellaceae

Género: *Chlorella*

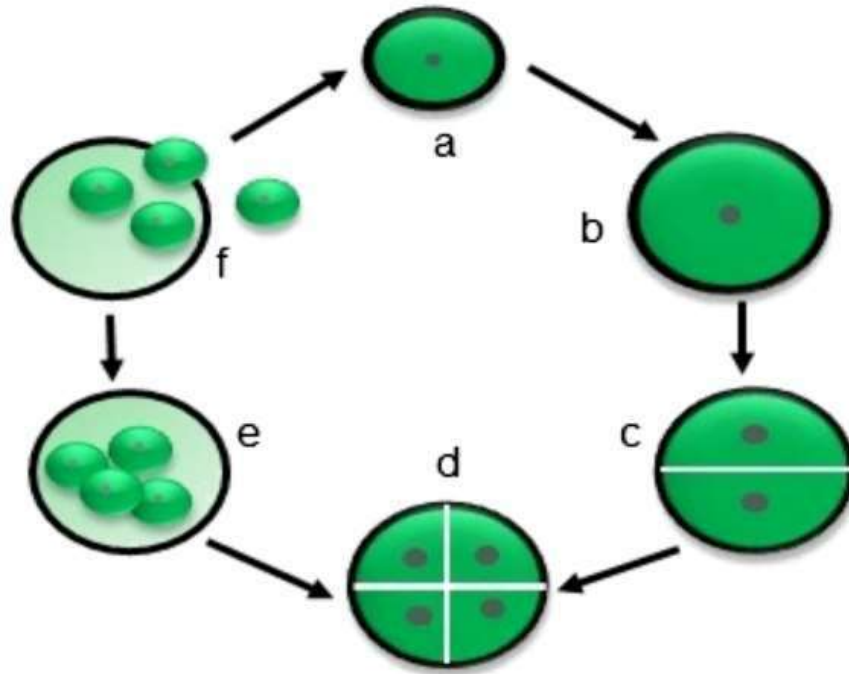


Figura 1: Figura obtenida de Safi *et al.* (2014) donde se presenta las etapas de crecimiento de *Chlorella* sp.

2.2.2. Morfología de *Chlorella* sp.

Conformada por células circulares de 3 a 10 μm , *Chlorella* sp. internamente está compuesta por hemicelulosa (parte soluble) y polisacárido de glucosamina (Silva, 2019).

El citoplasma, está formado de aminoácidos disueltos con minerales, y contiene orgánulos esenciales permitiendo funciones de almacenamiento y fotosíntesis. La mitocondria tiene una parte del aparato de respiración y de la genética; el aparato respiratorio es del tipo de doble membrana.

Los cloroplastos, están rodeados por una membrana doble de origen fosfolípido, los cloroplastos contienen pirenoides que están enriquecidos con RuBisCO enzimático (Safi *et al.*, 2014).

2.2.2.1. Reproducción de *Chlorella* sp.

Se reproduce asexualmente por división celular en la madurez, por la cual se generan cuatro células compuestas por pared celular al interior de la célula madre. (Safi *et al.*, 2014).

Después de que las células hijas crecen, la célula madre los libera a través de la pared celular, mientras las células subsiguientes emplean los residuos de la célula madre como recurso nutritivo. (Safi *et al.*, 2014).

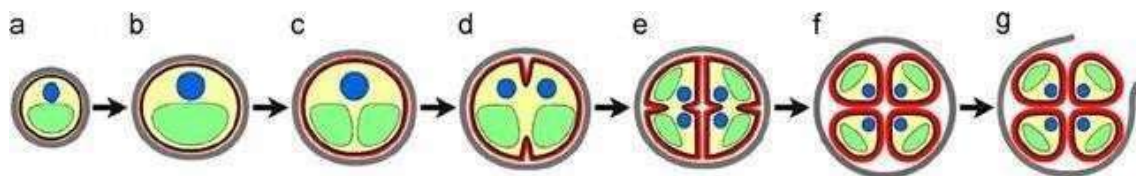


Figura 2. Figura obtenida de Safi *et al.* (2014) donde se presenta las etapas del proceso reproductivo de *Chlorella* sp.

2.2.2.2 *Chlorella* sp. Composición química

La microalga *Chlorella* sp. tiene un contenido proteico del 51-58%, carbohidratos del 12-17%, y un contenido lipídico del 16- 40%. El 10% restante de su biomasa seca presenta minerales, pigmentos y productos químicos residuales. (Guamán *et al.*, 2016) Debido a su alta proporción de lípidos, *Chlorella* sp. se está utilizando en la fabricación de biodiesel, y debido a su alta concentración de proteínas, también se ha utilizado en el área de la nutrición (Ramírez *et al.*, 2013).

2.2.3 Reproducción en microalgas

El modo de reproducción de las microalgas es generalmente asexual a través de la mitosis, que es un proceso de reproducción sucesiva, pero también pueden reproducirse sexualmente a través de procesos de oogamia e isogamia a través de los cuales se produce una recombinación genética para determinar la diversidad genética en el conjunto de microalgas. (Senties *et al.*, 2013).

2.2.4 Actividades metabólicas

2.2.4.1 Fotosíntesis en microalgas

Genera sustancia orgánica generada utilizando la luz como fuente de energía y compuestos inorgánicos como base. El valor del proceso proviene de la inyección de nutrientes en la cadena trófica del ecosistema, en la cual la fotosíntesis suministra materia orgánica, el alimento a través del cual se nutren otros organismos (Ruiz, 2011).

2.2.4.2 Pigmentos fotosintéticos

Clorofila: Pigmento que aprovecha la energía solar y la convierte en energía química interactuando con complejos proteína-pigmento en plantas fotoautótrofas. (Masojídek *et al.*, 2013).

Carotenoides: Está compuesta por carotenos y de xantofilas. Poseen múltiples roles en el proceso de fotosíntesis, recolectan la luz y la transfieren a la clorofila y desempeñan una función esencial en la protección contra la exposición excesiva a la luz. (Masojídek *et al.*, 2013).

2.3 Parámetros para el cultivo de microalgas

Los factores más esenciales a tener en cuenta al cultivar microalgas son los nutrientes, el fotoperiodo, aireación, salinidad y la temperatura. El volumen y el grado apropiado de tolerancia a estos factores ambientales deben ser rigurosos, dado que cada especie posee distintas escalas de tolerancia (Lavens y Sorgeloos 1996).

2.3.1 Nutrientes

El carbono, el nitrógeno y el potasio son algunos de los macronutrientes. Además, existen otros componentes vitales en cantidades reducidas, como el sodio, hierro y magnesio. Son micronutrientes que se requieren en cantidades reducidas. (Richard, 2004).

El magnesio es un componente esencial, ya que facilita la fijación de carbono, la emisión de ATP y varias reacciones enzimáticas. (Richmond, 2004).

El calcio es indispensable para preservar la estructura de la pared celular en las microalgas. y forma parte del proceso de división analítica. Se ha informado que su nivel en microalgas varía del 0.2% al 1.4% (Markou y Georgakakis 2011).

2.3.1.1 Luz

La fotosíntesis emplea radiación activa de fotosíntesis (PAR) en una escala de 400 a 700 nm. La energía luminosa se relaciona de manera inversa con su longitud de onda, de modo que un fotón de luz azul tiene demasiada energía que uno de luz roja (Masojídek *et al.*, 2013).

En los cultivos de microalgas, el fotoperiodo y la intensidad de luz tienen que ser prominentes, dependiendo del volumen del cultivo, con un mínimo de 18 horas diarias de luz artificial para un crecimiento óptimo (Lavend y Sorgeloos 1996).

2.3.1.2 Potencial de hidrógeno (pH)

La mayoría de las variedades de microalgas se desarrollan a un pH de 7-9. Este también es un elemento que regula la presencia de carbono, influyendo en la presencia de micronutrientes además de trazas que resultan fundamentales para su crecimiento. Un pH extremadamente elevado que supere el 11 puede perjudicar la fotosíntesis. (Surindra y Verma, 2018).

2.3.1.3 Aireación

El objetivo es preservar la uniformidad de los nutrientes, optimizando la transferencia de gases en la estructura del medio de cultivo, y también garantizar que el conjunto celular se exponga de forma uniforme a la misma intensidad de luz. También es necesario regular la concentración de oxígeno disuelto dado que, a elevadas concentraciones, puede detener las habilidades de la enzima

RuBisCO para acumular CO₂, generando un ciclo de reacción enzimática denominado fotorespiración. (Ruiz, 2011).

2.3.1.4 Salinidad

La mayoría de las microalgas prosperan a niveles de salinidad considerablemente inferiores a los naturales en sus ecosistemas correspondientes, y se ha descubierto que la salinidad entre 20-24 g L⁻¹ es la más apropiada para el crecimiento ilimitado de la mayoría de las microalgas marinas. (Sorgeloos, 1996)

2.3.1.5 Temperatura

La mayoría de las microalgas pueden crecer en un rango de 16 a 30°C de temperatura. (Sorgeloos, 1996).

2.4 Fases de crecimiento

2.4.1 Fase de adaptación

Etapas donde el cultivo es sometido a parámetros como temperatura, pH, fotoperiodo e intensidades de luz, los cuales posiblemente puedan aminorar el ritmo de crecimiento de las microalgas en su fase inicial de desarrollo. (Arredondo y Voltolina, 2007).

2.4.2 Fase de aceleramiento

Se da cuando los elementos constituidos de las células se forman de manera secuencial, comenzando con las proteínas y el crecimiento celular, para finalizar con la densidad celular. (Arredondo y Voltolina, 2007).

2.4.3 Fase exponencial

Las células se multiplican y se desarrollan al ritmo más rápido posible, preservando este ritmo estable. (Arredondo y Voltolina, 2007).

2.4.4 Fase de desaceleración

Ocurre cuando los nutrientes son escasos y las condiciones no son ideales para la expansión, la mitosis se ve interrumpida como resultado de la alta densidad celular. (Arredondo y Voltolina, 2007)

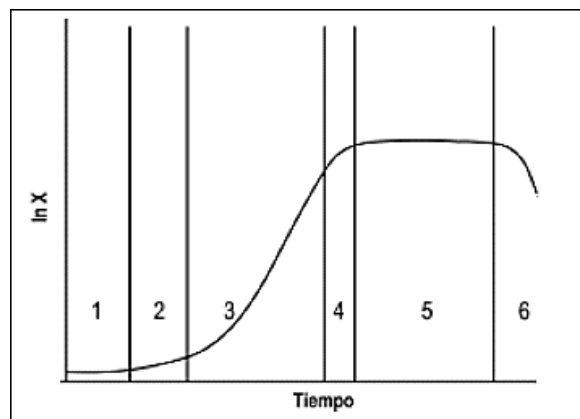
2.4.5 Fase estacionaria

El estrés por pH, luz o falta de nutrientes puede iniciar cambios en las microalgas. En un estudio de (Zhang *et al.*, 2012), *Chlorella zofingiensis* en fase estacionaria mostró un mayor diámetro celular (3.25 μm) y poco crecimiento con bajo peso seco (Arredondo & Voltolina, 2007).

2.4.6 Fase de muerte

La fase final se produce cuando el alimento en el entorno se agota, lo que conduce a la muerte celular o a la lisis celular. Durante esta etapa, la división de células se reduce gradualmente con el tiempo y se observa un incremento en la tasa de mortalidad celular; esto conduce a la pérdida de biomasa que debe ser recuperada. (Arredondo y Voltolina, 2007)

Figura 3. Estadios del crecimiento celular en microalgas.



Fuente: (Arredondo y Voltolina, 2007).

2.5 Manejo del cultivo

2.5.1 Control de contaminación

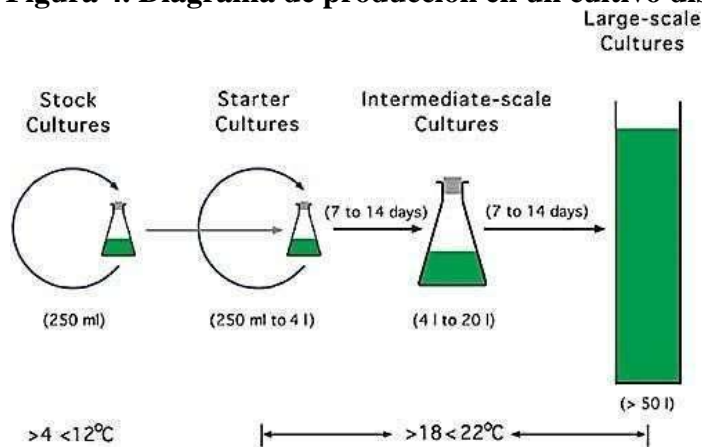
Se puede verificar la contaminación de la cepa por bacterias al incubar 1 medio de cultivo o un sustrato orgánico, como peptona, o agar agar. Si la bacteria se encuentra en los cultivos que se han incubado desde 24 horas hasta 2 semanas, se generarán colonias. Para combatir diversos tipos de polución en microalgas, generalmente se han llegado a utilizar antibióticos como por ejemplo la penicilina (Arredondo y Voltolina, 2007).

2.5.1.1 Cultivo discontinuo

Se refiere al proceso en el que las células se introducen una única vez en un medio de cultivo, donde permanecen durante un ciclo específico de crecimiento. con fertilizantes en un volumen determinado. Se incrementó el volumen máximo de los depósitos antes de que el cultivo llegue a la fase estacionaria, y se elevó la densidad máxima del cultivo para recolectar biomasa (Sorgeloos, 1996).

Los primeros inóculos se desarrollan hasta 250 mL, a temperatura baja, con luz, y no se encuentran en constante intercambio con aire o dióxido de carbono. Los cultivos indicadores se cultivan en un volumen de 250 mL a 4 L, manteniéndose a una temperatura e iluminación elevadas durante 7-14 días, y se agitan con aire y dióxido de carbono. Consecutivamente, se utiliza una baja cantidad para comenzar un cultivo de microalgas a escala media, que varía entre 4 y 20 litros, aumentando de manera gradual hasta alcanzar un nivel superior de 50 litros o más (Helm, 2004).

Figura 4. Diagrama de producción en un cultivo discontinuo de microalgas



Fuente: (Helm, 2004)

2.5.1.2 Ácido indol 3-acético (AIA)

Tiene un papel fundamental en diversos procesos fisiológicos. El AIA es una endógena ubicua, encontrada en plantas con tejidos vasculares, además de cianobacterias y microalgas de ambos géneros. *Chlorella* y *Scenedesmus*. (Xingfeng, *et al.*,2018).

Este es producido en el cloroplasto de igual modo en otras moléculas de carácter transitorio como la glucosa, los ácidos nucleicos y las proteínas. (Xingfeng, *et al.*,2018).

2.6 Efecto de agua de mar en cultivo de *Chlorella* sp.

Se ha descubierto que la salinidad impacta de manera adversa en los procesos internos de estas algas, tales como su metabolismo y su habilidad para reproducirse (Xingfeng, *et al.*,2018).

Adicionalmente, existe un vínculo inverso entre la salinidad y la cantidad de células de estas microalgas: a mayor salinidad, menor densidad celular. Simultáneamente, resulta vital entender el proceso de crecimiento de las microalgas (el número inicial de células, la progresión de estas con el tiempo, la rapidez de crecimiento y la producción de biomasa). Además, es

importante conocer cómo gestionar estos elementos para construir un sistema de producción eficaz y lucrativo. (Graeff, 2003; Rodrigues y Belli-Filho, 2004; Yamamoto *et al.*, 2004; Rodas *et al.*, 2012).

2.7. Hipótesis de investigación

2.7.1. Hipótesis general

- La optimización de los parámetros en el cultivo de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar permitirá identificar las condiciones más favorables para maximizar su producción.

2.7.2. Hipótesis específicas

- Las condiciones de temperatura de crecimiento de *Chlorella* sp. influirán en la producción de biomasa a nivel de laboratorio.
- Las condiciones de fotoperiodos de crecimiento de *Chlorella* sp. influirán en la producción de biomasa a nivel de laboratorio.
- Las diferentes dosificaciones de agua de mar en el cultivo de *Chlorella* sp. influirán significativamente en la producción de biomasa a nivel de laboratorio.
- La liofilización de *Chlorella* sp. permitirá una mejor conservación de cepa.

Capítulo III: METODOLOGIA

3.1. Diseño metodológico

3.1.1. Tipo de investigación

Es de tipo aplicativa por que busca determinar dosificaciones de agua de mar que presenten mejores resultados en el crecimiento de microalgas dependiendo de las variables, en las cuales se evaluaran.

3.1.2. Nivel de investigación

Esta investigación será de nivel explicativo.

3.1.3. Diseño de investigación

Es de diseño experimental, debido a manipulación de parámetros, en el cultivo de *Chlorella* sp. bajo un sistema de fotobiorreactor empleando agua de mar.

3.1.4. Enfoque

La presente investigación tendrá un enfoque mixto

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Será conformada por microalga aislada de la Albufera de Medio Mundo, Huacho.

3.2.2. Muestra

Sera 1 cepa de *Chlorella* sp. correspondiente a 13 tratamientos para la cual se empleará un Diseño completamente al azar (DCA) de los tratamientos.

3.3. Operacionalización de variable

| Variables | Dimensiones | Indicadores | Escala de dimensión |
|--------------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|
| Variable independiente: | | | |
| Fotoperiodo | | Intensidad de luz | Nominal |
| Temperatura | Crecimiento Microalgal | Intensidad de Temperatura | Nominal |
| Dosificaciones de agua de mar. | | Concentración v/v | Nominal |
| Variable Dependiente: | | | |
| Cepa de <i>Chlorella</i> sp. | Establecimiento | Color Biomasa | Nominal G |

Fuente: Elaboración propia

3.4. Técnicas e instrumento de recolección de datos

3.4.1. Material biológico

Se empleó la cepa de *Chlorella* sp. El cual pertenece al Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho.

3.4.1.1. Repique y purificación de *Chlorella* sp

La cepa *Chlorella* sp. fue cultivada de manera discontinua en matraces Erlenmeyer de 250 ml con medio Bold's Basal Medium (BBM). El cultivo se mantuvo en condiciones de fotoperíodos

de 12/12, y con una temperatura constante de 27 °C durante 15 días, utilizando un sistema de aireación.

Se realizaron ensayos de microscopía cada 96 horas, utilizando una pipeta Pasteur estéril para determinar la morfología de las células. Durante este proceso, se llevó a cabo la purificación progresiva hasta obtener cultivos axénicos, siguiendo el protocolo establecido por Pereira. *et al.*, (2020)

3.4.1.2 Caracterización morfológica macroscópica

Se caracterizaron el tamaño, color, forma, textura y crecimiento de la cepa *Chlorella* sp. mediante observaciones macroscópicas y microscópicas.

3.4.1.3 Caracterización morfológica microscópica

Se efectuaron observaciones microscópicas. Realizando diluciones seriadas, comenzando con 1 mL de alícuota de la muestra. Posteriormente, se procedió a inocular a un tubo de ensayo con un contenido 9 mL de medio de cultivo aséptico, luego se procedió a homogenizar con el vortex y se añadió 1 mL a un siguiente tubo con 9 mL de medio aséptico. Este proceso volvió a repetirse hasta alcanzar la dilución 10^{-7} , realizando transferencias en cada una de las diluciones. Durante todo el proceso, se observaron los resultados en el microscopio óptico y/o estereoscopio.

Este análisis permitió reconocer las características morfológicas específicas que diferencian la cepa de *Chlorella* sp. con el apoyo de guías taxonómicas especializadas en microalgas, se logró identificar con mayor precisión el género y especie a la que pertenece. El tamaño de *Chlorella* sp. suele variar entre 2 y 10 micras, por lo que su observación precisa bajo el microscopio fue esencial. En cuanto a la forma, estas microalgas son generalmente esféricas o ligeramente ovaladas, lo que también resultó ser un aspecto clave para su identificación.

Este enfoque detallado fue fundamental para diferenciar *Chlorella* sp. de otras microalgas, permitiendo entender mejor sus características biológicas y su potencial en diversas aplicaciones. Finalmente, se tomaron fotografías de los registros morfológicos de la cepa *Chlorella* sp. con un microscopio de la marca Olympus, y se realizaron comparaciones de 30 muestras con características morfológicas Y fuentes taxonómicas accesibles para el género *Chlorella* sp.

3.4.2.2 Cultivo en placas de agar

Se elaboró el medio de cultivo añadiendo 0.705 g de BBM y 15g de agar por litro. Posteriormente, el medio se esterilizó empleando la autoclave a una temperatura de 121°C de presión a lo largo de 20 minutos. Tras el proceso de esterilización, el medio se permitió enfriar a temperatura ambiente y, antes de que se solidificara, se vertió en placas Petri estériles.

Se colocaron 100 µL de la muestra en las placas Petri con el medio sólido, los cuales se esparcieron utilizando un asa Digrafsky previamente esterilizada. Las placas Petri se cubrieron con su tapa, se invirtieron y se colocaron en un ambiente con temperatura y fotoperiodo controlado, incubándose en el transcurso de 15 días. Luego de este periodo, se observó el crecimiento en el microscopio óptico.

Utilizando el asa, se seleccionaron las colonias exentas de otros microorganismos. y se transfirieron a nuevas placas, obteniendo así una cepa pura.

3.4.2.3 Recolección de agua de mar

Se recolectaron 16 litros de agua de mar del puerto de Huacho, a una profundidad de 5 metros y a 200 metros respecto a la costa. El agua fue filtrada utilizando un tamizador para eliminar

partículas grandes, y luego se autoclavó para eliminar cualquier materia no deseada y asegurar su pureza antes de su uso en los cultivos.

3.4.3. Construcción y diseño de fotobiorreactor para el cultivo de *Chlorella* sp.

Se diseñó y construyó un fotobiorreactor utilizando el software **Ultimaker Cura** para proyectar el sistema de aireación mediante tecnología de impresión 3D. El prototipo se realizó con una impresora **Artillery Sidewinder SW-X3 PLUS 3D**.

El sistema está compuesto por un bidón de 7 litros que almacena el cultivo de *Chlorella* sp. y un bidón de 20 litros que soporta toda la estructura. Dentro del sistema, se incorporó una hélice diseñada y fabricada con la impresora 3D, lo cual facilitó la aireación y mezcla del cultivo.

Así mismo, el prototipo incluye una tapa con dos salidas de sensores de temperatura y fotoperiodo. Permitiendo monitorear y ajustar en tiempo real los parámetros de cultivo para el crecimiento de *Chlorella* sp., optimizando las condiciones del cultivo mediante un sistema de control integrado.

3.4.3. Inoculación de cepa de *Chlorella* sp. sobre el fotobiorreactor

Se tomó una cantidad de 10 ml por cada 800 ml del cultivo purificado para la caracterización microscópica a 40X. La morfología observada correspondió al género de interés, la cual fue corroborada mediante la observación de sus estructuras características. Posteriormente, se inocularon 100 ml de cultivo de *Chlorella* sp. en cada tratamiento integrado al sistema del fotobiorreactor, con una distribución de concentraciones mezcladas con agua de mar.

Se analizaron los datos obtenidos durante la evaluación del crecimiento y la productividad para identificar las combinaciones de medios de cultivo que beneficiaran el desarrollo óptimo de la microalga.

Tabla 1: Configuración de tratamientos

| Tratamiento | Cepa | Temperatura | Luz | Dosificaciones de Agua de Mar |
|--------------------|-------------|--------------------|------------|--------------------------------------|
| T 1 | C 1 | 27° | 16/8 | 25% |
| T 2 | C 1 | 27° | 16/8 | 50% |
| T 3 | C 1 | 27° | 16/8 | 75% |
| T 4 | C 1 | 27° | 12/12 | 25% |
| T 5 | C 1 | 27° | 12/12 | 50% |
| T 6 | C 1 | 27° | 12/12 | 75% |
| T 7 | C 1 | 30° | 16/8 | 25% |
| T 8 | C 1 | 30° | 16/8 | 50% |
| T 9 | C 1 | 30° | 16/8 | 75% |
| T 10 | C 1 | 30° | 12/12 | 25% |
| T 11 | C 1 | 30° | 12/12 | 50% |
| T 12 | C 1 | 30° | 12/12 | 75% |
| T 13 | C 1 | Ambiental | Ambiental | Agua de mar |

Fuente: Elaboración propia

3.4.3.1 Cinética de crecimiento de microalgas

Se realizó una cinética de crecimiento utilizando una cámara de recuento Sedgwick Rafter para contabilizar el número de células presentes en el sistema de fotobiorreactores cada 48 horas

(Pistelli *et al.*, 2023). Este procedimiento permitió evaluar la influencia del medio de cultivo en el conteo de células presentes en el sistema de fotobiorreactor a lo largo del tiempo.

3.4.3.2 Producción de Biomasa de *Chlorella* sp.

Para recolectar la biomasa, El contenido de los tratamientos se sometió a centrifugación a 2500 rpm a lo largo de 20 minutos. El material resultante se colocó en cajas petri de vidrio estéril y se deshidrató a 35 °C durante 48 horas en una estufa. Después, se transfirió la biomasa a tubos Falcon de 10 ml y se almacenó en un refrigerador a 20 °C para su preservación.

3.4.3.3. Liofilización

Se realizó en un liofilizador piloto en el Laboratorio de Investigación en Ingeniería de Alimentos y Postcosecha (LIIAP) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Dentro del equipo, se colocaron tubos Falcon de 50 ml con las muestras que contenían los agentes protectores. El cual operó a una presión extremadamente baja y a temperaturas muy por debajo del punto de congelación. Tras un período de liofilización, los tubos fueron retirados y las muestras se conservaron a temperatura ambiente para su posterior análisis.

3.4.3.4 Recuperación por liofilización

Para la liofilización de *Chlorella* sp. se emplearon protectores Miel 10% + Leche descremada 10 %. (Se evaluó pureza (se realizó por observación macroscópica de los cultivos de *Chlorella* sp. (forma, tamaño y color) y viabilidad. (Mariana *et al.*, 2009).

3.4.3.5 Agentes lioprotectores a evaluar

Se evaluaron las mezclas de medios de suspensión como agentes lioprotectores. La composición de estas, expresada en porcentaje (p/v) en agua desionizada, es la siguiente: Miel 10% + Leche descremada 10 %.

3.5 Viabilidad

Se tomaron muestras del fotobiorreactor con el cultivo de *Chlorella* sp. Previo al proceso de liofilización y basándose en un conteo en cámara de recuento Sedgwick Rafter se efectuaron diluciones de 1:10000 (10^4), 1:100000 (10^5), 1:1000000 (10^6) y 1:10000000 (10^7) se sembraron por extensión en superficie utilizando un volumen de 0,15 ml en cajas de Petri con agar BBM. En el caso de la siembra de *Chlorella* sp., se mantuvieron las mismas diluciones y también se sembraron por extensión en superficie con 0,15 ml en cajas de Petri con agar BBM. Luego, las muestras se incubaron a 30 °C durante 24 horas. Finalmente, se llevó a cabo un conteo de células viables por mililitro (Cel/ml) y se calculó su concentración utilizando la ecuación correspondiente.

$$\text{Número de } \frac{\text{Cel}}{\text{ml}} = \frac{\text{Número de células contadas por placa}}{(\text{Factor de dilución}) \times (\text{Volumen de la muestra sembrada [ml]})}$$

Tras la liofilización, se rehidrató la biomasa de los viales con 2,5 ml de Bold Basal Medium. Luego, se repitió el mismo procedimiento descrito anteriormente para calcular la concentración de células viables (Cel/ml). Finalmente, se determinó el porcentaje de viabilidad de las microalgas en cada formulación según la ecuación correspondiente.

$$\text{Porcentaje de viabilidad} = \left(\frac{X_f}{x_i} \right) \times 100$$

Donde,

Xi : Corresponde al número de (Cel/ml) antes de la liofilización.

Xf : Corresponde al número de (Cel/ml) contadas después de la liofilización.

3.6 Preparación de los envases a liofilizar

El proceso se realizó de acuerdo con el método de Abadias *et al.* (2001) teniendo las cepas de *Chlorella* sp. en estado aséptico, se cosecharon y tamizaron, a un volumen de 50 ml, en un tubo

falcón, luego se centrifugaron durante 30 minutos a 600 rpm, se desechó el líquido sobrenadante. Posteriormente de retirar el sobrenadante a la biomasa concentrada se suspendieron en 5 ml de las distintas formulaciones de agentes protectores a ser evaluadas, los cuales anticipadamente fueron esterilizados por medio de una autoclave a 120 °C durante 45 minutos asegurando que los agentes protectores estén completamente estériles. Las muestras se pre congelaron a -20 °C, durante 12 horas, las mismas que se congelaron durante 24 horas a -80 °C, y finalmente se llevaron a la liofilizadora, para terminar con el proceso de liofilización.

3.7 Descripción de los instrumentos

- **Autoclave de laboratorio BKM-P24:**

Se utilizó para esterilizar los medios de cultivo mediante calor húmedo, aplicando 121 °C durante 20 minutos a una presión de 15 libras. Este proceso elimina microorganismos patógenos que podrían estar presentes.

- **Balanza de laboratorio analítica MS-TS series:**

Se utilizó para el pesaje de los medios de cultivos de *Chlorella* sp. empleados en el aislamiento y purificación de las microalgas.

- **Cabina de laboratorio LCB-V4F-"Laminar" INFITEK:**

Equipo que fue usado para la siembra de *Chlorella* sp. proporcionando condiciones de asepsia.

- **Cámara de recuento Sedgwick Rafter:**

Placa de vidrio, que fue utilizado para el recuento de células de *Chlorella* sp. con el fin de obtener concentraciones en función de células contadas en cámara por dilución /ml.

- **Microscopio Optico BX-41:**

Se utilizo para observar las estructuras morfológicas y recuento de células de *Chlorella* sp.

3.8 Técnicas para el procesamiento de la información

Se obtuvieron por medio de análisis estadísticos de tipo descriptivo, considerando 12 tratamientos y 1 control, sin repeticiones. Para ello, se utilizaron tablas de conteo celular y se empleó el software Python para generar los gráficos estadísticos.

Capítulo IV: RESULTADOS

4.1 Caracterización morfológica de *Chlorella* sp.

Macroscópica

El crecimiento del cultivo de *Chlorella* sp. durante los 7 primeros días presentó un color verde característico por su alto contenido en clorofila; el cual fue un indicador de un crecimiento activo (Fig. 5 A). Las colonias se observaron circulares, con bordes regulares y lisos en tanto que el cultivo se incrementaba durante 15 días las colonias crecieron formando masas compactas de color verde intenso. (Fig. 5 B)

Microscópica

Se observó células de color verde esféricas y dispersas, con un tamaño entre 2-10 μm de diámetro (Fig. 5 C), en el interior de la célula de *Chlorella* sp. se pudo distinguir el cloroplasto prominente en forma de copa, también se encontró la presencia de pirenoides. (Fig. 5 D)

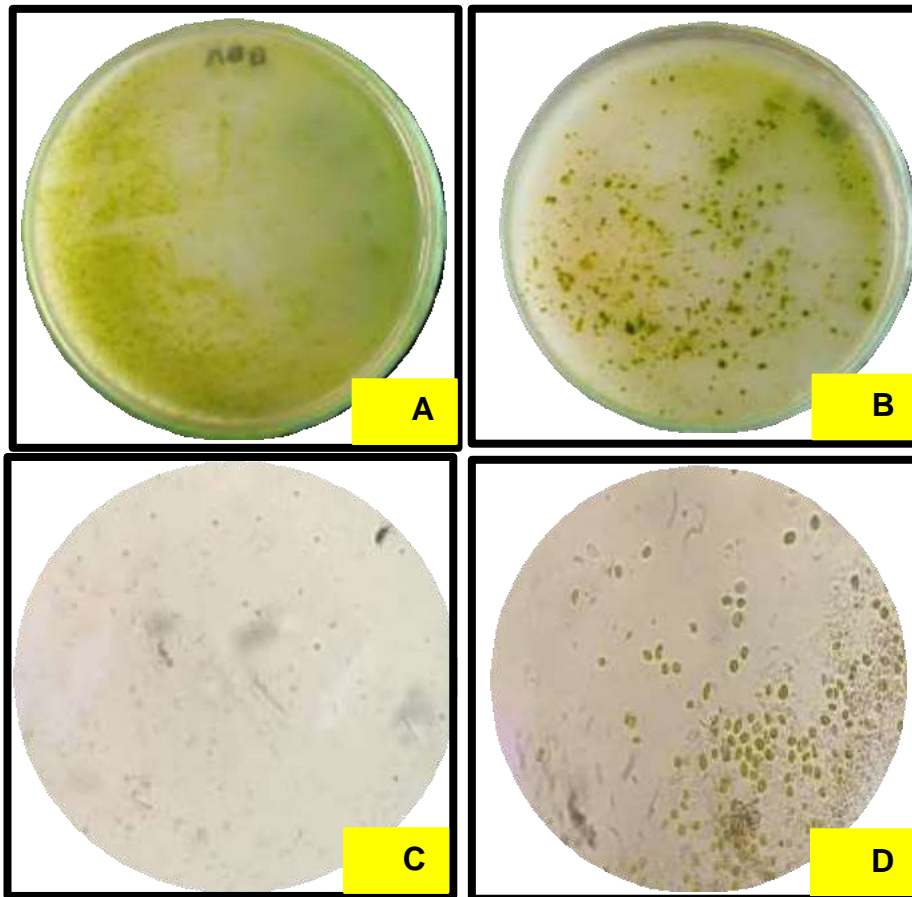


Figura 5. Caracterización morfológica de *Chlorella* sp. A: Siembra por extensión durante los 7 primeros días B: Siembra durante los 14 días C: Células esféricas de *Chlorella* sp D: Morfología interior de la célula de *Chlorella* sp.

4.2 Cinética de crecimiento de *Chlorella* sp.

Se registraron los datos de crecimiento en la tabla N° 2 de *Chlorella* sp. durante 21 días utilizando la cámara de recuento Sedgwick-Rafter (Figura 6). Se observó que, desde los primeros días, el tratamiento con mayor cantidad de células de microalgas fue el T7, además se determinó que los cultivos con un 25% de dosificación de agua de mar a 30°C de temperatura y un fotoperíodo de 16/8 horas fueron los óptimos para su crecimiento, estos parámetros proporcionan las sales y minerales necesarios sustituyendo así los medios de cultivo tradicionales.

Se concluyó que un fotoperiodo de 16/8 horas es el más adecuado, ya que cuando se probó un fotoperiodo de 12/12 horas, se observó una disminución en la cantidad de células de microalgas debido a la alteración en los procesos fisiológicos y de reparación celular. Por otro lado, los cultivos con tratamientos de 50% y 75% de dosificación de agua de mar mostraron un crecimiento mucho más lento debido a que una mayor concentración de agua de mar genera un aumento en la salinidad, lo cual puede causar un efecto osmótico adverso en las microalgas, dificultando la absorción de agua y nutrientes. Finalmente, se determinó que la temperatura ideal para el crecimiento de *Chlorella* sp. fue de 30°C el cual favorece la actividad enzimática necesaria para la fotosíntesis y la replicación celular. Como se observa los resultados en la Tabla N°03.

Tabla N° 03: Conteo celular de *Chlorella* sp.

| Día | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 | T11 | T12 | CONTROL |
|-----|-----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|-----|-----|-----|---------|
| 1 | 100 | 40 | 24 | 100 | 39 | 20 | 145 | 40 | 15 | 140 | 39 | 10 | 102 |
| 3 | 116 | 45 | 29 | 115 | 47 | 23 | 159 | 43 | 18 | 159 | 42 | 15 | 110 |
| 5 | 117 | 62 | 26 | 126 | 60 | 26 | 165 | 49 | 19 | 167 | 44 | 19 | 116 |
| 7 | 140 | 64 | 35 | 135 | 62 | 30 | 185 | 53 | 20 | 183 | 48 | 20 | 120 |
| 9 | 145 | 69 | 38 | 143 | 69 | 36 | 196 | 58 | 25 | 184 | 50 | 26 | 136 |
| 11 | 150 | 70 | 40 | 145 | 70 | 43 | 200 | 62 | 30 | 193 | 54 | 30 | 145 |
| 13 | 152 | 71 | 44 | 150 | 68 | 46 | 209 | 72 | 38 | 200 | 58 | 34 | 150 |
| 15 | 168 | 83 | 50 | 165 | 82 | 50 | 219 | 79 | 40 | 216 | 60 | 36 | 157 |
| 17 | 185 | 86 | 58 | 184 | 85 | 54 | 225 | 80 | 46 | 224 | 65 | 39 | 165 |
| 19 | 225 | 89 | 67 | 220 | 90 | 67 | 236 | 82 | 49 | 231 | 70 | 43 | 170 |
| 21 | 236 | 99 | 72 | 225 | 95 | 70 | 245 | 83 | 50 | 239 | 75 | 49 | 180 |

Fuente: Elaboración propia.

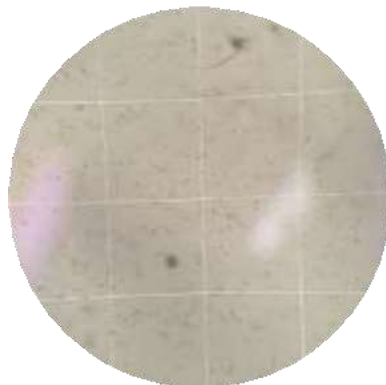


Figura 6: Conteo celular en la cámara de recuento Sedgwick-Rafter

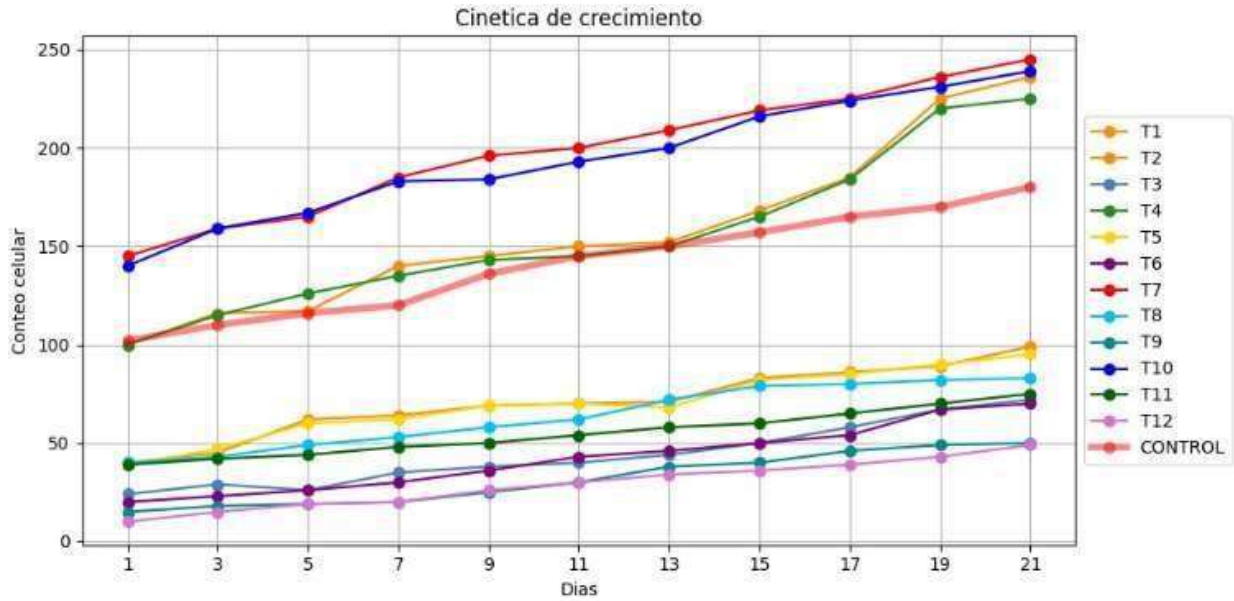


Figura 7: Gráfica de cinética de crecimiento de *Chlorella* sp. obtenidas mediante los diferentes tratamientos en matraces, evaluados utilizando Python para el análisis estadístico.

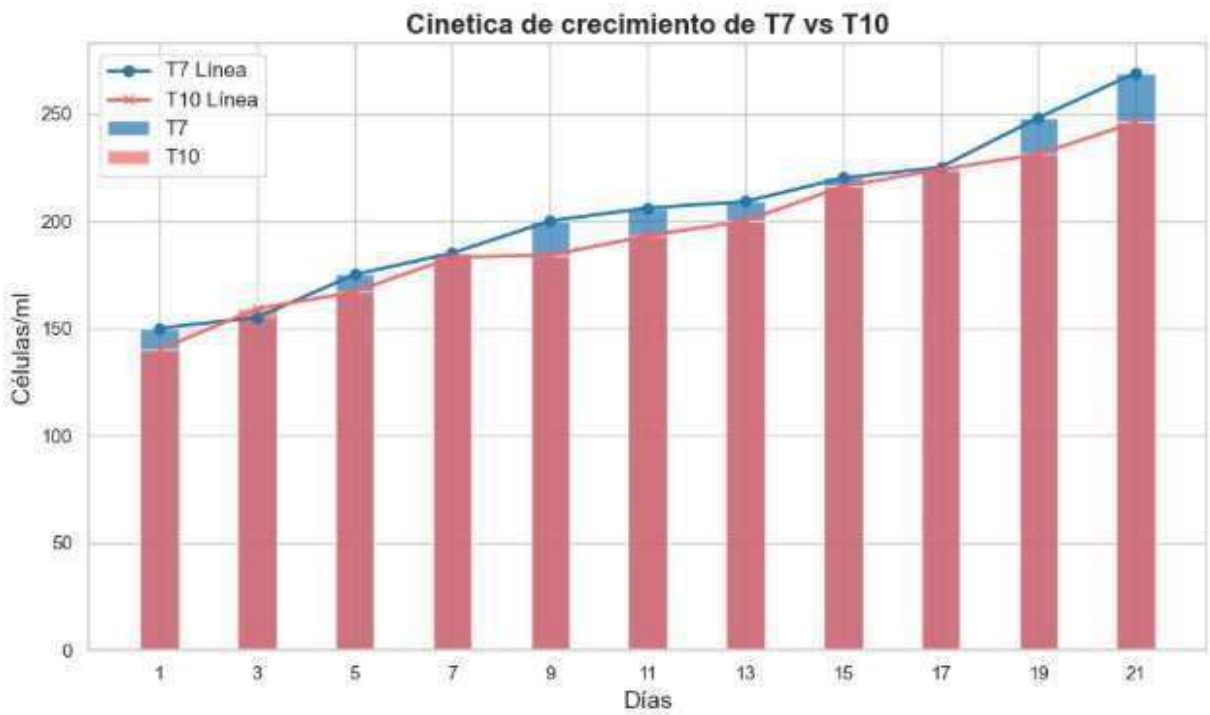


Figura 8: Gráfica de cinética de crecimiento de *Chlorella sp.* obtenidas mediante los T7 VS T 10 evaluados en bidones, evaluados utilizando Python para el análisis estadístico.

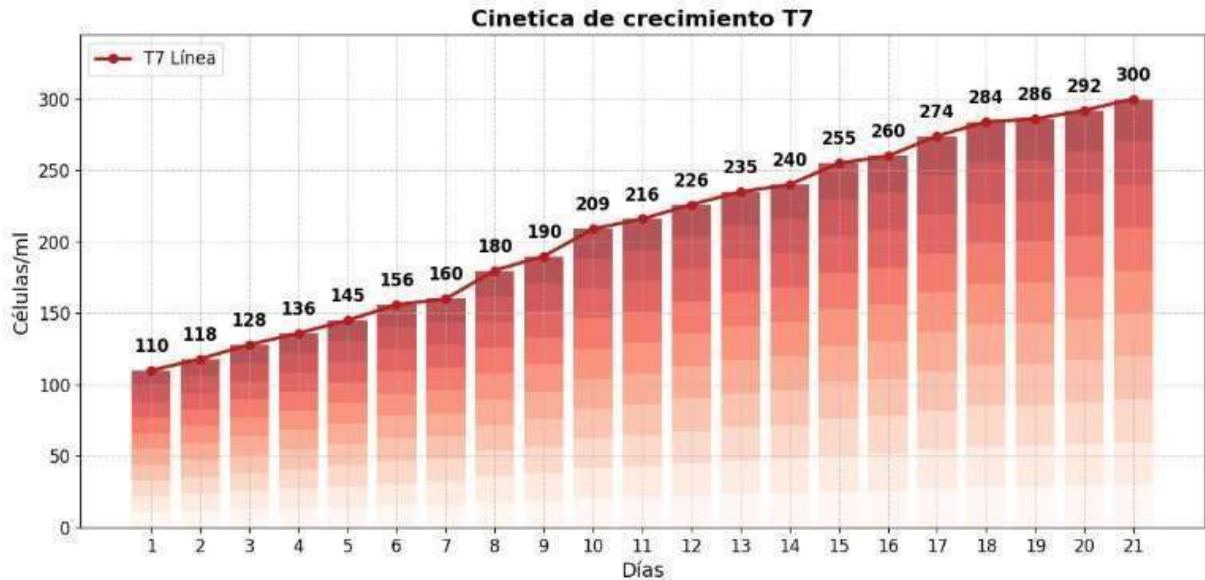


Figura 9: Gráfica de cinética de crecimiento de *Chlorella sp.* obtenidas mediante el T7 evaluado en el fotobiorreactor.

4.3 Construcción y diseño de fotobiorreactor de cultivo de *Chlorella sp.*

Se diseñó y construyó el fotobiorreactor utilizando el software Ultimaker Cura para crear el sistema de aireación mediante tecnología 3D, con la impresora 3D Artillery Sidewinder SW-X3 PLUS. El sistema está compuesto por una hélice. (Fig. 10 A). y una tapa, ambas diseñadas y fabricadas con esta impresora. (Fig. 10 B). El fotobiorreactor incluye un bidón interno de 7L, utilizado para mantener el cultivo de *Chlorella sp.* en condiciones óptimas, este está rodeado por un bidón externo de 20L que proporciona soporte al sistema (Fig. 11 A).

Además, el fotobiorreactor cuenta con una barra LED para cultivo SAMSUNG LM301H EVO V5, que asegura un fotoperiodo constante de 16/8 horas, esencial para la fotosíntesis de *Chlorella* sp. el control y la automatización del sistema se centralizan mediante un microcontrolador ESP32, que gestiona los módulos y sensores, incluyendo el fotoperiodo, así como otros parámetros del cultivo. (Fig. 11 B),

Se incorporó un compartimiento externo con un termostato para mantener la temperatura del sistema a 30°C y regularla según sea necesario, también se añadió una pantalla LED fuera del circuito para facilitar la observación y regulación de los parámetros de cultivo. Asimismo, se utilizó la aplicación Visual Studio Code (Fig. 11 C), para instalar el sistema en el ordenador y monitorear los parámetros en tiempo real, visualizando las gráficas correspondientes a través de la plataforma ThingSpeak. (Fig. 11 D)

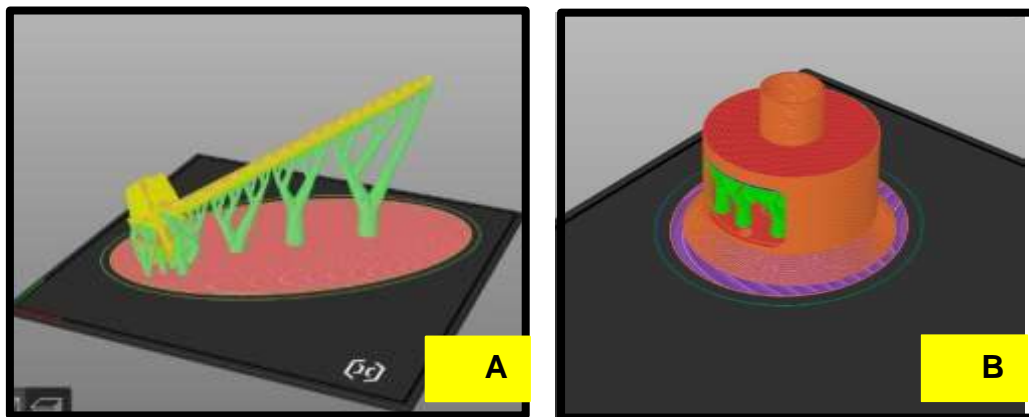


Figura 10. Diseño de fotobiorreactor para cultivo de *Chlorella* sp. A: Diseño de la hélice en la impresora 3D B: Diseño de la tapa en la impresora 3D

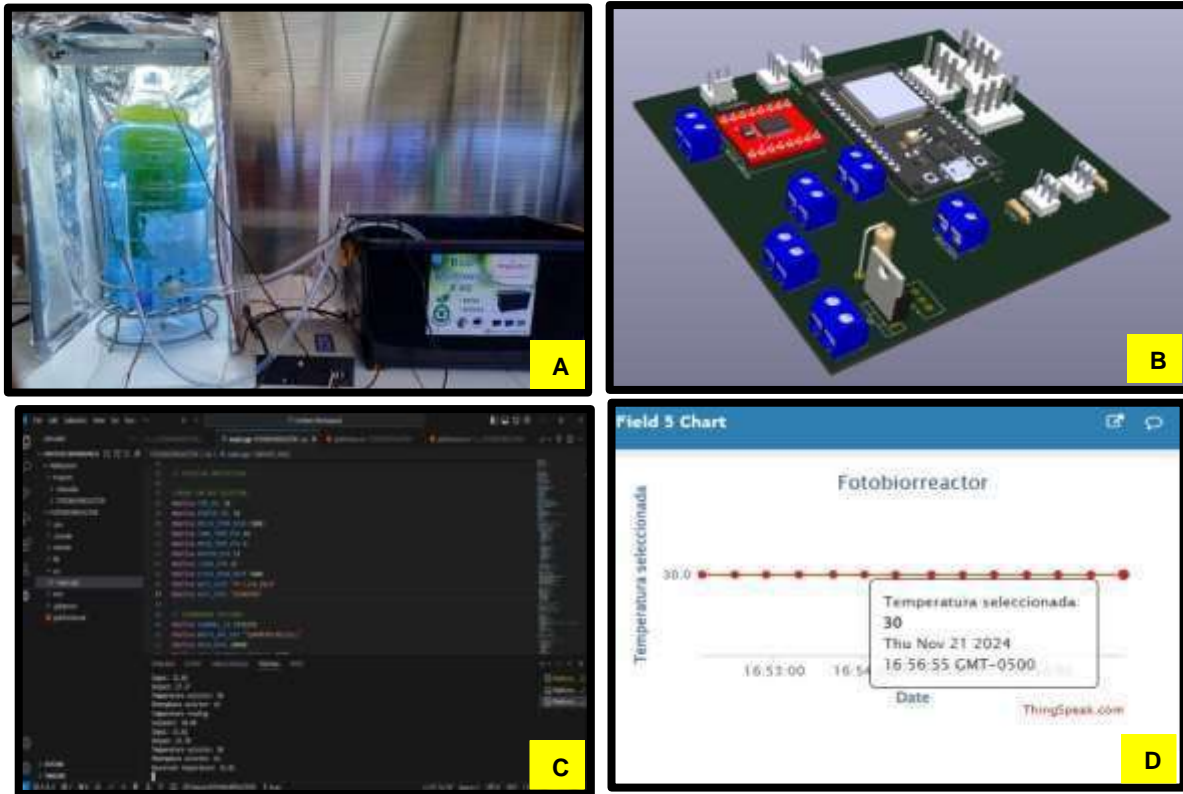


Figura 11. Construcción y diseño de fotobiorreactor para cultivo de *Chlorella* sp. A: Construcción interna y externa del fotobiorreactor B: Microcontrolador y automatización del fotobiorreactor C: Monitoreo usando la aplicación Visual Studio Code D: Visualización de graficas usando ThingSpeak.

4.4 Evaluación de biomasa

Los resultados estadísticos determinaron que para los 13 tratamientos en matraces, bidones y fotobiorreactor durante 21 días después de la inoculación se logró determinar que el T7 concierne al tratamiento optimo con una cantidad de 4.5g de biomasa seca (Fig. 12), subsiguiente del T10 con una cantidad de 3.8g de biomasa seca, por último, el T12 corresponde al tratamiento con menor biomasa seca con 1.2 g.



Figura 12. Evaluación de biomasa del T7 de *Chlorella* sp.

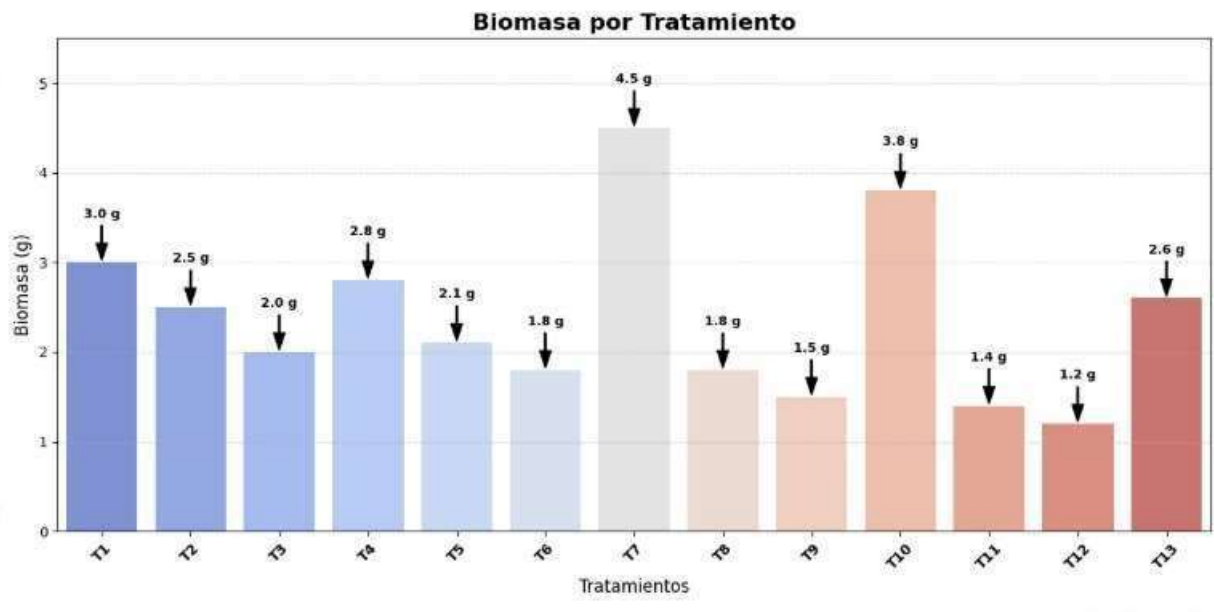


Figura 13: Gráfica de biomasa (g) de *Chlorella* sp. obtenidas mediante los diferentes tratamientos, evaluados utilizando Python para el análisis estadístico.

4.5 Evaluación de liofilización

4.5.1 Rehidratación

Luego del proceso de liofilización los tubos falcón con las muestras de 50 mL, se llevaron a su volumen original con un medio de rehidratación (agua destilada), las muestras se homogenizaron en un vortex y se incubaron a temperatura de 30° y con un fotoperiodo de 16/8 durante 14 días para permitir la adaptación de *Chlorella* sp. y finalmente se determinó a viabilidad de cada muestra (Zhao & Zhang, 2009).

4.5.2 Evaluación de la viabilidad

Se evaluó el porcentaje de viabilidad de *Chlorella* sp. a través del proceso de liofilización, ejecutando cultivos de *Chlorella* sp. en matraces de 1L durante 14 días se realizó un conteo inicial de células viables por mililitro (Cel/ml) antes de la liofilización (X_i) y un conteo final después del proceso (X_f) para determinar la viabilidad mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de viabilidad} = \left(\frac{\text{Células finales } (X_f)}{\text{Células iniciales } (X_i)} \right) \times 100$$

El conteo inicial (X_i) fue de 300 Cel/ml, y posteriormente a la liofilización el conteo final (X_f) fue de 240 Cel/ml. aplicando la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de viabilidad} = \left(\frac{240}{300} \right) \times 100 = 80\%$$

Se determinó que el T7 presento una viabilidad del 80% posterior a la liofilización, demostrando la eficiencia del tratamiento y la capacidad de las células de *Chlorella* sp. Para resistir

el proceso de preservación. Resaltando la estabilidad y recuperación de la biomasa aplicando parámetros óptimos de cultivo y agentes protectores idóneos durante la liofilización.

Capítulo V: DISCUSION

5.1 Discusión de resultados

Se logró determinar que la dosificación más óptima de agua de mar para el cultivo de *Chlorella* sp. se redujo al 25% este grado de salinidad impulsó un incremento poblacional más elevado y una productividad superior con relación a otras concentraciones analizadas. Estas evaluaciones concuerdan con la investigación de Astocondor *et al.*, (2017) demostrando que niveles de salinidad moderados promueven el balance osmótico y la eficacia fotosintética de *Chlorella* sp., elementos esenciales para su desarrollo, también se evaluó que la administración del 25% de agua de mar incrementó la densidad celular durante los primeros 14 días de cultivo, particularmente bajo un fotoperiodo de 16.8 horas y una temperatura de 30 °C.

El uso de agua de mar no solo maximiza la utilización de recursos, sino que también constituye una táctica sustentable al reducir la necesidad de agua dulce en los sistemas de cultivo, además, el agua de mar abarca una diversidad de minerales esenciales, como sodio, magnesio, y calcio que son aprovechados por *Chlorella* sp. para su crecimiento y cultivo, estos minerales aportan una nutrición balanceada y mejoran significativamente su composición bioquímica, así mismo, los altos grados de salinidad (>50%) disminuyeron considerablemente el crecimiento, confirmando que un exceso de sales provoca estrés osmótico, reduciendo la eficacia metabólica de *Chlorella* sp.

Se logró determinar y evidenciar que la implementación de un fotobiorreactor resultó crucial para lograr un incremento poblacional más significativo de *Chlorella* sp. Este sistema mejoró las condiciones de cultivo proporcionando un fotoperiodo de 16/8 y un control de los parámetros como temperatura, lo que propició una cinética de crecimiento rápido y resultados

uniformes en el conteo celular tal como lo demostraron Pereira *et al.*, (2020) en su investigación, permitiendo conservar parámetros óptimos de temperatura, luz y homogenización, elementos que ayudaron a incrementar la eficiencia de la fotosintética y el desempeño del cultivo de microalgas.

Estos resultados determinan la necesidad de emplear tecnologías modernas y automatizadas para impulsar el desarrollo y la productividad de *Chlorella* sp., particularmente en situaciones donde se persigue incrementar la producción de biomasa para usos industriales o biotecnológicos.

Es importante recalcar que la mayor biomasa obtenida en los tratamientos evaluados fue en T7 y T10, los cuales se diferenciaron significativamente de los demás por su eficiencia y resultados óptimos estos tratamientos demostraron ser los más adecuados para maximizar la producción de biomasa seca de *Chlorella* sp., lo que resalta la importancia de las condiciones específicas utilizadas en diferentes tratamientos, la cantidad de biomasa en peso seco observada podría estar afectada por varios factores, como las condiciones ambientales controladas dentro del fotobiorreactor, la composición del medio de cultivo y los parámetros experimentales establecidos. Los resultados determinaron una producción de biomasa superior en T7 y T10, debido a la combinación, salinidad, fotoperíodo y temperatura implementados. Oscanoa *et al* (2021),

Considerando los resultados obtenidos para el cultivo de *Chlorella* sp., se recomienda el uso de liofilización con agentes protectores para conservar el cultivo a temperaturas muy bajas, como -80 °C. Por lo tanto, se utilizó una combinación componentes los cuales actuaron como crioprotectores efectivos para aminorar el daño causado por la formación de cristales de hielo durante el proceso de congelación. Esta combinación ayuda a preservar la viabilidad y estabilidad fisiológica de las células de *Chlorella* sp. Según investigaciones de Mariana *et al.*, (2009). Es fundamental preservar las propiedades fisiológicas de *Chlorella* sp., de manera que en

investigaciones futuras los datos recolectados sean consistentes y no se desvíen de los objetivos planteados.

No obstante, no se descarta totalmente el riesgo de que se produzcan daños oxidativos durante el proceso de criopreservación, lo que podría impactar la integridad celular a largo plazo. (Pérez-Reytor & Sosa 2010) investigaron que específicamente, la criopreservación se vincula con el estrés oxidativo, lo que ocasiona mutaciones en las células preservadas.

A pesar de que en esta investigación no se estableció la factibilidad a largo plazo, se recomienda que futuras investigaciones en este campo verifiquen la estabilidad fisiológica de *Chlorella* sp. bajo estas circunstancias

Capítulo VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- Se logró caracterizar morfológicamente la cepa de *Chlorella* sp. a través de evaluaciones macroscópicas y microscópicas permitiendo corroborar la pureza de la cepa.
- Se determinó que el cultivo de *Chlorella* sp. presenta un crecimiento óptimo a una temperatura de 30°C favoreciendo su actividad metabólica y fotosintética
- Se concluyó que un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad beneficia el cultivo óptimo de *Chlorella* sp. al maximizar la eficiencia en la absorción de radiación fotosintéticamente activa (RFA) durante la fase luminosa facilitando la realización de procesos metabólicos anabólicos y de respiración celular durante la fase oscura.
- Se determinó que la dosificación de agua de mar al 25% proporciona un equilibrio osmótico aportando nutrientes esenciales y favoreciendo el crecimiento constante de *Chlorella* sp.
- Se determinó que el cultivo de *Chlorella* sp. en fotobiorreactor mostró mejores resultados al optimizar las condiciones de crecimiento y permitiendo un monitoreo en tiempo real, garantizando un control específico del proceso y una producción eficiente de biomasa.
- Se evaluó y determinó la viabilidad de la liofilización de *Chlorella* sp. demostrando la capacidad de su conservación en un 80%.

6.2 Recomendaciones

- Sugiero construir y diseñar un prototipo de fotobiorreactor que pueda realizar la cosecha de biomasa, con el objetivo de mejorar su eficiencia y reducir los tiempos de cosecha. Garantizando una producción de *Chlorella* sp. constante, estandarizada y de alta calidad.
- Sugiero evaluar el uso de agua de mar previamente enriquecida con microorganismos simbióticos, como bacterias beneficiosas, para mejorar el crecimiento y la resistencia del cultivo.
- Sugiero explorar la viabilidad de utilizar los residuos del proceso de cultivo y liofilización como insumos para otros procesos biotecnológicos, como la producción de biofertilizantes o bioplásticos.

Capítulo VII. Referencias

7.1 Fuentes bibliográficas

- Adenan, N. S., Yusoff, F. M., & Shariff, M. (2013). Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8(2), 397–404. <https://doi.org/10.3923/JFAS.2013.397.404>
- Albuja, R. F., Araujo, P. A., & López, A. C. (2011). Obtención de un biofertilizante a partir del residuo ultra fino de *Spirulina platensis*, mediante degradación anaerobia.
- Arredondo, B., & Voltolina, D. (2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. *Métodos y Herramientas Analíticas En La Evaluación de La Biomasa Microalgal*, August, 1–11. <https://search.worldcat.org/title/651195108>
- Arroyo, L. J. G., Pérez, V. M. C., & Toapanta, V. N. C. (2021). Influencia de la *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) como alimento funcional en enfermedades crónicas. *Mediciencias UTA*, 5(4.1), 7–12. <https://doi.org/10.31243/mdc.uta.v5i4.1.1441.2021>
- Asaad, A. A., & Amer, A. S. (2024). Evaluation of *Chlorella vulgaris* biosorption capacity for phosphate and nitrate removal from wastewater. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-023-50748-3>
- Astocondor, M. M., Huatuco, E. M., Terreros, H. M., & Delgado, R. T. (2017). Crecimiento Poblacional y Productividad de la Microalga Nativa *Chlorella* peruviana bajo Diferentes Salinidades POPULATION GROWTH AND PRODUCTIVITY OF THE NATIVE MICROALGA *Chlorella* peruviana UNDER DIFFERENT SALINITIES. *Rev Inv Vet Perú*, 28(4), 976–986. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13004>
- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., & Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164–173. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2013.01.004>
- Condori, M. A. M., Condori, M. M., Gutierrez, M. E. V., Choix, F. J., & García-Camacho, F. (2024). Bioremediation potential of the *Chlorella* and *Scenedesmus* microalgae in

- explosives production effluents. *Science of The Total Environment*, 920, 171004.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2024.171004>
- De-Bashan, L. E., Antoun, H., & Bashan, Y. (2008). INVOLVEMENT OF INDOLE-3-ACETIC ACID PRODUCED BY THE GROWTH-PROMOTING BACTERIUM AZOSPIRILLUM SPP. IN PROMOTING GROWTH OF CHLORELLA VULGARIS(1). *Journal of Phycology*, 44(4), 938–947. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.2008.00533.X>
- Gallardo, Á. C., Cano, E., Lopez, G., Blas, V., Olvera, R., & Franco, M. (2015). Las ficobiliproteínas de *Spirulina maxima* y *Pseudanabaena tenuis* protegen contra el daño hepático y el estrés oxidativo ocasionado por el Hg²⁺. *Revistas mexicana de ciencias farmaceuticas*, 41(2), 170–177. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57914151005>
- Gharib, F. A. E. L., & Ahmed, E. Z. (2023). *Spirulina platensis* improves growth, oil content, and antioxidant activity of rosemary plant under cadmium and lead stress. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35063-1>
- Guamán, M. C., & González, N. P. (2015). Catálogo De Microalgas Y Cianobacterias De Agua Dulce Del Ecuador Biodiversidad. 147.
- Guldas, M., Ziyank-Demirtas, S., Sahan, Y., Yildiz, E., & Gurbuz, O. (2020). Antioxidant and anti-diabetic properties of *Spirulina platensis* produced in Turkey. *Food Science and Technology*, 41(3), 615–625. <https://doi.org/10.1590/FST.23920>
- Guaygua Arroyo, L.J. et al. 2021. Influencia de la *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) como alimento funcional en enfermedades crónicas. *Medicencias UTA*. 5, 4.1 (oct. 2021), 7–12. DOI:<https://doi.org/10.31243/mdc.uta.v5i4.1.1441.2021>.
- Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F., & Yan, Y. (2018). Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. *Fermentation* 2018, Vol. 4, Page 25, 4(2), 25. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION4020025>
- Huarachi-Olivera, R., Dueñas-Gonza, A., Yapó-Pari, U., Vega, P., Romero-Ugarte, M., Tapia, J., Molina, L., Lazarte-Rivera, A., Pacheco-Salazar, D. G., & Esparza, M. (2018). Bioelectrogenesis with microbial fuel cells (MFCs) using the microalga *Chlorella vulgaris*

- and bacterial communities. *Electronic Journal of Biotechnology*, 31, 34–43. <https://doi.org/10.1016/J.EJBT.2017.10.013>
- Huaynate, A. O., Gallegos, M. C., Ramos, L. F., & Soto, A. R. (2021). Evaluación del potencial de *Desmodesmus asymmetricus* y *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales. *Revista Peruana de Biología*, 28(1), 18082. <https://doi.org/10.15381/RPB.V28I1.18082>
- Jara, M. Z., Barja, A. E., Molina, M. V., & Hinostroza, S. C. (2024). Influence of *Chlorella Vulgaris* Microalgae on the Adsorption of Pb and Zn in Leachates at El Porvenir Open-Air Dump- “El Tambo.” *International Journal of Environmental Science and Development*, 15(2), 104–109. <https://doi.org/10.18178/IJESD.2024.15.2.1474>
- Lavens, & Sorgeloos. (1996). FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Manual on the production and use of live food for aquaculture.
- Lidder, P., & Sonnino, A. (2012). Biotechnologies for the Management of Genetic Resources for Food and Agriculture. *Advances in Genetics*, 78, 1–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394394-1.00001-8>
- Mariana, C., Juliana, O., & Juan, Q. (2009). Degradación de colorantes industriales con hongos ligninolíticos. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s0120-62302009000200003&script=sci_arttext
- Masojídek, J., Torzillo, G., & Koblížek, M. (2013a). Photosynthesis in Microalgae. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition*, 21–36. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.CH2>
- Masojídek, J., Torzillo, G., & Koblížek, M. (2013b). Photosynthesis in Microalgae. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition*, 21–36. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.CH2>
- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., & Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164–173. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2013.01.004>

- Olvera-Ramírez, R. (2006). Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. *Interciencia*, 31(9). Asociación Interciencia. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000900008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Pereira, M. V., Dassoler, A. F., Antunes, P. W., Gonçalves, R. F., & Cassini, S. T. (2020a). Indigenous microalgae biomass cultivation in continuous reactor with anaerobic effluent: effect of dilution rate on productivity, nutrient removal and bioindicators. *Environmental Technology*, 41(14), 1780–1792. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1549105>
- Pereira, M. V., Dassoler, A. F., Antunes, P. W., Gonçalves, R. F., & Cassini, S. T. (2020b). Indigenous microalgae biomass cultivation in continuous reactor with anaerobic effluent: effect of dilution rate on productivity, nutrient removal and bioindicators. *Environmental Technology*, 41(14), 1780–1792. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1549105>
- Perez-Reytor, D. C., & Sosa, E. A. E. (2010). Evaluación de la tolerancia a la crioconservación de dos cepas de *Escherichia coli* K12 de uso frecuente en biotecnología. *VacciMonitor*, 19(2), 11–18
- Pistelli, L., del Mondo, A., Smerilli, A., Corato, F., Sansone, C., & Brunet, C. (2023). Biotechnological response curve of the cyanobacterium *Spirulina subsalsa* to light energy gradient. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 16(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S13068-023-02277-4/TABLES/2>
- Profesional, R., María, P. :, & Ruiz Aguilar, Y. (2016.). Análisis Del Cultivo De La Microalga *Chlorella vulgaris* A Diferentes Fotoperiodos.
- Rai, M. P., Gautom, T., & Sharma, N. (2015). Effect of Salinity, pH, Light Intensity on Growth and Lipid Production of Microalgae for Bioenergy Application. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 15(4), 260–267. <https://doi.org/10.3844/OJBSCI.2015.260.267>
- Ramirez Carmona Margarita, Rondon Castrillon Leidy, & Velez Salazar Yesid. (2013). (PDF) Microalgas para la industria alimentaria https://www.researchgate.net/publication/299769593_Microalgas_para_la_industria_alimentaria

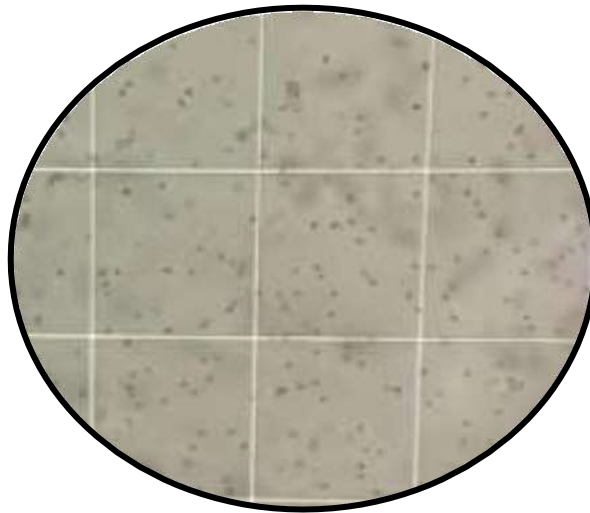
- Ratomski, P., & Hawrot-Paw, M. (2021). Production of *Chlorella vulgaris* biomass in tubular photobioreactors during different culture conditions. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/APP11073106>
- Richmond, A. (n.d.). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Retrieved July 14, 2024, from www.blackwellpublishing.com
- Ritu, J. R., Ambati, R. R., Ravishankar, G. A., Shahjahan, M., & Khan, S. (2023). Utilization of astaxanthin from microalgae and carotenoid rich algal biomass as a feed supplement in aquaculture and poultry industry: An overview. *Journal of Applied Phycology*, 35(1), 145–171. <https://doi.org/10.1007/S10811-022-02817-9>
- Ruiz Martínez, A. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. <https://riunet.upv.es/handle/10251/12831>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2014.04.007>
- Sentías, A., & Dreckmann, K. M. (2014). Biodiversidad de las macroalgas marinas de la familia Rhodomelaceae (Rhodophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.), S62–S68. <https://doi.org/10.7550/RMB.40713>
- Silva, J., Alves, C., Pinteus, S., Reboleira, J., Pedrosa, R., & Bernardino, S. (2019). *Chlorella*. Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements, 187–193. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00026-6>
- Suthar, S., & Verma, R. (2018). Production of *Chlorella vulgaris* under varying nutrient and abiotic conditions: A potential microalga for bioenergy feedstock. *Process Safety and Environmental Protection*, 113, 141–148. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2017.09.018>

- Van Stappen, G. (1996). Introduction, biology and ecology of Artemia. In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Technical Paper, 361, 295. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab825f/AB825F00.htm#TOC>
- Yusof, N. S., Yeong, Y. S., Zakeri, H. A., Wahid, M. E. A., Ghafar, S. N. A., & Yusuf, N. (2021). Photoperiod influenced the growth and antioxidative responses of *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana*, and *Tetraselmis chuii*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(4), 125–134. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.110415>
- Zhai, X., Zhu, C., Zhang, Y., Pang, H., Kong, F., Wang, J., & Chi, Z. (2020). Seawater supplemented with bicarbonate for efficient marine microalgae production in floating photobioreactor on ocean: A case study of *Chlorella* sp. *Science of The Total Environment*, 738, 139439. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.139439>

ANEXOS



Anexo 1: Cultivo en placa de *Chlorella* sp.



Anexo 2: Vista microscópica a 40x de *Chlorella* sp.



Anexo 3: Extracción de agua de mar de Huacho



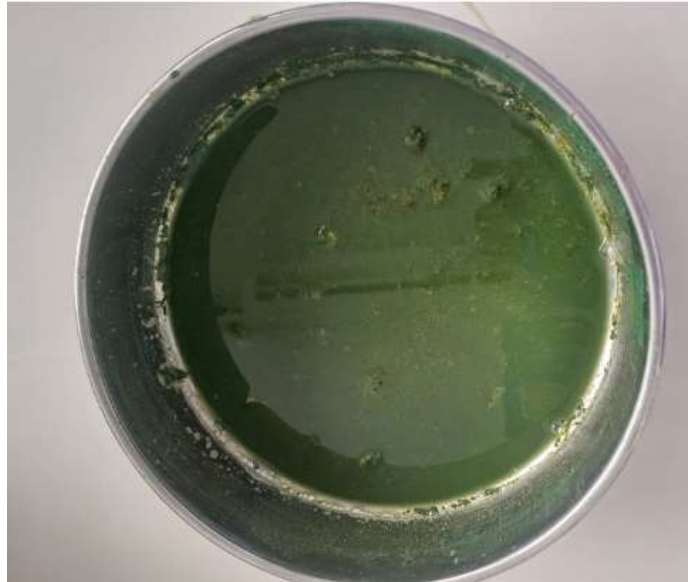
Anexo 4: Cultivos en matraces de *Chlorella* sp.



Anexo 5: Control de parámetros de cultivo de *Chlorella* sp.



Anexo 6: Cultivo dual de *Chlorella* sp en bidones



Anexo 7: Cosecha de *Chlorella* sp. Usando tamizador de 20 micras,



Anexo 8 : Análisis microscópico de conteo celular de *Chlorella* sp.



Anexo 9: Evaluación de biomasa seca de *Chlorella* sp.



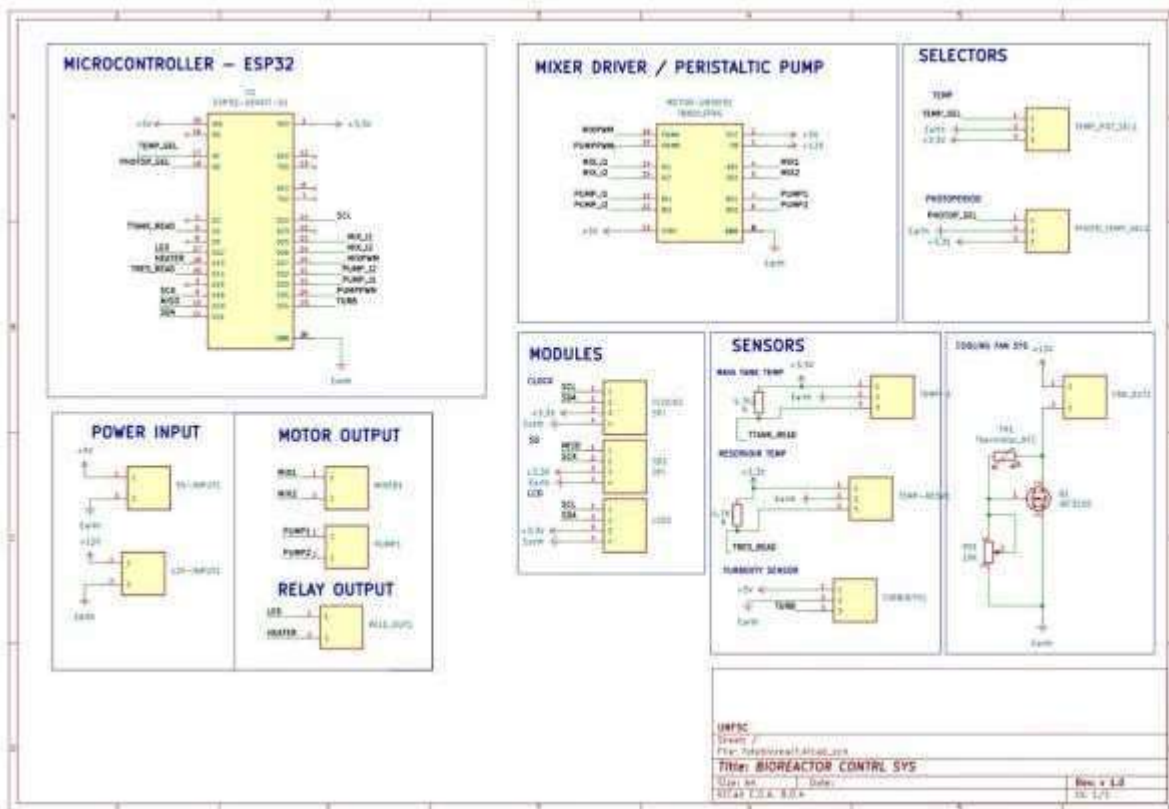
Anexo 10: Construcción del fotobiorreactor para cultivo de *Chlorella* sp.



Anexo 11: Liofilización de *Chlorella* sp.



Anexo 12: Evaluación de viabilidad de *Chlorella* sp.



Anexo 13: Diseño Esquemático del Fotobiorreactor del Cultivo de *Chlorella sp*