



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL
CRECIMIENTO Y ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS EN MICROALGAS
PROVENIENTES DE ÁREAS PROTEGIDAS DEL ECUADOR.

AUTOR

Nikole Vanesa Eldredge Salazar

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO Y
ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS EN MICROALGAS PROVENIENTES DE ÁREAS
PROTEGIDAS DEL ECUADOR.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniera en Biotecnología

Profesor Guía
M.Sc. Mayra Fernanda Chico

Autora
Nikole Vanesa Eldredge Salazar

Año
2017

DECLARACIÓN DEL DOCENTE GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Mayra Fernanda Chico Terán

Master en Biotecnología

CI: 1003327044

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Wilson David Tapia López

Magister en Gestión y Planificación Ambiental

CI: 1714205281

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR CIENTÍFICO

“Declaro haber dirigido científicamente al estudiante para la realización de su trabajo experimental de titulación en base al método científico, conduciéndole con coherencia en el conjunto de experimentos realizados, y orientando sus conocimientos para lograr los objetivos propuestos”.

María Cristina Guamán Burneo
Master en Microbiología Industrial
CI: 1103950513

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

Nikole Vanesa Eldredge Salazar

CI: 171831130-9

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme llegar a cumplir esta meta.

A mi familia, por su constante apoyo y guía.

A Nory González y María Cristina Guamán por su acompañamiento en todo el desarrollo del proyecto de titulación.

A Mayra Fernanda Chico y Wilson Tapia, por su guía para un eficiente desarrollo del tema escogido.

DEDICATORIA

A mi familia, por sus consejos y palabras de aliento. Por inculcarme siempre valores como el respeto, la responsabilidad, la disciplina y la perseverancia, los cuales me han permitido alcanzar mis metas y objetivos.

RESUMEN

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos con altas tasas de crecimiento, capaces de adaptarse a una amplia gama de ambientes. Sin embargo, aunque existe una gran variedad de microalgas, no todas son útiles como materia prima para la producción de biocombustibles, como el biodiesel. Evaluar parámetros cinéticos, como la velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td), densidad celular y otros como la producción de biomasa y acumulación de lípidos, son esenciales para la selección de una cepa de microalga frente a otra. Al evaluar, parámetros involucrados en la cinética de crecimiento, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre *Pleurococcus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Scenedesmus* sp. Sin embargo, en el caso de la producción de biomasa, *Pleurococcus* sp., alcanzó una producción de 0.62 g. L⁻¹ y el mayor porcentaje de acumulación de grasas totales 2.63 %. Por este motivo, *Pleurococcus* sp., fue la especie seleccionada para la evaluación del efecto de la salinidad en tres concentraciones de NaCl, 10 mM (T1), 25 mM (T2) y 50 mM (T3). Bajo el efecto de la salinidad, se observó que la velocidad de crecimiento (μ) tiende a disminuir conforme incrementa la concentración de sal, mientras que, la producción de biomasa se ve levemente favorecida. La mayor producción de biomasa en *Pleurococcus* sp., fue de 0.32 g. L⁻¹ en el T3, mientras que, el mejor porcentaje de acumulación de grasas totales (2.41 %), se alcanzó en el T1. Finalmente, al evaluar el perfil lipídico del mejor de los tratamientos, se obtuvo mayor porcentaje de acumulación de ácidos grasos insaturados (1.66 %), en el T1. El ácido palmítico (C16:0), el ácido oleico (C18:1n9 cis ω 9) y el ácido linoleico (C18:2n6 cis ω 6), fueron los ácidos grasos con mayor prevalencia, no obstante, también se evidenció el incremento de ácidos grasos poliinsaturados y omegas 3 y 6.

ABSTRACT

Microalgae are photosynthetic microorganisms with high growth rates, capable of adapting to a wide range of environments. However, in spite of a great variety of microalgae, not all of them are useful as a raw material for the production of biofuels, such as biodiesel. For the selection of a microalgae strain against another, it is essential to evaluate kinetic parameters such as growth rate (μ), doubling time (td), cell density and other parameters like biomass production and lipid accumulation. During the evaluation of kinetic parameters, growth rate (μ), doubling time (td) and cell density in *Pleurococcus* sp., *Desmodesmus* sp., and *Scenedesmus* sp., no statistically significant differences were observed. However, *Pleurococcus* sp., showed a higher fat accumulation 2.63 %. Also, after *Desmodesmus* sp., *Pleurococcus* sp., was the genus with the highest biomass production 0.62 g. L⁻¹. For this reason, *Pleurococcus* sp., was chosen for the evaluation of the salinity effect in three concentrations 10 mM (T1), 25 mM (T2) and 50 mM (T3). Under the effect of salinity, it was observed that the growth rate (μ) tends to decrease as salt concentration increases, while biomass production is slightly favored. The highest biomass production in *Pleurococcus* sp., was 0.32 g. L⁻¹ in T3. While the best percentage of total fat accumulation (2.41%), was reached at T1. Finally, during the evaluation of the lipid profile of the best treatment T1, it was observed that the highest percentage of accumulation was unsaturated fatty acids with 1.66 %. Palmitic acid (C16: 0), oleic acid (C18: 1n9 cis ω 9) and linoleic acid (C18: 2n6 cis ω 6) were the highest fatty acids; however, the increase in polyunsaturated fatty acids and omegas 3 and 6.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Objetivo general.....	5
1.4. Objetivos específicos.....	6
1.5. Justificación.....	6
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1. Generalidades de las Microalgas.....	8
2.1.1. Características de las Microalgas.....	8
2.1.2. Clasificación de las Microalgas.....	9
2.1.2.1. Géneros de Microalgas.....	10
2.1.2.1.1. <i>Pleurococcus</i> sp.....	10
2.1.2.1.2. <i>Scenedesmus</i> sp.....	11
2.1.2.1.3. <i>Desmodesmus</i> sp.....	13
2.1.3. Metabolismo de las Microalgas.....	14
2.1.4. Parámetros de cultivo.....	15
2.1.4.1. Temperatura.....	16
2.1.4.2. Luz.....	16
2.1.4.3. pH.....	16
2.1.4.4. Agitación.....	17
2.1.4.5. Nutrientes.....	17
2.2. Generalidades de los Lípidos.....	18
2.2.1. Los Lípidos en las Microalgas.....	19
2.2.2. Biosíntesis de Lípidos en Microalgas.....	22
2.2.3. Aplicaciones de Microalgas.....	23
2.2.3.1. Aplicación de los lípidos obtenidos a partir de microalgas.....	24
2.2.3.1.1. Biodiesel.....	24
3. DISEÑO DEL PLAN EXPERIMENTAL.....	25

4. PROCEDIMIENTOS	27
4.1. Población y muestra.....	27
4.2. Materiales y métodos para la obtención de datos.....	28
4.2.1. Activación, aislamiento e identificación de microalgas	28
4.2.2. Masificación de las cepas seleccionadas.....	29
4.2.3. Curva de crecimiento y determinación parámetros cinéticos del crecimiento celular.	30
4.2.4. Cosecha de biomasa	31
4.2.5. Análisis de grasas totales	31
4.2.6. Implementación del experimento para evaluar el efecto de la salinidad.	32
4.2.6.1. Establecimiento del sistema de cultivo	32
4.2.6.2. Curva de crecimiento y determinación de parámetros cinéticos	33
4.2.6.2.1. Elaboración de la curva de calibrado	33
4.2.6.2.2. Elaboración de la curva de crecimiento celular de <i>Pleurococcus</i> sp., y determinación de parámetros cinéticos.....	33
4.2.7. Análisis del perfil lipídico	34
4.3. Evaluación estadística de los resultados.....	34
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
5.1. Resultados.....	35
5.1.1. Selección de la cepa de microalgas, <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Desmodesmus</i> sp., y <i>Pleurococcus</i> sp., para evaluación del efecto de la salinidad.....	35
5.1.1.1. Curvas de crecimiento y determinación de parámetros cinéticos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular (DC) de <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Desmodesmus</i> sp., y <i>Pleurococcus</i> sp.....	35

5.1.1.2. Biomasa y porcentaje de grasas totales de <i>Pleurococcus</i> sp., <i>Desmodesmus</i> sp., y <i>Scenedesmus</i> sp.	37
5.1.2. Evaluación del efecto de la salinidad en <i>Pleurococcus</i> sp.	38
5.1.2.1. Curvas de crecimiento y determinación de parámetros cinéticos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular (DC), de controles y tratamientos de <i>Pleurococcus</i> sp.	38
5.1.2.2. Biomasa y porcentaje de grasas totales de <i>Pleurococcus</i> sp., bajo el efecto de la salinidad.	43
5.1.2.3. Evaluación del pH	47
5.1.2.4. Mediciones celulares, área, radio y perímetro, del control y tratamientos de <i>Pleurococcus</i> sp.	48
5.1.2.5. Análisis del perfil lipídico.	51
5.2. Discusión	53
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
6.1. Conclusiones.....	59
6.2. Recomendaciones	60
REFERENCIAS	61
ANEXOS.....	69

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

Los combustibles fósiles corresponden a la fuente de energía más empleada a nivel mundial, no obstante, al no ser renovable, resulta difícil que cubran la demanda energética futura. Estimaciones sugieren que en los próximos 60 a 80 años se agotarán las reservas de éstos, siendo inevitable que el precio de los mismos, incremente gradualmente (Sharma, Schuhmann, y Schenk, 2012; Haberl, Beringer, Bhattacharya, Erb, y Hoogwijk, 2010).

En los últimos años, las microalgas han despertado gran interés como una fuente alternativa de energía renovable. Presentan una alta eficiencia fotosintética para producir biomasa, y superior tasa de crecimiento y contenido lipídico en comparación con otras alternativas renovables, como es el caso de cultivos oleaginosos (maíz, la soya, otros) (Ahmad, Yasin, Derek, y Lim, 2011). Las microalgas, son capaces de generar una amplia gama de productos energéticos y se han descrito como una fuente ideal para la producción de muchos tipos de biocombustibles, entre los cuales se incluye el biodiesel, biogás, biopetróleo, bioetanol y biohidrógeno. Los biocombustibles de tercera generación a partir de microalgas, han surgido como una alternativa prometedora a largo plazo; su aplicación es amigable con el medio ambiente y por tanto se ajusta a las políticas centradas en reducción del impacto ambiental y emisión de gases con efecto invernadero (Brennan y Owende, 2010).

Muchas microalgas son capaces de acumular cantidades sustanciales de lípidos, el cual puede variar entre el 1 y 70 %, no obstante, bajo adecuadas condiciones de cultivo, algunas especies son capaces de acumular hasta un 90 % de lípidos por peso seco (Li, Wang, Wu, y Lan, 2008; Yanqun, Horsman, Nan, Lan, y Dubois, 2008). Entre las microalgas que han presentado mayor interés para fines de investigación se pueden citar: *Chlorella*, *Cryptocodinium*, *Cylindrotheca*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Schizochytrium*, *Tetraselmis*, entre otras

observándose que estos géneros son capaces de acumular lípidos entre un 20 a 50 % (Chisti, 2007).

Por otro lado, se ha observado que las diferentes especies de microalgas, tienden a favorecer la acumulación de ciertos ácidos grasos sobre otros, lo cual tiene un efecto significativo sobre las características y calidad del biodiesel producido. En el estudio realizado por Thomas y colaboradores (1984), se observa la predisposición que presentan las especies de microalgas, para acumular ácidos grasos con una longitud de cadena entre 16 y 18 carbonos. A modo de ilustración, se puede mencionar algunas especies de microalgas tales como: *Ankistrodesmus* sp., capaz de acumular ácidos grasos con carbonos C16:4 (ácido palmítico) y C18:4 (ácido esteárico), *Isochrysis* sp., que acumula ácidos grasos C16:2, C16:3 y C20:5 (ácido araquídico), *Nannochloris* sp., que almacena ácidos grasos C16:2 y C16:3 y finalmente *Nitzchia* sp., capaz de acumular ácidos grasos C20:5 (Mata, Martins, y Caetano, 2010; Prartono, Kawaroe, Sari, y Augustine, 2010).

Los lípidos que acumulan las microalgas forman parte del metabolismo primario y secundario de la célula y residen primordialmente en la membrana plasmática, logrando acumular ácidos grasos neutros, polares, ésteres, esteroides y entre otros, que incluyen moléculas de cadena media (entre C10-C14 carbonos), de cadena larga (entre C16-C18 carbonos) y de cadenas extensas (\geq C20 carbonos) (Hu et al., 2008; Liu y Benning, 2013). No obstante, para la producción de biodiesel, la síntesis de ácidos grasos se ha enfocado en aquellos con una longitud de C16 a C18 carbonos, principalmente porque influyen en la calidad del combustible (Miao y Wu, 2006).

Existen diferentes factores nutricionales, ambientales, condiciones de cultivo, temperatura y pH, que influyen en la composición de los ácidos grasos que acumulan las microalgas (Juneja, Ceballos, y Murthy, 2013). En el caso de factores como el estrés salino, se ha observado que este provoca cambios en la composición de los lípidos presentes en la membrana, favoreciendo la acumulación de ácidos grasos con cadenas de carbonos entre C16-C18. Los

ácidos grasos que presentan esta longitud, tienen como función reducir el daño ocasionado en la membrana por iones de sal, al disminuir la permeabilidad y fluidez de la membrana (Kan et al., 2012).

En este sentido, se puede citar el estudio realizado por Salama et al. (2013), el cual muestra que a 25 mM de cloruro de sodio (NaCl), *Chlamydomonas mexicana* y *Scenedesmus obliquus* presentan una tasa de crecimiento y acumulación de lípidos óptima. Sin embargo, al aumentar la concentración de NaCl a 50 mM, la tasa de crecimiento disminuye y la acumulación de lípidos se ve favorecida en ambas especies. A 50 mM de NaCl se observó en *C. mexicana* un incremento del 35 % en la acumulación de ácido palmítico y 41 % de ácido linoleico. Por su parte en *S. obliquus* se cuantificó un incremento del 41 % en el almacenamiento de ácido oleico y del 20% de ácido α -linoleico. Por otro lado, en el estudio realizado por Kaewkannetra, Enmak, y Chui (2012), donde se aplicaron diferentes concentraciones de NaCl (0.05, 0.2 y 0.3 M), se observó que en aquellas células de *Scenedesmus obliquus* que fueron sometidas a 0.3 M, existe una producción de lípidos del 36 % a los 15 días de experimentación, siendo éste el mejor de los tratamientos.

Del mismo modo, en el estudio realizado por Lee, Yoo, Jun, Ahn, y Oh (2010), donde se evaluó la capacidad de acumular lípidos de cuatro especies de *Desmodesmus* sp., bajo condiciones de estrés salino y limitación de nitrógeno, empleando un medio Bolds Basal modificado, se observó que bajo limitación de nitrógeno por 3 días y 2 % de NaCl en el medio de cultivo, una de las especies, fue capaz de incrementar la producción de grasas totales de 14 a 36 %.

Por otro lado, se ha observado que realizar cambios en las condiciones de cultivo, como en el estudio realizado por Takagi, Karseno, y Yoshida (2006), también favorece a la acumulación de lípidos. En este sentido, el cultivo de la microalga *Dunaliella tertiolecta* fue alimentado con una solución concentrada de NaCl 1 M y 0.5 M durante el inicio, medio y término de la fase exponencial, observándose que la mayor acumulación de triacilglicerol (TGA), se obtuvo a 1

M de NaCl alimentado al término de la fase exponencial. Esto dio como resultado el incremento de la concentración de lípidos de 30.4 a 34.5 %.

1.2. Planteamiento del problema

En el Ecuador, las fuentes de energía alternativas a los hidrocarburos derivados del petróleo son muy limitadas. La hidroenergía, leña y bagazo de caña, representan apenas el 6 % de las fuentes de energía alternativas total empleadas en el Ecuador. Incluso, en el caso de las fuentes de energía renovable no convencional, como es el caso de la de energía eólica y solar fotovoltaica, estas llegan a representar únicamente el 1.1% (Delgado, 2015).

A pesar, de que en el Ecuador se ha promovido la investigación de cultivos oleaginosos que no afecten a la seguridad alimentaria, como es el caso del uso del piñón, se ha observado que al igual que otros cultivos del mismo tipo (maíz, soya, jatropha, otros), su cultivo es extenso, está asociado al uso de agroquímicos para tratar enfermedades patógenas y requiere el uso de fertilizantes para incrementar la productividad en tierras completamente áridas (Lezcano, 2014). Del mismo modo, en el caso de las microalgas, actuales desafíos en términos de viabilidad técnica y económica, se presentan durante la producción industrial, existiendo varias perspectivas a mejorar durante el proceso de masificación de éstas (Rashid, Ur Rehman, Sadiq, Mahmood, y Han, 2014).

Son varias las actuales barreras que se presentan durante la producción a gran escala de microalgas, entre los puntos más críticos se destacan: el mecanismo de cultivo, requerimiento de grandes volúmenes de agua y tipo de cepa de microalga; especialmente en parámetros como velocidad de crecimiento celular (μ), tiempo de duplicación (td) y productividad de biomasa y lípidos (Kumar, Guria, Chitres, Chakraborty, y Pathak, 2016; Lam y Lee, 2012; Mairret, Bernard, Masci, Lacour, y Sciandra, 2011). Inclusive, en el caso específico de producción de biodiesel, el mecanismo para lograr que las microalgas puedan acumular lípidos en cantidades sustanciales, con una longitud entre C16-C18 carbonos,

ha presentado especial interés ya que influye directamente, sobre la calidad del biocombustible (Hu et al., 2008).

Aunque, se han evaluado diferentes condiciones como la variación de temperatura, intensidad de la luz, pH, limitación de nutrientes, estrés salino, entre otras para mejorar la producción de biomasa y lípidos; varios de estos factores resultan en una menor producción de biomasa, lo que conduce a un menor rendimiento de la producción lipídica (Markou y Nerantzis, 2013; Sun et al., 2014). En el caso del estrés salino, se ha observado que no siempre la concentración de sal y condiciones de cultivo que incrementan la producción de biomasa y lípidos en una especie determinada, se llega a replicar con la misma efectividad en otra especie de microalga (Takagi et al., 2006).

Por otro lado, las condiciones que pueden ser fácilmente controladas a escala laboratorio, pueden ser laboriosas de controlar al ampliar el sistema de cultivo. Técnicas como la limitación de nutrientes, nitratos (NO_3) y fosfatos (PO_4), para el incremento en la producción lipídica, presentan grandes retos a escala industrial (Su et al., 2011). De este modo, aunque las investigaciones se han encaminado a la búsqueda de alternativas renovables, que puedan llevar a un cambio de la matriz energética diversificada y productiva, este propósito aun no es una realidad tangible. Las técnicas y métodos que se emplean actualmente, enfrentan retos para llegar a convertirse en una potencial alternativa que pueda cubrir la demanda energética futura (Rodolfi et al., 2009).

1.3. Objetivo general

- Evaluar cuantitativamente el efecto de la salinidad, sobre el crecimiento celular y la acumulación de lípidos en cepas de microalgas provenientes de Áreas Protegidas del Ecuador.

1.4. Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento y producción de biomasa en cepas de microalgas, mediante el análisis de curvas cinéticas de crecimiento celular.
- Evaluar el porcentaje de acumulación de ácidos grasos en cepas de microalgas, mediante un análisis de grasas totales.
- Establecer la relación que existe entre la tasa de crecimiento de la cepa con mayor rendimiento y la acumulación de lípidos, al variar la concentración de sal en el medio de cultivo, mediante un análisis de perfil lipídico.

1.5. Justificación

Las investigaciones en el área de biotecnología energética, incrementan de manera constante. Si bien la producción de biocombustibles en microalgas se ha estudiado por más de 50 años, todavía resulta necesario el desarrollo de métodos y técnicas que exploten todo su potencial y que superen las barreras limitantes en la producción de biodiesel (Brennan y Owende, 2010). El uso de biomasa obtenida a partir de microalgas, para la generación de biocombustibles, constituye una de las opciones que más se ajusta a las políticas centradas en el logro de la seguridad energética y la mitigación de emisiones de gases con efecto invernadero (Singh y Olsen, 2011).

El efecto que ejerce la salinidad sobre las microalgas, ha presentado mayor énfasis en aquellas de ambiente marino, las cuales ya poseen una alta tolerancia a la sal. Han sido pocos los estudios en microalgas de agua dulce, en especial en los géneros *Pleurococcus* sp., y *Desmodesmus* sp., donde se han reportado pocos estudios. De este modo, el mecanismo de acumulación de lípidos bajo estrés salino inducido por NaCl, no es completamente claro, en comparación con otros factores ampliamente estudiados, como la limitación de nutrientes, NO₃ y PO₄ (Ra, Kang, Kim, Lee, y Kim, 2015)

El estrés salino aplicado mediante la adición de sales como NaCl, independiente del mecanismo de cultivo, es relativamente más sencillo en comparación con otros factores ampliamente estudiados que favorecen la acumulación de lípidos, pudiendo incorporar el factor inductor, directamente en el medio de cultivo (Yang, He, Rong, Xia, y Hu, 2014). Por otro lado, en el caso del Ecuador, residuos industriales del procesamiento de camarón, atún y otros productos de origen marino, contienen gran cantidad de sales inorgánicas. En este sentido, estos efluentes podrían ser considerados para el cultivo de microalgas y así centrarse en el desarrollo de tecnologías orientadas a la reutilización de residuos que reduzcan costos de producción (Villota, 2014).

Finalmente, cabe señalar que la diversidad de genotipos existentes, es consecuencia de los factores ambientales y ubicación geográfica. El Ecuador, al estar ubicado sobre la línea ecuatorial, recibe la máxima energía solar por unidad de superficie. De igual forma, la serranía ecuatoriana se encuentra a una altura promedio de 2500 m.s.n.m (Larrea, 2012). Por esta razón, la microalgas que se emplean en este estudio, se han adaptado a estas condiciones específicas, pudiendo diferenciarse de otras especies de algas descritas (Kussell y Leibler, 2005). La influencia del efecto de la salinidad sobre la tasa de crecimiento y acumulación de lípidos en microalgas, pretende mejorar y potencializar dichos procesos ya existentes en la productividad de biomasa.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de las Microalgas

2.1.1. Características de las Microalgas

Las algas comprenden un conjunto muy variado de organismos fotosintéticos, no obstante, se diferencian por su morfología, bioquímica y fisiología. En este amplio grupo, se encuentran principalmente las microalgas, organismos eucariotas, que poseen organelos rodeados por una membrana, cloroplastos y flagelos. Se reproducen de forma vegetativa, división celular, fragmentación o reproducción sexual (Brennan y Owende, 2010).

Estas presentan variaciones en su forma de vida, organizándose como organismos unicelulares, coloniales, parenquimatosos, cenocíticos y filamentosos. La mayoría poseen una pared celular compuesta por polisacáridos como: la celulosa, mánanos y xilanos, no obstante, existen casos como el de las diatomeas, cuya pared celular esta reforzada con carbonato de calcio u oxido de silicio (Alarcón, 2001).

Las microalgas, poseen cloroplastos donde se almacena clorofila y la energía luminosa es captada primordialmente como fuente de energía. Además de la clorofila, las microalgas son capaces de producir otros pigmentos fotosintéticos, responsables del color característico de ciertas especies. Requieren de dióxido de carbono (CO_2) para su crecimiento, el cual es empleado como fuente de carbono para la generación de compuestos orgánicos y producción de oxígeno (O_2) (Hoek, Mann, y Jahns, 1995).

Son capaces de crecer rápidamente y vivir en una amplia gama de hábitats ecológicos, ya sea en agua dulce, salobre, marina, así como ambientes hipersalinos y con diferentes rangos de temperatura y pH (Falkowski et al., 2004). Su hábitat principalmente es acuático, no obstante, también existen especies terrestres que viven sobre la nieve, rocas de manantiales termales y sobre los

árboles. Inclusive se ha observado que en ocasiones son capaces de vivir asociadas junto otros organismos como hongos y bacterias (Mata et al., 2010).

Debido a la plasticidad bioquímica que poseen para acumular subproductos de interés, se han descrito como una fuente ideal para el desarrollo de productos alimenticios, farmacéuticos, agronómicos, entre otros (Wijffels, Kruse, y Hellingwerf, 2013). Entre los metabolitos que pueden acumular, se pueden mencionar: vitaminas, toxinas, polisacáridos, enzimas, ácidos grasos, esteroides, proteínas, pigmentos, carotenoides, entre otros (Walsby, 1995).

2.1.2. Clasificación de las Microalgas

Las microalgas se pueden clasificar en base a diferentes aspectos tales como: tipo de reproducción, ciclo de vida, presencia de flagelos, modificaciones morfológicas o inclusive, por ligeros cambios moleculares que surgen para la adaptación y supervivencia. El tipo de clorofila, pigmentos y material de reserva, han sido los caracteres diferenciales fundamentalmente para su clasificación. Dentro del grupo de microalgas, podemos encontrar a la división Chlorophyta, que comprende un grupo muy variado de algas verdes y en el cual se encuentran los géneros de microalgas a emplear en este estudio (Tilden, 1933). En la Tabla 1, se detalla la clasificación taxonómica de la división Chlorophyta.

Tabla1.

Esquema de Clasificación de la división Chlorophyta

Reino	División	Clase
Eucariota	Chlorophyta	Chlorophyceae Ulvophyceae Cladophorophyceae Bryopsidophyceae Zygnematophyceae Trentepohliophyceae Klebsormidiophyceae Charophyceae Dsykladophyceae

Tomado de (Barsanti y Gualtieri, 2006).

2.1.2.1. Géneros de Microalgas**2.1.2.1.1. *Pleurococcus* sp.****2.1.2.1.1.1. Clasificación taxonómica**

Según Guamán y González (2016), la microalga *Pleurococcus* sp., se clasifica taxonómicamente de la siguiente forma:

Reino: Plantae

División: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chaetophorales

Familia: Chaetophoraceae

Género: *Pleurococcus*

2.1.2.1.1.2. Morfología

Presentan colonias redondas que forman delgados tapetes verdes sobre superficies húmedas. Las células son globulares, presentan un cloroplasto único, parietal y pirenoide, tal como se observa en la Figura 1. Su reproducción es asexual por esporas producidas en esporangios. (Guamán y González, 2016).



Figura 1. Fotografía en 100X de *Pleurococcus* sp.

2.1.2.1.1.3. Hábitat

Pueden encontrarse en agua dulce, aguas residuales, suelos y hábitats marinos. En el Ecuador se han encontrado en la laguna de Rodeococha del Parque Nacional Llanganates y en la laguna de Ilinococha del Parque Nacional Cajas (Guamán y González, 2016).

2.1.2.1.2. *Scenedesmus* sp.

2.1.2.1.2.1. Clasificación taxonómica

Según Guamán y González (2016), la microalga *Scenedesmus* sp., se clasifica taxonómicamente de la siguiente forma:

Reino: Plantae
División: Chlorophyta
Clase: Chlorophyceae
Orden: Sphaeropleales
Familia: Scenedesmaceae
Género: *Scenedesmus*

2.1.2.1.2.2. Morfología

Las células pueden tener forma elipsoidal, ovoide, fusiforme o en forma de luna. Forman colonias de 2, 4, 8, 16 o incluso 32 células planas paralelas. La mayoría de pared celular lisa y pueden presentar espinas o dientes curvos. Poseen un cloroplasto por célula ubicado parietalmente. Usualmente presentan un pirenoide ubicado casi al centro de la célula, tal como se observa en la Figura 2. La reproducción es asexual por autoesporas (Guamán y González, 2016).



Figura 2. Fotografía en 100X de *Scenedesmus* sp.

2.1.2.1.2.3. Hábitat

Se localiza en el fitoplancton de ríos, estanques, lagos y de forma muy escasa en agua salobre. Se encuentra con mayor incidencia en aguas ricas en nutrientes, especialmente en aquellas con concentraciones elevadas de N (nitrógeno) inorgánico. Además, corresponde a uno de los géneros de algas

verdes más común a nivel mundial, no obstante, en Ecuador se observado su presencia en las lagunas de Magdalena Negra en el Parque Nacional Sangay (Guamán y González, 2016).

2.1.2.1.3. *Desmodesmus* sp.

2.1.2.1.3.1. Clasificación taxonómica

Según Guamán y González (2016), la microalga *Desmodesmus* sp., se clasifica taxonómicamente de la siguiente forma:

Reino: Plantae

División: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Sphaeropleales

Familia: Scenedesmaceae

Género: *Desmodesmus*

2.1.2.1.3.2. Morfología

Las células pueden tener forma elipsoidal u ovoide, tal como se observa en la Figura 3. Son unicelulares o en cenobio dispuestas de 2, 4, 8 o 16 células, pueden presentar la misma forma, o tener ligeras variaciones en las células de los extremos del cenobio y las células del interior. La pared celular puede presentar espinas o proyecciones en las células externas o intermedias, siendo el carácter distintivo para diferenciarse. Presenta por célula un cloroplasto parietal que ocupa toda la superficie interna y usualmente un pirenoide. Su reproducción es mediante fisión múltiple (Guamán y González, 2016).



Figura 3. Fotografía en 100X de *Desmodesmus* sp.

2.1.2.1.3.3. Hábitat

Se localiza en el fitoplancton de estanques y lagos, y en Ecuador se ha observado su presencia en las lagunas Magdalena, Kuyuk y Ozogoche del Parque Nacional Sangay, Lagunas del Cajas y Limpiopungo, en el Parque Nacional Cotopaxí, en lagunas como: Chaloacocha, Rodeococha y Antejos en el Parque Nacional Llanganates y también en el Parque Nacional Yasuní (Guamán y González, 2016).

2.1.3. Metabolismo de las Microalgas

Las microalgas requieren para su crecimiento de dos componentes en particular, el primero una fuente de carbono y el segundo luz para llevar a cabo la fotosíntesis. En el cultivo de microalgas existen cuatro tipos de cultivo que se relacionan con el metabolismo del microorganismo, estas modalidades de cultivo se denominan fototrófico, heterotróficos, mixotrófico y fotoheterotrófico (Mata et al., 2010).

Las condiciones del cultivo fototrófico, son una de las más empleadas para el crecimiento de las microalgas. En este tipo, las microalgas obtienen energía mediante la absorción de energía luminosa y reducción del CO₂ por la oxidación

de sustratos, principalmente el agua. No obstante, es necesario que el sitio de cultivo de microalgas este cerca de lugares como, centrales eléctricas que puedan suministrar una gran cantidad de CO₂ para su crecimiento (Huang, Chen, Wei, Zhang, y Chen, 2010).

De igual forma, está el cultivo heterotrófico, en el cual las microalgas son capaces de crecer utilizando el carbono orgánico como fuente de energía. Varias especies de microalgas se han cultivado de forma exitosa bajo este sistema de cultivo en biorreactores cerrados para la producción de biocompuestos específicos. Entre las fuentes de carbono orgánico más usualmente empleadas, se pueden citar, la glucosa, acetato, glicerol, fructosa, sacarosa, lactosa, galactosa y manosa (Perez-Garcia, Escalante, de-Bashan, y Bashan, 2011).

Por su parte, el cultivo mixotrófico es aquel en el cual las microalgas, crecen usando como fuente de energía tanto compuestos orgánicos como compuestos inorgánicos (CO₂). De este modo, las microalgas pueden vivir bajo condiciones heterotróficas, fototróficas o incluso ambas. En comparación con el cultivo fototrófico y heterotrófico, el cultivo mixotrófico es utilizado en baja proporción para el cultivo de microalgas destinadas a la producción de aceites (Wang, Yang, y Wang, 2014).

Finalmente, se encuentran los cultivos fotoheterotróficos en el cual las microalgas requieren de luz al usar compuestos orgánicos, principalmente azúcares, como fuente de carbono. A diferencia del cultivo mixotrófico, este tipo de cultivo emplea la luz y compuestos orgánicos, al mismo tiempo, como fuente de energía. Al igual que el cultivo mixotrófico, este tipo de cultivo es poco empleado en el cultivo de microalgas para producción de aceites (Chen, Yeh, Aisyah, Lee, y Chang, 2011).

2.1.4. Parámetros de cultivo

Las microalgas son capaces de producir lípidos, proteínas y carbohidratos durante la fotosíntesis, empleando la luz y nutrientes. No obstante, la producción

de estos metabolitos se encuentra también ligada con otros factores tales como: CO₂, pH, temperatura, entre otros. No obstante, los parámetros óptimos y rangos de tolerancia son específicos de cada especie (Gordillo, Goutx, Figueroa, y Niell, 1998).

2.1.4.1. Temperatura

Después de la luz, la temperatura es el factor ambiental más limitante en el cultivo de microalgas. Las microalgas son capaces de crecer bajo un amplio rango de temperaturas desde 15 a 40 °C. Un valor de temperatura intermedio entre 18 y 20 °C es el más empleado para el cultivo de microalgas. Aunque muchas especies, son capaces de soportar temperaturas más bajas que la óptima para su crecimiento, es primordial conocer la temperatura ideal para cada especie de microalga, debido a que puede tener un efecto sobre la tasa de crecimiento y producción de metabolitos, como los lípidos. Temperaturas inferiores a 16 °C ralentizaran el crecimiento, mientras que superiores a 35 °C pueden ser letales para varias especies (Raven y Geider, 1988).

2.1.4.2. Luz

La luz corresponde a la fuente de energía que impulsa las reacciones fotosintéticas en las microalgas. Ajustar los fotoperiodos y la intensidad lumínica es esencial en el cultivo de microalgas. Los rangos dependerán de la profundidad del cultivo y densidad celular, de este modo, a mayor profundidad y densidad celular es necesario que la intensidad lumínica sea alta para penetrar todo el cultivo. Los rangos de intensidad lumínica más empleados son entre 100 a 200 $\mu\text{E s}^{-1} \text{m}^{-2}$, que corresponde alrededor del 5-10 % de la luz diurna (Sorokin y Krauss, 1958).

2.1.4.3. pH

El rango de pH de cultivo para varias especies de microalgas se sitúa entre 7 y 9, no obstante, el rango óptimo se encuentra entre 8.2 a 8.7. Generalmente en

la mayoría de cultivos de microalgas se ha observado que el pH tiende a tornarse básico (9), no obstante, esto se ha logrado corregir con la adición de CO₂ (Goldman, Azov, Riley, y Dennett, 1982).

2.1.4.4. Agitación

La agitación es esencial para evitar la sedimentación del cultivo y asegurar que todas las células se expongan de forma homogénea a la luz y nutrientes. De esta forma, mejorar el intercambio de gas entre el medio de cultivo y aire. Por otro lado, dependiendo de la escala de cultivo, la agitación se puede lograr con agitación manual o mecánica (Barsanti y Gualtieri, 2006).

2.1.4.5. Nutrientes

Los macronutrientes requeridos para el cultivo de microalgas incluyen: N, fósforo (P), azufre (S), potasio (K) y magnesio (Mg). Por otro lado, los micronutrientes requeridos son el: hierro (Fe) y manganeso (Mn). No obstante, también es necesario elementos traza tales como: cobalto (Co), zinc (Zn), boro (B), cobre (Cu) y molibdeno (Mo) (Chisti, 2007).

El N junto al P son elementos esenciales en la formulación de gran parte de medios de cultivo. El N es utilizado durante el crecimiento celular por las microalgas para la síntesis de ácidos nucleicos, aminoácidos y proteínas. El NO₃ es la fuente más utilizada en la formulación de medios de cultivo, no obstante, también se puede emplear amonio (NH₄), amoníaco (NH₃), nitrito (NO₂) y urea. Inclusive, para muchas microalgas suele ser preferencial el NH₃, ya que su forma no debe ser reducida antes de la síntesis de aminoácidos (Juneja et al., 2013).

Por su parte, el P forma parte varias biomoléculas como la glucosa, ATP, ácidos nucleicos, fosfolípidos y algunas coenzimas. El PO₄ inorgánico es la forma mejor asimilada por las microalgas, no obstante, en algunas ocasiones se usa PO₄ para la formulación de medios de cultivo, principalmente para evitar que precipite

cuando los medios de cultivo son sometidos a autoclave (Barsanti y Gualtieri, 2006) .

Entre los medios de cultivo de agua dulce más empleados para el crecimiento microalgal, se pueden citar medio BG-11, medio para diatomeas, medio DY-III, medio Aaranson, medio Bols Basal, entre otros que se detallan en Barsanti y Gualtieri (2006).

2.2. Generalidades de los Lípidos

Los lípidos son compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y O₂ que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, que en algunos casos pueden contener inclusive P y N. Conforman un grupo muy amplio y muchos cumplen una actividad biológica ya sea estructural, como ácidos grasos indispensables, vitaminas, hormonas, pigmentos, entre otros (Gurr y Harwood, 1991).

En función a su estructura química se han clasificado en tres grandes grupos. Primero, los simples que incluyen las grasas y los aceites, segundo los lípidos compuestos que son aquellos que presentan únicamente una porción lipídica, como por ejemplo, los fosfolípidos y los glucolípidos, y finalmente los lípidos derivados o asociados, que abarcan a los ácidos grasos libres, carotenoides, vitaminas liposolubles, colesterol, entre otros (S. Badui, 2006). A continuación, se presenta la Tabla 2, en la cual se detalla la clasificación general de los lípidos.

Tabla 2.

Clasificación de los lípidos

<p>1. Lípidos Simples</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grasas y aceites - Ceras
<p>2. Lípidos Compuestos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fosfoglicéridos - Glucolípidos - Lipoproteínas
<p>3. Lípidos Asociados</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ácidos grasos (derivados de lípidos simples) - Pigmentos - Vitaminas liposolubles - Esteroles - Hidrocarburos

Tomado de (Badui, 2006).

2.2.1. Los Lípidos en las Microalgas

Los lípidos son componentes vitales en las microalgas, útiles para garantizar la supervivencia celular, son esenciales en el crecimiento celular, reproducción, replicación del ADN y división celular, no obstante, también son fundamentales a nivel estructural de la célula. La capacidad que poseen las microalgas para cambiar y adaptar su metabolismo a una gran diversidad de condiciones ambientales, influye considerablemente en la acumulación de lípidos. Factores como luz, temperatura, dióxido de carbono, tasa de aireación, estrés de nutrientes o estrés salino, juegan un papel fundamental en la acumulación de lípidos (Harwood y Guschina, 2009).

Los lípidos que pueden acumular pueden ser de varios tipos, incluyendo neutros, polares, ésteres, esteroides e inclusive lípidos derivados como carotenoides, terpenos, quinonas, entre otros. Los lípidos que acumulan las microalgas se

pueden dividirse en dos grupos: lípidos polares, que constituyen aquellos lípidos que componen la membrana celular y orgánulos, y lípidos no polares o neutros, que son utilizados como reserva de energía (Hu et al., 2008).

Los lípidos neutros, que corresponden a los lípidos de mayor interés para la producción de biocombustibles, en especial biodiesel, se acumulan en las microalgas en forma de TGA. El TGA está constituido por glicerol esterificado con ácidos grasos que puede estar saturado o insaturado. La longitud de la cadena de los ácidos grasos puede variar de 16 a 18 carbonos o inclusive superior a 20 carbonos (Vitova, Bisova, Kawano, y Zachleder, 2015).

Bajo diferentes condiciones de cultivo, las microalgas son capaces de acumular cantidades significativas de lípidos, como se puede observar en la Tabla 3, por ejemplo, *Botryococcus braunii* puede alcanzar hasta un 75 % de lípidos en peso seco. Por otro lado, especies de microalgas como, *Chlorella*, *Cryptocodinium*, *Cylindrotheca*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*, *Porphyridium*, *Schizochytrium*, *Tetraselmis*, acumulan lípidos entre un 20 y 50 %. No obstante, los porcentajes que se presentan en la Tabla 3, pueden incrementar, bajo condiciones de cultivo específicas (Mata et al., 2010).

Tabla 3.

Producción lipídica en especies de microalgas

Especies de microalgas marinas y de agua dulce	% de contenido de lípidos en peso de biomasa seca	Productividad de lípidos (mg. L⁻¹.día⁻¹)
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	24.0-31.0	-
<i>Botryococcus braunii</i>	25.0-75.0	-
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33.6	21.8
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	14.5-16.4/39.8	17.6
<i>Chlorella emersonii</i>	25.0-63.0	10.3-50.0
<i>Chlorella protothecoides</i>	14.6-57.8	1214
<i>Chlorella sorokiana</i>	19.0-22.0	44.7
<i>Chlorella vulgaris</i>	5.0-58.0	11.2-40.0
<i>Chlorella</i> sp.	10.0-48.0	42.1
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2.0	-
<i>Chlorella</i>	18.0-57.0	18.7
<i>Chlorococcum</i> sp.	19.3	53.7
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20.0-51.1	-
<i>Dunaliella salina</i>	6.0-25.0	116.0
<i>Dunaliella primolecta</i>	23.1	-
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	16.7-71.0	-
<i>Dunaliella</i> sp.	17.5-67.0	33.5
<i>Ellipsoidion</i> sp.	27.4	47.3
<i>Euglena gracilis</i>	14.0-20.0	-
<i>Hematococcus pluvialis</i>	25.0	-
<i>Isochrysis galbana</i>	7.0-40.0	-
<i>Isochrysis</i> sp.	7.1-33	37.8
<i>Monodus subterraneus</i>	16.0	30.4
<i>Monallanthus salina</i>	20.0-22.0	-
<i>Nannochloris</i> sp.	20.0-56.0	60.9-76.5
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22.7-29.7	84.0-142.0
<i>Nannochloropsis</i> sp.	12.0-53.0	37.6-90.0
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29.0-65.0	90.0-134.0
<i>Nitzschia</i> sp.	16.0-47.0	-
<i>Oocystis pusilla</i>	10.5	-
<i>Pavlova salina</i>	30.9	49.4
<i>Pavlova lutheri</i>	35.5	40.2
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18.0-57.0	44.8
<i>Porphyridium cruentum</i>	9.0-18.8/60.7	34.8
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11.0-55.0	-
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1.9-18.4	35.1
<i>Scenedesmus</i> sp.	19.6-21.1	40.8-53.9
<i>Skeletonema</i> sp.	13.3-31.8	27.3
<i>Skeletonema costatum</i>	13.5-51.3	17.4
<i>Spirulina platensis</i>	4.0-16.6	-
<i>Spirulina maxima</i>	4.0-9.0	-
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20.6	17.4
<i>Tetraselmis suecica</i>	8.5-23.0	21.0-36.4
<i>Tetraselmis</i> sp.	12.6-14.7	43.4

Tomado de (Mata et al. 2010).

2.2.2. Biosíntesis de Lípidos en Microalgas

Para la biosíntesis de lípidos en microalgas, se conoce que tanto la fuente de carbono (CO_2), como el carbono orgánico (glucosa, acetato, entre otras), pueden ser utilizadas en la producción de lípidos. La síntesis de triglicéridos, lípidos neutros esenciales en la producción de biodiesel, se puede resumir en tres pasos: (a) formación de acetil coenzima A (Acetil-coA) en el citoplasma, (b) elongación y desaturación de la cadena de carbonos de ácidos grasos y (c) la biosíntesis de triglicéridos (Huang et al., 2010).

Independiente de la fuente de carbono utilizada por las microalgas, la formación de acetil coenzima A (Acetil-coA) se sintetiza mediante reacciones fotosintéticas, durante el ciclo de Calvin. De este modo, se exporta al citoplasma para su consumo y posteriormente el flujo de carbono se dirige a la síntesis de azúcares u oxidación a través de la vía glicolítica a piruvato. Para la elongación y desaturación, la Acetil-coA actúa como cebador y necesita la cooperación de malonil-coA, como sustrato para la elongación y biosíntesis final de triglicéridos (Huang et al., 2010).

2.2.3. Influencia de la Salinidad en el Cultivo de Microalgas para el Incremento de Lípidos

El estrés salino puede influir en diversos mecanismos fisiológicos y bioquímicos asociados con el crecimiento y desarrollo de las microalgas. Los lípidos, juegan un papel importante en la regulación de las funciones de la membrana. El incremento de ácidos grasos insaturados y disminución de ácidos grasos poliinsaturados, está implicado en la regulación de la fluidez y disminución de la permeabilidad de la membrana. Las altas concentraciones de sal, disminuyen la turgencia celular y generan toxicidad iónica causada por la absorción excesiva de iones de sodio (Na) y cloro (Cl), desencadenando un desequilibrio celular que en ocasiones resulta en lisis celular (El kahoui, Smaoui, Zarrouk, Ghrir, Limam, 2004).

Las fluctuaciones del contenido de sal en el medio de cultivo tiene un efecto sobre la composición lipídica en las microalgas (Sharma, Schuhmann, y Schenk, 2012). Cuando las células están expuestas a estrés osmótico por la sal, se activan procesos específicos, tales como, la restauración de la turgencia y la regulación de la absorción y exportación de iones a través de la membrana. De igual forma, se activa la acumulación de solutos osmoprotectores y proteínas de estrés, que permiten el crecimiento celular. Al mismo tiempo, las células generan un cambio en la composición lipídica, que actúa como material energético de reserva, hasta que nuevamente se presenten condiciones óptimas para su crecimiento (Talebi, Tabatabaei, Mohtashami, Tohidfar, y Moradi, 2013).

Cuando los organismos fotosintéticos están expuestos al estrés salino, los ácidos grasos de la membrana están desaturados, dando lugar a un incremento en la proporción de ácidos grasos insaturados (Asulabh, Supriya, y Ramachandra, 2012). Se ha observado que la salinidad puede tener un efecto positivo sobre el contenido de lípidos en las microalgas, ejerciendo un cambio significativo en el metabolismo de los ácidos grasos entre una longitud de cadena 16-18 carbonos (Kan et al., 2012).

2.2.3. Aplicaciones de Microalgas

La plasticidad bioquímica que poseen las microalgas para generar una amplia gama de subproductos de interés, ha sido motivo de estudio en las últimas décadas (Wijffels et al., 2013). Las microalgas contienen altas cantidades de lípidos, proteínas y carbohidratos que pueden ser útiles como suplementos alimenticios en nutrición humana y animal, para generar sustancias farmacológicas, en el sector químico y energético donde ha presentado gran interés para la generación de calor, electricidad y obtención de biodiesel, bioetanol, biometano y biohidrógeno (Araujo et al., 2013).

2.2.3.1. Aplicación de los lípidos obtenidos a partir de microalgas

Aunque no todos los lípidos pueden ser materia prima para la producción de biodiesel, las microalgas también pueden producir otros ácidos grasos de alto valor comercial como son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, *por sus siglas en inglés*). Dentro de los PUFA podemos encontrar al omega 3 con sus principales representantes, el ácido eicosapentaenoico (EPA, *por sus siglas en inglés*) y ácido docosahexaenoico (DHA, *por sus siglas en inglés*). No obstante, también podemos encontrar al ácido g-linolénico (GLA, *por sus siglas en inglés*) y ácido araquidónico (AA, *por sus siglas en inglés*) (Vanthoor-Koopmans, Wijffels, Barbosa, y Eppink, 2013).

El DHA es el único de los PUFA, obtenido a partir de microalgas, que se encuentra de forma comercial como suplemento nutricional (Brennan y Owende, 2010). Inclusive el DHA junto al EPA, son útiles en el área de la salud, ya que se ha observado que su consumo puede prevenir enfermedades cardiovasculares y es fundamental para el funcionamiento y desarrollo del sistema nervioso y visual (J. Liu, Vanormelingen, y Vyverman, 2016). Por su parte, el GLA y el AA, también son útiles como suplemento nutricional, mientras que el EPA puede ser útil también en la acuicultura (Brennan y Owende, 2010).

2.2.3.1.1. Biodiesel

Las investigaciones en microalgas en el área energética han incrementado en los últimos años, principalmente en la producción de biocombustibles de tercera generación como el biodiesel. Las microalgas con alto contenido de lípidos tienen mejor rendimiento lipídico que cultivos tradicionales como la palma aceitera. No obstante, los costos de producción de biodiesel sigue siendo un obstáculo importante para su desarrollo comercial a escala industrial (Ahmad et al., 2011).

En contraste con los hidrocarburos obtenidos del petróleo, el biodiesel se degrada cuatro veces más rápido, produce menos emisiones nocivas de compuestos aromáticos u otras sustancias durante su combustión, se puede

usar en motores a base de diésel con poca o ninguna modificación. Además, posee propiedades lubricantes que reducen el desgaste del motor (Song, Fu, y Shi, 2008).

Los lípidos neutros, incluido el TGA, son útiles en la producción de biodiesel y son almacenados por diferentes especies de microalgas, bajo diferentes condiciones de estrés. El TGA puede transformarse en biodiesel, mediante un proceso de transesterificación, donde se forman ésteres metálicos de ácidos grasos (biodiesel) y glicerol. El proceso general de producción de biodiesel se esquematiza a continuación en la Figura 4.

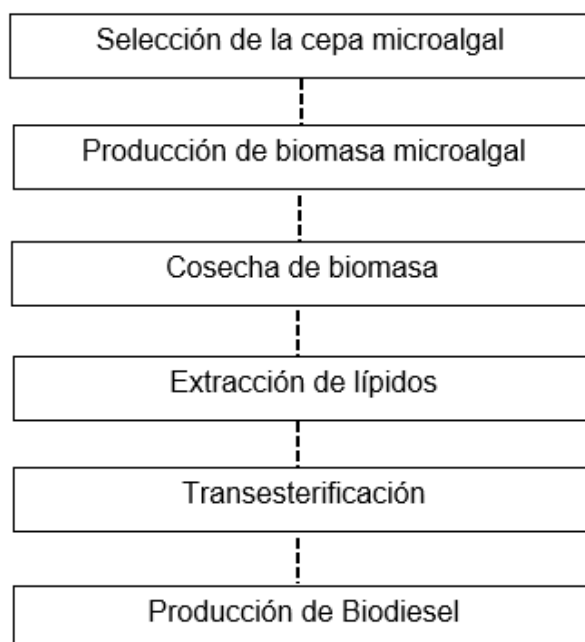


Figura 4. Esquema del proceso general de producción de Biodiesel.

3. DISEÑO DEL PLAN EXPERIMENTAL

Para el presente trabajo experimental se han delimitado cuatro fases de estudio. En la primera fase, se realizó el aislamiento e identificación de diferentes cepas de microalgas. En la segunda fase, se procedió al escalado de las cepas seleccionadas (*Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp.) empleando fotobiorreactores de 8 L. Para la tercera fase, se realizó un análisis de grasas totales de las cepas cultivadas; bajo este criterio se trabajó únicamente

con la cepa que presentó mayor porcentaje de acumulación de lípidos y mayor velocidad de crecimiento. En la fase cuatro, que corresponde al montaje experimental para evaluar el efecto de la salinidad, se aplicaron tres tratamientos (T1, T2 y T3) que corresponden a diferentes niveles de estrés salino: bajo, medio y alto (10 mM, 25 mM y 50 mM de NaCl), respectivamente. En una última fase, una vez concluido el periodo experimental, se procedió a cosechar, filtrar y secar la biomasa acumulada, para un posterior análisis de ácidos grasos de los tratamientos y de los controles. Se realizó además un análisis de perfil lipídico al tratamiento que presente mayor nivel de crecimiento celular y acumulación de lípidos. En la Tabla 4, se detallan el control y los tratamientos aplicados.

Tabla 4.

Tratamientos y controles para evaluar el efecto de la salinidad

	Repeticiones	Cepa	Medio de Cultivo	Concentración de Sal		
Control	R1	<i>Pleurococcus</i> sp.	Fertilizante foliar (Nitrofoska)	No aplica		
	R2					
	R3					
Tratamiento 1 (T1)	R1			10 mM		
	R2					
	R3					
Tratamiento 2 (T2)	R1				25 mM	
	R2					
	R3					
Tratamiento 3 (T3)	R1					50 mM
	R2					
	R3					

En cuanto al diseño experimental, se empleó un diseño completamente al azar (DCA). Este diseño contó con unidades experimentales, en las cuales se manipuló la variable independiente: concentración de NaCl en tres niveles (10 mM, 25 mM y 50 mM). De igual forma, el diseño contó con un grupo control, el cual permitió medir el efecto de la variable independiente sobre las dependientes:

producción de biomasa y acumulación de lípidos. A continuación, se ilustra el diagrama de flujo del diseño del plan experimental, con el cual se desarrolló el presente trabajo:

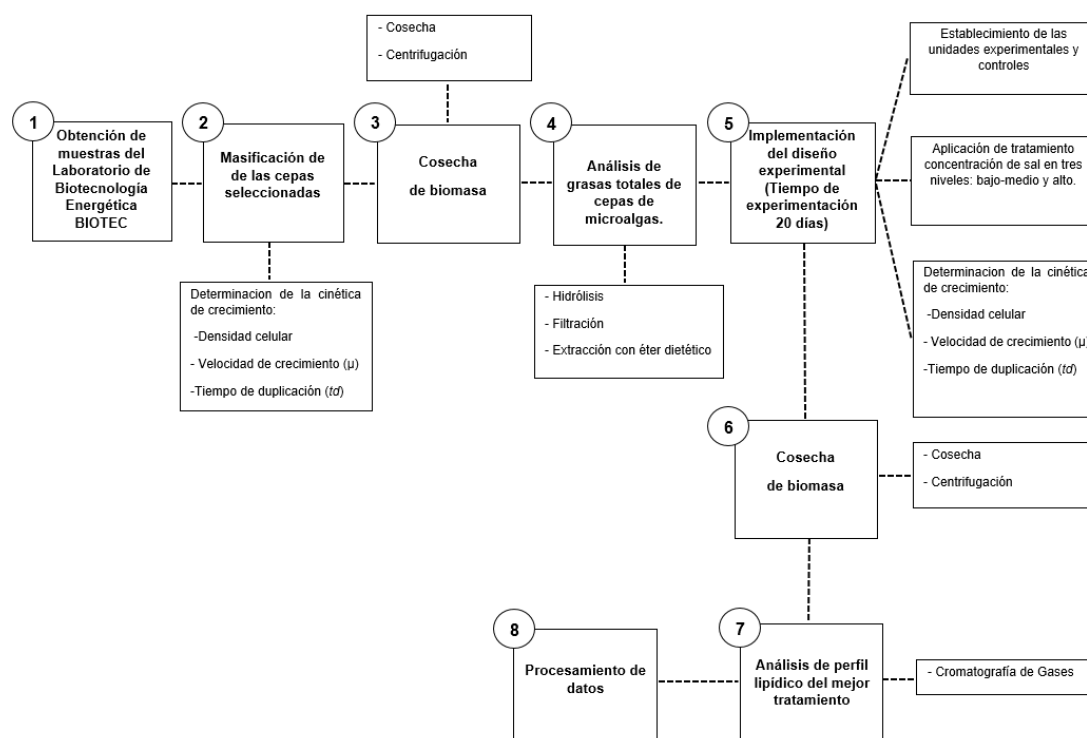


Figura 5. Diagrama del plan experimental

4. PROCEDIMIENTOS

4.1. Población y muestra

Las cepas de microalgas a emplear en el presente trabajo experimental forman parte de la Colección de Microalgas para Investigación del Ecuador (CMIE) del Laboratorio de Biotecnología Energética (BIOTEC), perteneciente a la Corporación para la Investigación Energética (CIE).

Las cepas provienen de diferentes Áreas Protegidas de los Andes y la Amazonía del Ecuador y cuentan con el Permiso de Investigación No. 002-14 IC-MC-DNB/MA y colectadas bajo el contrato Marco de Acceso a los Recursos

Genéticos MAE-DNB-CM-2015-0011, otorgados por el Ministerio del Ambiente del Ecuador, MAE.

En base a las características morfológicas, se han seleccionado distintas cepas *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp.

Tabla 5.

Código, género y origen de las cepas de microalgas que se emplean en el estudio.

Código de cepa	Género	Origen
CMIE-L5-005	<i>Desmodesmus</i> sp.	Loja-Chinchilla
CMIE-I6-001	<i>Pleurococcus</i> sp.	Parque Nacional Llanganates
CMIE-D2-002	<i>Scenedesmus</i> sp.	Reserva Ecológica Cayambe-Coca

4.2. Materiales y métodos para la obtención de datos

4.2.1. Activación, aislamiento e identificación de microalgas

Las cepas *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., se encontraban preservadas a -4 °C, por lo que tuvieron que ser previamente activadas y recuperadas (Guamán y González, 2016). Para esto, se procedió a su aislamiento, empleando la técnica por agotamiento de estrías. Las cepas fueron cultivadas en cajas Petri con medio de cultivo sólido BG-11, cuya composición se detalla en el Anexo 1. Las cajas Petri inoculadas, se mantuvieron a temperatura ambiente de 22 ± 2 °C y periodos de iluminación de 16 h luz y 8 h de oscuridad. La intensidad de iluminación fue determinada por un luxómetro digital HoldPeak HP-881A, obteniendo un promedio de 1396.3 lux.

Posteriormente, cuando se evidenciaron colonias separadas, se procedió a la identificación morfológica de las cepas de microalgas aisladas mediante mediciones celulares, capturadas en un microscopio óptico simple SOGERESA.

4.2.2. Masificación de las cepas seleccionadas

Cada una de las cepas de microalgas *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., fueron cultivadas gradualmente, con un volumen inicial de 250 mL, 500 mL, 1000 mL, hasta llegar finalmente a un volumen de 8 L. El medio nutricional empleado correspondió a 1 mL.L⁻¹ de fertilizante foliar (Nitrofoska), para cultivos cuyo volumen sobrepase 1 L. La composición de dicho medio nutricional se especifica en el Anexo 2. No obstante, para los cultivos que estén por debajo de este volumen se empleó medio líquido BG-11. El inóculo inicial para el cultivo de cada género de microalga fue de 1x10⁶ cel.mL⁻¹ y el volumen de inóculo inicial, se determinó mediante la siguiente ecuación:

Cálculo del volumen inicial del ensayo

$$V_2 = \frac{V_1 \times DC_{inicial}}{DC_{inóculo}} \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

V₁ = volumen total de ensayo

V₂ = volumen final del cultivo

DC_{inicial} = 1x10⁶ cel. mL⁻¹

DC_{inóculo} = densidad celular establecida mediante conteo en cámara de Neubauer

Los medios de cultivo de *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., se mantuvieron a temperatura ambiente de 22 ± 2 °C e iluminación de 16 h luz (intensidad de 1396.3 lux con el uso de lámparas fluorescentes) y 8 h de oscuridad. Además, se aplicó aireación constante utilizando bombas para pecera JAD con presión constante de 0.012 MPa.

4.2.3. Curva de crecimiento y determinación parámetros cinéticos del crecimiento celular.

Para cada cepa seleccionada, *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., se elaboró una curva cinética de crecimiento, mediante conteo celular en cámara de Neubauer por triplicado. Las muestras fueron tomadas cada 48 h y a partir de esta, se preparó una concentración apta para el recuento celular. En el caso de aquellas muestras muy concentradas, se procedió a realizar diluciones de 1:10. El tiempo de cultivo de cada género de microalga fue de 30 días o hasta que alcanzaran la fase de muerte o decaimiento celular.

En cuanto a los parámetros cinéticos de crecimiento celular, se emplearon las siguientes ecuaciones para calcular la velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (t_d) y densidad celular (Morales, et al ,2013; Lobban, Chapman, Klemer, 1998). Las ecuaciones se detallan a continuación:

Densidad celular del inóculo (DC) (cel. ml⁻¹)

$$DC = N \times 10^4 \times FD \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

N = promedio de células presentes en 1mm² (0.1 μ L)

FD = factor de dilución

10⁴ = factor de conversión de 0.1 μ L a 1 mL

Velocidad de crecimiento (μ)

$$\mu = \frac{\ln x_1 - \ln x_0}{t_1 - t_0} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Donde:

X₁ = densidad celular final

X₀ = densidad celular inicial

t₁ = tiempo final

t_0 = tiempo inicial

Tiempo de duplicación (t_d)

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Donde:

μ = velocidad de crecimiento

4.2.4. Cosecha de biomasa

Una vez que los cultivos culminaron la fase exponencial y alcanzaron la fase estacionaria, se procedió a concentrar la biomasa de las cepas de microalgas *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., mediante centrifugación a 2500 rpm por 10 min, empleando una centrifuga BOECO C-28A. Posteriormente, se almacenó la muestra húmeda para análisis de grasas totales y perfil lipídico.

4.2.5. Análisis de grasas totales

El análisis de grasas totales de *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., fue realizado en el laboratorio de química de alimentos de la Universidad Central del Ecuador. Para esto, se empleó un sistema de extracción E-AL-12, proceso que se basa en el uso de solventes orgánicos. La biomasa húmeda de cada cepa de microalga fue homogenizada y se realizó hidrólisis mediante calentamiento térmico en estufa por 30 min. Posteriormente la muestra fue filtrada, lavada con agua destilada y se secó la en la estufa por 15 min.

Preparada la muestra, esta fue ingresada al extractor E-AL-12. Para esto, se colocó la muestra en capuchones de celulosa y se añadió alrededor de 50 mL de éter dietílico. El tiempo de duración del proceso fue de 25 min, y posteriormente se evaporó el solvente restante en la estufa a baja temperatura ("Protocolo para extracción de grasas totales," s.f.).

Para expresar el porcentaje de grasas totales de cada muestra, se empleó la siguiente ecuación:

$$\% \textit{grasa} = \frac{(B-C) \times 100}{A} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Donde:

A = peso en gramos de la muestra

B = peso en gramos del vaso de extracción después del secado

C = peso en gramos del vaso de extracción antes de la extracción

4.2.6. Implementación del experimento para evaluar el efecto de la salinidad.

4.2.6.1. Establecimiento del sistema de cultivo

En base al análisis de grasas totales efectuado y al análisis de parámetros cinéticos tales como, velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular (DC), se seleccionó la cepa *Pleurococcus* sp., para la implementación del diseño experimental.

Se establecieron 12 unidades experimentales, para lo cual se empleó envases de plástico como fotobiorreactores de 8 L. Para esto, el inóculo inicial para cada unidad experimental, incluyendo el control y tratamientos (T1, T2 y T3), fue de 1×10^6 cel. mL⁻¹, para lo cual se empleó la Ecuación 1.

El medio nutricional empleado correspondió al fertilizante foliar (Nitrofoska) 1 mL. L⁻¹, el cual fue adicionado cada 7 días empezando desde el día uno de ensayo. Por otro lado, el NaCl fue adicionado al inicio, medio y final de la fase exponencial de crecimiento celular de *Pleurococcus* sp., en cinco fracciones (día 6, 8, 10, 12 y 14), a razón de 0.96 g. L⁻¹ en el T1, 2.4 g. L⁻¹ en el T2 y 4.8 g. L⁻¹ en el T3, hasta alcanzar las concentraciones de cada tratamiento.

Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente de 22 ± 2 °C. Se ajustaron periodos de iluminación de 16 h luz (intensidad de 1396.3 lux con el uso de lámparas fluorescentes) y 8 h de oscuridad. La aireación fue constante y se empleó bombas de aireación para pecera JAD con presión de 0.012 MPa. También se utilizaron, piedras aspersoras, para disminuir la sedimentación y mantener la agitación del medio constante. El pH fue medido cada 3 días mediante tiras de pH.

4.2.6.2. Curva de crecimiento y determinación de parámetros cinéticos

4.2.6.2.1. Elaboración de la curva de calibrado

Para la elaboración de la curva patrón, se procedió a preparar 12 muestras, realizando diluciones seriadas 1:10. Cada muestra fue homogenizada y se midió la absorbancia a 600 nm (Lorenzen, 1967). Para aquellas, muestras cuya absorbancia fue superior a 1, se procedió a realizar una dilución 1:1. El control utilizado correspondió al medio de cultivo esterilizado, el cual fue empleado para el crecimiento celular de *Pleurococcus* sp, en este caso Nitrofoska.

Para correlacionar los datos obtenidos de absorbancia versus concentración celular ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), se procedió a realizar una curva de peso seco, para lo cual el volumen restante de cada muestra, se colocó en un capuchón de aluminio. Se dejó secar las muestras en la estufa por 48 h y posteriormente, se calculó el peso seco de cada muestra.

4.2.6.2.2. Elaboración de la curva de crecimiento celular de *Pleurococcus* sp., y determinación de parámetros cinéticos

La cinética de crecimiento de *Pleurococcus* sp., fue determinada mediante análisis espectrofotométricos. Para esto, se tomaron alícuotas de 2 mL de cada control y tratamiento cada 48 h, y se midió 1 mL en la celda espectrofotométrica a 600 nm (Z.-Y. Liu, Wang, y Zhou, 2008). Concluidos los 20 días de experimentación, se procedió a cosechar la biomasa del control y tratamientos,

mediante centrifugación a 2500 rpm por 10 min, en una centrifuga BOECO C-28^a. Por último, se realizó análisis de grasas totales de la biomasa del control y tratamientos y se calcularon los parámetros cinéticos: densidad celular (DC), velocidad de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (td), utilizando la Ecuación 2, 3 y 4, respectivamente.

4.2.7. Análisis del perfil lipídico

El análisis del perfil lipídico, fue realizado en el laboratorio de química de alimentos de la Universidad Central del Ecuador. Para esto, se procedió a realizar una extracción de grasas totales y posteriormente se añadió 5 mL de la solución NaOH-metanol. Se calentó la muestra en el equipo de destilación de 5 a 10 min hasta que los glóbulos de grasa se disolvieron. Consecutivamente se adicionó 5 mL de hexano y aproximadamente 15 mL de solución de NaCl saturada. Se agitó y se introdujo 1 mL del sobrenadante en el equipo de cromatografía de gases ("Protocolo para análisis de perfil lipídico," s.f.).

4.3. Evaluación estadística de los resultados

El análisis estadístico se realizó con la ayuda del software estadístico SPSS Statistics, mediante un análisis de varianza (ANOVA) entre todos los tratamientos y el control, con un nivel de significancia (α) de 0.05. Además, se efectuó un análisis de comparaciones múltiples, prueba de Dunnett, para el caso de las mediciones celulares área, radio y perímetro.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Resultados

5.1.1. Selección de la cepa de microalgas, *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., para evaluación del efecto de la salinidad.

5.1.1.1. Curvas de crecimiento y determinación de parámetros cinéticos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (t_d) y densidad celular (DC) de *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp.

Después de 30 días de conteo celular en cámara de Neubauer, se obtuvieron las siguientes gráficas de crecimiento celular de las cepas de microalgas *Pleurococcus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Scenedesmus* sp., tal como se observa en las Figuras 6, 7 y 8, respectivamente.

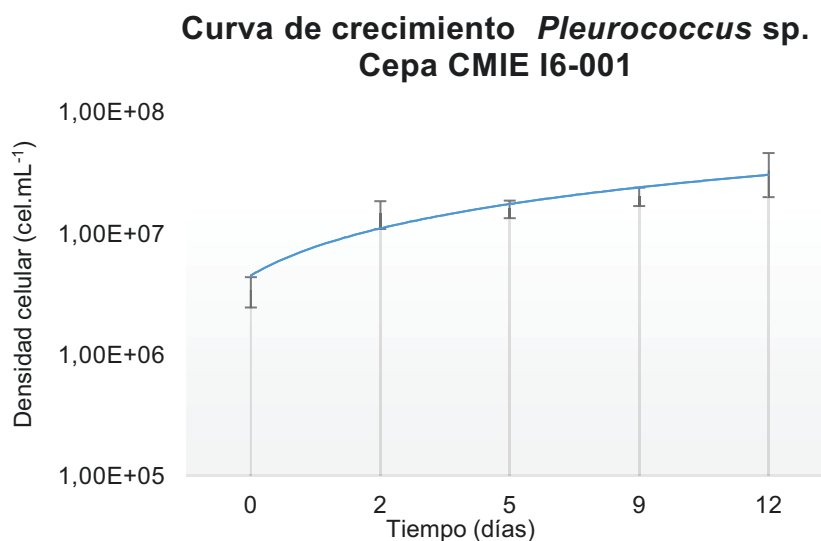


Figura 6. Curva de crecimiento celular de *Pleurococcus* sp.

**Curva de crecimiento *Desmodesmus* sp.
Cepa CMIE L5-005**

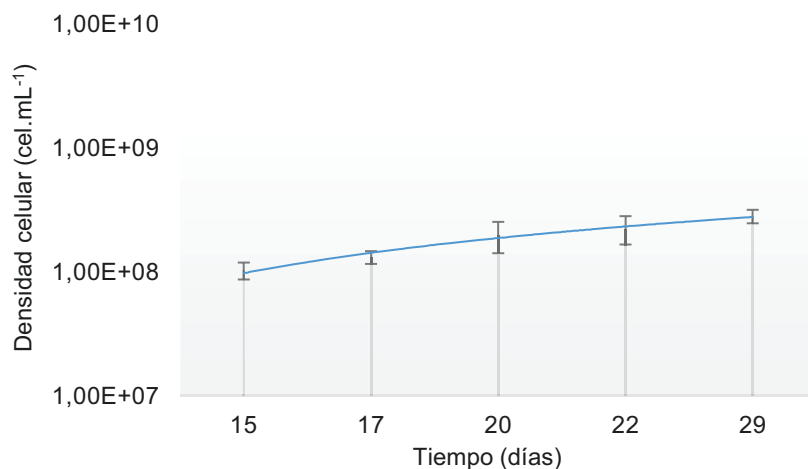


Figura 7. Curva de crecimiento celular de *Desmodesmus* sp.

**Curva de crecimiento celular *Scenedesmus* sp.
Cepa CMIE I6-001**

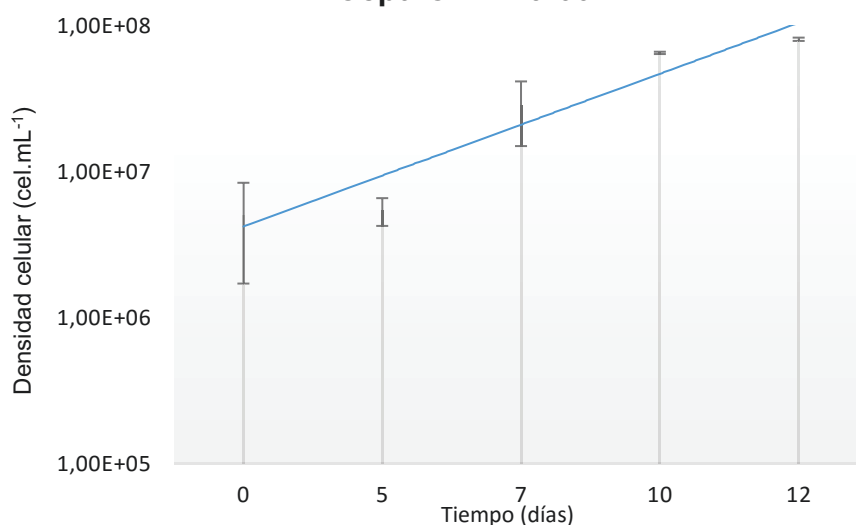


Figura 8. Curva de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp.

Como se observa en las figuras, *Pleurococcus* sp., presentó una tendencia de crecimiento, expresada por la medición de la densidad celular que se aproxima a la obtenida en *Scenedesmus* sp. Se aprecia que ambas especies presentaron una tendencia de crecimiento exponencial, sin embargo, dicho comportamiento es más evidente en *Scenedesmus* sp. En todas las especies evaluadas, se observa un crecimiento leve durante los primeros días de experimentación, no

obstante, este parámetro incrementa al aproximarse al final de la fase exponencial del crecimiento celular, en el día 12 para *Pleurococcus* sp., en el día 29 para *Desmodesmus* sp., y en el día 12 para *Scenedesmus* sp.

Por otro lado, al analizar los parámetros cinéticos involucrados en la cinética de crecimiento celular, se obtuvo que *Desmodesmus* sp., presentó la menor velocidad de crecimiento (0.1 días^{-1}), en comparación con *Pleurococcus* sp., y *Scenedesmus* sp. En cuanto a la DC, *Desmodesmus* sp., presentó mayor densidad celular ($1.18 \text{ E}+08 \text{ cel.ml}^{-1}$), mientras que en *Pleurococcus* sp., se registró la menor densidad ($1.17\text{E}+07 \text{ cel.ml}^{-1}$) como se aprecia en la Tabla 6.

Tabla 6.

Promedio de los parámetros cinéticos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular (DC), de Scenedesmus sp., Desmodesmus sp., y Pleurococcus sp.

Cepa	μ (días^{-1})	td (días)	DC (cel.mL^{-1})
<i>Scenedesmus</i> sp.	0.31	2.2	4.61E+07
<i>Desmodesmus</i> sp.	0.1	6.9	1.18E+08
<i>Pleurococcus</i> sp.	0.24	2.9	1.17E+07

5.1.1.2. Biomasa y porcentaje de grasas totales de *Pleurococcus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Scenedesmus* sp.

En cuanto a la producción de biomasa, *Desmodesmus* sp., alcanzó el mayor registro con un valor de 0.97 g. L^{-1} , mientras que el menor valor se obtuvo en el género *Scenedesmus* sp. (0.55 g. L^{-1}). Por otro lado, al evaluar el porcentaje de grasas totales, *Pleurococcus* sp., fue la cepa con mayor porcentaje de acumulación (2.63 %), seguida por *Scenedesmus* sp. (2.18 %) y *Desmodesmus* sp. (1.18 %). Estos resultados se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7.

Tabla de datos del promedio de la biomasa expresada en ($g \cdot L^{-1}$), ($g \cdot L^{-1} \cdot día^{-1}$) y grasas totales expresada en porcentaje (%) de *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp.

Cepa	Biomasa ($g \cdot L^{-1}$)	Biomasa ($g \cdot L^{-1} \cdot día^{-1}$)	% Grasas Totales
<i>Scenedesmus</i> sp.	0.55	0.018	2.18
<i>Desmodesmus</i> sp.	0.97	0.032	1.19
<i>Pleurococcus</i> sp.	0.62	0.021	2.63

5.1.2. Evaluación del efecto de la salinidad en *Pleurococcus* sp.

Al no observarse diferencias marcadas en los parámetros cinéticos μ , td y DC , que permitan la elección de una cepa de microalga frente a otra, el porcentaje de acumulación de grasa totales, fue el parámetro clave para la selección de *Pleurococcus* sp., para la evaluación del efecto de la salinidad. Como se observó en la Tabla 7 *Pleurococcus* sp., presentó el mayor porcentaje de acumulación de grasas totales con un 2.63%.

5.1.2.1. Curvas de crecimiento y determinación de parámetros cinéticos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular (DC), de controles y tratamientos de *Pleurococcus* sp.

Concluidos los 20 días de la fase experimental se elaboraron curvas de crecimiento para el control y T1, T2 y T3, tal como se observa en las Figuras 9, 10 y 12, respectivamente. Para todos los casos se observa una tendencia de crecimiento exponencial, donde el crecimiento es mínimo en los días iniciales de la experimentación e incrementa al llegar al término de la fase exponencial del crecimiento celular.

Curva de Crecimiento Control

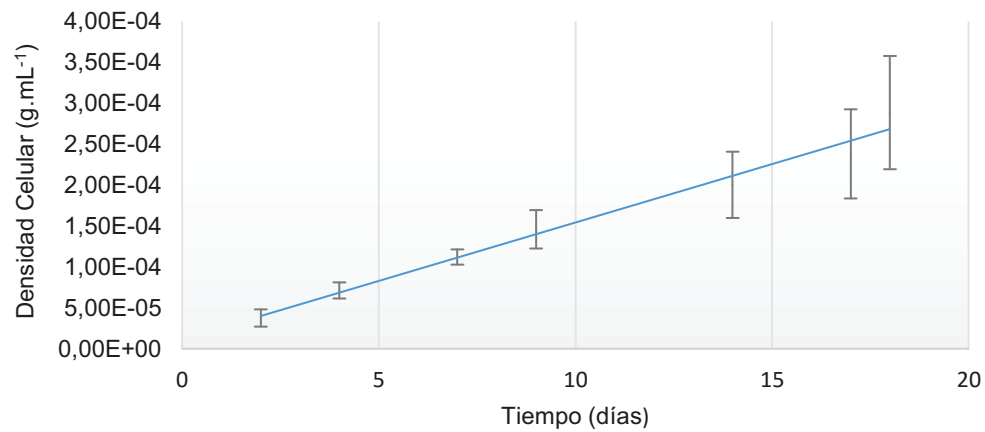


Figura 9. Curva de crecimiento celular del control de *Pleurococcus* sp.

Curva de Crecimiento T1

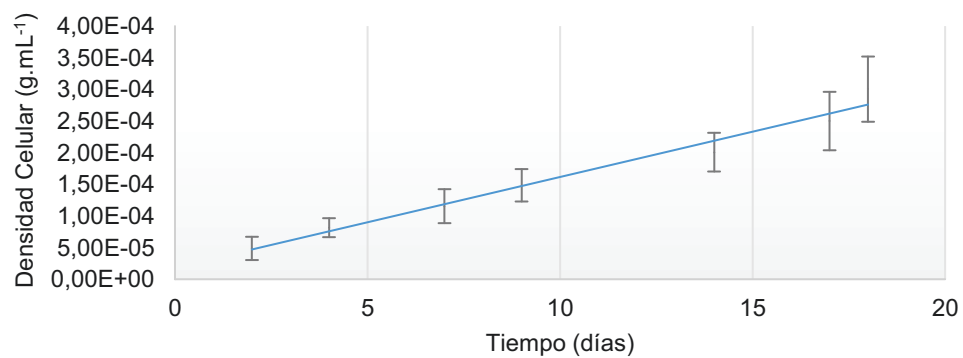


Figura 10. Curva de crecimiento celular del tratamiento T1.

Curva de Crecimiento T2

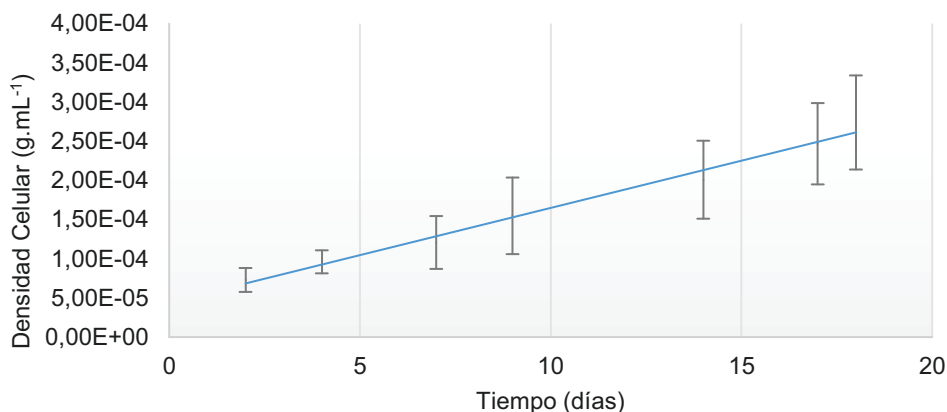


Figura 11. Curva de crecimiento celular del tratamiento T2.

Curva de Crecimiento T3

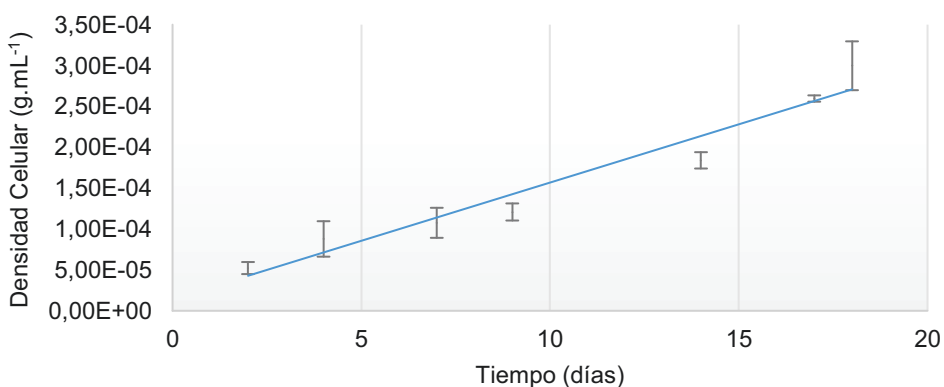


Figura 12. Curva de crecimiento celular del tratamiento T3.

Por otro lado, al analizar μ , se observó que el control presentó el mayor registro con 0.15 días^{-1} . De igual forma al analizar el t_d , nuevamente el control presentó el menor tiempo con 6.43 días. Sin embargo, al contrastar al control con los tratamientos, se observó que el T1, fue el tratamiento con menor t_d (6.49 días), mientras que el mayor registro se produce en el T2 (8.29 días). En el caso de la DC, el T2, presentó el mayor registro con $1.67\text{E-}04 \text{ g. mL}^{-1}$, seguido por el T1 con $1.64\text{E-}04 \text{ g.mL}^{-1}$ (Tabla 8).

Tabla 8.

*Promedio de los valores obtenidos para los parámetros cinéticos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular (DC), de controles y tratamientos de *Pleurococcus* sp.*

Tratamientos	μ (días⁻¹)	td (días)	DC (g.mL⁻¹)
Control	0.15	6.43	1.56E-04
T1	0.14	6.49	1.64E-04
T2	0.10	8.29	1.67E-04
T3	0.12	7.33	1.59E-04

Por otro lado, en el ANOVA (Tabla 9) se obtuvo valores P en todos los casos mayores al α prefijado y además por el análisis de los gráficos de barras de error, se concluye que no existen diferencias significativas entre el control y los distintos tratamientos en los parámetros cinéticos μ , td y DC (Figuras, 13, 14 y 15, respectivamente).

Tabla 9.

Comparaciones Múltiples, análisis estadístico ANOVA de los parámetros cinéticos velocidad de crecimiento (μ), tiempo de duplicación (td) y densidad celular.

ANOVA	
Variable	Valor P
μ	0.567
td	0.778
DC	0.997

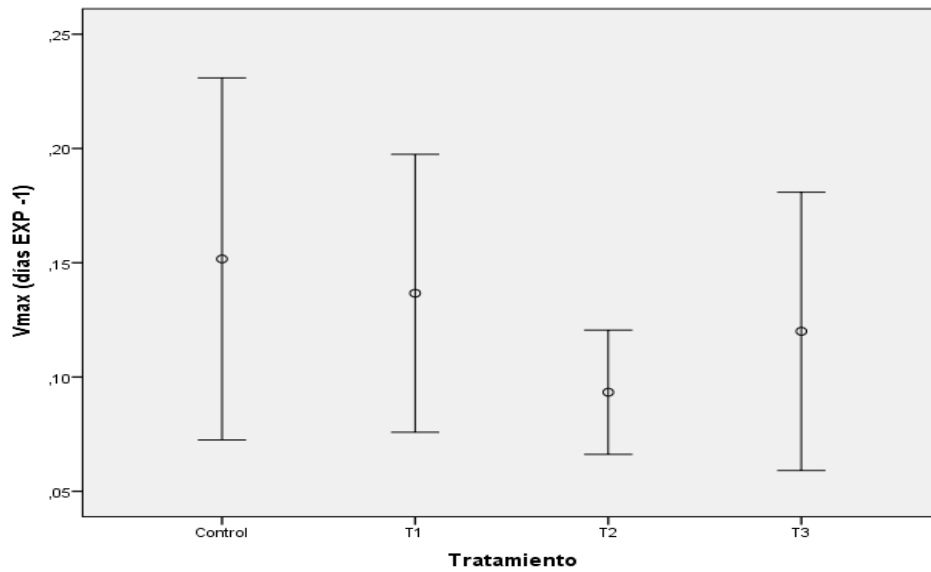


Figura 13. Gráfico de barras de error de la velocidad de crecimiento (μ), del control y tratamientos T1, T2 y T3.

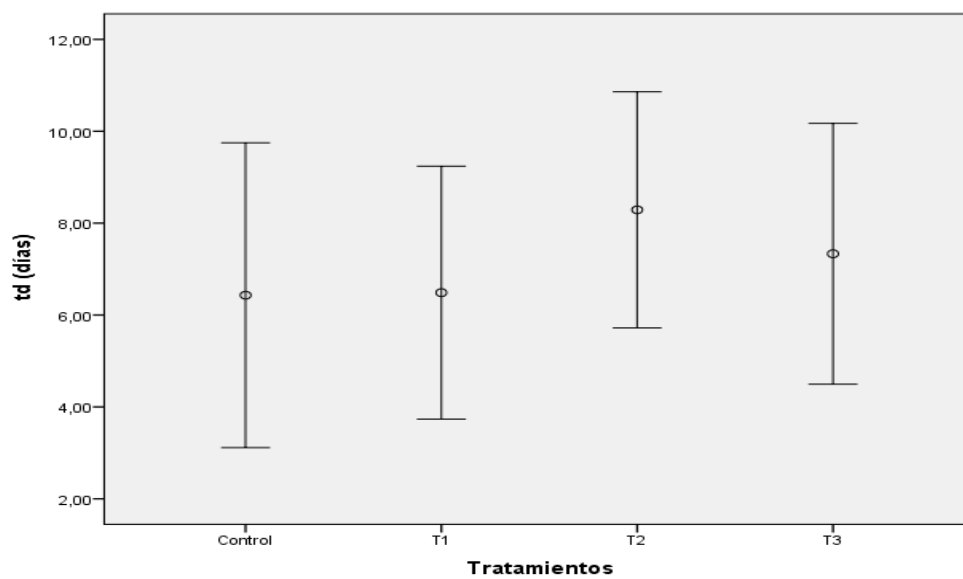


Figura 14. Gráfico de barras de error del tiempo de duplicación (t_d) del control y los distintos tratamientos.

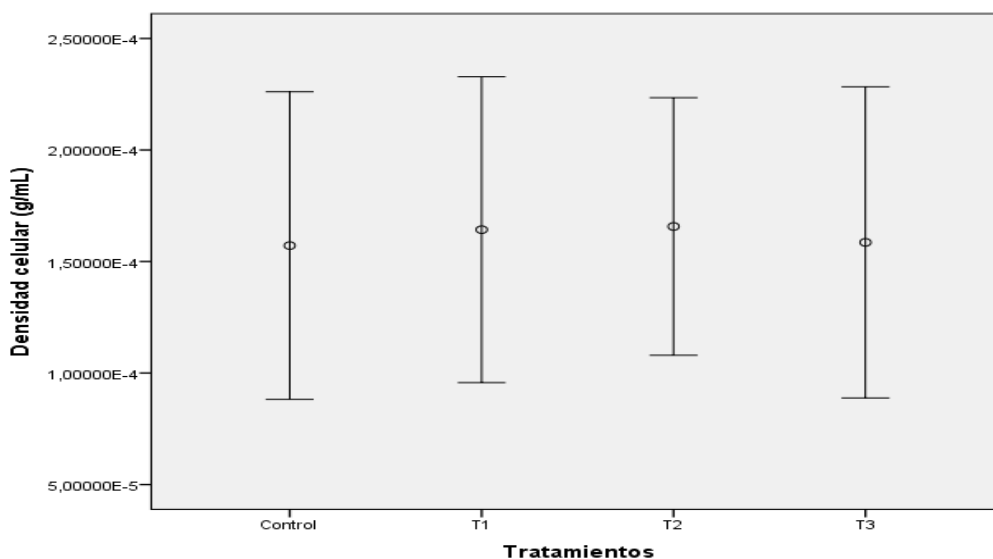


Figura 15. Gráfico de barras de error de la densidad celular (DC) del control y los distintos tratamientos.

5.1.2.2. Biomasa y porcentaje de grasas totales de *Pleurococcus* sp., bajo el efecto de la salinidad.

Al analizar la producción de biomasa se observó que la variación entre el control y T1, T2 y T3 fue mínima. El mayor registro fue del T3 con 0.31 g. L^{-1} , mientras que el menor valor se registró en el control (0.25 g. L^{-1}). De igual forma, el porcentaje de grasas totales tuvo poca variación entre el control y los distintos tratamientos. El T1 presentó el mayor porcentaje (2.41 %), en comparación con el T3 donde se registró el menor valor (2.17 %) (Tabla 10).

Tabla 10.

Promedio de los valores obtenidos para la biomasa y grasas totales del control y tratamientos T1, T2 y T3, expresados en (g. L⁻¹), (g. L⁻¹. día⁻¹) y (%), bajo las distintas concentraciones de NaCl.

Tratamientos	[] NaCl	Biomasa (g.L ⁻¹)	Productividad de biomasa (g.L ⁻¹ .día ⁻¹)	% Grasas Totales
Control	0	0.25	0.10	2.40
T1	10	0.28	0.11	2.41
T2	25	0.30	0.12	2.31
T3	50	0.31	0.12	2.17

Por otro lado, al contrastar el efecto de los diferentes niveles de NaCl evaluados, se observó que la producción de biomasa incrementa conforme aumenta la concentración de NaCl en el medio de cultivo (Figura 16). Con respecto al porcentaje de acumulación de grasas totales, se evidenció que se reduce a medida que aumenta la concentración de NaCl, donde en el T1 (10mM NaCl) posee la mayor concentración de grasas totales (2.41 %) y el T3 (50mM NaCl) dio lugar al menor contenido (2.17%), como se observa en la Figura 17.

Biomasa vs Concentración de NaCl

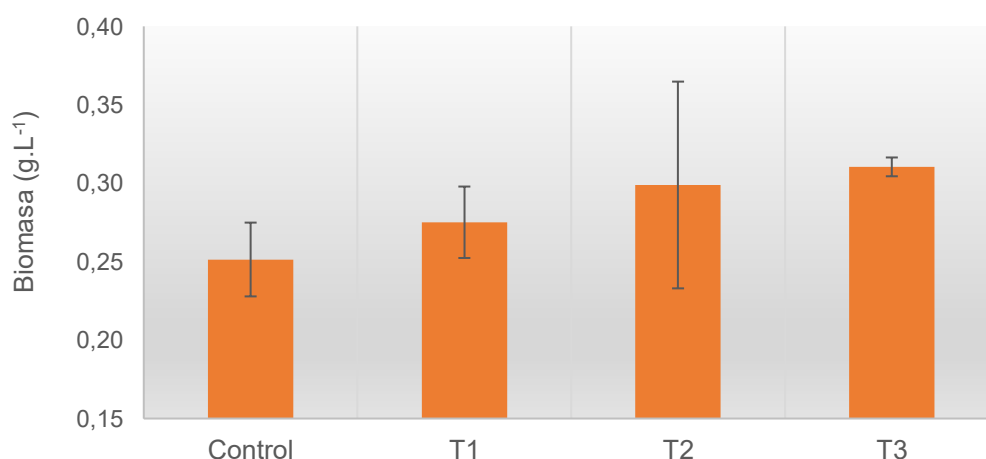


Figura 16. Barras de concentración de NaCl versus producción de biomasa del control y tratamientos T1, T2 y T3.

Grasas Totales vs Concentración de NaCl

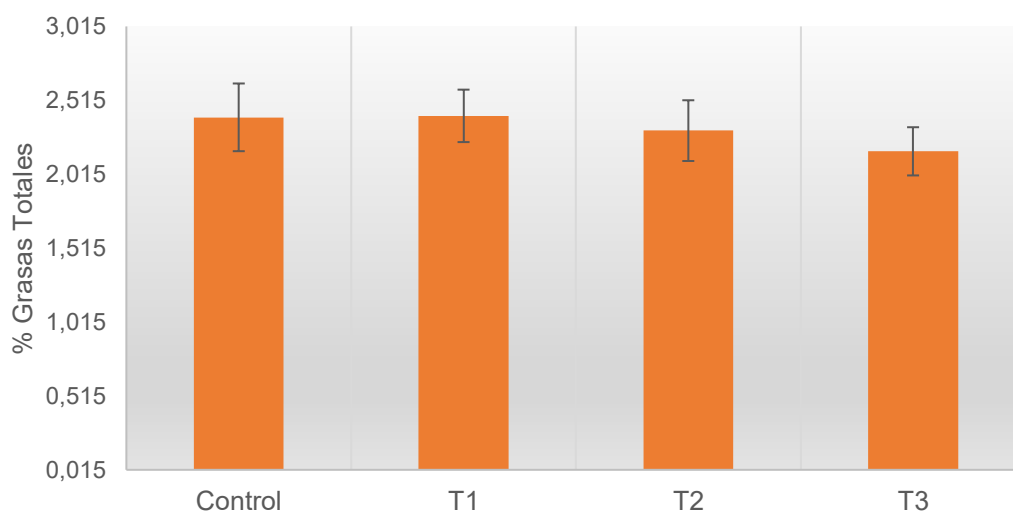


Figura 17. Barras de concentración de NaCl versus % grasas totales del control y tratamientos T1, T2 y T3.

Además, al contrastar conjuntamente la producción de biomasa y el porcentaje de grasas totales, del control y los distintos tratamientos, se pudo observar que la acumulación de grasas totales es independiente de la producción de biomasa. Como se observa en la Figura 18, a pesar de que el T3 presente mejor producción de biomasa con (0.31 g. L^{-1}), fue el tratamiento con el menor porcentaje de grasas totales (2.17 %).

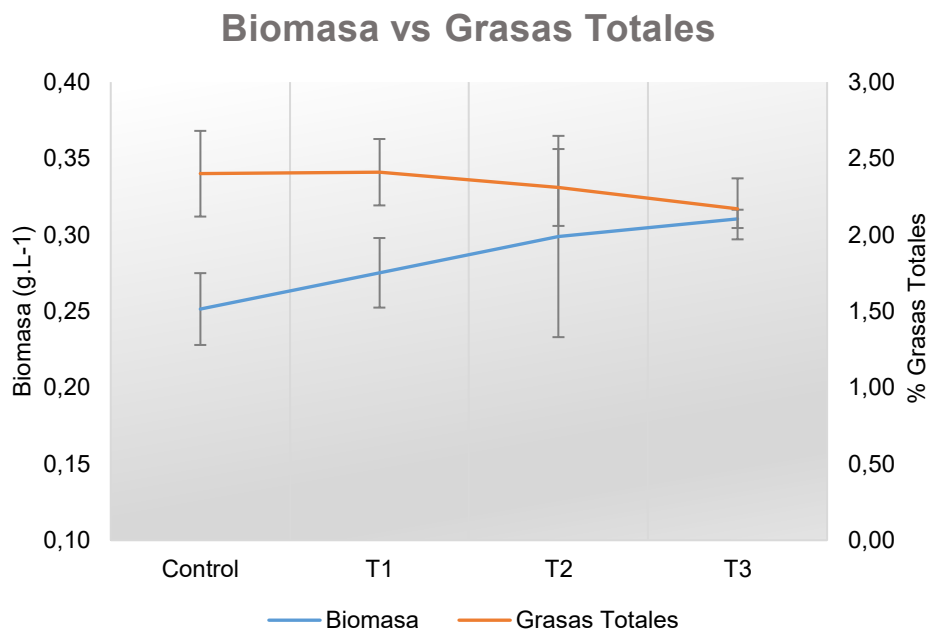


Figura 18. Gráfico de doble eje biomasa versus porcentaje de grasas totales del control y tratamientos T1, T2 y T3.

Finalmente, al evaluar los parámetros: producción de biomasa y acumulación de grasas totales, mediante un ANOVA (Tabla 11) se observó valores P en ambos casos son mayores al valor de α prefijado, por lo que no existen diferencias significativas entre el control y los distintos tratamientos en los parámetros antes mencionados. El resultado obtenido está corroborado por las gráficas de barras de error (Figura 19 y 20).

Tabla 11.

Comparaciones Múltiples, análisis estadístico ANOVA de los parámetros producción de biomasa y acumulación de grasas totales.

ANOVA	
Variables	Valor P
Producción de Biomasa (g.L⁻¹)	0.280
% Lípidos	0.600

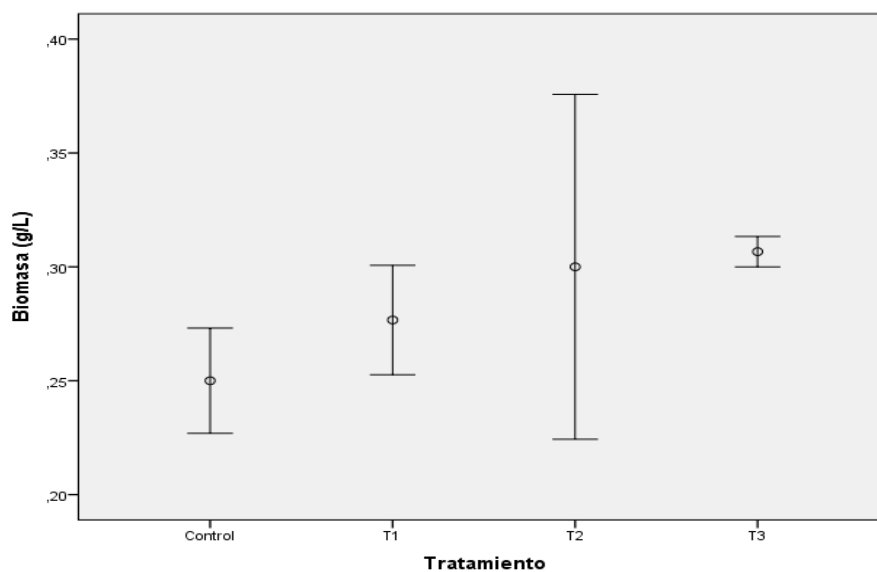


Figura 19. Gráfico de barras de error de producción de biomasa, expresada en (g.L⁻¹) del control y distintos tratamientos.

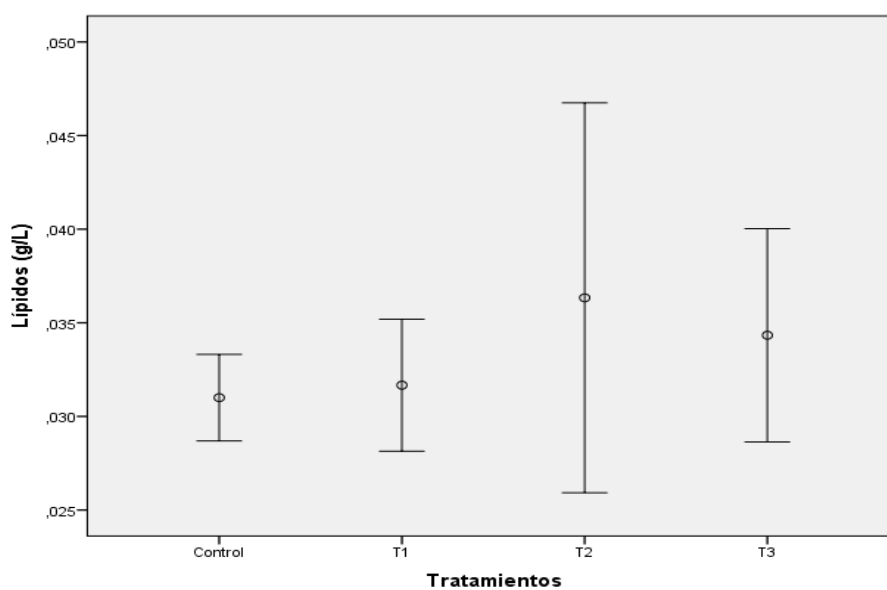


Figura 20. Gráfico de barras de error de porcentaje de grasas totales del control y distintos tratamientos.

5.1.2.3. Evaluación del pH

Durante los 20 días de experimentación, el pH inicial que se contempla del día 1 al día 6, se mantuvo en 7.5 para el control, T1, T2 y T3, como se observa en la Figura 21. Posteriormente, al tiempo intermedio de la experimentación, que se

contempla del día 7 al día 14, el pH se mantuvo en 7.4 para el control y en 7 para el T1, T2 y T3. Al término de la experimentación, que se contempla del día 14 al día 20, al alcanzar la concentración final de NaCl el pH aumento a 8 para el control y los diferentes tratamientos (Figura 21).

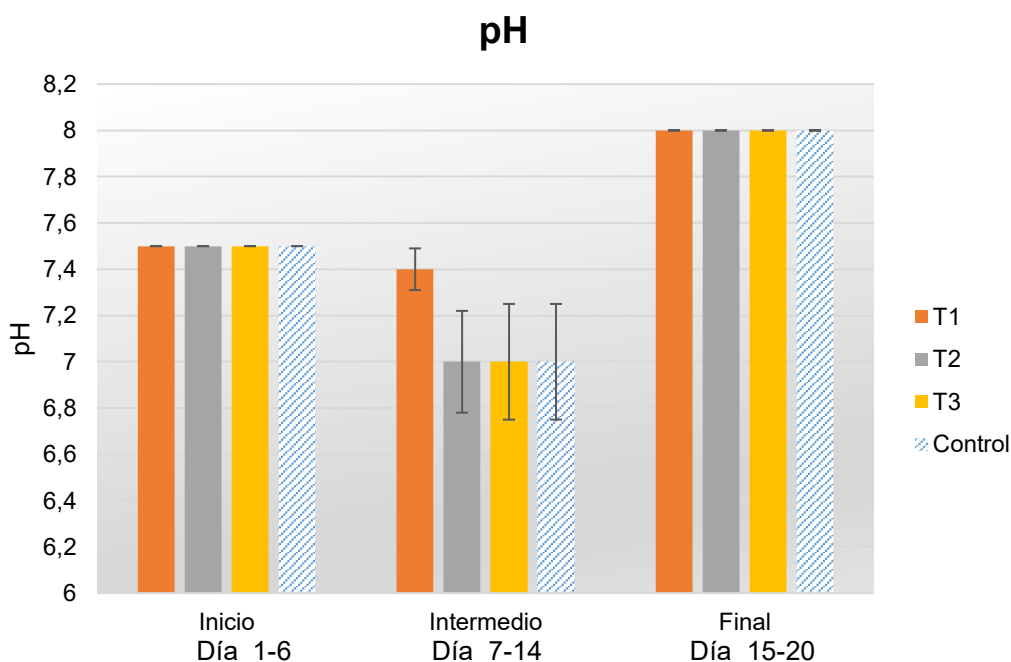


Figura 21. Rangos de pH del control y de los distintos tratamientos.

5.1.2.4. Mediciones celulares, área, radio y perímetro, del control y tratamientos de *Pleurococcus* sp.

Con el propósito de observar si existían cambios en la morfología de las células tratadas con NaCl, se realizaron como variables mediciones celulares del radio, área y perímetro del control y los tratamientos (Tabla 12). El T1 presentó el mayor radio (5.9 μm), área (110.8 $\text{Sq}\mu\text{m}$) y perímetro (36.9 μm) frente al control y los demás tratamientos como se aprecia en la Figura 22. Se observó además que en el T2 y T3, las células presentaron plasmólisis (Figura 23).

Tabla 12.

Valores promedio de variables: radio, área y perímetro celular del control y los distintos tratamientos.

Medición	Radio (μm)	Área ($\text{Sq}\mu\text{m}$)	Perímetro (μm)
Control	5.4	96.8	34.2
T1	5.9	110.8	36.9
T2	4.8	75.2	30.1
T3	5.0	78.8	31.2

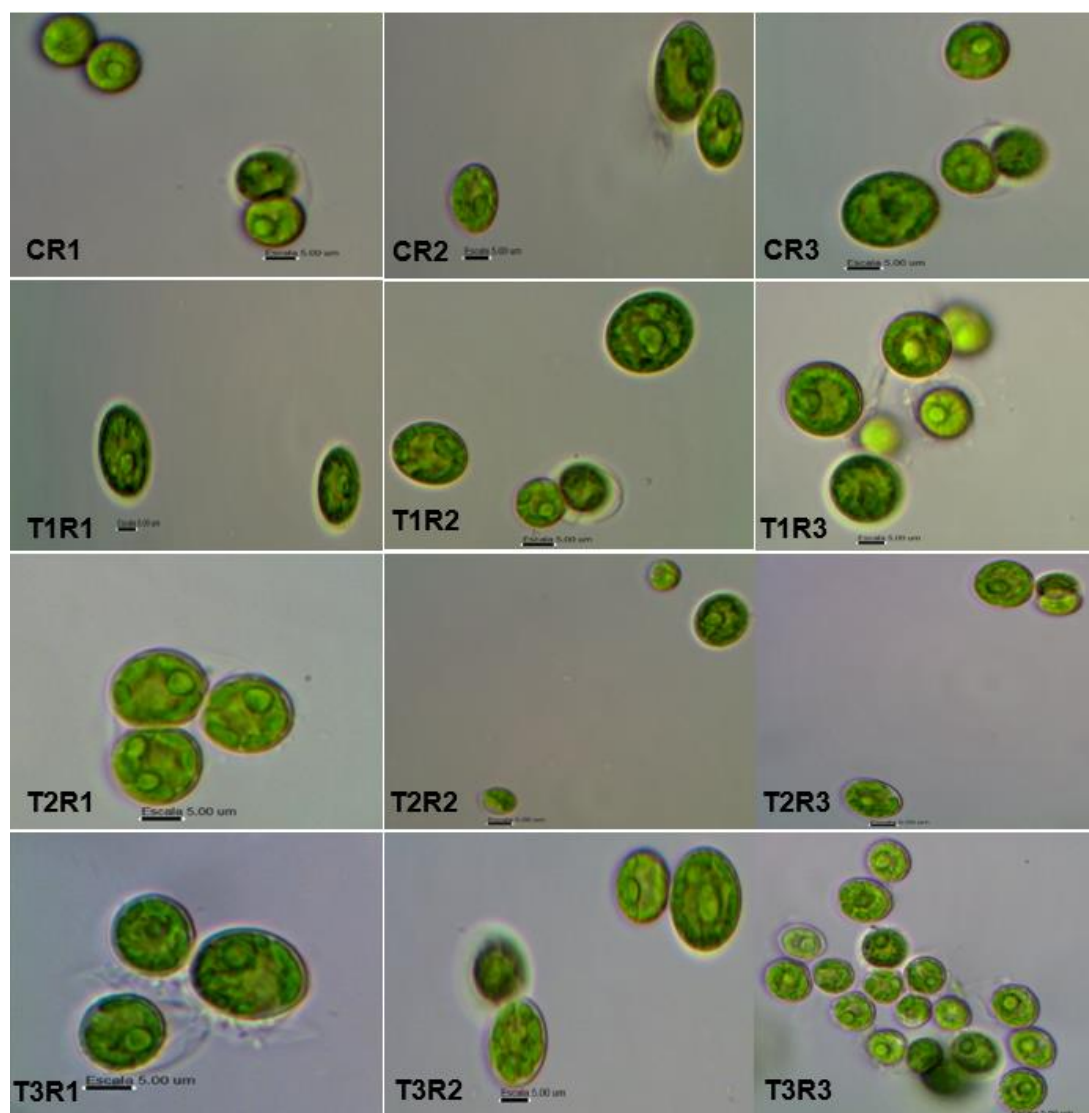


Figura 22. Mediciones celulares en 100X del radio, área y perímetro del control, T1, T2, T3 y sus repeticiones.



Figura 23. Fotografía en 100X del T2 y T3, donde se observa plasmólisis.

Posteriormente, al realizar la prueba de Dunnett se observó en todos los casos, que el valor P fue mayor que el α prefijado (Tabla 13), por tanto, no se observaron diferencias significativas al comparar el control con cada tratamiento por cada variable evaluada.

Tabla 13.

Prueba de Dunnett de comparaciones múltiples entre el control y tratamiento T1, T2 y T3, para las variables: área, radio y perímetro celular.

Parámetro	Contraste		Valor P
Área (Sqµm)	T1	Control	0.577
	T2	Control	0.275
	T3	Control	0.398
Radio (µm)	T1	Control	0.577
	T2	Control	0.274
	T3	Control	0.500
Perímetro (µm)	T1	Control	0.555
	T2	Control	0.272
	T3	Control	0.490

5.1.2.5. Análisis del perfil lipídico.

Debido a que el T1 presentó el mayor porcentaje de acumulación de grasas totales, se lo seleccionó para el análisis del perfil lipídico conjuntamente con el control. De este modo al efectuar el análisis, se observó mayor proporción de ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1n9 cis ω 9), ácido linoleico (C18:2n6 cis ω 6) y el ácido γ -linolénico (C18:3n6: cis ω 6), tal como se observa en la Figura 24. En el control se cuantificó que del 1.95 % de ácidos grasos totales acumulados, el 0.51 % correspondían a ácidos grasos saturados (TSFA), 1.44 % ácidos grasos insaturados (TIFA), 0.65 % ácidos grasos mono insaturados (TMFA) y 0.79 % ácidos grasos poliinsaturados (TPFA). Además, se obtuvo un 0.79 % de omegas 3 y 6, tal como se observa en la Tabla 14.

En el T1 se observó que del 2.27 % del total de ácidos grasos acumulados, el 0.61 % correspondían a TSFA, 1.66 % a TIFA, 0.69 % a TMFA y 0.98 % a TPFA. Adicionalmente, se obtuvo un porcentaje del 0.98 % de omegas 3 y 6. A diferencia del control en el T1 se cuantificó un 0.02 % de ácido miristoleico (C14:1) (Tabla 14).

En el T1 se obtuvo un mayor nivel de acumulación de ácidos grasos frente al control, como se observa en la Figura 24. La variación entre ambos fue de un 0.1 % (TSFA), 0.22 % (TIFA), 0.04 % (TMFA), 0.19 % (TPFA) y 0.19 % en omegas 3 y 6.

Perfil de Ácidos Grasos del Control y T1

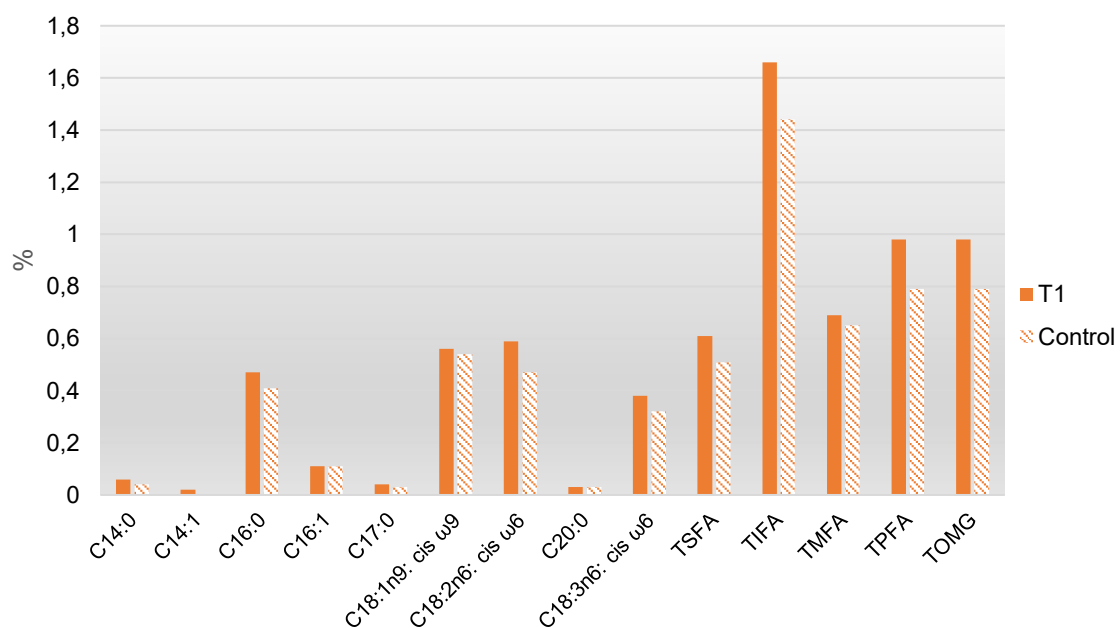


Figura 24. Perfil de ácidos grasos del control y T1

Tabla 14.

Contraste del perfil de ácidos grasos de *Pleurococcus* sp., del control y T1. Los ácidos grasos que son útiles en la producción de biodiesel han sido señalados.

Ácidos grasos		% Control	% T1
Ácido Mirístico	C14:0	0.04	0.06
Ácido Miristoleico	C14:1	-	0.02
Ácido Palmítico	C16:0	0.41	0.47
Ácido Palmitoleico	C16:1	0.11	0.11
Ácido Heptadecanoico	C17:0	0.03	0.04
Ácido Oleico	C18:1n9: cis ω9	0.54	0.56
Ácido Linoléico	C18:2n6: cis ω6	0.47	0.59
Ácido Araquidico	C20:0	0.03	0.03
Ácido γ- Linolénico	C18:3n6: cis ω6	0.32	0.38
Total ácidos grasos Saturados	TSFA	0.51	0.61
Total ácidos grasos Insaturados	TIFA	1.44	1.66
Total ácidos grasos Monoinsaturados	TMFA	0.65	0.69
Total ácidos grasos Poliinsaturados	TPFA	0.79	0.98
Total ácidos grasos omega 3 y 6	TOMG	0.79	0.98
Total		1.95	2.27

5.2. Discusión

Previo a la evaluación del efecto de la salinidad en *Pleurococcus* sp., se compararon los parámetros: μ , td, DC, producción de biomasa y porcentaje acumulación de grasas totales, en las cepas de microalgas *Pleurococcus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Scenedesmus* sp. La evaluación de estos parámetros fue esencial para la selección de una especie de microalga frente a otra. No obstante, debido a que no se observaron diferencias marcadas en cuanto a la tendencia de crecimiento entre las especies valoradas, la producción de biomasa y el porcentaje de acumulación de grasas totales, fueron los parámetros concluyentes para seleccionar a *Pleurococcus* sp., para la evaluación del efecto de la salinidad.

Para el cultivo de las cepas evaluadas, se empleó como fuente nutricional el fertilizante foliar Nitrofoska. De este modo, *Desmodesmus* sp., fue la especie con mayor producción de biomasa (0.97 g. L^{-1}). Sin embargo, en comparación con otros estudios, como es el caso del estudio presentado por, Ji et al. (2015), se observa que *Desmodesmus* sp., alcanzó una producción de biomasa menor de 0.32 g.L^{-1} al emplear en su cultivo 5 % de agua residual de granjas de cerdo. De igual forma, en contraste con la investigación de Ji et al. (2014), *Desmodesmus* sp., presenta una menor producción de biomasa (0.41 g.L^{-1}), al emplear el 10 % agua residual de granjas de cerdos.

Por su parte *Scenedesmus* sp., presentó una leve disminución en la productividad de biomasa ($0.018 \text{ g. L}^{-1} \text{ día}^{-1}$). En comparación con el estudio presentado por Mata et al. (2010), se ha observado que esta misma especie, bajo distintas condiciones de cultivo, puede alcanzar una productividad de biomasa entre 0.03 y $0.26 \text{ g.L}^{-1} \text{ día}^{-1}$, valores que se aproximan al obtenido en el presente estudio. Del mismo modo, en el trabajo presentado por, Xin, Hong-ying, y Jia (2010), se observa que *Scenedesmus* sp., presenta una producción de biomasa de 0.11 g. L^{-1} , al emplear aguas como medio de cultivo residuales domésticas, valor inferior al resultado obtenido en la presente investigación (0.55 g L^{-1}).

Con relación a lo anterior, en el estudio realizado por, Silva-Benavides (2016) en *Chlorella sorokiniana*, se observó que el uso de fertilizantes en el cultivo de microalgas tiene un efecto positivo en el crecimiento y rendimiento del cultivo, debido a la presencia de sulfuro y Mg. Por el contrario, el uso de agua residual en el cultivo de microalgas, puede disminuir el rendimiento de la biomasa por la limitación de nutrientes existentes o por la capacidad de asimilación del nutriente por parte del microorganismo. Como se detalla en el estudio realizado por Vieira Costa, Cozza, Oliveira, y Magagnin (2001), si bien el agua residual contiene cantidades elevadas de elementos, como el nitrógeno, éste puede estar disuelto como NO_3 , NO_2 o NH_4 y ejercer un efecto sobre la producción de biomasa, dependiendo de la fuente de nitrógeno asimilada. De este modo, se puede inferir que las condiciones de cultivo pueden variar la producción de biomasa en especies de microalgas. No obstante, el uso de fertilizante foliar en *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., y *Pleurococcus* sp., permite una adecuada producción de biomasa para estas especies.

Pleurococcus sp., fue la cepa con mayor producción de grasas totales con 2.63 %, seguida de *Scenedesmus* sp., con 2.18 % y *Desmodesmus* sp., con 1.19 %. El bajo porcentaje de acumulación de grasas totales en los géneros mencionados, se debe a que, bajo condiciones óptimas de crecimiento, se sintetizan ácidos grasos con fines estructurales que pueden llegar a constituir entre el 5 – 20 % de su peso seco (Hu et al., 2008). Lo contrario se observa en condiciones de estrés, donde las microalgas alteran sus rutas biosintéticas para acumular lípidos neutros entre un 20 y 50 %, tal como se observa en el estudio de Piorreck, Baasch, y Pohl (1984), donde *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Anacystis nidulans*, *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria rubescens*, *Spirulina platensis*, son capaces de acumular 20.2 %, 21.7 %, 13.6 %, 13.7 %, 12.7 %, 9.1 % de grasas totales, respectivamente bajo una concentración de nitrógeno del 0.003 % en el medio de cultivo.

Por otro lado, al evaluar el efecto de la salinidad en *Pleurococcus* sp., se observó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre el control y los tratamientos T1, T2 y T3, para los parámetros μ , td y DC. En el caso de μ , se

observó en el control y T1, T2 y T3, valores de 0.15 días⁻¹, 0.14 días⁻¹, 0.10 días⁻¹ y 0.12 días⁻¹, respectivamente. Al comparar estos resultados con otras especies de microalgas ampliamente estudiadas para la producción de biodiesel, como es el caso de *Nannochloropsis salina*., se puede observar que μ , puede presentar valores entre 0.13 días⁻¹ y 0.12 días⁻¹, bajo concentración de NaCl de 22 g.L⁻¹ y 34 g.L⁻¹, respectivamente valores que relacionan a los obtenidos en la presente investigación (Bartley, Boeing, Corcoran, Holguin, y Schaub, 2013). Se puede inferir además que al incrementar la concentración de NaCl μ tiende a disminuir.

En DC, si bien tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas en *Pleurococcus* sp., bajo el efecto de la salinidad, se pudieron observar leves variaciones de los tratamientos T1, T2 y T3 frente al control. La DC del control (0.156 g. L⁻¹), incrementó a 0.164 g. L⁻¹, 0.167 g. L⁻¹ y 0.159 g. L⁻¹ en el T1, T2 y T3, respectivamente. No obstante, al realizar una comparación entre los tratamientos, el T3 (50 mM de NaCl) presentó menor densidad celular. Al igual que el presente estudio, en el trabajo realizado por Desouky, Taher M. Taha, Elsayed, Hafez., y Mebed (2013), en *Chlorella oocystoides*, se observa un ligero incremento de la densidad celular de 0.991 g. L⁻¹ y 1.082 g. L⁻¹ a 100 mM y 250 mM, respectivamente. Por su parte, el tratamiento con mayor concentración de NaCl (500 mM), presentó menor densidad celular (0.240 g. L⁻¹) frente al control (0.856 g. L⁻¹) y tratamientos 100 mM y 250 mM. De igual forma, en el estudio realizado por Pal, Khozin-Goldberg, Cohen, y Boussiba (2011), en *Nannochloropsis* sp., se observa que a mayor concentración de NaCl (600 mM), existe menor abundancia de células. En contraste con estos resultados, se puede deducir que a bajas concentraciones de NaCl el crecimiento celular presenta un incremento, no obstante, a altas concentraciones de NaCl, el crecimiento celular tiende a disminuir o inhibirse.

A pesar del incremento progresivo de la concentración de NaCl en g.L⁻¹ en las diferentes fases del crecimiento celular de *Pleurococcus* sp., inicio, medio y final de la fase exponencial, no se observaron diferencias significativas en el efecto de la salinidad sobre la producción de biomasa y porcentaje de acumulación de grasas totales. Por su parte, en el estudio realizado por Takagi et al. (2006), en

el cual se añadió en un solo aplicación, 0.5 M de NaCl en la mitad de la fase exponencial del cultivo celular de *Dunaliella tertiolecta*, se observó un incremento en la producción de lípidos frente al control de 63.5 % a 71.4 %. De este modo, se puede concluir que la adición de NaCl de forma progresiva, no tiene un efecto significativo en la acumulación de grasas totales de *Pleurococcus* sp. Esto pudiera deberse a que la cepa va adaptando su metabolismo progresivamente a la presencia de sal, sin sufrir un cambio marcado que provoque un estrés significativo a nivel celular.

Por otro lado, se notó un leve incremento en la producción de biomasa de los diferentes tratamientos, frente al control. La mejor producción de biomasa se obtuvo en el T2 y T3 con 0.30 g. L⁻¹ y 0.31 g. L⁻¹, respectivamente. No obstante, para ambos casos el porcentaje de acumulación de grasas totales, fue menor que el control. En el estudio realizado por Rao, Dayananda, Sarada, Shamala, y Ravishankar (2007) en *Botryococcus braunii*, al evaluar distintos niveles de NaCl (entre 17 y 85 mM), se observó que la mayor producción de biomasa se obtuvo a 17mM (1.6 g. L⁻¹) y a 34 mM (1.4 g. L⁻¹). Sin embargo, la mayor acumulación de grasas totales se alcanzó a 35 mM y 85 mM, con valores de 24 a 28 %, respectivamente. De este modo, se puede deducir que la producción de biomasa es independiente de la acumulación de grasas totales en especies de microalgas.

Con respecto al pH, durante los 20 días de experimentación el rango de pH estuvo entre 7.5 y 8.0. En el tiempo inicial de la experimentación el pH se mantuvo en 7.5 para el control, T1, T2 y T3, mientras que en la fase intermedia de la experimentación disminuyó a 7 para el T1, T2 y T3 y a 7.4 en el caso del control. Finalmente, al alcanzar cada tratamiento la concentración final de NaCl, se observó que el pH incrementó a 8 en los tratamientos más el control. Puesto a que el control experimentó la misma variación de pH frente a los tratamientos, se puede señalar que el NaCl no ejerció influencia sobre el pH. Por el contrario, cuando un cultivo de microalgas se encuentra en fase exponencial de crecimiento celular el consumo de carbono inorgánico disuelto provoca una reducción de la concentración de protones H⁺, incrementando del pH, tal como

se detalla en el estudio de Juneja et al. (2013) y García-Gozalbes, Arbib, y Perales-Vargas-Machuca (2015).

Adicionalmente, las células del T2 y T3 presentaron plasmólisis e inclusive la membrana plasmática se separó de la pared celular. De acuerdo con el estudio presentado por, Kan et al. (2012) en *Chlamydomonas* de la Antártida, es común que a elevadas concentraciones de NaCl exista este efecto de plasmólisis en la estructura celular.

Finalmente, en el análisis del perfil lipídico, se observó un leve incremento en la acumulación de grasas totales al contrastar al control con el mejor de los tratamientos (T1-10 mM de NaCl). Los ácidos TSFA, TIFA, TMFA e inclusive TPFA incrementaron en el T1. No obstante, se ha observado que los TPFA, tienden a disminuir bajo el efecto de salinidad. En el estudio realizado por Kan et al. (2012), se observa que los TPFA se reducen de un 53 a 46 % en *Chlamydomonas* sp. No obstante, el incremento de TPFA en *Pleurococcus* sp., podría deberse a que la composición bioquímica de los ácidos grasos puede variar entre especies de microalgas, bajo diferentes condiciones de crecimiento, tal como se observa en el estudio de J. Liu et al. (2016), donde *Uronema* sp., incrementa la acumulación de TPFA del 21 al 58 %, al emplear como medio de cultivo aguas residuales con alto contenido de nitrógeno.

Por otro lado, los ácidos: palmítico (0.47 %), oleico (0.56 %) y linoleico (0.59 %), se observaron con mayor magnitud en el T1. En el estudio realizado en *Botryococcus braunii*, por Rao et al. (2007), en el cual se evaluaron concentraciones de NaCl cercanas a las empleadas en este estudio, se observó un incremento de aproximadamente 11 y 19 % de ácido palmítico y 12 y 15 % de ácido linoleico a 34 mM y 85 mM de NaCl, respectivamente. De igual forma, en el estudio presentado por, Hounslow, Vijay Kapoore, Vaidyanathan, James Gilmour, y C. Wright (2016), en *Chlamydomonas reinhardtii*, se observó variación en la acumulación del ácido palmítico 2.5, 2.0 y 1.5 % y ácido linoleico 2.3, 0.9 y 0.2 %, a 100 mM, 200 mM y 300 mM de NaCl, respectivamente.

Por consiguiente a lo anterior, se puede inferir que a concentraciones elevadas de NaCl, no necesariamente se favorece la acumulación de ciertos ácidos grasos frente a otros. En definitiva, el metabolismo celular de las diferentes especies de microalgas juega un papel fundamental en la acumulación de ciertos ácidos grasos frente a otros (Thomas, Tornabene, y Weissman, 1984; Mata, Martins, y Caetano, 2010; Prartono, Kawaroe, Sari, y Augustine, 2010). El leve incremento del ácido palmítico, oleico y linoleico en *Pleurococcus* sp., a 10 mM de NaCl, se debe a un mecanismo de protección frente a elevadas concentraciones de sal. De este modo, con el fin de evitar el ingreso excesivo de NaCl a la célula, la permeabilidad y fluidez de la membrana plasmática disminuyen (Salama et al. 2013; Kan et al. 2012).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

Desmodesmus sp., acumula una cantidad baja de grasas totales y su uso no es factible en la producción de biodiesel. Por otro lado, *Pleurococcus* sp., y *Scenedesmus* sp., presentan una tendencia de crecimiento similar. Sin embargo, *Pleurococcus* sp., exhibe menor tiempo de duplicación y es predominante en producción de biomasa y acumulación de grasas totales. Bajo el efecto de la salinidad, *Pleurococcus* sp., incrementa ligeramente la producción de biomasa a 10 mM, 25 mM y 50 mM de NaCl, sin observar inhibición del crecimiento celular. Por su parte, la velocidad de crecimiento (μ) y tiempo de duplicación (td) incrementan en *Pleurococcus* sp., conforme aumenta la concentración de NaCl.

La acumulación de grasas totales se da de forma independiente a la producción de biomasa. Por lo tanto, a mayor producción de biomasa, no necesariamente se observa un incremento en la producción de lípidos. En *Pleurococcus* sp., incrementa el porcentaje de acumulación de grasas totales a 10 mM de NaCl, no obstante, la mayor producción de biomasa en este género se da a 50 mM.

Con el tratamiento 10 mM de NaCl, incrementa la acumulación de ácidos grasos en *Pleurococcus* sp. Los ácidos grasos de mayor prevalencia oscilan entre C16-C18 carbonos y corresponden al ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1n9 cis ω 9) y ácido linoleico (C18:2n6 cis ω 6), los cuales son útiles en la producción de biodiesel. No obstante, la perspectiva de *Pleurococcus* sp., para producir biodiesel se ve disminuida por el bajo porcentaje de acumulación de lípidos y la presencia de ácidos grasos poliinsaturados y omegas 3 y 6, que pueden ser útiles en la nutrición animal y prevención de enfermedades, principalmente enfermedades cardiovasculares, en el ser humano.

6.2. Recomendaciones

Realizar una prueba preliminar a diferentes concentraciones de NaCl, para establecer el valor máximo de tolerancia al estrés salino de la especie de microalga a evaluar. De este modo, se podría establecer un rango más amplio de concentraciones de NaCl, a las que se evaluaron y observar si existen diferencias significativas en los parámetros evaluados.

Debido a que *Pleurococcus* sp, presenta una baja producción de biomasa, se podría prolongar la fase exponencial del crecimiento celular, manejando cultivos continuos y mejorar su productividad. Además, se pudieran evaluar otros parámetros que no se consideraron en este estudio, como luz, pH y temperatura, ya que en esta especie han sido pocos los estudios reportados que especifiquen las condiciones óptimas de cultivo, para incrementar la producción de biomasa y lípidos.

Puesto a que *Pleurococcus* sp., es capaz de acumular ácidos grasos poliinsaturados, entre estos el omega 3 y 6, se pudiera enfocar su estudio hacia la producción de estos ácidos grasos que pueden ser útiles en la formulación de alimentos y nutrición tanto humana como animal. De igual forma, sería interesante enfocar su estudio hacia otros metabolitos de interés tales como carotenoides, antioxidantes, fitohormonas, proteínas, enzimas, ácidos orgánicos y entre otros compuestos., que pueden ser empleados en el área vegetal, animal, farmacéutica y ambiental.

REFERENCIAS

- AOCS. (s.f.). Protocolo para análisis de perfil lipídico. Recuperado el 27 de abril de 2017, de <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods/special-collections/m%C3%A9todo-oficial-de-aocs-en-espa%C3%B1ol>
- AOCS. (s.f.). Protocolo para extracción de grasas totales. Recuperado el 21 de abril de 2017, de <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods/special-collections/m%C3%A9todo-oficial-de-aocs-en-espa%C3%B1ol>
- Ahmad, A. L., Yasin, N. H. M., Derek, C. J. C., y Lim, J. K. (2011). *Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15*(1), DOI: 10.1016/j.rser.2010.09.018
- Alarcón, L. R. (2001). Manual de practicas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos. Programa de Nutrición: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Araujo, G., Matos, L., Fernandes, J., Cartaxo, S., Gonçalves, L. , Fernandes, F., y Farias, W. (2013). *Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection of the optimal extraction method. Ultrasonics Sonochemistry, 20*(1) DOI: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.027
- Asulabh, K., Supriya, G., y Ramachandra, T. (2012). *Effect of Salinity Concentrations on Growth Rate and Lipid Concentration in Microcystis Sp., Chlorococcum Sp. and Chaetoceros Sp. In: LAKE: National Conference on Conservation and Management of Wetland Ecosystems.*
- Badui, S. (2006). Química de los Alimentos (4ta ed.). México: Pearson.
- Barsanti, L., y Gualtieri, P. (2006). *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology.* (T. F. Group Ed.). United States of America 2006.
- Bartley, M. L., Boeing, W. J., Corcoran, A. A., Holguin, F. O., y Schaub, T. (2013). *Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga Nannochloropsis salina and invading organisms. Biomass and Bioenergy, 54*, DOI: 10.1016/j.biombioe.2013.03.026
- Brennan, L., y Owende, P. (2010). *Biofuels from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and*

- co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.009
- Chen, C. Y., Yeh, K. L., Aisyah, R., Lee, D. J., y Chang, J. S. (2011). *Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. Bioresour Technol*, 102(1), DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.159
- Chisti, Y. (2007). *Biodiesel from microalgae. Biotechnol Adv*, 25(3), DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- Delgado, D. (2015). Balance Energético Nacional (Resumen). Recuperado el 25 de abril de 2017, de <http://www.sectoresestrategicos.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2016/01/Resumen-Balance-Energe%CC%81tico-20151.pdf>
- Desouky, S. A., Taher M. Taha, Elsayed, E., Hafez., y Mebed, A. m. k. (2013). *Interference Effects of Salinity on Growth and Some Metabolic Activities of Two Chlorella Species. Botany and Microbiology Department, Faculty of Science, Al-Azhar University, Assiut, Egypt, Vol 1 (1)*.
- El Kahoui S, Smaoui A, Zarrouk M, Ghriiri R, y Limam F.(2004). *Salt-induced lipid changes in Catharanthus roseus cultured cell suspensions. Phytochem*. 2004;65, DOI: 10.1016/j.phytochem.2004.06.021.
- Falkowski, P., Katz, M., Knoll, A., Quigg, A., Raven, J., Schofield, O., y Taylor, F. J. (2004). *The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. Science*, 305(5682), DOI: 10.1126/science.1095964
- García-Gozalbes, C., Arbib, Z., y Perales-Vargas-Machuca, J. (2015). Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con diferentes niveles de tratamiento. Recuperado el 15 de abril de 2017, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200724222015000100003&ynrm=iso
- Goldman, J., Azov, Y., Riley, C. y Dennett, M. (1982). *The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 57(1), DOI: 10.1016/0022-0981(82)90140-X

- Gordillo, F., Goutx, M., Figueroa, F. y Niell, F. (1998). *Effects of light intensity, CO₂ and nitrogen supply on lipid class composition of Dunaliella viridis*. *Journal of Applied Phycology*, 10(2), DOI: 10.1023/a:1008067022973
- Guamán, M., y González, N. (2016). *Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador*. Corporación para la Investigación Energética, Laboratorio de Biotecnología Energética. Quito, Ecuador.
- Gurr, M., Harwood, J. (1991). *Lipid Biochemistry*. University of Reading and Oxford Polytechnic, USA. DOI: 10.1007/978-1-4615-3862-2
- Haberl, H., Beringer, T., Bhattacharya, S., Erb, K. y Hoogwijk, M. (2010). *The global technical potential of bio-energy in 2050 considering sustainability constraints*. *Current Opinion in Environmental Sustainability*. DOI: 10.1016/j.cosust.2010.10.007
- Harwood, J., y Guschina, I. (2009). *The versatility of algae and their lipid metabolism*. *Biochimie*, 91(6), DOI: 10.1016/j.biochi.2008.11.004
- Hoek, C., Mann, D., y Jahns, H. (1995). *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press.
- Hounslow, E., Vijay Kapoore, R., Vaidyanathan, S., James Gilmour, D., y Wright, P. (2016). *The Search for a Lipid Trigger: The Effect of Salt Stress on the Lipid Profile of the Model Microalgal Species Chlamydomonas reinhardtii for Biofuels Production*. Recuperado el 19 de abril de 2017, de <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cbiot/2016/00000005/00000004/art00008>
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., y Darzins, A. (2008). *Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances*. *Plant J*, 54(4). DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x
- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., y Chen, G. (2010). *Biodiesel production by microalgal biotechnology*. *Applied Energy*, 87(1). DOI: 10.1016/j.apenergy.2009.06.016
- Ji, F., Liu, Y., Hao, R., Li, G., Zhou, Y., y Dong, R. (2014). *Biomass production and nutrients removal by a new microalgae strain Desmodesmus sp. in anaerobic digestion wastewater*. *Bioresource Technology*. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.03.034

- Ji, F., Zhou, Y., Pang, A., Ning, L., Rodgers, K., Liu, Y., y Dong, R. (2015). *Fed-batch cultivation of Desmodesmus sp. in anaerobic digestion wastewater for improved nutrient removal and biodiesel production. Bioresource Technology*. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.09.144
- Juneja, A., Ceballos, R., y Murthy, G. (2013). *Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production*: Recuperado el 20 de abril de 2017, de <http://www.mdpi.com/1996-1073/6/9/4607>
- Kaewkannetra, P., Enmak, P., y Chiu, T. (2012). *The effect of CO2 and salinity on the cultivation of Scenedesmus obliquus for biodiesel production. Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(3), DOI: 10.1007/s12257-011-0533-5
- Kan, G., Shi, C., Wang, X., Xie, Q., Wang, M., Wang, X., y Miao, J. (2012). *Acclimatory responses to high-salt stress in Chlamydomonas (Chlorophyta, Chlorophyceae) from Antarctica. Acta Oceanologica Sinica*, 31(1), DOI: 10.1007/s13131-012-0183-2
- Kumar, A., Guria, C., Chitres, G., Chakraborty, A., y Pathak, A. K. (2016). *Modelling of microalgal growth and lipid production in Dunaliella tertiolecta using nitrogen-phosphorus-potassium fertilizer medium in sintered disk chromatographic glass bubble column. Bioresource Technology*. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.07.055
- Kussell, E., y Leibler, S. (2005). *Phenotypic diversity, population growth, and information in fluctuating environments. Science*, 309(5743), DOI: 10.1126/science.1114383
- Lam, M., y Lee, K. (2012). *Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. Biotechnology Advances*, 30(3), DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.11.008
- Larrea, C. (2012). *¿Es sustentable la política energética en el Ecuador? (Vol. 1, Quito-Ecuador: Universidad Andina Simón Bolívar*
- Lee, J., Yoo, C., Jun, S., Ahn, C., y Oh, M. (2010). *Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. Bioresour Technol*, 101 Suppl 1. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.03.058

- Lezcano, O. A. y. J. C. (2014). Microorganismos patógenos en *Jatropha curcas* Linnaeus. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos, Ministerio de Educación Superior Central España Republicana. CP 44280, Matanzas, Cuba.
- Liu, B., y Benning, C. (2013). *Lipid metabolism in microalgae distinguishes itself*. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), DOI: 10.1016/j.copbio.2012.08.008
- Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N., y Lan, C. Q. (2008). *Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(4). DOI: 10.1007/s00253-008-1681-1
- Liu, J., Vanormelingen, P., y Vyverman, W. (2016). *Fatty acid profiles of four filamentous green algae under varying culture conditions*. *Bioresource Technology*, 200, DOI: 10.1016/j.biortech.2015.11.001
- Liu, Z.-Y., Wang, G.-C., y Zhou, B.-C. (2008). *Effect of iron on growth and lipid accumulation in Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 99(11), DOI: 10.1016/j.biortech.2007.09.073
- Lobban, C., Chapman, D., y Klemer, B. (1998). *Experimental Phycology: A laboratory manual*. New York, EEUU: Cambridge University Press.
- Lorenzen, C. J. (1967). *Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations*. *Limnology and Oceanography*, 12(2). DOI: 10.4319/lo.1967.12.2.0343
- Mairet, F., Bernard, O., Masci, P., Lacour, T., y Sciandra, A. (2011). *Modelling neutral lipid production by the microalga Isochrysis aff. galbana under nitrogen limitation*. *Bioresource Technology*, 102(1), DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.138
- Markou, G., y Nerantzis, E. (2013). *Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions*. *Biotechnology Advances*, 31(8), DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.07.011
- Mata, T., Martins, A. y Caetano, N. (2010). *Microalgae for biodiesel production and other applications: A review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1). DOI:10.1016/j.rser.2009.07.020

- Miao, X., y Wu, Q. (2006). *Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. Bioresource Technology*, 97(6). DOI: 10.1016/j.biortech.2005.04.008
- Morales, E., Luna, V., Navarro, L., Santana, V., Gordillo, A., y Arévalo, A. (2013). *Diversidad de microalgas y cianobacterias en muestras. Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.*
- Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z., y Boussiba, S. (2011). *The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by Nannochloropsis sp. Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(4), DOI: 10.1007/s00253-011-3170-1
- Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., de-Bashan, L. E., y Bashan, Y. (2011). *Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. Water Research*, 45(1), DOI: 10.1016/j.watres.2010.08.037
- Piorreck, M., Baasch, K.-H., y Pohl, P. (1984). *Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. Phytochemistry*, 23(2), DOI: 10.1016/S0031-9422(00)80304-0
- Prartono, T. R. I., Kawaroe, M., Sari, D. W., y Augustine, D. (2010). *Fatty Acid Content of Indonesian Aquatic Microalgae. HAYATI Journal of Biosciences*, 17(4), DOI: 10.4308/hjb.17.4.196
- Ra, C. H., Kang, C.-H., Kim, N. K., Lee, C.-G., y Kim, S.-K. (2015). *Cultivation of four microalgae for biomass and oil production using a two-stage culture strategy with salt stress. Renewable Energy*, 80, DOI: 10.1016/j.renene.2015.02.002
- Rao, A. R., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T. R., y Ravishankar, G. A. (2007). *Effect of salinity on growth of green alga Botryococcus braunii and its constituents. Bioresource Technology*, 98(3), DOI: 10.1016/j.biortech.2006.02.007
- Rashid, N., Ur Rehman, M. S., Sadiq, M., Mahmood, T., y Han, J.-I. (2014). *Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, OI: 10.1016/j.rser.2014.07.104
- Raven, J. A., y Geider, R. J. (1988). *Temperature and algal growth. New Phytologist*, 110(4), DOI: 10.1111/j.1469-8137.1988.tb00282.x

- Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., y Tredici, M. R. (2009). *Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor*. *Biotechnol Bioeng*, 102(1), 100-112. DOI: 10.1002/bit.22033
- Salama, E.-S., Kim, H.-C., Abou-Shanab, R. A. I., Ji, M.-K., Oh, Y.-K., Kim, S.-H., y Jeon, B.-H. (2013). *Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater Chlamydomonas mexicana and Scenedesmus obliquus grown under salt stress*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36(6), DOI: 10.1007/s00449-013-0919-1
- Sharma, K., Schuhmann, H., y Schenk, P. (2012). High Lipid Induction in *Microalgae for Biodiesel Production*. *Energies*, 5(12), 1532-1553. DOI: 10.3390/en5051532
- Silva-Benavides, A. (2016). *Evaluation of agricultural fertilizers on the productivity of microalgae Chlorella sorokiniana*. 2016, 11. DOI: 10.15517/am.v27i2.24361
- Singh, A., y Olsen, S. (2011). *A critical review of biochemical conversion, sustainability and life cycle assessment of algal biofuels*. *Applied Energy*, 88(10), 3548-3555. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.12.012
- Song, D., Fu, J., y Shi, D. (2008). *Exploitation of Oil-bearing Microalgae for Biodiesel*. *Chinese Journal of Biotechnology*, 24(3). DOI: 10.1016/S1872-2075(08)60016-3
- Sorokin, C., y Krauss, R. (1958). *The Effects of Light Intensity on the Growth Rates of Green Algae*. *Plant Physiol*, 33(2).
- Su, C., Chien, L., Gomes, J., Lin, Y., Yu, Y., Liou, J. y Syu, R. (2011). *Factors affecting lipid accumulation by Nannochloropsis oculata in a two-stage cultivation process*. *Journal of Applied Phycology*, 23(5), DOI: 10.1007/s10811-010-9609-4
- Sun, X., Cao, Y., Xu, H., Liu, Y., Sun, J., Qiao, D., y Cao, Y. (2014). *Effect of nitrogen-starvation, light intensity and iron on triacylglyceride/carbohydrate production and fatty acid profile of Neochloris oleoabundans HK-129 by a two-stage process*. *Bioresource Technology*, DOI: 10.1016/j.biortech.2013.12.109

- Takagi, M., Karseno, y Yoshida, T. (2006). *Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae Dunaliella cells*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(3), DOI: 10.1263/jbb.101.223
- Talebi, A., Tabatabaei, M., Mohtashami, S., Tohidfar, M., y Moradi, F. (2013). *Comparative Salt Stress Study on intracellular ion Concentration in Marine and Salt-adapted Freshwater Strains of Microalgae*. *Not. Sci. Biol.* 5.
- Thomas, W. H., Tornabene, T. G., y Weissman, J. (1984). *Screening for Lipid Yielding Microalgae: Activities for 1983*. Solar Energy Research Institute.
- Tilden, J. E. (1933). *A Classification of the Algae Based on Evolutionary Development, with Special Reference to Pigmentation*. *Botanical Gazette*, 95(1), DOI: 10.1086/334366
- Vanthoor-Koopmans, M., Wijffels, R. H., Barbosa, M. J., y Eppink, M. H. (2013). *Biorefinery of microalgae for food and fuel*. *Bioresour Technol*, DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.135
- Vieira Costa, J., Cozza, K., Oliveira, L., y Magagnin, G. (2001). *Different nitrogen sources and growth responses of Spirulina platensis in microenvironments*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(5), DOI: 10.1023/A:1011925022941
- Villota, T. (2014). *Bioremediación de aguas residuales con alta salinidad mediante bacterias halófilas aisladas de perfiles costeros de Ecuador*. Universidad de las Américas, Quito-Ecuador.
- Vitova, M., Bisova, K., Kawano, S., y Zachleder, V. (2015). *Accumulation of energy reserves in algae: From cell cycles to biotechnological applications*. *Biotechnology Advances*, 33(2), DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.04.012
- Walsby, A. (1995). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. By Becker E. W. Cambridge: Cambridge University Press. *Experimental Agriculture*, 31(1), DOI: 10.1017/S0014479700025126
- Wang, J., Yang, H., y Wang, F. (2014). *Mixotrophic Cultivation of Microalgae for Biodiesel Production: Status and Prospects*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(7), DOI: 10.1007/s12010-014-0729-1

- Wijffels, R., Kruse, O., y Hellingwerf, K. (2013). *Potential of industrial biotechnology with cyanobacteria and eukaryotic microalgae*. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(3), DOI: 10.1016/j.copbio.2013.04.004
- Xin, L., Hong-ying, H., y Jia, Y. (2010). *Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, Scenedesmus sp. LX1, growing in secondary effluent*. *New Biotechnology*, 27(1), 59-63. DOI: 10.1016/j.nbt.2009.11.006
- Yang, H., He, Q., Rong, J., Xia, L., y Hu, C. (2014). *Rapid neutral lipid accumulation of the alkali-resistant oleaginous Monoraphidium dybowskii LB50 by NaCl induction*. *Bioresource Technology*, 172, DOI: 10.1016/j.biortech.2014.08.066
- Yanqun, L., Horsman, M., Nan, W., Lan, C., y Dubois, N. (2008). *Biofuels from Microalgae American Institute of Chemical Engineers*. DOI:10.1021/bp.070371k

ANEXOS

Anexo 1. Composición del medio de cultivo BG-11

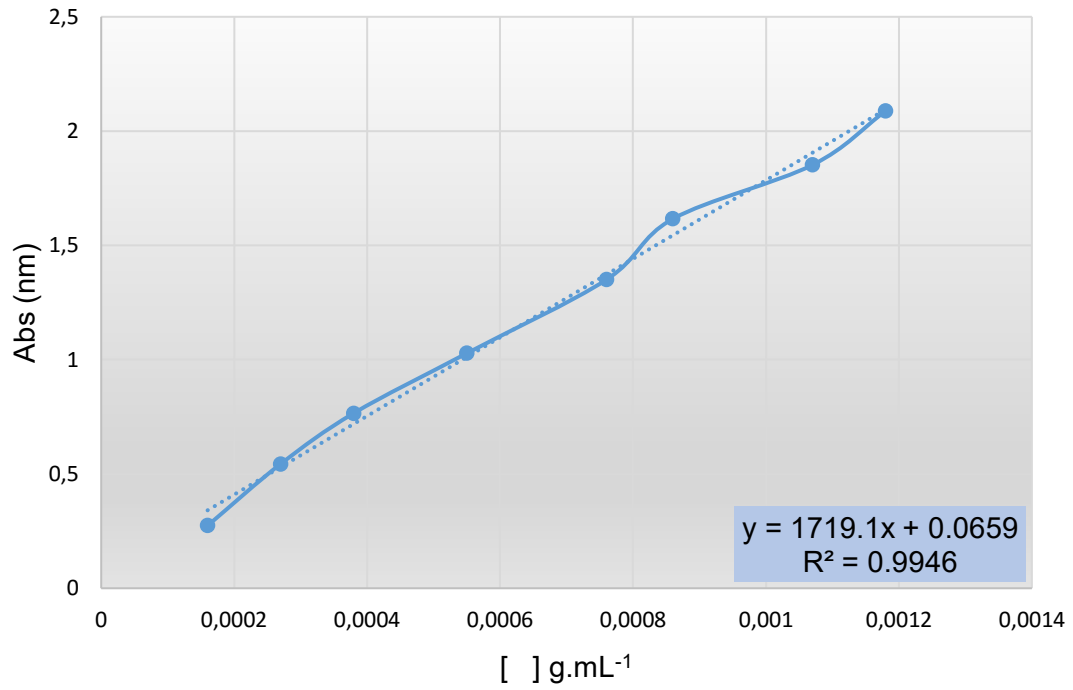
Solución	Reactivo	Cantidad (g)
Solución 1a (para 1L de solución)	NaNO ₃	150
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	7
	CaCl ₂ · 3H ₂ O	3.6
Solución 2 (para 1L de solución)	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	4
	EDTA	0.1
	Na ₂ CO ₃	2
Solución 3 (para 1L de solución)	Ácido cítrico	0.6
	Citrato de sodio	0.6
Solución 4 (para 1L de solución)	H ₂ BO ₃	2.86
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.81
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.22
	NaMoO ₄ · 5H ₂ O	0.39
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.8
	Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.05
	FeCl ₂	0.22

Anexo 2. Composición del fertilizante foliar Nitrofoska, empleado como medio de cultivo.

Ingredientes	Concentración
N	10.0%
P	4.0%
K	7.0%
Mg	0.2%
S	0.8%
Mn	17 ppm
Fe	140 ppm
Cu	25 ppm
Zn	5 ppm
B	22 ppm
Mo	3 ppm

Anexo 3. Curva de calibrado de *Pleurococcus* sp., expresada en Abs (nm) y g/ml.

Curva de Calibrado *Pleurococcus* sp.



Anexo 4. Análisis de grasas totales de *Scenedesmus* sp., Cepa CMIE-D2-001.



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**

**LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS**

INF.LAB.ALIM- 25650
ORDEN DE TRABAJO No 55171

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS D2001
LOTE:	---
FECHA DE ELABORACIÓN:	---
FECHA DE VENCIMIENTO:	---
FECHA DE RECEPCIÓN:	02/03/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:00
FECHA DE ANÁLISIS:	03-07/03/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	07/03/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Semisólido
Contenido: 10g	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	85.47	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.18	MAL-03/ AOAC 991.36



X
Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 5. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-I6-001.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25677
ORDEN DE TRABAJO No 55292

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS 16001
LOTE:	---
FECHA DE ELABORACIÓN:	---
FECHA DE VENCIMIENTO:	---
FECHA DE RECEPCIÓN:	16/03/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:38
FECHA DE ANÁLISIS:	17-20/03/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	20/03/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Semisólido
Contenido: 10g	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	79.25	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.63	MAL-03/ AOAC 991.36



Dr. Geovany Garófalo
Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 6. Análisis de grasas totales de *Desmodemus* sp., Cepa CMIE-L5-005.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS


LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25676
ORDEN DE TRABAJO No 55292

SOLICITADO POR:	ELDRIDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS L5005
LOTE:	---
FECHA DE ELABORACIÓN:	---
FECHA DE VENCIMIENTO:	---
FECHA DE RECEPCIÓN:	16/03/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:38
FECHA DE ANÁLISIS:	17-20/03/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	20/03/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Semisólido
Contenido:	20g
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	87.19	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	1.19	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 7. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Control, Repetición (Control 1).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25783
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDRIDGE, NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS CONTROL 1 (29/04/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 4 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	81.65	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.38	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Geovany Gardalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 8. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Control, Repetición 2 (Control 2).



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**

**LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS**

INF.LAB.ALIM- 25784
ORDEN DE TRABAJO N° 55692

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLJE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS CONTROL 2 (29/04/2017)
LOTI:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 4 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	78.62	MAL-13/AOAC 925.10
Grasa	%	2.69	MAL-03/AOAC 991.36



Dr. Geovany Garófalo
Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 9. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Control, Repetición 3 (Control 3).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25785
ORDEN DE TRABAJO N° 55692

SOLICITADO POR:	ELDRIDGE NIKOLJ
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS CONTROL 3 (29/04/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 5 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP	
MUESTREO POR:	El Cliente

INFORME

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	81.41	MAL-13/AOAC 925.10
Grasa	%	2.13	MAL-03/AOAC 991.36



[Firma]
Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 10. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 1 (10 mM), Repetición 1 (T1R1).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 26786
 ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T1R1 (30/04/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/03/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 5 gr	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	79.34	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.33	MAL-03/ AOAC 991.36



Geovany Garófalo
 Dr. Geovany Garófalo
 JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 11. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 1 (10 mM), Repetición 2 (T1R2).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 26747
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T1R2(30/04/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLORES:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 5 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	80.60	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.25	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Gogwanj Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 12. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 1 (10 mM), Repetición 3 (T1R3).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

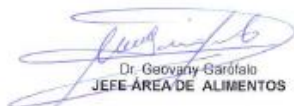
LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 26788
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDRIDGE, NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T1R3 (01/05/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 5 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	77.47	MAL-13/AOAC 925.10
Grasa	%	2.66	MAL-03/AOAC 991.36


Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 13. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 2 (25 mM), Repetición 1 (T2R1).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25789
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T2R1 (01/05/2017)
LOTE:
FECHA DE ELABORACIÓN:
FECHA DE VENCIMIENTO:
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLORES:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 5 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	82.74	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.04	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 14. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 2 (25 mM), Repetición 2 (T2R2).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INFLAB.ALIM- 25790
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	EL DREDDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T2R2 (01/05/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 7 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREO POR:	El Cliente

INFORME

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	79.53	MAL-13/AOAC 925.10
Grasa	%	2.54	MAL-03/AOAC 991.36



[Firma]
Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



8 1/1

RAL-4-1-04

Anexo 15. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 2 (25 mM), Repetición 3 (T2R3).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25701
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLI
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T2R3 (02/05/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 6 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREO POR:	El Cliente

INFORME

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	80.60	MA1-13/AOAC 925.10
Grasa	%	2.34	MA1-03/AOAC 991.36


Dr. Geovany Baróalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 16. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 3 (50 mM), Repetición 1 (T3R1).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INFLAB.ALIM- 25792
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDRIDGE NIKOLIE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T3R1 (02/05/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 6 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	79.69	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.40	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Gervany Garofalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 17. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 3 (50 mM), Repetición 2 (T3R2).



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25793
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLJE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T3R2 (02/05/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 7 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	81.40	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.07	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Geovany Garofalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 18. Análisis de grasas totales de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 3 (50 mM), Repetición 3 (T3R3).



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**

**LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS**

INF.LAB.ALIM-25794
ORDEN DE TRABAJO No 55692

SOLICITADO POR:	EL DREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T3R3 (02/05/2017)
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	10:02
FECHA DE ANÁLISIS:	08-15/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	16/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Sólido
Contenido: 5 gr.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al QSP.	
MUESTREO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Humedad	%	80.05	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	2.04	MAL-03/ AOAC 991.36


Dr. Geovany Garófalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



Anexo 19. Análisis de perfil lipídico de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Control, Repetición 1, 2 y 3.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

**LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS**

INF.LAB.ALIM- 25822
ORDEN DE TRABAJO No 55803

SOLICITADO POR:	ELDRIDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS CONTROL 1.1 (29-04-17), CONTROL 2.1 (29-04-17), CONTROL 3.1 (29-04-17)
LOTE:	----
FECHA DE ELABORACIÓN:	----
FECHA DE VENCIMIENTO:	----
FECHA DE RECEPCIÓN:	17/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	12:19
FECHA DE ANÁLISIS:	23-25/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	29/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	SOLIDO
Contenido:	15g
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREO POR:	El Cliente

PERFIL LIPIDICO

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Grasa	%	1.95	MAL-03/ AOAC 991.36
ÁCIDOS GRASOS			
Ácido Mirístico	C14:0	% 0.04	Cromatografía de Gases
Ácido Palmítico	C16:0	% 0.41	Cromatografía de Gases
Ácido Palmítico	C16:1	% 0.11	Cromatografía de Gases
Ácido Heptadecanoico	C17:0	% 0.03	Cromatografía de Gases
Ácido Oléico	C18:1n7 cis n7	% 0.54	Cromatografía de Gases
Ácido Linoléico	C18:2n6 cis n6	% 0.47	Cromatografía de Gases
Ácido Araquídico	C20:0	% 0.03	Cromatografía de Gases
Ácido γ -Linolénico	C18:3n6 n6	% 0.32	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Saturados		% 0.51	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Insaturados		% 1.44	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Monoinsaturados		% 0.65	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Poliinsaturados		% 0.79	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos TRANS		% 0.00	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos omega 3 y 6		% 0.79	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos		% 1.95	Cromatografía de Gases



[Firma]
Dr. Geovany Gardalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



1 / 1

RAL -4-1-04

Anexo 20. Análisis de perfil lipídico de *Pleurococcus* sp., Cepa CMIE-16-00, Tratamiento 1 (10 mM), Repetición 1, 2 y 3.



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**

**LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS**

INF.LAB.ALIM- 26823
ORDEN DE TRABAJO No 55803

SOLICITADO POR:	ELDREDGE NIKOLE
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	SOLCA
MUESTRA DE:	MICROALGAS
DESCRIPCIÓN:	MICROALGAS T1R1.1(30-04-17), T1R2.1 (30-04-17), T1R3.1 (01-05-17)
LOTE:	----
FECHA DE ELABORACIÓN:	----
FECHA DE VENCIMIENTO:	----
FECHA DE RECEPCIÓN:	17/05/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	12:19
FECHA DE ANÁLISIS:	23-25/05/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	29/05/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	SÓLIDO
Contenido: 15g	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

PERFIL LIPÍDICO

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Grasa	%	2.27	MAL-03/AOAC 991.36
ACIDOS GRASOS			
Acido Mirístico	C14:0	% 0.06	Cromatografía de Gases
Acido Miristoleico	C14:1	% 0.02	Cromatografía de Gases
Acido Palmítico	C16:0	% 0.47	Cromatografía de Gases
Acido Palmítoleico	C16:1	% 0.11	Cromatografía de Gases
Acido Heptadecanoico	C17:0	% 0.04	Cromatografía de Gases
Acido Oleico	C18:1n9 cis ω9	% 0.56	Cromatografía de Gases
Acido Linoléico	C18:2n6 cis ω6	% 0.59	Cromatografía de Gases
Acido Araquídico	C20:0	% 0.03	Cromatografía de Gases
Acido γ-Linolénico	C18:3n6 ω6	% 0.38	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Saturados		% 0.61	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Insaturados		% 1.66	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Monoinsaturados		% 0.69	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos Poliinsaturados		% 0.98	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos TRANS		% 0.00	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos omega 3 y 6		% 0.98	Cromatografía de Gases
Total ácidos grasos		% 2.27	Cromatografía de Gases



Dr. Geovany Garofalo
Dr. Geovany Garofalo
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



RAL -4-1-04

