

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y AMBIENTALES

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

“Obtención y caracterización de biomasa partir de *Fischerella muscicola* para aplicación en biocombustibles”

Realizado por:

MARIA FERNANDA VALENCIA VILLACÍS

Director del proyecto:

Magíster. Jefferson Rodolfo Rubio Aguiar

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN GESTION AMBIENTAL

Quito, 15 de Marzo de 2018

DECLARACION JURAMENTADA

Yo, MARIA FERNANDA VALENCIA VILLACÍS, con cédula de identidad # 1713293502, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento. A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.


MARIA FERNANDA VALENCIA VILLACÍS
CI 1713293502

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BIOMASA PARTIR DE *FISCHERELLA*
MUSCICOLA PARA APLICACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES”**

Realizado por:

MARIA FERNANDA VALENCIA VILLACÍS

como Requisito para la Obtención del Título de:

MAGISTER EN GESTION AMBIENTAL

ha sido dirigido por el profesor

JEFFERSON RODOLFO RUBIO AGUIAR

quien considera que constituye un trabajo original de su autor



Jefferson Rubio Aguiar

DIRECTOR

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

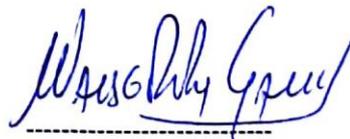
PhD. PABLO CASTILLEJOS PONS

MSC. WALBERTO GALLEGOS ERAS

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador

A stylized handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned above a dashed horizontal line.

Pablo Castillejo Pons

A handwritten signature in blue ink, written in a cursive style, positioned above a dashed horizontal line.

Walberto Gallegos Eras

QUITO, 15 de Marzo del 2018

DEDICATORIA

A mis Padres por ser el pilar fundamental de mi vida, por su apoyo incondicional y amor
inmenso

AGRADECIMIENTO

A los profesores de la Universidad SEK: Msc. Jefferson Rubio, PhD. Pablo Castillejo y Msc.

Walberto Gallegos

Al profesor PhD. Andrés Izquierdo de la Escuela Politécnica del Ejército por su valiosa
colaboración en la ejecución de este trabajo a través del Centro de Investigación de

Nanociencia y Nanotecnología de la ESPE

Al Ing. Renato Naranjo por su asesoramiento en este trabajo

Para ser sometido a:

Obtención y caracterización de biomasa partir de *Fischerella muscicola* para aplicación en biocombustibles

María Fernanda Valencia¹ & Jefferson Rodolfo Rubio²

¹Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador. Email: mafervalvil@gmail.com

²Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador. Email: rodolfo.rubio@uisek.edu.ec

- Autor de correspondencia: MBA. Jefferson Rubio, rodolfo.rubio@uisek.edu.ec

Titulo corto (Running title): Biocombustibles

Resumen

La indagación de nuevas fuentes de energía alternativas diferentes a las provenientes de combustibles fósiles han hecho que se desarrolle un campo de investigación en organismos vivos como son las microalgas aportando una posible solución a esta problemática, en este caso el uso para este trabajo de la micro alga *Fischerella musciola* se debe a las características de este microorganismo clasificado como extremófilo; los cuales tienen como hábitat natural ambientes que se consideraban demasiado hostiles para permitir la supervivencia de organismos vivos. Los microorganismos termófilos se clasifican en base a la condición física o química extrema del ambiente donde se desarrollan por ejemplo los termófilos (temperatura óptima de crecimiento superior a 45 °C); al cual pertenece la cepa que se utilizó en este trabajo; el potencial uso de esta micro alga se basa en baja contaminación de otras especies de microalgas y otros patógenos, la posibilidad de aprovechar gases de combustión provenientes de fuentes fijas a altas temperaturas y con alta concentración de CO₂ para su crecimiento, obtención de biomasa y lípidos; y potencial uso en la elaboración de biocombustibles. El cultivo fue proporcionado por la Escuela Politécnica del Ejercito (ESPE) a través del Centro de Investigación de Nanociencia y Nanotecnología, el cual fue aislado e identificado de aguas termales de Chachimbiro, Provincia de Imbabura. En el presente trabajo se realizó un crecimiento de *fischerella muscicola* haciendo uso de medio BG-11 y para su desarrollo se utilizó un fotobiorreactor de fondo plano y fotobiorreactores de 4 litros. Primero se realizó un proceso de escalado en laboratorio de 30 días, se llevó a un fotobiorreactor para su crecimiento pero no se produjo crecimiento; a partir de eso se realizaron dos ciclos de crecimiento en laboratorio de 14 y 21 días de evolución respectivamente, se obtuvieron aproximadamente 30 g de biomasa seca. Con la biomasa obtenida a nivel de laboratorio se realizó un proceso de hidrólisis ácida y extracción sólido-líquido se obtuvo un porcentaje de 3.38 de lípidos y a través de cromatografía de gases se determinó una composición que contiene ácidos grasos saturados, insaturados y poliinsaturados.

Palabras clave: *Microalgas/Biomasa/Biocombustible/Termófilo/Lípidos/Ácidos grasos*

Abstract.

The investigation of new alternative energy sources different from those from fossil fuels have led to the development of a research field in living organisms such as microalgae, providing a possible solution to this problem, in this case the use for this work of the micro alga *Fischerella musciola* is due to the characteristics of this microorganism classified as extremophile; environments that were considered to be too hostile to allow the survival of living organisms. They are classified on the basis of the extreme physical or chemical condition of the environment where thermophiles develop (optimum growth temperature above 45 ° C); to which the strain that was used in this work belongs; The potential use of this microalgae is based on the possibility of using combustion gases from fixed sources at high temperatures and with high concentration of CO₂ for its growth, obtaining biomass and lipids; and potential use in the development of biofuels. The culture was provided by the Polytechnic School of the Army (ESPE) through the Research Center of Nanoscience and Nanotechnology, which was isolated and identified from hot springs of Chachimbiro, Imbabura Province. In the present work, a growth of *musciola fischerella* was made using a BG-11 medium for its development, using a flat bottom photobioreactor and 4 liters photobioreactors. First carrying out a process of escalation in laboratorio of 30 days and after two cycles of growth of 14 and 21 days of evolution of which approximately 30 g of dry biomass were obtained. Through a process of acid hydrolysis and solid-liquid extraction a percentage of 3.38 of lipids was obtained and through gas chromatography a composition containing saturated, unsaturated and polyunsaturated fatty acids was determined.

Key words: Microalgae / Biomass / Biofuel / Lipids/ Thermophilic/ Fatty Acids

INTRODUCCIÓN

La emisión de gases de efecto invernadero a la atmósfera han obligado a la búsqueda de fuentes de energía más limpia y desarrollo de procedimientos que contribuyan con este fin, por lo que se busca estudiar la posible aplicación de una especie de microalgas cuya característica principal es ser termófila para su posible aplicación en la producción de biocombustibles, direccionada al ámbito de energías renovables.

Como antecedentes al presente trabajo en la Universidad Internacional SEK se realizaron dos trabajos en 2017 (Subía 2017; Coral 2017) referentes al uso de micro algas enfocadas en una aplicación de biocombustibles utilizando especímenes provenientes de Limoncocha tanto a nivel laboratorio como a escala piloto utilizando un fotobiorreactor de fondo plano diseñado y construido para dicho fin, durante la revisión bibliográfica se encontraron trabajos en varias Universidades del país como ESPE (Beltrán, M. 2013) , USFQ; así también se realizaron varias tesis destinadas a buscar una fuente de energía renovable con el auspicio de Corporación para la Investigación Energética, una iniciativa privada que funcionó hasta inicios del 2016 en Quito, obteniéndose varios trabajos de tesis enfocados al desarrollo de biocombustibles; así también esta organización logro compilar una colección de microalgas de varias provincias y diferentes ecosistemas en el Ecuador.

Los microorganismos extremófilos tienen como hábitat natural ambientes hostiles que incluyen manantiales calientes, sistemas hidrotermales submarinos poco profundos o sistemas de aberturas termales abisales, tierras y mares polares fríos y glaciares alpinos; lagos salinos y ambientes con valores de pH extremos, sea ácido (zonas de solfataras, minas) o alcalino (fuentes carbónicas, tierras y lagos alcalinos); y con relativa frecuencia, en zonas que combinan dos o más factores extremos, como alta temperatura y condiciones ácidas, en los manantiales ácidos y calientes de zonas volcánicas, o baja temperatura y alta presión, en los fondos marinos.

Las condiciones físico-químicas de estos ambientes distan de los valores en los que la vida de muchos organismos es posible. El agua líquida, el suministro de energía y el control de la misma y las condiciones de óxido-reducción ambientales son indispensables para la vida, por lo que los extremófilos deben vivir dentro de esos parámetros o bien ser capaces de mantenerlos regulados intracelularmente. Por ejemplo, la membrana celular de los termófilos contiene ácidos grasos saturados que mantiene a la célula lo suficientemente rígida para sobrevivir a elevadas temperaturas. Las proteínas de los termófilos son especialmente estables, ya que poseen un mayor número de puentes de hidrógeno entre sus aminoácidos, poseen menor flexibilidad, un menor número de giros en su estructura, tienen una carga superficial mayor y

pocos aminoácidos termolábiles hacia el exterior, en comparación con sus contrapartes mesófilas (Ros et. al 2014).

La influencia de las diferentes variables en el cultivo de micro algas, afectan en mayor o menor grado la producción de lípidos y su aplicación en la obtención de biocombustibles. De la investigación bibliográfica realizada, varios autores como Peñaranda et. ; concluyen que aunque el comportamiento de estos microorganismos ante condiciones de estrés fisiológico es variable entre especies; la limitación de nutrientes especialmente nitrógeno y fósforo (Peñaranda et. al 2013), asociado a altas intensidades luminosas se consideran como las condiciones más eficientes para incrementar el contenido de lípidos, en particular de triglicéridos constituidos por ácidos grasos saturados y monoinsaturados, ideales para la producción de biocombustibles. De igual forma, señalan que la presencia de pequeñas cantidades de CO₂ y la cosecha de la biomasa en la fase estacionaria de crecimiento, incrementan el contenido de lípidos y disminuyen el número de insaturaciones de los ácidos grasos que lo conforman.

La producción de lípidos depende de la especie de microalga y de parámetros ambientales tales como la intensidad y el tipo de luz, la composición del medio de cultivo, temperatura, pH y la asociación con otros microorganismos. Los cultivos de microalgas presentan la ventaja de que el contenido lipídico puede ser controlado en función de las condiciones de cultivo, principalmente mediante la limitación de nutrientes. Numerosos estudios reportan que las algas verdes triplican su contenido lipídico durante los primeros 4 a 9 días de ausencia de nitrógeno en el medio, ésta condición también modifica el perfil lipídico, ya que se han documentado situaciones en las cuales esta insuficiencia incrementa la proporción de triglicéridos y reduce los lípidos polares (Chisti, 2007).

Las productividades lipídicas elevadas y los altos contenidos de biomasa son mutuamente excluyentes, es decir, la presencia de nitrógeno promueve altas velocidades de crecimiento y un contenido lipídico bajo, mientras que la deficiencia de nitrógeno reduce la velocidad de crecimiento y resulta en un contenido de lípidos elevado. Y debido a que los lípidos microalgales son productos intracelulares, la productividad lipídica global es proporcional al contenido lipídico celular multiplicado por la productividad de biomasa, obteniendo bajas cantidades de producción lipídica debido a la baja producción de biomasa; por ello, se han considerado diferentes especies como *Chorella* y *Scenedesmus* como candidatos para la producción comercial de lípidos debido a su rápido crecimiento y fácil cultivo. Se han reportado

en *C. emersonni*, *C. minutissima*, *C. vulgaris* y *C. pyrenoisia* rendimientos de 63%, 57%, 40% y 23% de peso seco de acumulación lipídica (Cheng et al., 2010)

Los sistemas de producción de microorganismos fotosintéticos se dividen principalmente en dos tipos: sistemas abiertos (lagunas de estabilización, contenedores.) y sistemas cerrados (tanques tipo fermentador, fotobiorreactores tubulares y laminares). En los sistemas abiertos es importante determinar el material de construcción, controlar la turbulencia, la dirección de flujo y tener la mayor superficie de contacto posible con la luz solar, ya que el cultivo está en contacto directo con el ambiente; mientras que en los sistemas cerrados debe considerarse el diseño del sistema, control de temperatura, tipo y duración de iluminación, así como la carga inicial al sistema.

Existen dos principales sistemas de cultivo de microalgas: fotobiorreactores abiertos y cerrados o Raceway, estos sistemas pueden ser iluminados por luz artificial, solar o ambas. Diversos fotobiorreactores cerrados han sido estudiados debido a que permiten tener mayor control sobre las condiciones de cultivo que los sistemas abiertos, y se han obtenido mayores productividades de biomasa al mismo tiempo que se previenen agentes contaminantes (Hu et al., 2008).

Sin embargo, son pocos los fotobiorreactores cerrados que pueden emplear la energía solar eficientemente para la producción de biomasa, por ello es importante entender algunos aspectos hidrodinámicos y de transferencia de masa requeridos por fotobiorreactores para mejorar la productividad de biomasa algal. Los principales sistemas de cultivo cerrados son: columnas de burbujas columnas airlift, tanques agitados, fotobiorreactores cónicos y tubulares helicoidales. Generalmente, los fotobiorreactores operados a nivel laboratorio son iluminados artificialmente de manera interna o externa por lámparas fluorescentes o distribuidores de luz (Degen et al., 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

FISCHERELLA MUSCICOLA

La especie utilizada para la ejecución de este trabajo fue facilitada por la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE); se accedió a esta cepa debido a un convenio que existe entre la mencionada institución educativa y la Universidad Internacional SEK.

Este espécimen fue colectado y aislado en el año 2017 de las aguas termales de Chachimbiro, en la provincia de Imbabura, cantón Urcuquí, al noroeste del Ecuador. Latitud: $0^{\circ}27'37.26''$ S; Longitud: $-78^{\circ}14'14.63''$ O, Altura Media: 3050 m.s.n.m. (Moposita 2017)

Gráfico 1. Localización de toma de muestra de *fischerella muscicola*



Fuente: www.obraspublicas.gob.ec/mapas

CARACTERISTICAS DE FISCHERELLA MUSCICOLA

Gráfico 2. *Fischerella muscicola* (tomada con objetivo de 100 X en Laboratorios de la UISEK)



Tabla 1: Características de *Fischerella muscicola*, según (Moposita 2017)

Imperio	Prokaryota
Reino	Eubacteria
Clase	Cyanophyceae
Subclase	Nostocophycidae
Orden	Nostocales
Género	Fischerella

Fuente: Moposita (2017), Identificación De Bacterias, Microalgas Y Hongos Termófilos De La Fuente Geotermal “Chachimiro” Mediante Técnicas Microbiológicas y Moleculares: 24-25

MEDIO DE CULTIVO

Para el desarrollo de la cepa de *Fischerella muscicola* se utilizó Medio BG-11, el cual tiene la siguiente composición:

Tabla 2. Composición del medio de cultivo BG 11, según (Allen 1968, Allen and Stainer 1968, Rippka et al. 1979)

N°	Componente	solución (g. L-1 d H ₂ O)	Adición en 1 Litro de agua destilada
1	NaNO ₃		1.5 g
2	K ₂ HPO ₄ . 3H ₂ O	40.00	1 mL
3	MgSO ₄ . 7H ₂ O	75.0	1 mL
4	CaCl ₂ . 2H ₂ O	36.0	1 mL
5	Citric Acid	6.0	1 mL
6	Ammonium Ferric Citrate	6.0	1 mL
7	MgNa ₂ EDTA. H ₂ O	1.0	1 mL
8	Na ₂ CO ₃	20	1 mL
9	Metales Traza		1 mL
9.1	H ₃ BO ₃	2.86 g	
9.2	MnCl ₂ . 4H ₂ O	1.81 g	
9.3	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.22 g	
9.4	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.39 g	
9.5	CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.08 g	
9.6	Co(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0.05 g	

Preparar cada una de las soluciones desde el número 1 al 8; y de todos los numerales 9.1 a 9.6, mezclar en proporción 1:1, medir el pH inicial y si este es mayor a 7.8, neutralizar con una solución de HCL 1M. hasta alcanzar un valor comprendido entre 7.4 a 7.8. Esterilizar a 122°C durante 15 minutos en una autoclave; dejar enfriar y colocar en el cultivo en una proporción de 1: 3.

CONDICIONES DE CULTIVO INICIAL

Para el inicio de la fase de crecimiento se inocularon 40 mL de cultivo de *Fischerella Muscicola* con 120 mL de medio; divididos en 4 matraces de 100 mL respectivamente; partiendo de un número inicial de 150 cel/mL de las cepas. Semanalmente se realizó un escalado a matraces de 250, 500 y 1000 mL, usando agitación mecánica, suministro de aire proveniente de un compresor para continuar con el crecimiento y luz de lámparas LED

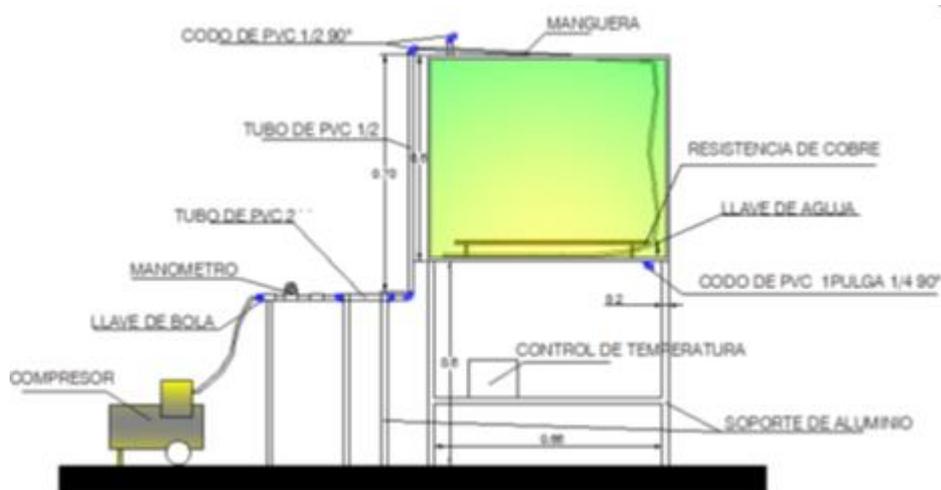
TEMPERATURA DEL PROCESO

Se realizaron 3 muestras a tres diferentes temperaturas 25, 35 y 45°C a nivel de laboratorio; con el fin de conocer la temperatura óptima de crecimiento y replicarla en el fotobiorreactor de fondo plano ubicado en las áreas exteriores de la Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales de la UISEK ; este paso se realizó con el fin de encontrar un modelo experimental que determine una condición óptima, la cual se dio a 35°C, *según* (Yunga, 2018). En la sección de resultados se presentan gráficos de crecimiento celular a la temperatura de referencia.

CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR DE FONDO PLANO

Se utilizó un reactor PBR de placas planas, con las siguientes especificaciones: el volumen de trabajo 55 L 0,7m de ancho, 0,6m de largo y ancho 0,17m. Los materiales de construcción fueron láminas de vidrio de 8mm de grosor con un marco y soportes de Aluminio, para el flujo de aire se utilizó una manguera de silicona con un diámetro interno de 4 mm, esta manguera tiene un largo de 4m y posee 200 agujeros con un diámetro de 0,50 mm, en su interior esta rellena de un cable de acero inoxidable de 3mm para darle soporte, peso, y forma a la manguera. El flujo de aire se controla por medio de una válvula de aguja, a la entrada del Reactor, y en el interior del tanque cuenta con unas válvulas de aguja que permiten regular el flujo que sale de los orificios de la manguera, el PBR tiene en la parte baja un drenaje de 1 ¼ de pulgada que permite la descarga del mismo. El PBR se encuentra ubicado en el exterior por lo tanto tiene la iluminación de la Ciudad de Quito, así mismo los parámetros de transferencia de masa fueron calculados utilizando fuentes bibliográficas a la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y a una presión atmosférica de aproximadamente 0,760 atm (Coral 2017).

Gráfico 3. Fotobiorreactor de fondo plano (Diseño)



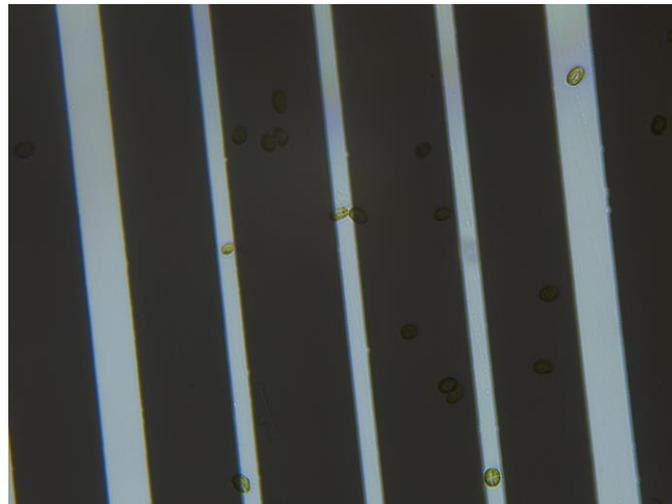
Fuente: Coral A, (2017) Diseño, construcción y operación de un fotobiorreactor plano para la producción de biomasa en condiciones ambientales a partir de microalgas y su uso posterior en la industria energética

Este proceso se inició con 3 L (150000 células/mL) de cultivo de *fischerella muscicola* en 10 L de medio de cultivo BG11, luego de varios días, tomando muestras y observándolas al microscopio se determinó de que no se encontraban células de *fischerella muscicola*; en el fondo del biorreactor de fondo plano se observó un precipitado de color pardo, por lo que se decidió evacuar este medio de cultivo, limpiar el foto biorreactor y repetir la experimentación colocando un nuevo cultivo con igual volumen y cantidad de medio de medio cultivo. Luego de varios días de iniciado el proceso se determinó el decrecimiento y desaparición de cepas de *fischerella muscicola*; se observó a través del microscopio el crecimiento de una especie no identificada.

Gráfico 4. Cultivo en Fotobiorreactor de Fondo Plano (exteriores UISEK)



Gráfico 5. Especie no identificada (objetivo 40 x Laboratorios UISEK)



CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR EN LABORATORIO

En cuatro foto biorreactores de capacidad de 4 L se cultivaron 500 mL. de *fischerella muscicola* y 1.5 mL de medio BG-11; en un ambiente en el cual no recibía la luz del sol directamente y libre de luz artificial; se estableció un crecimiento más lento de esta especie comparándolo a una experimentación realizada bajo luz artificial, teniéndose un periodo de crecimiento de alrededor de 21 días.

Gráfico 6. Cultivo en Foto biorreactores a nivel de laboratorio (Laboratorio UISEK)



CONDICIONES DE ILUMINACIÓN

Es un factor determinante en los procesos de fotosíntesis de las microalgas y se puede ver afectado por las sustancias disueltas o suspendidas en el medio líquido. La fuente de luz puede ser artificial o natural, aunque se prefiere la primera porque la luz solar contiene rayos ultravioleta que pueden ser nocivos para las células (Peña et. al 2014).

La radiación lumínica en que las microalgas y cianobacterias son capaces de realizar fotosíntesis y crecimiento celular está entre 400 y 700 nm, con una iluminancia óptima de 11 klux. Si la cantidad de luz irradiada es insuficiente, disminuirá considerablemente la velocidad de crecimiento del microorganismo; pero si hay exposición excesiva con alta intensidad por largos periodos de luz en el medio se producirá fotoinhibición, fenómeno donde los fotosistemas del microorganismo se dañan e inactivan procesos de transporte celular (Ramírez et al.2013)

Normalmente el término fotoinhibición es usado para describir la reducción de la capacidad de realizar la fotosíntesis inducida por una exposición excesiva a la radiación. Superada una determinada intensidad de radiación incidente sobre la célula, ésta inhibe su crecimiento.

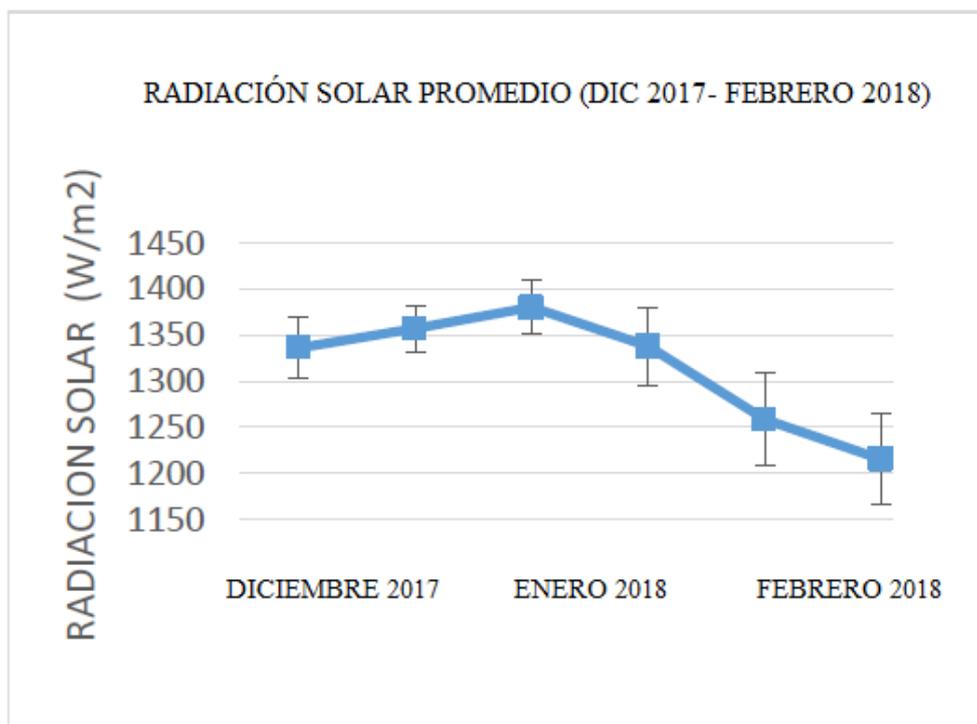
La fotoinhibición implica una desactivación parcial y reversible del aparato fotosintético y esto conduce a un rápido decremento de la eficiencia en la reacción fotosintética. Ocasionalmente, si la radiación es muy elevada, el fenómeno puede tener consecuencias catastróficas y conducir

a la foto-oxidación, que es un proceso en el que las células pueden resultar seriamente dañadas o incluso morir el aumento de los niveles de radiación no siempre va a favorecer el incremento de la tasa de crecimiento del cultivo (Berberoglu et. al 2009)

Gráfico 8: Absorción de radiación en varias especies de microorganismos, según (Ramírez et al.2013)

Organismo	Donante de electrones	Pigmento(s) Principal (es)	Regiones de absorción máxima
ALGAS:	AGUA		
<i>Chlorophyta</i>		Clorofila a y b	Clorofila a:
<i>Euglenophyta</i>		Clorofila a y b	680-685 nm(rojo)
<i>Chrisophyta</i>		Clorofila a y c (d)	430 nm(azul)
<i>Charphyta</i>		Clorofila a y b	Clorofila b:
<i>Phaeophyta</i>		Clorofila a y c	660 nm(rojo)
<i>Pyrrophyta</i>		Clorofila a y c	450nm(azul)
<i>Rhodophyta</i>		Clorofila a y ficobilinas	ficobilinas: 625-675 nm(rojo)
CIANOBACTERIAS		Clorofila a y ficobilinas	680-685 nm(rojo)
			625-675 nm(rojo)

Gráfico 9: Radiación solar promedio en Quito



FUENTE: MONITOR NACIONAL DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EXA

AIREACIÓN

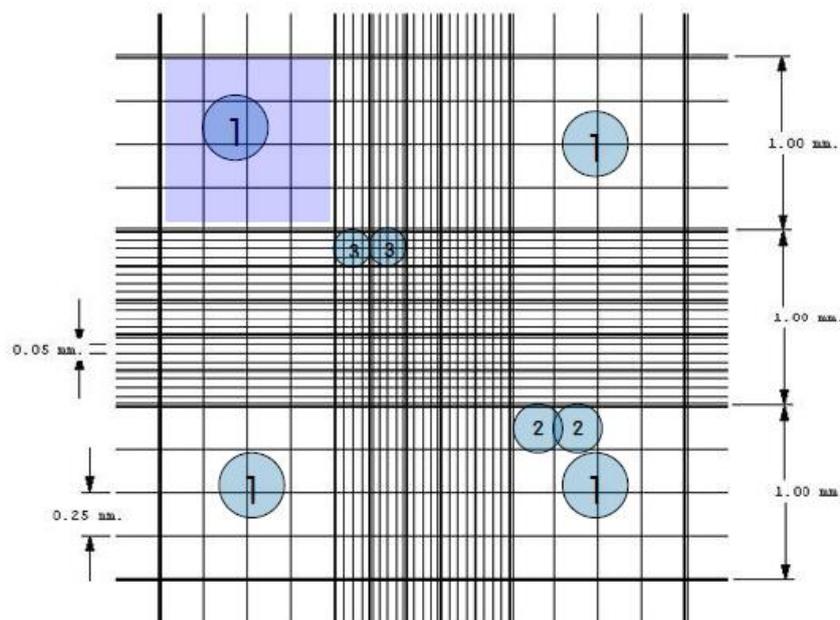
Inicialmente en el laboratorio se utilizó un compresor de 50 L. de capacidad para suministrar aire a los fotobiorreactores en su etapa de escalado; para facilitar el crecimiento y evitar su sedimentación. Posterior a eso se utilizaron bombas para pecera para acelerar el crecimiento debido a problemas que se presentaron con el compresor se utilizaron bombas para pecera de dos salidas con una capacidad de 10 L.

CONTEO CELULAR

CONTEO CELULAR MEDIANTE EL USO DE MICROSCOPIO

Para el conteo celular se aplicaron dos métodos: se usó la cámara de Neubauer como método directo, la cual es una placa de cristal con forma similar al de un portaobjetos. En la parte central de la placa existe una cuadrícula cuadrangular. La retícula completa mide 3 mm x 3 mm de lado. Subdividida a su vez en 9 cuadrados de 1mm de lado cada punto

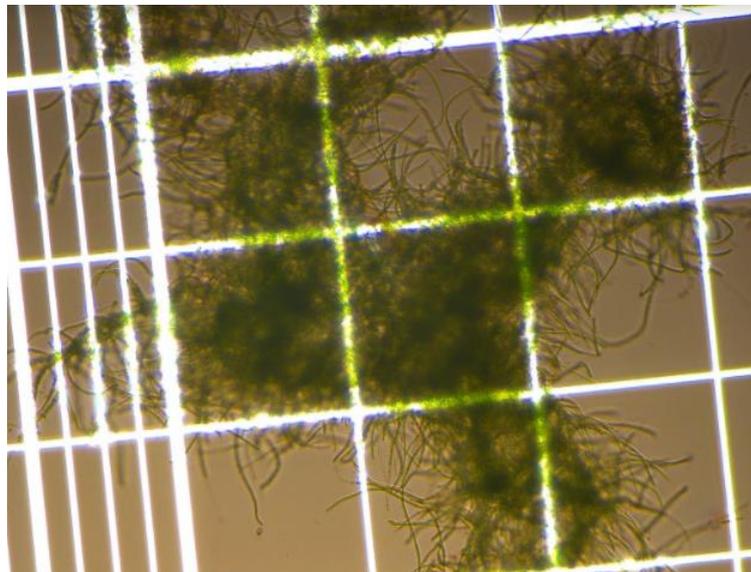
Gráfico 10. Detalle de la cuadrícula de una cámara de Neubauer



Fuente: BASTIDAS 2013

Para la realización del conteo celular en el microscopio se deben contar el número de células presentes en los cuadrantes marcados con el número 3 considerando que para esto se enumeran las células realizándolo en forma de zigzag.

Gráfico 11. Conteo celular de *Fischerella muscicola* en Cámara de Neubauer (Laboratorios UISEK)



La siguiente fórmula (Bastidas 2013) fue utilizada para calcular la concentración de células por mililitro es la siguiente:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total células contadas} \times 10.000}{\text{Número de cuadrados} \times \text{dilución}} \quad \text{Ecuación 1.}$$

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN CELULAR POR DENSIDAD ÓPTICA

Para la determinación de la longitud de onda algunos autores siguieren medir a 675 nm siendo este valor cercano al pico de absorción de la clorofila, lo cual evita que a concentraciones bajas de microalgas se permita realizar la lectura con el mínimo de errores.

PROCESAMIENTO DE BIOMASA

Una vez concluido el periodo de crecimiento se separó la masa del medio de cultivo, para este fin no se hizo uso de ningún floculante debido a que el tamaño de partícula (0,2 μm) de esta especie permite que se precipite y sedimente al fondo del recipiente que lo contiene, este proceso tardó de 5-7 horas, posteriormente la masa húmeda obtenida fue colocada en bandejas para ser llevada a la estufa durante 10 horas continuas a 80°C. Una vez se cumplió este periodo de secado fue triturada en un mortero, pesada, envasada y llevada a laboratorio para su análisis.

EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS

Al realizar la extracción y cuantificación de lípidos se ejecutó un procedimiento de hidrolisis ácida sometiendo a la muestra a calentamiento y ebullición en una solución de ácido clorhídrico para debilitar la doble pared celular de la cepa y proceder a continuación con una extracción sólido-líquido con solventes no polares (hexano) utilizando un equipo Soxhlet, dicho procedimiento fue ejecutado en un laboratorio acreditado por la SAE.

DETERMINACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO

Para determinar los componentes presentes en el aceite obtenido se realizó un análisis de cromatografía de gases, utilizando un detector FID para dicha técnica; a partir de la extracción del aceite de microalga se realizó una derivatización para obtener los esteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES), que son los compuestos resueltos por la cromatografía de gases en la mayoría de los casos.

RESULTADOS

DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DEL PROCESO A NIVEL DE LABORATORIO

- La determinación de la temperatura para este proceso se realizó mediante el cálculo de la cinética de crecimiento en función del tiempo a tres diferentes temperaturas.

Gráfico 12. Número de células vs tiempo (T=25°C)

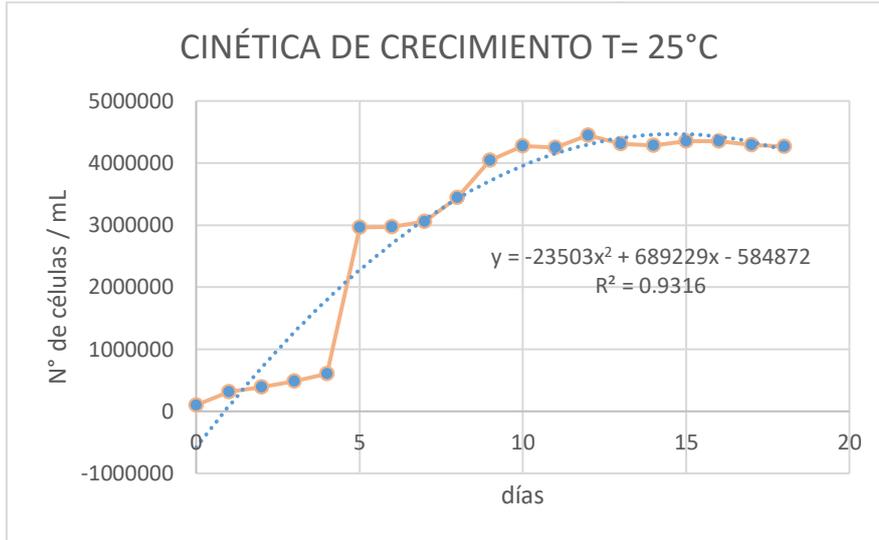


Gráfico 13. Número de células vs tiempo (T=35°C)

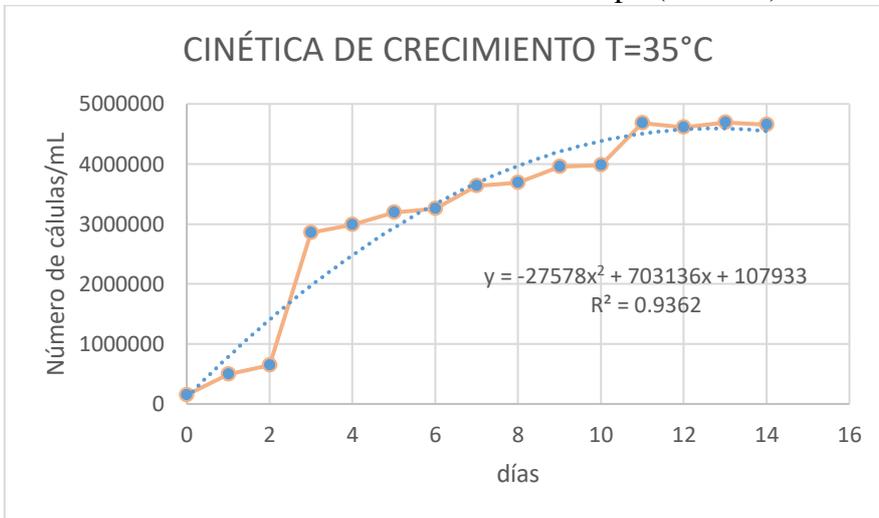
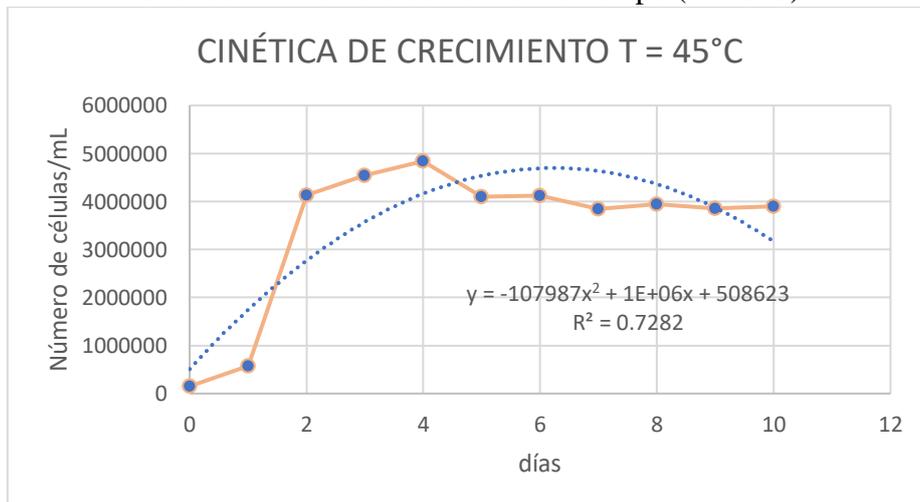


Gráfico 14. Número de células vs tiempo (T=45°C)



CINÉTICA DE CRECIMIENTO

CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR DE FONDO PLANO

- Los datos y gráficos que se adjuntan corresponden al crecimiento de *Fischerella muscicola* en un fotobiorreactor de fondo plano y de una especie no identificada

Tabla 3: Crecimiento de *Fischerella muscicola*

TIEMPO (días)	NÚMERO DE CÉLULAS
0	150000
2	10000
4	0
6	0
8	0

Gráfico 15: Número de células vs tiempo (*Fischerella muscicola*)

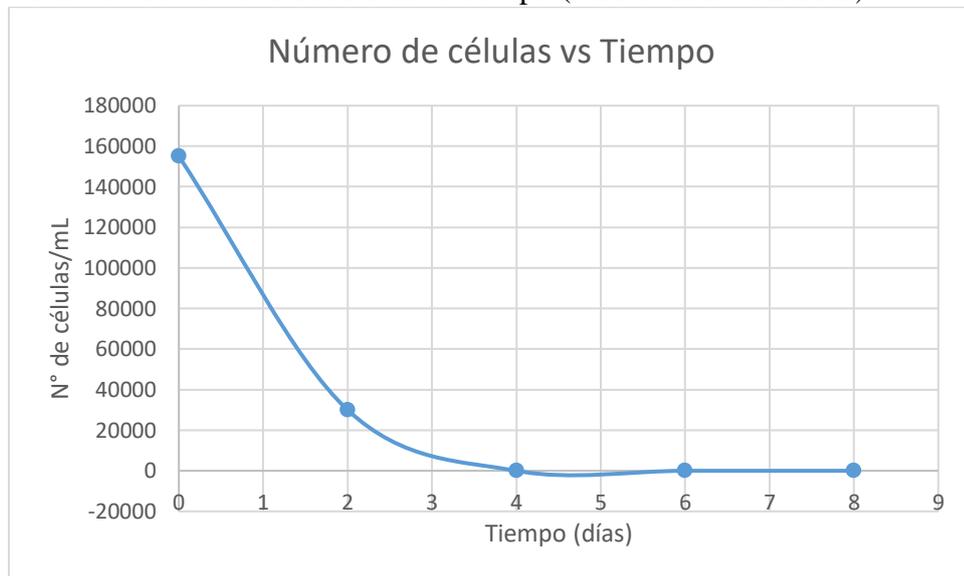


Tabla 4: Crecimiento de *Fischerella muscicola*

TIEMPO (días)	CONTEO CELULAR
0	155000
2	30000
4	0
6	0
8	0

Gráfico 16: Número de células vs tiempo (*Fischerella muscicola*)

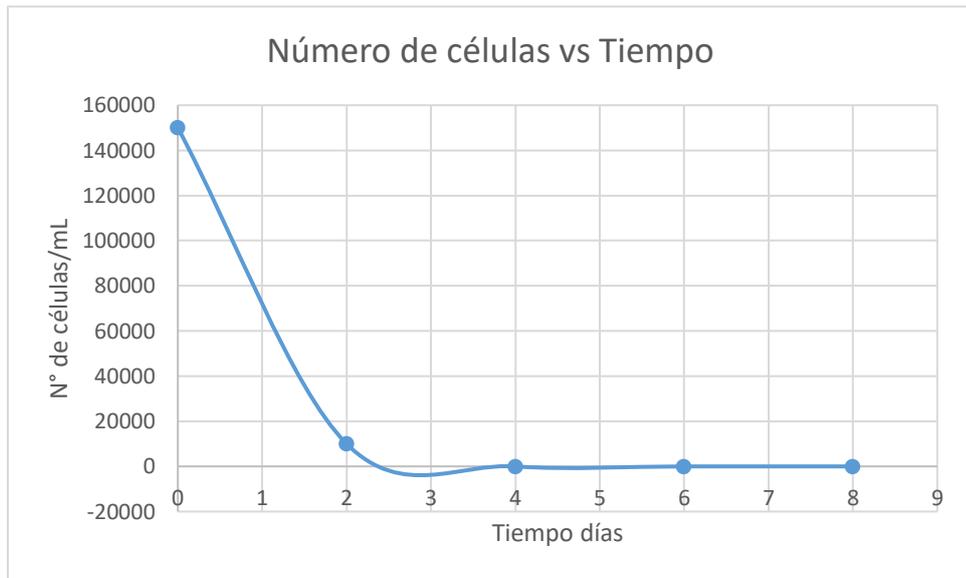
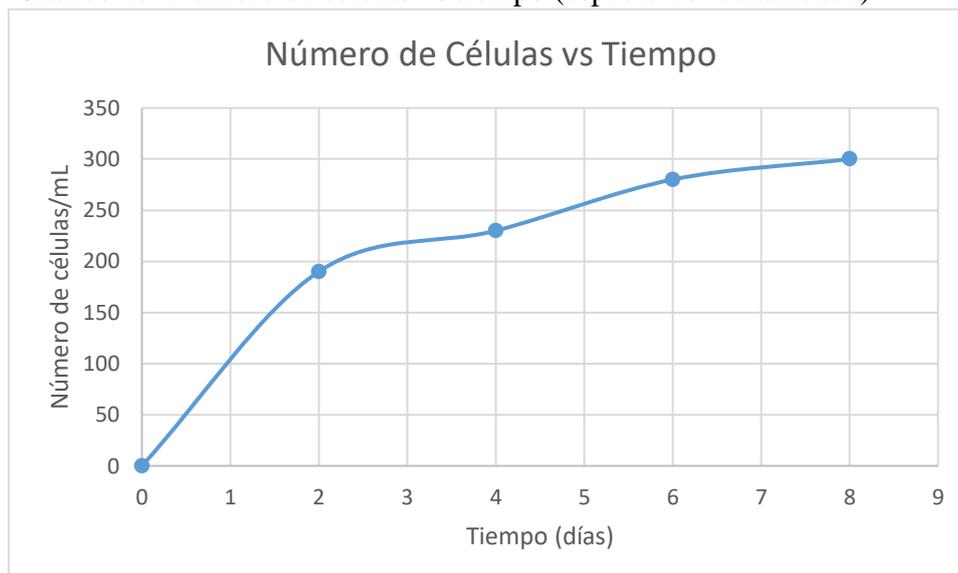


Tabla 5: Crecimiento de especie no identificada

TIEMPO (días)	NÚMERO DE CÉLULAS
0	0
2	190
4	230
6	280
8	300

Gráfico 17: Número de células vs tiempo (especie no identificada)



CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR EN LABORATORIO

- Los gráficos y tablas de datos de la siguiente sección se refieren a los datos obtenidos en el laboratorio de cuatro fotobiorreactores utilizados para el crecimiento de *Fischerella muscicola* ya que los cultivos colocados en el fotobiorreactor de fondo plano no culminaron su periodo de crecimiento muriendo pocos días después.

Tabla 6: Número de células (Fotobiorreactor 1)

Tiempo	C1	C2	C3	NÚMERO DE CÉLULAS
0	170000	130000	150000	150000 ± 20000
2	557000	450000	477777	494926 ± 55523
4	771428	525000	633333	643254 ± 123513
6	2639130	2576923	3245000	2820351 ± 369070
8	2782608	2815384	3550000	3049331 ± 433902
10	3017391	2869230	3575000	3153874 ± 372154
12	3404347	2884615	3575000	3287987 ± 359601
14	3660000	3630434	3722727	3671054 ± 47129
16	3580000	3782608	3886363	3749657 ± 155817
18	3600000	4130434	4136363	3955599 ± 307972
20	3660000	4065217	4204545	3976587 ± 282885
22	4513043	4880952	4750000	4714665 ± 186482

Gráfico 18: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 1)

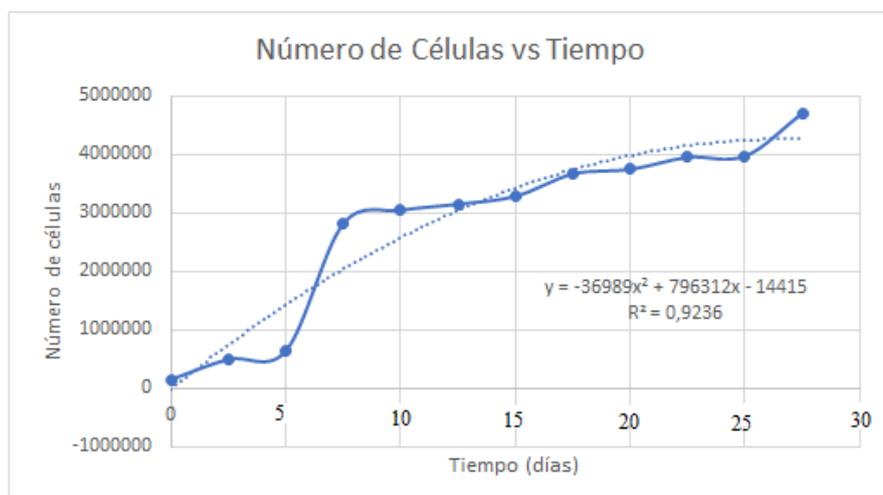


Tabla 7. Absorbancia vs Número de células (Fotobiorreactor 1)

N° CÉLULAS	N1	N2	N3	ABS.
620476	0.391	0.343	0.395	0.375±0.029
494925	0.385	0.389	0.386	0.387±0.002
646587	0.392	0.390	0.394	0.397±0.002
2890351	0.413	0.408	0.410	0.412±0.003
3049331	0.415	0.419	0.414	0.416±0.003
3190541	0.417	0.418	0.419	0.418±0.001
3254654	0.42	0.423	0.422	0.420±0.002
3667721	0.425	0.421	0.422	0.423±0.002
3682991	0.428	0.425	0.425	0.426±0.002
3953599	0.433	0.43	0.428	0.430±0.003
4049921	0.43	0.436	0.432	0.433±0.003
4707999	0.449	0.433	0.431	0.442±0.002

Gráfico 19: Número de células vs Absorbancia (Fotobiorreactor 1)

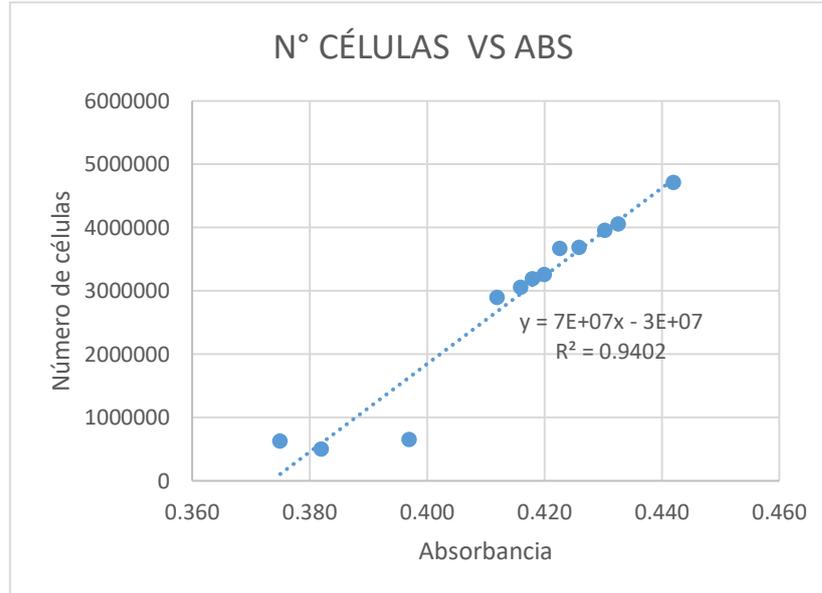


Tabla 8: Conteo celular (Fotobiorreactor 2)

Tiempo	C1	C2	C3	NÚMERO DE CÉLULAS
0	171428.	130000	1560000	620476± 813915
2	557000	450000	477777	494925± 55523
4	781428	525000	633333	646587± 128727
6	2849130	2576923	3245000	2890351± 335941
8	2982608	2615384	3550000	3049331± 470867
10	3217391	2779230	3575000	3190540± 398564
12	3304347	2884615	3575000	3254654± 347865
14	3550000	3630434	3822727	3667720± 140135
16	3380000	3782608	3886363	3682990± 267477
18	3605000	4120434	4135363	3953599± 301988
20	3680000	4065217	4404545	4049920± 362515
22	4513043	4860952	4750000	4707998± 177717

Gráfico 20: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 2)

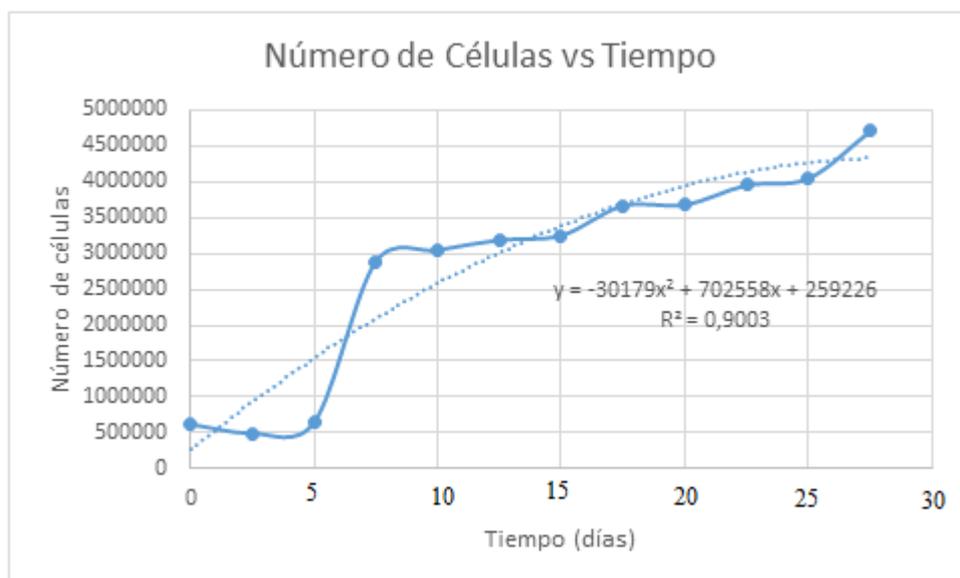


Tabla 9. Absorbancia (Fotobiorreactor 2)

N° CÉLULAS	N1	N2	N3	ABS.
155111	0.379	0.382	0.381	0.380±0.029
495614	0.385	0.389	0.386	0.387±0.002
656778	0.392	0.390	0.394	0.395±0.002
2893685	0.413	0.417	0.410	0.415±0.003
3012664	0.415	0.419	0.414	0.418±0.003
3223874	0.417	0.418	0.419	0.422±0.001
3291321	0.42	0.423	0.422	0.425±0.002
3637721	0.425	0.421	0.422	0.430±0.002
3719657	0.428	0.425	0.425	0.437±0.002
3962266	0.433	0.43	0.428	0.440±0.003
4009920	0.43	0.436	0.432	0.445±0.003
4747999	0.429	0.433	0.431	0.449±0.002

Gráfico 21: Número de células vs absorbancia (Fotobiorreactor 2)

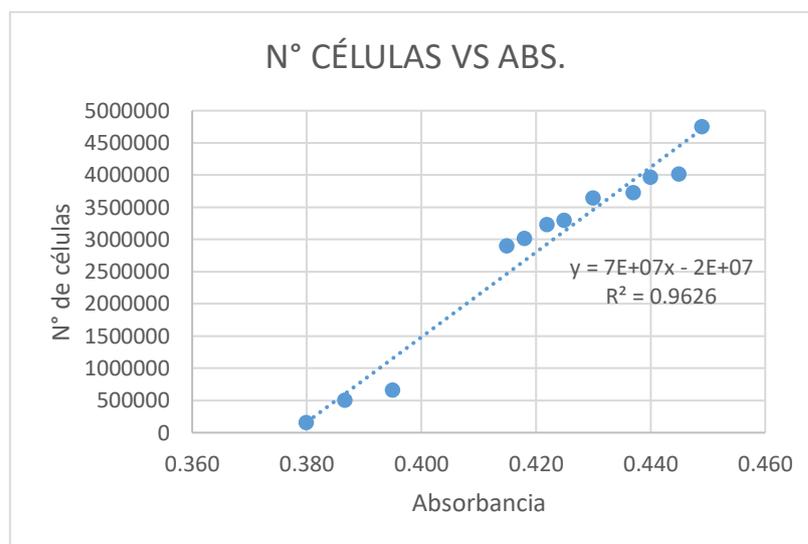


Tabla 10: Conteo celular (Fotobiorreactor 3)

Tiempo (días)	C1	C2	C3	NÚMERO DE CÉLULAS
0	172000	130000	163333	155111± 22174
2	557842	450000	479000	495614± 55808
4	772000	565000	633333	656777± 105473
6	2759130	2576923	3345000	2893684± 401328
8	2772608	2715384	3550000	3012664± 466225
10	3317391	2779230	3575000	3223874± 406043
12	3404347	2894615	3575000	3291321± 353994
14	3660000	3530434	3722727	3637720± 98063
16	3480000	3792608	3886363	3719657± 212778
18	3600000	4150434	4136363	3962266± 313811
20	3660000	4065217	4304545	4009920± 325811
22	4513043	4980952	4750000	4747998±233961

Gráfico 22: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 3)

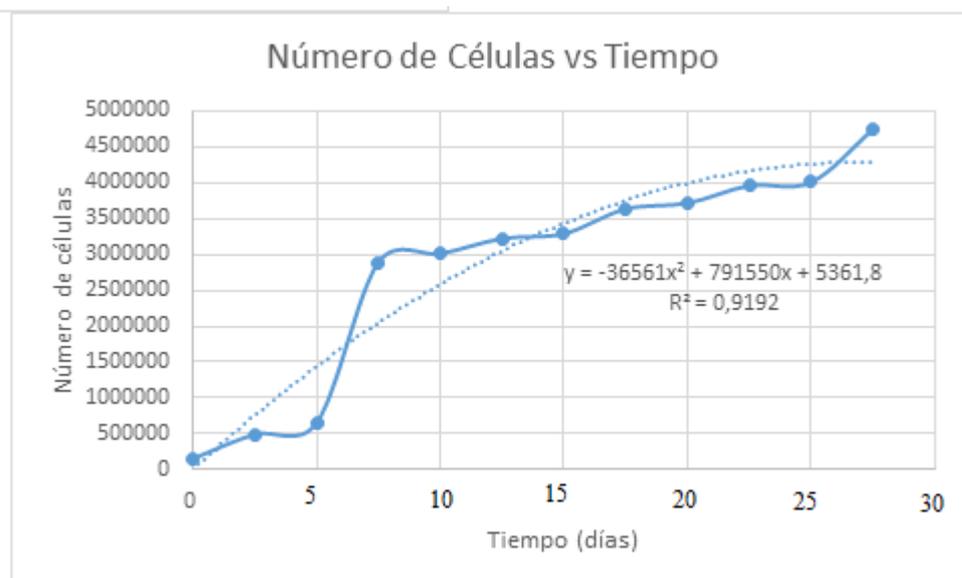


Tabla 11. Absorbancia (Fotobiorreactor 3)

N° CÉLULAS	N1	N2	N3	ABS.
155111	0.379	0.379	0.383	0.380±0.006
495614	0.387	0.389	0.386	0.387±0.003
656778	0.392	0.396	0.394	0.395±0.002
2893685	0.413	0.416	0.414	0.415±0.003
3012664	0.415	0.419	0.416	0.418±0.003
3223874	0.421	0.425	0.419	0.422±0.002
3291321	0.424	0.423	0.422	0.425±0.002
3637721	0.429	0.432	0.430	0.430±0.002
3719657	0.438	0.435	0.439	0.437±0.003
3962266	0.443	0.438	0.441	0.440±0.003
4009920	0.446	0.440	0.447	0.448±0.002
4747999	0.449	0.442	0.450	0.449±0.006

Gráfico 23: Número de células vs absorbancia (Fotobiorreactor 3)

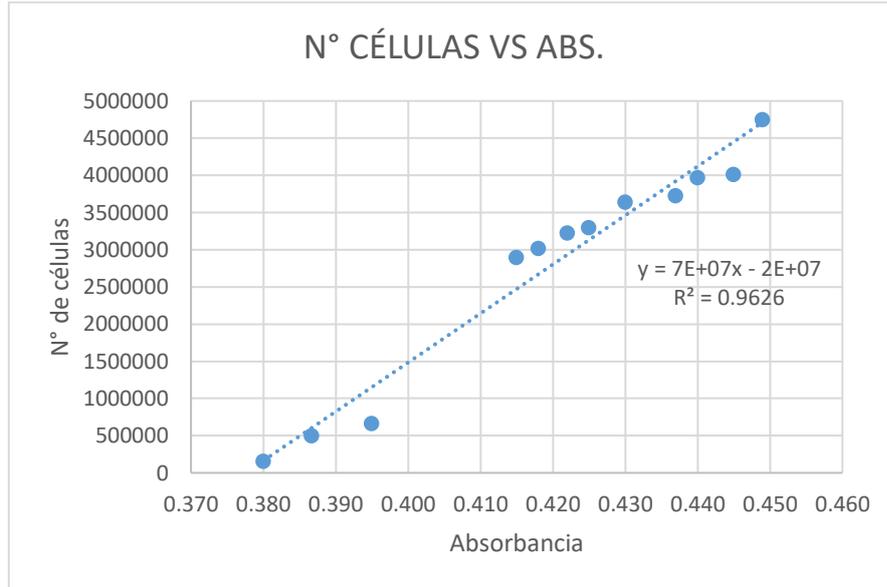


Tabla 12: Conteo celular (Fotobiorreactor 4)

Tiempo	C1	C2	C3	NÚMERO DE CÉLULAS
0	173428	130000	153333	152253±21734
2	557142	470000	477777	501640±48224
4	781428	525000	643333	649920±128341
6	2839130	2676923	3245600	2920551±292951
8	2882608	2715384	3550000	3049331±441580
10	3417391	2869230	3575000	3287207±370457
12	3304647	2884615	3575000	3254754±347886
14	3560000	3630434	3622727	3604387±38633
16	3580000	3682608	3887363	3716657±156485
18	3670000	4180434	4136363	3995599±282837
20	3690000	4085217	4304545	4026587±311440
22	4513043	4980952	4770000	4754665±234331

Gráfico 24: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 4)

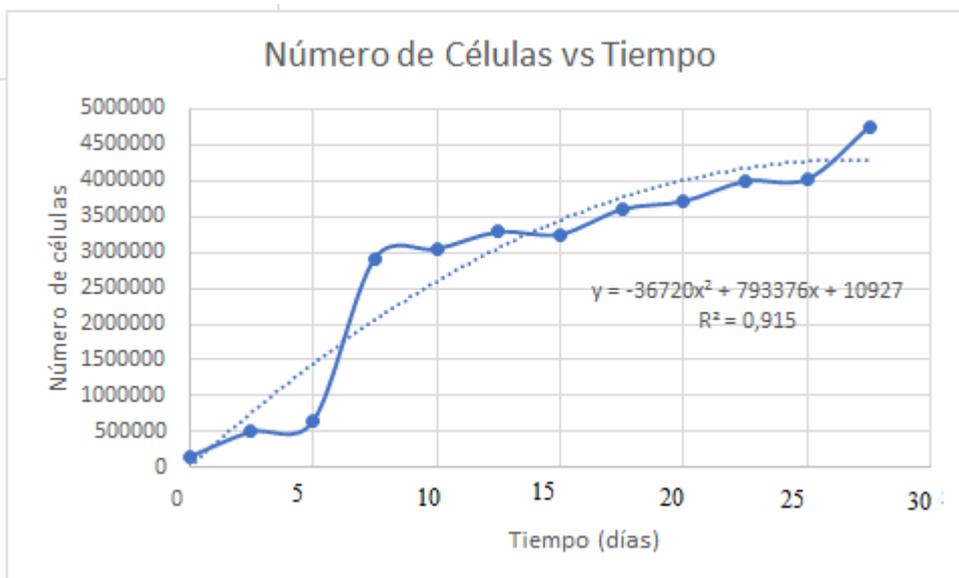


Tabla 13. Conteo celular (Fotobiorreactor 4)

N° CÉLULAS	N1	N2	N3	ABS.
151587	0.379	0.379	0.380	0.379±0.003
604000	0.387	0.389	0.386	0.385±0.002
643254	0.392	0.396	0.394	0.395±0.002
2853685	0.410	0.407	0.409	0.408±0.003
3152664	0.415	0.413	0.411	0.412±0.002
3287207	0.417	0.413	0.412	0.415±0.002
3604654	0.421	0.423	0.419	0.420±0.002
3737721	0.425	0.420	0.421	0.423±0.003
4082991	0.428	0.425	0.422	0.426±0.003
4055599	0.433	0.435	0.430	0.431±0.006
3976588	0.435	0.439	0.438	0.437±0.002
4681331	0.447	0.442	0.440	0.445±0.006

Tabla 16. Porcentaje de lípidos proveniente de *Fischerella muscicola*

- En la sección de anexos se adjunta el resultado del análisis realizado en un laboratorio acreditado por el SAE (Multyanalytica Cia Ltda.)

Masa (g.)	% lípidos
29, 7346	3.38

Tabla 17. Composición de perfil lipídico proveniente de *fischerella muscicola*

- En la sección de anexos se adjunta el resultado del análisis realizado en un laboratorio acreditado por el SAE (Multyanalytica Cia Ltda.)

Clasificación	Parámetro	Porcentaje
Ácidos grasos saturados	Ácido mirístico	2.36
	Ácido palmítico	43.06
Ácidos grasos insaturados	Ácido palmitoleico	28.68
	Ácido oleico	5.27
Ácidos grasos poliinsaturados	Ácido linoleico (Omega 6)	16.76
	Ácido linolénico (Omega 3)	3.88

DISCUSIÓN

- En lo que respecta a la cinética de crecimiento se obtuvo que la temperatura en la cual el número de células fue mayor tuvo un valor de 35°C, lo que se determinó en el diseño del experimento, como se puede observar en los gráficos 12 ,13 y 14 (resultados) que representa el conteo celular con respecto al tiempo de crecimiento. Al realizar un escalamiento en un biorreactor de fondo plano de capacidad mayor no hubo un crecimiento como el obtenido a nivel de laboratorio, razón por la cual se continuó el desarrollo del cultivo en foto biorreactores de menor volumen a nivel de laboratorio, *según* (Ros et. al 2014) la temperatura óptima de desarrollo de los termófilos es de 45°C, lo que puede deberse a las distintas condiciones geográficas y atmosféricas en las cuales fue realizado el estudio al cual se hace referencia
- En lo relacionado a la medición de densidad óptica la correlación no fue lineal, pudiendo tratarse a que no es el método adecuado para realizar esta determinación debido al tamaño de partícula de la cepa y que el mismo no es uniforme, constituyéndose una especie de flóculo cuando se encuentra en grandes cantidades, lo que dificulta tener una lectura precisa de la absorbancia. Lo que se puede corroborar al observar los coeficientes de correlación en las ecuaciones de la recta.
- En cuanto a la productividad de biomasa se tienen valores que oscilan entre 1.9 y 2.6 gramos por litro para un periodo de 21 días de cultivo sin uso de luz artificial teniendo fotoperiodos de 12 horas de luz aproximadamente. Al realizar la experiencia en un fotobiorreactor de fondo plano ubicado en los exteriores de la Facultad de Ciencias Ambientales no se tuvo un crecimiento efectivo lo cual pudo deberse a un exceso de

radiación ultravioleta en las células de la microalga, que a su vez pudo provocar una inhibición en el crecimiento.

- El porcentaje de lípidos obtenidos es de 3.38% lo cual hace que sea un porcentaje bajo si se compara con especies como *Chlorella vulgaris* que es la especie más utilizada para cultivo destinados a obtención de materia prima para biodiesel, con una cantidad de lípidos que oscila entre 10-40%, la especie *Fischerella muscicola*; según (Cheng, 2010) contiene un porcentaje de lípidos bastante cercano a la de *Spirulina platensis* con un 4% de lípidos
- El perfil lípido obtenido indica que la micro alga *Fischerella muscicola* contiene: ácido palmítico (43.06%), ácido mirístico (2,36%), ácido palmitoleico (28,68), ácido oleico (5,27), teniendo compuesto que son aptos para realizar reacciones de transesterificación y producción de biodiesel

CONCLUSIONES

- La cantidad de lípidos presentes en la biomasa de la especie *Fischerella muscicola* es menor en comparación a otras especies utilizadas para producción de materia prima destinada a biodiesel, razón por la cual no sería una especie recomendable para masificar un cultivo algal con el fin de obtener aceite para elaborar biodiesel
- La radiación UV de la ciudad de Quito es una limitante en el cultivo de esta especie en fotobiorreactores abiertos y colocados en el exterior ya que esta especie no alcanza un crecimiento máximo, razón por la cual se inhibe el desarrollo de la célula, provocando la muerte del cultivo.
- La cantidad de biomasa obtenida (29,7346 gramos) producto del crecimiento en biorreactores ubicados en laboratorio; sin estar expuestos a la luz artificial y colocados en un área en la cual no reciban de forma directa la luz solar; es menor

en comparación a lo obtenido en un proceso con luz artificial durante las 24 horas (100 gramos), según Yunga (2018).

- El proceso de crecimiento de esta cepa sin luz artificial y en fotoperiodos de luz natural indirecta de 12 horas se realiza en 21 días siendo mayor al que indica la cuando la literatura especializada, siendo este de 14 días.
- Los compuestos orgánicos que contiene el aceite de micro alga *Fischerella muscicola* son iguales a los que contienen otras especies como *Cchlorella vulgaris*; sin embargo el ácido linoleico cuantificado como Omega 3 y 6 tiene un porcentaje que alcanza aproximadamente el 20%, esta composición podría ser aprovechada para utilizar esta biomasa como un suplemento alimenticio.
- Al ser una especie relativamente nueva en ser aislada en el Ecuador; es necesario realizar más investigación en lo relacionado a las variables que intervienen en su crecimiento y producción de proteína y lípidos; tales como: medio de cultivo, cantidad de luz, agitación, suministro de CO₂.

RECOMENDACIONES

- Al realizar un cultivo de esta especie con fines de producción masiva se deberían probar otros medios de cultivo diferente al BG-11, utilizando reactivos de grado agrícola o alimenticio para evaluar su crecimiento y que permitan la obtención de aceites con características óptimas para la síntesis de biodiesel.
- Una estrategia sugerida en varios estudios es el cultivo por dos etapas, la primera etapa enfocada al crecimiento celular empleando un medio de cultivo con concentraciones suficientes de macronutrientes, y la segunda etapa direccionada a

la acumulación de lípidos mediante el uso de otro medio de cultivo con limitación de nutrientes u otro estrés fisiológico.

- Para obtener una mayor cantidad de biomasa se podría pensar en la construcción de un sistema Raceways los cuales son menos caros que los fotobiorreactores debido a su menor coste de construcción y operación, estos sistemas de producción a gran escala son los más usados. Son sistemas abiertos de poca profundidad con una paleta mecánica que proporciona la circulación de biomasa algal y nutrientes su construcción y operación, son relativamente económicas.
- Para el desarrollo de cultivos con esta especie es necesario realizar un cálculo de la cantidad de CO₂ necesario para su crecimiento; así también implementar en el fotobiorreactor de fondo plano un suministro de este gas con su respectivo medidor de flujo para dosificar la cantidad exacta del mismo.
- Realizar pruebas en el fotobiorreactor de fondo plano respecto a la cantidad de luz que recibe el cultivo; de ser posible que se encuentre protegido de la radiación ultravioleta para evaluar su crecimiento.

BIBLIOGRAFÍA:

- Bastidas, O. (2011). Conteo Celular con Hematocitómetro. Technical Note-Neubauer Chamber Cell Counting: 1–6.
- Beltrán M, (2013) Diseño, construcción y operación de un fotobiorreactor plano para la producción de biomasa en condiciones ambientales a partir de microalgas y su uso posterior en la industria energética: 7,19,23,46,48
- Berberoglu et. al (2009) Radiation characteristics of *Botryococcus braunii*, *Chlorococcum littorale*, and *Chlorella* sp. used for CO₂ fixation and biofuel production, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, Volume 110, Issue 17: 1879-1893
- Cheng, L. H., Lv, J. M., Xu, X. H., Zhang, L. y Chen, H. L. 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresource Technology*. 101(17): 6797–6804.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25(3): 294-306.
- Coral A, (2017) Diseño, construcción y operación de un fotobiorreactor plano para la producción de biomasa en condiciones ambientales a partir de microalgas y su uso posterior en la industria energética: 20-22.
- Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmidt-Staigar, U. y Trosch, W. A. 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through flashing light effect. *Journal of Biotechnology*. 92(2): 89-94.
- Guamán y González (2016) Catalogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador: 13-23
- 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 Journal*. 54: 621-639.
- Moposita (2017), Identificación De Bacterias, Microalgas Y Hongos Termófilos De La Fuente Geotermal “Chachimbiro” Mediante Técnicas Microbiológicas Y Moleculares: 24-25.
- Peña et. al (2014), Algas diminutas. Un recurso natural renovable, abundante y de gran potencial industrial. *Revista Propiedad Publi*: 8
- Peñaranda et al (2013) Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos: 3

- Ramírez et. Al (2013) Foto biorreactor: Herramienta Para Cultivo De Cianobacterias: 8, 10, 15
- Ros et. al (2014) Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico: 2.
- Subía S, (2017) Evaluación de biomasa de microalgas de la laguna de Limoncocha como materia prima para la obtención de biodiesel: 5, 30-32
- TECNOPLADES (2010) Protocolo de microalgas centro regional de investigación pesquera (crip) manzanillo colima.: 14-17.
- Valladares F, (2014) Diseño de una planta de extracción de aceite a partir de microalgas (chlorella sp). 13-21
- Yunga J (2018) Caracterización de la microalga *fischerella muscicola* para evaluar la biomasa y su potencial uso en la industria alimenticia” p.29-33

Contenido

Resumen	8
Abstract.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
FISCHERELLA MUSCICOLA	13
CARACTERISTICAS DE FISCHERELLA MUSCICOLA	14
Gráfico 2. Fischerella muscicola (tomada con objetivo de 100 X en Laboratorios de la UISEK).....	14
Tabla 1: Características de Fischerella muscicola, según (Moposita 2017).....	14
MEDIO DE CULTIVO	14
Tabla 2. Composición del medio de cultivo BG 11, según (Allen 1968, Allen and Stainer 1968, Rippka et al. 1979).....	15
CONDICIONES DE CULTIVO INICIAL	16
TEMPERATURA DEL PROCESO	16
CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR DE FONDO PLANO	16
Gráfico 3. Fotobiorreactor de fondo plano.....	17
Gráfico 4. Cultivo en Fotobiorreactor de Fondo Plano exteriores UISEK	18
Gráfico 5. Especie no identificada (objetivo 40 x Laboratorios UISEK)	18
CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR EN LABORATORIO.....	18
Gráfico 6. Cultivo en Foto biorreactores a nivel de laboratorio (Laboratorio UISEK)	19
CONDICIONES DE ILUMINACIÓN	19
Gráfico 8: Absorción de radiación en varias especies de microorganismos, según (Ramírez et al.2013)	20
Gráfico 9: Radiación solar promedio en Quito	20
AIREACIÓN	21
CONTEO CELULAR	21
CONTEO CELULAR MEDIANTE EL USO DE MICROSCOPIO.....	21
Gráfico 10. Detalle de la cuadrícula de una cámara de Neubauer.....	21
Gráfico 11. Conteo celular fischerella muscicola	22
DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN CELULAR POR DENSIDAD ÓPTICA	22
PROCESAMIENTO DE BIOMASA.....	23
EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS	23

DETERMINACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO	23
RESULTADOS	23
DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DEL PROCESO A NIVEL DE LABORATORIO.....	23
Gráfico 12. Número de células vs tiempo (T=25°C)	24
Gráfico 13. Número de células vs tiempo (T=35°C)	24
Gráfico 14. Número de células vs tiempo (T=45°C)	24
CINÉTICA DE CRECIMIENTO.....	25
CULTIVO EN FOTOBIOREACTOR DE FONDO PLANO	25
Tabla 3: Crecimiento de Fischerella muscicola	25
Gráfico 15: Número de células vs tiempo (Fischerella muscicola).....	25
Tabla 4: Crecimiento de Fischerella muscicola	25
Gráfico 16: Número de células vs tiempo (Fischerella muscicola).....	26
Tabla 5: Crecimiento de especie no identificada	26
Gráfico 17: Número de células vs tiempo (especie no identificada).....	27
CULTIVO EN FOTOBIOREACTOR EN LABORATORIO.....	27
Tabla 6: Número de células (Fotobiorreactor 1).....	27
Gráfico 18: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 1).....	28
Tabla 7. Absorbancia vs Número de células (Fotobiorreactor 1)	28
Gráfico 19: Número de células vs Absorbancia (Fotobiorreactor 1)	29
Tabla 8: Conteo celular (Fotobiorreactor 2)	29
Gráfico 20: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 2).....	30
Tabla 9. Absorbancia (Fotobiorreactor 2).....	30
Gráfico 21: Número de células vs absorbancia (Fotobiorreactor 2)	31
Tabla 10: Conteo celular (Fotobiorreactor 3)	31
Gráfico 22: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 3).....	32
Tabla 11. Absorbancia (Fotobiorreactor 3).....	32
Gráfico 23: Número de células vs absorbancia (Fotobiorreactor 3)	33
Tabla 12: Conteo celular (Fotobiorreactor 4)	33
Gráfico 24: Número de células vs. Tiempo (Fotobiorreactor 4).....	34
Tabla 13. Conteo celular (Fotobiorreactor 4)	34
Gráfico 25: Número de células vs absorbancia (Fotobiorreactor 4)	35
PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA.....	35
Tabla 14. Productividad de biomasa	35
Tabla 15. Medidas de dispersión de la masa y la relación g/l para la producción de Fischerella muscicola.....	35
Tabla 16. Porcentaje de lípidos proveniente de Fischerella muscicola.....	36

Tabla 17. Composición de perfil lipídico proveniente de fischerella muscicola.....	36
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	38
RECOMENDACIONES	39
BIBLIOGRAFÍA:.....	41
ANEXO 1	46
ANEXO 2	47

ANEXO 1

Informe de Determinación de grasa en la muestra



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-FQ.30041

SA 38668a

Cliente:	VALENCIA VILLACIS MARIA FERNANDA	Lote:	---
Dirección:	CARCELEN	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	---
Muestra de:	MATERIA PRIMA	Fecha Recepción:	23/02/2018
		Hora Recepción:	9:48
Descripción:	MICROALGA FISCHERELLA MUSCICOLA	Fecha Análisis:	26/02/2018
		Fecha Entrega:	01/03/2018
		Código:	-----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Solido
Contenido Declarado:	30g
Contenido Encontrado:	-----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO FISICO-QUIMICO

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO INTERNO	METODO DE REFERENCIA
GRASA	%	3.38	MFQ-02	AOAC 2003.06




 Ing. Lizeth Guevara
 JEFE DIVISIÓN FISICO-QUIMICO

ANEXO 2

Informe de perfil lipídico de la muestra



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.22755

SA 38667a

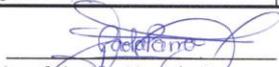
Cliente:	VALENCIA VILLACIS MARIA FERNANDA	Lote:	---
Dirección:	CARCELEN	Fecha Elaboración:	---
		Fecha Vencimiento:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Recepción:	23/02/2018
Muestra de:	MATERIA PRIMA	Hora Recepción:	9:38
Descripción:	MICROALGA FISCHERELLA MUSCICOLA	Fecha Análisis:	07/03/2018
		Fecha Entrega:	08/03/2018
		Código:	----

Características Muestra	
Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Sólido
Contenido Declarado:	30g
Contenido Encontrado:	----
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO INSTRUMENTAL PERFIL LIPÍDICO

CLASIFICACIÓN	PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO DE ENSAYO
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS	Ácido caprílico(C8:0)	0.00	%	MIN-46 CG
	Ácido cáprico(C10:0)	0.00	%	
	Ácido láurico(C12:0)	0.00	%	
	Ácido tridecanoico (C13:0)	0.00	%	
	Ácido mirístico(C14:0)	2.36	%	
	Ácido palmítico(C16:0)	43.06	%	
ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS	Ácido esteárico(C18:0)	0.00	%	
	Ácido palmítico(C16:1)	28.68	%	
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS	Ácido oleico(C18:1n9cis)	5.27	%	
	Ácido docohexanoico (Omega 3)	0.00	%	
	Ácido linoleico(C18:2n6cis) (Omega 6)	16.76	%	
	Ácido linolénico (C18:3n3) (Omega 3)	3.88	%	
	Ácidos saturados	45.42	%	
	Ácidos monoinsaturados	33.95	%	
	Ácidos poliinsaturados	20.63	%	
	Ácidos grasos Trans	< 0,5	%	




 Quím. Alm. Mercedes Parra
 JEFE DE DIVISION INSTRUMENTAL

Dirección: Cap. Edmundo Chiriboga N47-154 y Jorge Anibal Páez Telf: 2267895 - 2269743 - 2444670 Cel.: 0958850754 - 0998281144

EDICION RG: 01

www.multianalityca.com Quito - Ecuador

RIN-4.1-6 Página 1/1