



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE
Scenedesmus sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO
AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

ELABORADO POR:

Aytana Mayte Sales Proaño

Director del proyecto

PhD (c). Johanna Medrano Barboza

Quito, mayo del 2024

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, Aytana Mayte Sales Proaño, con cédula de identidad #175034881-3, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a 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.



FIRMA

175034881-3

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

El presente trabajo de investigación titulado:

**“OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE
SCENEDESMUS sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO
AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL”**

Realizado por:

Aytana Mayte Sales Proaño

Como requisito para la obtención del Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

Ha sido dirigido por la profesora

Johanna Medrano Barboza

Quien considera que constituye un trabajo original de su autor

FIRMA

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los profesores informantes:

MSc. Manuel Herrera Yela

PhD. Katty Coral Carrillo

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

FIRMA

FIRMA

Quito, mayo del 2024

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

*“La determinación es el punto inicial de todo logro.
Es la fuerza que te permite conquistar
sueños o afrontar situaciones difíciles,
es una fuerte decisión de continuar pase lo que pase,
Y que te ayuda a sentirte pleno con lo que realizas.”*

W. Clement Stone

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a mi mayor inspiración que es mi madre Norma Proaño a la cual amo inmensamente y ha sido un pilar esencial en mi vida y no podría estar más agradecida por siempre acompañarme y brindarme la fuerza para seguir adelante, por llenarme de su amor y comprensión, por ser una amiga y una guía en los momentos más difíciles.

A mi hermana Valentina que me motiva a ser mejor cada día para ella y que ha estado siempre a mi lado para brindarme animo y cariño. A mis mejores amigas Romi y Mishu las cuales han sido un apoyo en mis días más difíciles y han estado para mí en todo momento haciendome reír y brindandome hermosos recuerdos de la universidad.

A mi tutora Johanna Medrano, mi profe la cual estimo mucho y le estoy sumamente agradecida por toda su paciencia y dedicación, por brindarme no solo una buena educación sino también su apoyo, sus consejos y cariño. A los profesores Katty Coral y Andrés Herrera por todo el tiempo empleado para guiarme en este proyecto.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Resumen

Las microalgas, microorganismos fotosintéticos con capacidad de producir un alto contenido en lípidos, son capaces de degradar los nutrientes de las aguas residuales. En la presente investigación se utilizó la especie de microalga, *Scenedesmus* sp. cultivada en agua residual de faenamiento avícola esterilizada utilizando fotoperiodos 12:12 de luz artificial LED de color blanco (control) y en luz LED de color rojo, montadas en fotobiorreactores planos en condiciones de laboratorio. Se midió el crecimiento celular a partir de conteo celular en la cámara de Neubauer, los lípidos totales, ácidos grasos libres (AGL) y los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) extraídos; también se determinaron parámetros fisicoquímicos y contenido de metales del agua residual en ambos colores de luces. Los resultados indicaron que en el agua residual de faenamiento avícola es adecuada para el cultivo de esta especie de microalga, obteniéndose un mayor crecimiento de biomasa para *Scenedesmus* sp. en luz roja en comparación con la luz blanca con (5,86 g/L vs a 4,49 g/L); adicionalmente, esta especie puede ser utilizada en procesos de biorremediación debido a la remoción de nutrientes lograda en términos de Nitrógeno Total (> a 90 %), Fósforo Total (> 59 %) y Carbono Orgánico Total (> 68 %). Se registró una producción de lípidos de 12,81 % con metilciclohexano para la luz roja y 13,83 % para luz blanca; 12,08 % para la mezcla cloroformo: metanol (1:2) en luz roja y 12,67 % en luz blanca; y 38,55 % para la mezcla cloroformo: metanol (2:1) en luz roja y 21,47 % para la luz blanca. Estos mismos solventes presentaron los mejores rendimientos de ácidos grasos libres (AGL). El porcentaje de extracción de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) con biomasa directa para ambas luces fue de 80 % con ayuda del catalizador heterogéneo (resina CT-269) y en la biomasa indirecta del solvente extractor CM (2:1) con la ayuda del catalizador resina se obtuvo un porcentaje de extracción de 94 %. Este trabajo demuestra la viabilidad del agua residual de faenamiento avícola y el uso de dos tipos diferentes de luce artificiales (blanca y roja) para la producción de biomasa microalgal y obtención de lípidos a partir *Scenedesmus* sp. con miras a la obtención de biocombustibles y biotratamiento del agua residual

Palabras claves: *Scenedesmus* sp.; remoción de nutrientes; faenamiento avícola; lípidos; ácidos grasos libres, ésteres metílicos de ácidos grasos.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Abstract

Microalgae, photosynthetic microorganisms with the capacity to produce a high lipid content, are capable of degrading nutrients in wastewater. In the present investigation, the microalgae species, *Scenedesmus* sp., was used. cultured in sterilized poultry slaughter wastewater using 12:12 photoperiods of white LED artificial light (control) and red LED light, mounted in flat photobioreactors under laboratory conditions. Cell growth was measured by cell counting in the Neubauer chamber, total lipids, free fatty acids (FFA) and fatty acid methyl esters (FAME) extracted; Physicochemical parameters and metal content of the wastewater were also determined in both colors of lights. The results indicated that wastewater from poultry slaughter is suitable for the cultivation of this species of microalgae, obtaining greater biomass growth for *Scenedesmus* sp. in red light compared to white light with (5.86 g/L vs. 4.49 g/L); Additionally, this species can be used in bioremediation processes due to the nutrient removal achieved in terms of Total Nitrogen (> 90%), Total Phosphorus (> 59%) and Total Organic Carbon (> 68%). A lipid production of 12.81% was recorded with methylcyclohexane for red light and 13.83% for white light; 12.08% for the chloroform: methanol mixture (1:2) in red light and 12.67% in white light; and 38.55% for the chloroform: methanol mixture (2:1) in red light and 21.47% for white light. These same solvents presented the best yields of free fatty acids (FFA). The extraction percentage of fatty acid methyl esters (FAME) with direct biomass for both lights was 80% with the help of the heterogeneous catalyst (CT-269 resin) and in the indirect biomass of the extracting solvent CM (2:1) with the help of the resin catalyst, an extraction percentage of 94% was obtained. This work demonstrates the viability of wastewater from poultry slaughter and the use of two different types of artificial lights (white and red) for the production of microalgal biomass and obtaining lipids from *Scenedesmus* sp. with a view to obtaining biofuels and biotreatment of wastewater.

Keywords: *Scenedesmus* sp.; nutrient removal; poultry slaughtering; lipids; free fatty acids, fatty acid methyl esters.

1. Introducción

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

La microalga *Scenedesmus* sp. es una especie que se halla en una variedad de hábitats acuáticos, principalmente en agua dulce y salada (Archana, K, et al., 2024). Su estudio es de suma importancia debido a que este género de microalgas permite comprender y preservar la diversidad de los ecosistemas en los cuales habitan. Son utilizadas para la elaboración de bioproductos tales como: biocombustibles, alimentos, productos de origen químicos, entre otros (Andrade R, C. E., et al., 2020). Se han realizado estudios en los que se evidencian las grandes ventajas que esta especie presenta para contribuir al aumento de nuevas tecnologías sostenibles para elaboración estos productos, lo cual es de suma importancia debido al aumento de la demanda de nuevas fuentes renovables y ecológicamente amigables. (Morillas-España, A. et al., 2021).

La capacidad para acumular lípidos, pigmentos y otros compuestos de interés son solo otras cualidades que vuelven único a este género, ya que, si nos centramos en el ámbito del cambio climático, las propiedades con las que cuentan pueden desempeñar un papel importante para combatir este problema, ya que estas habilidades permiten a la microalga capturar CO₂ y aminorar el efecto del calentamiento global al ser organismos fotosintéticos que toman la energía solar para transformar el CO₂ que se encuentra en la atmósfera en biomasa (Quevedo, et al., 2022). Al ser una fuente viable para capturar cantidades grandes de CO₂ que se encuentran en la atmósfera permiten reservarlo como materia orgánica y darle otro uso; como por ejemplo los biocombustibles, debido a que la biomasa acumulada es rica en lípidos (CIMAV,2021).

En la actualidad, es de conocimiento general que el mundo está atravesando por varias crisis, entre estas se encuentra el aumento del precio del petróleo, recurso que ha sido uno de los tesoros más grandes para la humanidad y ha brindado un sinfín de productos, pero también un gran número de problemas. La condición limitada de los combustibles y la inquietud por el impacto ambiental que se produce debido al uso en exceso de productos derivados de los combustibles fósiles han dispuesto la necesidad de encontrar nuevas formas de producción energética e incrementar nuevas tecnologías (Carlos Fernández, et al., 2022 UIAM). Uno de los mayores logros tecnológicos de la biotecnología ha sido la producción de biocombustibles líquidos a partir de la biomasa. Estos combustibles son abundantes y renovables en zonas en las que no se dispone fácilmente de combustibles líquidos derivados del petróleo (Carlos Fernández, et al., 2022).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Recientemente se han realizado estudios sobre los efectos económicos y ambientales de la producción de biocombustibles, incluidos el etanol, el metano, el hidrógeno y el biodiésel, destacando la importancia de investigar la producción de biodiésel como una tecnología que puede sustituir el uso de combustibles generados a partir del petróleo. En comparación con el diésel normal, puede reducir las emisiones de gases de efecto invernadero hasta en un 70-90 %, que es uno de sus otros beneficios ambientales (*Romanelli, G. P, et al., 2017*)

Las microalgas de la especie *Scenedesmus* sp. tienen la cualidad de poder cultivarse en sistemas de cultivo controlados como estanques, fotobiorreactores o sistemas de cultivo en cascada, en estos es posible controlar con precisión las condiciones de crecimiento del cultivo, incluyendo temperatura, luz, concentración de CO₂ y nutrientes. Esto permite el tratamiento de aguas residuales y que las microalgas se beneficien de los nutrientes presentes en estas aguas para su crecimiento. Como resultado, hay menos contaminación y menos necesidad de fertilizantes químicos en el cultivo, los cuales son buenos para el medio ambiente y permiten obtener una biomasa óptima para la producción de biodiesel (*UNDC ,2021*).

En la actualidad, el suministro de petróleo está disminuyendo y las emisiones de CO₂ están aumentando como resultado del uso de combustibles fósiles (*Peter Nagle, et al., 2021*). Alcocer (2023) afirma que recursos como el petróleo proporcionan la mayor parte de la producción energética mundial. Debido a este hecho, siempre está buscando nuevas fuentes de energía que sean tan sustentables como sea posible.

Se han realizado investigaciones de muchas fuentes de energía natural, tales como la eólica, solar y biomasa, en respuesta al rápido agotamiento de los combustibles fósiles y al cambio climático que estos producen (*Anyanwu, et al., 2022*). Sin embargo, las fuentes todavía se encuentran limitadas por el entorno circundante. La única fuente de energía renovable que cuenta con diversas funciones y que ahora puede generar tanta energía como combustibles para el transporte directamente es la bioenergía. Según estudios encabezados como "seguimiento del transporte" afirman que las microalgas específicamente del género *Scenedesmus* sp. proporcionan energía de su biomasa, la cual se considera una fuente de energía limpia y sostenible (*Anyanwu, et al., 2022*). Debido a que la biomasa de las microalgas no daña ni consume los recursos naturales, es considerada apta como un sustituto viable del

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL petróleo, ya que promueve el equilibrio ambiental a largo plazo y puede producir energía limpia y renovable (Vélez M, et al., 2013).

Ciertos combustibles fósiles utilizados para la energía o el transporte son reemplazados por biocombustibles, que son una fuente de energía derivada de una variedad de fuentes de biomasa que son sostenibles y muestran una reducción del 50 % en las emisiones de gases de efecto invernadero (Romanelli, G. P, et al., 2017).

De acuerdo con el tipo de biomasa de la que proceden y su forma de producción se clasifican en cuatro tipos:

- **Primera generación:** proceden de granos como trigo, cebada o maíz; productos agrícolas como caña de azúcar, remolacha o melaza; o aceites como girasol o palma (AOP,2019).
- **Segunda generación:** fabricado principalmente a partir de biomasa leñosa y residuos sólidos de la agricultura y las ciudades. Estos pueden incluir, entre otros al bioetanol, biodiesel y biogás. Su creación y aplicación pueden apoyar la diversificación energética y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero. (AOP,2019).
- **Tercera generación:** este tipo de biocombustible es producido principalmente a partir de microorganismos como las microalgas. En comparación con los anteriores tipos de biocombustibles y sus diferentes fuentes de elaboración, este cuenta con ventajas mucho más favorables debido a las grandes propiedades adquiridas por las microalgas (AOP,2019).
- **Cuarta generación:** tipo avanzado de biocombustibles que utilizan algas o microorganismos genéticamente modificados para evitar la destrucción de la biomasa y capturar y almacenar completamente dióxido de carbono mediante un proceso de carbono negativo o carbono neutro. Estos biocombustibles pueden producirse como biocombustibles solares, eléctricos o sintéticos; su tipo y calidad dependerán de las características de la biomasa de microalgas genéticamente diseñada y optimizada (Biomara S, 2015).

Las microalgas representan un grupo diverso de organismos unicelulares fotosintéticos que desempeñan un papel fundamental en la ecología acuática y tienen un gran potencial en una variedad de aplicaciones biotecnológicas (Guauque Díaz, C.2018, June). Entre las numerosas especies de microalgas que existen, *Scenedesmus* sp., emerge como un género de

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL particular interés debido a sus características únicas y versatilidad en diversos contextos. Ha sido objeto de una creciente atención en las últimas décadas debido a su capacidad para capturar dióxido de carbono, elaboración de bioproductos de interés valiosos y servir como fuente de alimentos ricos en nutrientes (*Maldonado Barranza, 2011*). Además, *Scenedesmus* sp. es un género que se encuentra ampliamente distribuido en hábitats acuáticos de todo el mundo, lo que lo convierte en un organismo de estudio relevante desde una perspectiva ecológica donde participa en la cadena alimentaria como fuente de alimento para una variedad de organismos acuáticos, desde zooplancton hasta larvas de insectos. Su papel en la ecología acuática se extiende a la capacidad de modular la calidad del agua, influir en la competencia entre especies y participar en ciclos biogeoquímicos (*Beligni, et al., 2021*).

Es crucial recordar que el proceso de extracción de lípidos de las microalgas difiere dependiendo de la especie, las condiciones de crecimiento y el grado de agotamiento de nutrientes. Además, elegir el disolvente de extracción adecuado es esencial para obtener altos rendimientos de microalgas. Normalmente, disolventes orgánicos como hexano, metanol, etanol, cloroformo: metanol (1:1; 1:2; 2:1 % v/v), isopropanol, y algunos polares: mezclas de disolventes no polares se utilizan en conjunto con otras tecnologías de disrupción celular para mejorar la extracción de lípidos (*Medrano-Barboza, et al., 2022*).

El principal factor que influye en el crecimiento de las microalgas y la productividad de la biomasa es la intensidad de la luz. El brillo o la cantidad de luz emitida por una fuente de luz particular se conoce como su intensidad. Por lo tanto, la distribución y el control adecuados de la luz, que se traducen en altas tasas de crecimiento y una mayor productividad de la biomasa, serían un factor crucial para mejorar la viabilidad de la expansión de la producción de microalgas de laboratorio a piloto y, finalmente, a escala industrial. Algunos estudios soportan que pigmentos fotosintéticos como la clorofila se producen en mayor proporción a ciertas longitudes de onda que permiten una mejor absorción de la luz y mayor crecimiento de las microalgas; tal es el caso de los rangos azul (400 a 470 nm) y rojo (620 a 750 nm) del espectro. El uso de la luz blanca, cuya longitud de onda varía en un rango más amplio (400 a 700 nm), se emplea con frecuencia como medio de control (*Anyanwu R, et al., 2022*).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Más allá de su relevancia ecológica, *Scenedesmus* sp. presenta un gran potencial biotecnológico. Esta microalga tiene la capacidad de acumular lípidos, pigmentos y otros compuestos de interés, lo que la convierte en una candidata prometedora para la producción de biocombustibles, productos químicos, alimentos funcionales y fármacos (Nanduca Nolasco et al., 2021). Su rápido crecimiento y adaptabilidad son características que aumentan su atractivo en el campo de la biotecnología. Uno de los objetivos del presente trabajo de investigación es producir ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME), que son moléculas químicas compuestas por ácidos grasos transesterificados en presencia de un catalizador y luego reaccionando con metanol. Debido a sus cualidades que son comparables a las del combustible regular, los FAME de microalgas presentan una composición similar a los FAME encontrados en el biodiésel, razón por la cual se estudia este tipo de ácidos grasos como un posible combustible sustituto. Tiene una conformación CIS si el ácido graso es insaturado y una longitud de cadena que varía de 12 a 22 átomos de carbono (Fao, 2022).

Se planteó como hipótesis que el agua residual de faenamiento avícola presenta una cantidad de nutrientes óptima para el crecimiento de *Scenedesmus* sp. en 14 días de cultivo, generando un contenido de lípidos mayor al 20 %, de ácidos grasos libres superior al 80 % y ésteres metílicos de ácidos grasos superior al 90 %, para uso potencial en la producción de biodiesel. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general la determinación del rendimiento de lípidos a partir de biomasa microalgal de *Scenedesmus* sp. cultivada en agua residual de faenamiento avícola con el uso de luz artificial para la comprobación de su potencial de uso en la producción de biodiésel.

Entre los objetivos específicos se planteó:

- Caracterizar el agua residual de faenamiento avícola mediante análisis fisicoquímicos para la determinación de su uso potencial como medio de cultivo de microalgas en luz artificial.
- Analizar el crecimiento de la especie *Scenedesmus* sp. en agua residual de faenamiento avícola y luz artificial para la producción de biomasa con fines de extracción de lípidos.
- Caracterizar la fracción lipídica de la biomasa cultivada mediante procesos de extracción de lípidos totales, ácidos grasos libres y ésteres metílicos para la comprobación de su potencial de uso en la producción de biodiésel.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

2. Materiales y métodos

2.1 Sitios de estudio

Puerto Limón es una parroquia rural situada entre las parroquias de San José de Alluriquín, Luz de América y San Jacinto del Búa a 104 kilómetros de la capital del Ecuador, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, a 28°C y con una elevación aproximada de 244 m.s.n.m (Chávez Ordoñez, G. A, 2020). Se ha elegido este lugar para la recolección de aguas residuales debido a que hay varias granjas cercanas donde se faenan pollos, la ilustración 1 muestra el sitio de faenamiento avícola donde se realizó la recolección del agua residual.



Ilustración 1 Sitio de estudio ubicado en Puerto Limón, para la recolección del agua residual de faenamiento avícola.

3. Metodología

La metodología de este trabajo de titulación se dividió en tres etapas: la etapa de campo, la etapa de laboratorio y la etapa de estadística, como se muestra en la Ilustración 2.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

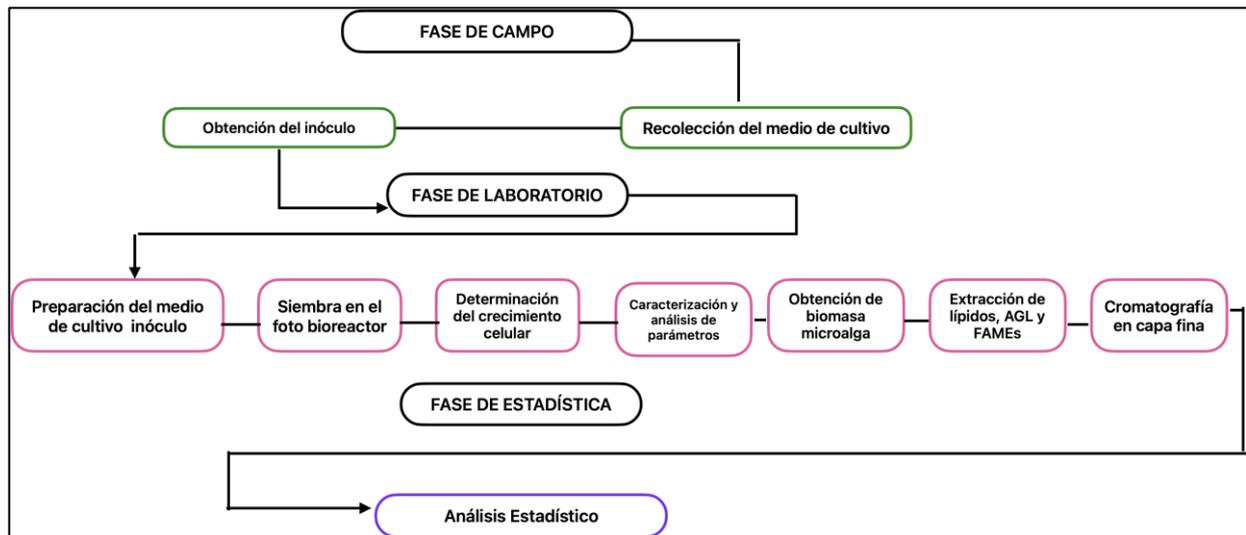


Ilustración 2. Flujo de trabajo, metodología de la investigación

3.1 Fase de campo

- **Recolección del medio de cultivo**

Se recolectaron 80 L de agua de faenamiento (40 L para realizar el control con luz blanca y 40 L realizar una comparación con luz roja) en un tanque de faenamiento de aves en Santo Domingo de los Tsáchilas. Se agitó el agua brevemente para que los nutrientes acumulados en el fondo del tanque se floten a la superficie. Se procedió a verter el agua de cultivo en 4 recipientes de plástico de 20 L cada uno, sellados con una envoltura de plástico y etiquetados adecuadamente. Finalmente se guardó los envases a 4° C para su uso posterior. La Ilustración 3 muestra una imagen de la apariencia del agua residual empleada como medio de cultivo antes de inocular las microalgas.

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**



Ilustración 3 Muestra del agua de faenamiento avícola, empleada como medio de cultivo.

- **Obtención del inóculo**

Se obtuvieron cepas de *Scenedesmus* sp. las cuales se muestran en la ilustración 4, adquiridas del Banco Español de Algas, que se preservaron en la ciudad de Quito, Ecuador en el Laboratorio de la Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas de la Universidad Internacional SEK en medio Bold's Basal Medium (BBM) con la siguiente composición: (10 g de NaNO_3 ; 3 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1 g de NaCl ; 3 g de K_2HPO_4 ; 7 g de KH_2PO_4 ; 1 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Como sustancias traza en solución: 8,82 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,44 g de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,71 g de MoO_3 ; 1,57 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,49 g de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 11,42 g de H_3BO_3 , 50 g de EDTA, 31 g de KOH , 4,98 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1 mL de H_2SO_4 concentrado). El inóculo se mantuvo en concentración 1:10 microalga:medio BBM y se mantuvo con luz artificial con aireación constante a 4,2 L/min, realizando cambios de medio cada 15 días (Anyanwu R, et al.,2022).

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

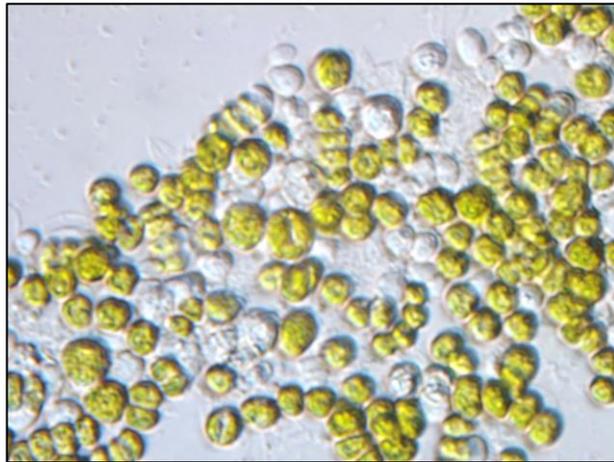


Ilustración 4 Cepa *Scenedesmus* sp. adquirida del Banco Español de Algas

3.2 Fase de laboratorio

- **Caracterización del medio de cultivo**

Se recolectaron 150 mL de agua de faenamiento avícola en una botella de desinfección UV y se analizó el contenido de los macronutrientes más importantes (mg/L) para un crecimiento óptimo de las microalgas usando los siguientes métodos HACH estandarizados: nitrógeno total (TN- metodo 10072), fósforo total (TP -metodo 10127) y carbono orgánico total (COT -metodo 10128), respectivamente (HACH 2014a), (HACH 2014c), (HACH 2014b). Las muestras fueron caracterizadas fisicoquímicamente en términos de DQO, nutrientes y los metales como hierro, plomo, níquel, cromo, sodio, potasio, calcio, cobre y molibdeno; en un laboratorio externo certificado para análisis de aguas.

- **Preparación del medio de cultivo**

Se observó la presencia de partículas sólidas en el agua de faenamiento avícola recolectada, las mismas pueden interferir con el crecimiento óptimo de las microalgas, por esta razón se utilizaron filtros cilíndricos multicapa para eliminar estas partículas. Luego, el agua filtrada se esterilizó en recipientes Pyrex de 15 L, se esterilizó en autoclave a 121°C y 15 psi durante 30 minutos, se enfrió y se almacenó en recipientes de plástico de 20 L hasta su uso.

- **Preparación del inóculo**

Se adecuaron dos fotobiorreactores, uno para ser utilizado como control en luz LED blanca y otro para comparar con luz LED roja, utilizando botellas de plástico transparentes de 5 L en los que se inoculó 360 mL de agua de faenamiento y 400 mL de consorcio. Se mantuvieron

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

a temperatura ambiente y se utilizó luz natural. Como se muestra en la Ilustración 5 durante 7 días con un fotoperiodo de 12 h y filtros de entrada y salida constantes hasta que se alcanzó una concentración de 10^6 células/mL, determinada por el recuento celular diario.



Ilustración 5 Preparación de los inóculos previo su transporte al fotobiorreactor

- **Siembra del inóculo en fotobiorreactor**

Se agregaron 4 L del inóculo al fotobiorreactor (Ilustración 6), una vez que estuvo listo. En este caso, se emplearon peceras comerciales que medían 19 cm de ancho y 32 cm de alto con un volumen total de 60 L como se observa en la ilustración 6B. Más adelante se agregó al medio de cultivo 36 L del agua de faenamiento previamente esterilizada. Se utilizaron compresores de peceras con mangueras para llevar a cabo la oxigenación y la aireación, para permitir a las microalgas dispersarse por todo el cultivo y evitar la sedimentación mediante un cultivo constante a una velocidad de 4,2 L/min. Para proporcionar una temperatura constante, los termopares se configuraron a 24 ± 3 °C. Durante quince días, el cultivo se mantuvo bajo condiciones cuidadosamente monitoreadas en el laboratorio ubicado en Quito.

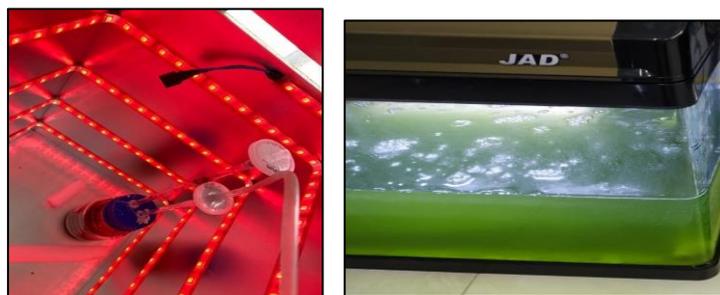


Ilustración 6 Siembra del inóculo en el fotobiorreactor

- **Determinación de crecimiento de microalgas**

Para establecer el crecimiento microalgal se tomó durante los 15 días, 50 mL de muestra del agua de crecimiento en tubos falcón etiquetados y desinfectados mediante esterilización.

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Consecutivo al paso anterior, se mantuvieron en refrigeración a 4°C, para realizar después un conteo celular (ilustración 7) y peso seco por triplicado.

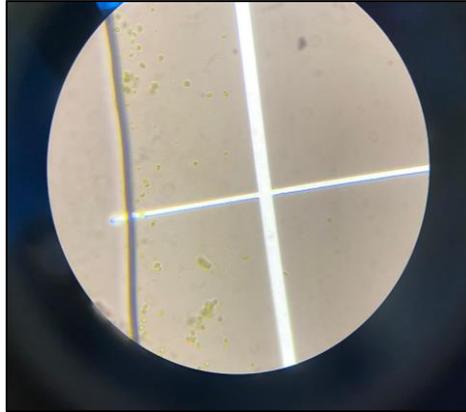


Ilustración 7 Conteo celular de la microalga *Scenedesmus* sp. en la cámara de Neubauer

Para realizar el conteo celular, se tomaron 10 µL de la muestra homogeneizada y se utilizó la cámara de Neubauer en un microscopio óptico marca Leica con el lente 40X. Se determinó la concentración celular aplicando la Ecuación 1.

$$\text{Concentración celular} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) = \frac{\# \text{células} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) * 10000}{\# \text{ de cuadros} * \text{dilución}} \quad (\text{Ec. 1})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

El peso seco se realizó utilizando papel filtro para el análisis cualitativo. Primero se rótulo los papeles filtros, posteriormente se procedió a pesar y así obtener el valor inicial, se colocó 1mL de la muestra previamente homogeneizada en el papel, se usó un vidrio reloj para sostener el filtro y se sometió a un secado en la estufa a 60 °C por 24 horas. Una vez pasado el tiempo establecido, se procedió a pesar el filtro con la muestra y mediante la Ecuación 2 se logró obtener el peso final.

$$\text{Peso seco} \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Filtro seco} + \text{muestra seca (g)} - \text{filtro inicial (g)}}{\text{volumen de la muestra (ml)}} \quad (\text{Ec. 2})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

Se utilizaron las ecuaciones de cinética bacteriana para el cálculo de la productividad volumétrica (ecuación 3), la productividad específica de la biomasa (ecuación 4), el tiempo de duplicación de las microalgas (ecuación 5) y la tasa de crecimiento específico (ecuación 6) (Medrano-Barboza et al., 2022). En la cual N_0 es el número de células en la fase exponencial, N_T

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus sp.*
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

número de células al final de la fase exponencial, T_T día final de la fase exponencial, y T_0 día de inicio de la misma fase.

$$\text{PV de biomasa} \left(\frac{g}{Ld} \right) = \frac{\text{peso de biomasa seca (g)}}{\text{Volumen de cultivo(L)*tiempo de cultivo(d)}} \quad (\text{Ec.3})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

$$\text{PE de biomasa} = \frac{\text{PV de biomasa} \left(\frac{g}{Ld} \right)}{\text{Concentración de biomasa}} (d^{-1}) \quad (\text{Ec. 4})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

$$\text{Tiempo de duplicación} (t_D) = \frac{\ln(2)}{\mu} (\text{días}) \quad (\text{Ec. 5})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

$$\text{Tasa de crecimiento específica} (\mu) = \frac{\ln\left(\frac{N_T}{N_0}\right)}{T_T - T_0} (d^{-1}) \quad (\text{Ec. 6})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

- **Parámetros fisicoquímicos**

Para poder determinar la eliminación de macronutrientes, las muestras que han sido recolectadas diariamente se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 minutos. Los sobrenadantes se usaron para analizar las concentraciones de los macronutrientes de: nitrógeno total, fósforo total y carbono orgánico total, por triplicado usando el protocolo HACH. Mediante el uso de la Ecuación 7 (Medrano-Barboza et al., 2022) se implementa la concentración inicial de los nutrientes (CI) y la concentración inicial (CI) multiplicada por la concentración final (CF) entre 100 % para poder obtener el porcentaje de eliminación de nutrientes.

$$\% \text{ Remoción de nutrientes} = \frac{(C_I - C_F)}{(C_i)} * 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

- **Cosecha y obtención de biomasa microalgal**

Una vez que el cultivo cumplió los 15 días previamente establecidos conforme a la revisión bibliográfica, se pudo observar que la microalga alcanzó la fase de lisis debido a la disminución de nutrientes en los parámetros de crecimiento celular. El producto que se obtuvo

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

del fotobiorreactor se centrifugó a 4000 rpm en tubos falcón de 50 mL durante 5 minutos para poder eliminar la mayor cantidad de humedad y obtener biomasa pura. Acabada la centrifugación total del contenido del fotobiorreactor, se recolectó 4 L del sobrenadante en una botella plástica transparente y una vez ya obtenida la cantidad mencionada anteriormente, se desechó el resto del líquido sobrenadante. La biomasa centrifugada se colocó en un vidrio de reloj y se dejó secar en una estufa a 60 °C durante 24h. Una vez transcurrido el tiempo se empezó a raspar la biomasa seca y se procedió a pesar para determinar la cantidad total y posteriormente almacenarla para su análisis.

● Extracción de lípidos

Para la extracción de lípidos se usó el método de Bligh & Dyer modificado por IMARPE (*Medrano-Barboza, et al., 2022*), utilizando los siguientes solventes: cloroformo: metanol (1:2), cloroformo: metanol (2:1), metil ciclohexano, acetato de etilo, etanol y metanol. En seis falcons de 50 mL se adicionó 0,5 g de la biomasa seca con 20 mL de los solventes y se dejó reposar por dos días. Una vez transcurrido los dos días se sometió a sonicación por 45 min para obtener una lisis celular. Se procedió a incubar a 28°C por 24 h. Finalizadas las 24 horas se volvió a sonicar por 45 minutos cada tubo y se centrifugó por 30 min. Se obtuvo el sobrenadante y se colocó en otro tubo falcón limpio. Posteriormente se agregó 6 mL de cloruro de sodio (NaCl) al 0,58 % y se homogeneizó con centrifugaciones a 4000 rpm para así poder dividir la parte acuosa de la orgánica. Se pesaron los frascos vacíos etiquetados y luego fueron llevados a la estufa a 80 °C para eliminar toda el agua y el solvente (*Medrano-Barboza, et al., 2022*). Para finalizar se obtuvo el porcentaje de lípidos mediante la Ecuación 8, en donde PL se refiere al peso del frasco con el contenido lipídico ya extraído y seco, y el PB al peso de la biomasa microalgal donde el porcentaje total será representado en % m/m.

$$\% \text{ Lípidos} = \left(\frac{PL}{PB} \right) * 100 \quad (\text{Ec. 8})$$

(*Medrano-Barboza, et al., 2022*).

Adicionalmente se calculó la productividad volumétrica de los lípidos mediante el uso de la Ecuación 9, en la cual M_L representa la masa de lípidos, V es el volumen de cultivo y t es el tiempo en días (t). También se calculó la productividad específica de la biomasa usando el valor de la productividad volumétrica de biomasa por la concentración de biomasa, como se observa en la Ecuación 10.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

$$\text{Productividad Total Volumétrica} \left(\frac{g}{L \cdot d} \right) = \left(\frac{M_L}{V \cdot T} \right) \quad (\text{Ec. 9})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

$$\text{Productividad específica biomasa (d}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Productividad Volumétrica biomasa} \left(\frac{g}{L \cdot d} \right)}{\text{Concentración de biomasa} \left(\frac{g}{L} \right)} \quad (\text{Ec.10})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

- **Extracción de ácidos grasos libres**

El protocolo de Tanzi et al. (2013) fue empleado para extracción de Ácidos Grasos Libres totales (AGL), y consiste en saponificar biomasa seca con los cinco solventes utilizados en el procedimiento previo. Se saponificaron 0,5 g de biomasa de microalgas utilizando una solución de metanol de 20 mL y 0,1 g de KOH. Luego el reactor se mantuvo a 60 °C durante cuatro horas a 300 rpm. Se filtró y se añadió HCl 1 M hasta ajustar el pH a 5. Después, se transfirió la solución a un embudo de decantación de 50 mL y se añadió la misma cantidad de agua, reinvertiendo varias veces para así eliminar los gases. Se pesaron los tubos vacíos y previamente etiquetados y se adicionaron la mezcla del embudo en los frascos para inducir a un secado a 80 °C hasta que su peso se mantenga constante. Finalmente se pesan los frascos ya secos con la muestra de AGL. Para poder calcular el porcentaje de AGL se implementó la Ecuación 11, donde (T1) hace referencia al peso del frasco vacío, (T2) al peso de frasco ya con la muestra, (W) es la masa inicial utilizada para realizar la extracción

$$\% \text{AGL} = \left(\frac{T_2 - T_1}{W} * 100 \right) \quad (\text{Ec.11})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

- **Extracción de ésteres metílicos y ácidos grasos**

Tres procedimientos se emplearon para la extracción de ésteres metílicos de ácidos grasos: el primero es directo, a partir de la biomasa seca de ambas luces, el segundo es indirecto, a partir de lípidos extraídos y de ácidos grasos libres. Se utilizó un catalizador ácido homogéneo de ácido sulfúrico (H₂SO₄) y un catalizador ácido heterogéneo (resina CT-269). El catalizador, el disolvente y la biomasa o grasa, se añadió a cada reactor de vidrio en las siguientes proporciones: 1,74:15:1 para catalizadores homogéneos y 1,1:70:1 para catalizadores heterogéneos (Medrano-Barboza et al., 2022). Para prevenir la evaporación rápida, los reactores se colocaron en un baño térmico con agua y piezas de vidrio o espuma Flex para evitar la

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

ebullición violenta, manteniendo las condiciones de temperatura de reacción a 90 °C y la velocidad de agitación a 900 rpm durante cuatro horas (ilustración 8). Para eliminar las impurezas, se añadieron 2 mL de hexano: dietiléter (80:20) después de filtrar el material. Finalmente, la fase orgánica del acuoso se separó en un embudo de decantación y se colocó en recipientes ya etiquetados y pesados antes de dejarlo secar a 80 °C hasta que su peso permaneciera constante (Medrano-Barboza, et al., 2022).

El rendimiento fue calculado mediante la ecuación 12 (Medrano-Barboza et al., 2022); en la cual el peso del tubo con la muestra seca se denomina T2, el peso inicial del tubo vacío es famoso como T1, la biomasa seca utilizada para la reacción se denomina W.

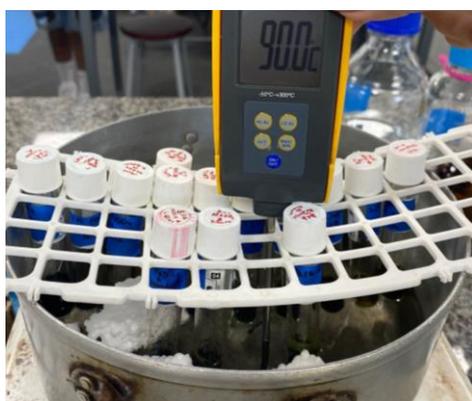


Ilustración 8 Proceso de obtención de FAME

$$\%FAME = \left(\frac{T_2 - T_1}{W} \right) * 100 \quad (\text{Ec.12})$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

- **Cromatografía de capa fina**

En la cromatografía de capa fina se utilizó una placa de gel de sílice de 40 x 80 mm y 0,2 mm de espesor. Tres puntos se marcan en una línea (conocida como origen) a 1 cm de la base, tal como se puede observar en la ilustración 9, en el primero, se empleó el estándar (oleato de colesterol) como control, en el segundo, se mostraron los lípidos de AGL y en el tercero, se mostraron los lípidos de FAME. Al extremo opuesto del origen se trazó otra línea de 1 cm que se conoce frente del disolvente. Una vez representados gráficamente los distintos puntos, las placas se calentaron a 100 °C durante 30 minutos para activarlas. Después de un tiempo, las muestras secas se agregaron a los puntos previamente descritos con 5 µL de su propio disolvente extractor, y la placa se dejó reposar sobre la fase móvil de cloroformo puro en un recipiente de vidrio sellado con cinta adhesiva durante diez minutos. 10 min más tarde, se mostró la corrida

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

mediante vapores de yodo en un frasco con perlas de yodo sublimado. Finalmente, el factor de retención (R_f) se determinó mediante la Ecuación (13), donde Y es la distancia del origen al punto de demostración y X es la distancia del origen al frente del disolvente. Para este procedimiento únicamente se usaron los mejores solventes para AGL y FAME (Medrano-Barboza, et al., 2022).

$$R_f = \left(\frac{\text{Distancia recorrida por la muestra (y)}}{\text{Distancia recorrida por la muestra (x)}} \right) \text{ (Ec. 13)}$$

(Medrano-Barboza, et al., 2022).

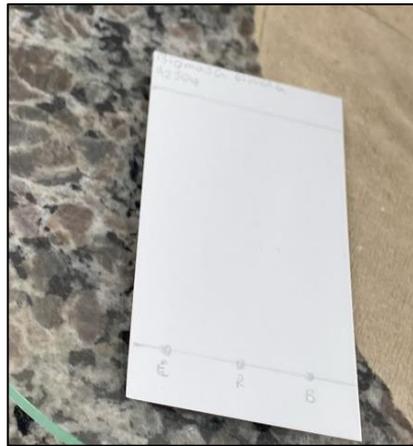


Ilustración 9 Placa de sílice usado para la cromatografía en capa fina de las muestras: Estándar (control), lípidos AGL y lípidos FAME.

- **Análisis de datos estadísticos**

Se usó la herramienta Infostat para un análisis estadístico ANOVA y adicional un test de Tukey el cual es otra herramienta estadística que se usa para realizar comparaciones, y así obtener un pvalue, el cual es un valor que permite determinar la presencia de diferencias significativas entre grupos de datos obtenidos de las anteriormente mencionadas metodologías. Los pasos seguidos para configurar el análisis en Infostat son la especificación de las variables junto con los niveles de significancia, seguido se ejecuta el análisis y una vez obtenidos los datos son interpretados para determinar la presencia o ausencia de diferencias significativas (Di Rienzo, et al., 2020).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

4. Resultados

• Determinación del crecimiento celular

La determinación del crecimiento de las microalgas se realizó mediante el conteo celular en cámara de Neubauer durante el tiempo de cultivo de la especie *Scenedesmus* sp. inoculada en agua residual de faenamiento avícola en dos tipos de luces (roja y blanca). Puede observarse en la Figura 1 que en los días 0 a 2 de cultivo las microalgas en ambas luces muestran un estado de adaptación a su medio. En luz roja se puede evidenciar el periodo de adaptación entre el día 0 al día 2 con una concentración celular de $5,43 \cdot 10^4 \pm 6,08 \cdot 10^0$ cel/mL hasta $8,79 \cdot 10^5 \pm 7,62 \cdot 10^0$ cel/mL, la fase exponencial se observa a partir del día 2 al 8 aumentando su concentración hasta $1,16 \cdot 10^6 \pm 2,5 \cdot 10^0$ cel/mL, a partir de ese día comienzan su fase de muerte celular, el cual se evidencia en los días 9 hasta el 14 disminuyendo la concentración celular hasta $5,86 \cdot 10^5 \pm 4,20 \cdot 10^0$ cel/mL.

En la luz blanca en cambio, se manifiesta un mayor tiempo de adaptación al medio debido a que a partir recién del día 3 al 6 empieza a llegar a su fase exponencial y va incrementando su concentración hasta llegar a $7,70 \cdot 10^5 \pm 6,70 \cdot 10^0$ cel/mL. Su fase estacionaria está evidenciada desde el día 7 hasta 10 contando con una concentración de $7,19 \cdot 10^5 \pm 8,16 \cdot 10^{-1}$ cel/mL. Y a partir del día 11 comienza la muerte celular disminuyendo su concentración a $4,49 \cdot 10^5 \pm 9,57 \cdot 10^{-1}$ cel/mL.

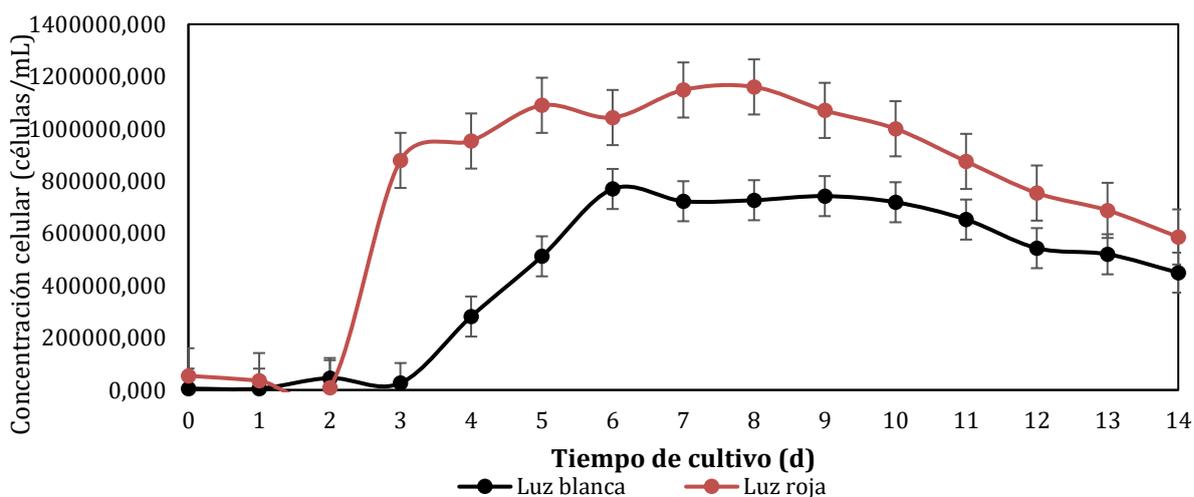


Figura 1. Curva de crecimiento celular de la microalga *Scenedesmus* sp. en un medio de cultivo de agua de faenamiento avícola y luz artificial (blanca y roja). Concentración celular (células/mL) vs Tiempo de cultivo (días).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

•Peso Seco

En relación con el peso seco de la microalga *Scenedesmus* sp. observada en la Figura 2., se evidenció una diferencia de valores en la curva, por ejemplo, en el día cero se inicia con una concentración 0,0028 g/L, del día 0 al 1 la luz roja disminuye en su valor con una concentración de 0,0022 g/L, mientras que la luz blanca muestra un mejor crecimiento con 0,0034 g/L. A partir del día 2 las microalgas en luz roja crecen de forma de exponencial hasta el día 12 con una concentración que llega a 0,0060 g/L, pasado este periodo empieza a notarse un bajo crecimiento en el día 13 hasta el 14. Para la luz blanca los datos cambian debido a que se evidencia un decrecimiento desde el día 2 al 5 con una concentración de 0,0034 g/L en comparación con la luz roja; sin embargo, pudo observarse un crecimiento exponencial a partir del día 7 hasta el 12 con una concentración que llega hasta 0,0057 g/L, pasado ese tiempo desde el día 13 al 14 empieza a darse un menor crecimiento.

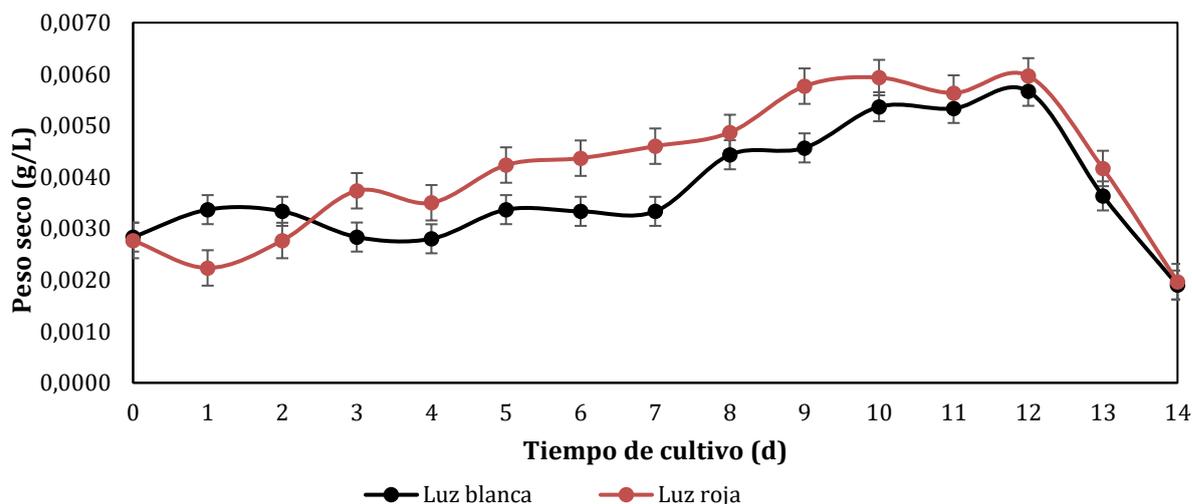


Figura 2. Peso seco de la microalga *Scenedesmus* sp. cultivada en agua de faenamiento avícola. En el eje X se observa el tiempo de cultivo (d) y en el eje Y el peso seco en (g/L).

• Parámetros cinéticos

En la tabla 1 se muestra la biomasa total, productividad volumétrica, productividad específica, tasa de crecimiento específica y tiempo de duplicación de la especie *Scenedesmus* sp. obtenidas de agua residual de faenamiento avícola con fotoperiodos de luz LED roja y blanca (control) como medio de cultivo. Se puede apreciar que para la biomasa total y productividades, los valores en la luz blanca son menores a los valores del cultivo con la luz roja, lo que muestra

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

un mejor crecimiento de la especie en este color de luz. Sin embargo; la tasa de crecimiento específica indica que hay mayor crecimiento en el control en luz blanca; por su parte, el tiempo de duplicación muestra que la especie duplica su cantidad más rápidamente en el cultivo expuesto a luz LED de color rojo. Luego de realizar un análisis ANOVA, se obtuvo un valor de $p > 0,05$, el cual indica que no hay diferencias significativas (Ver Anexos).

Tabla 1. Biomasa total y productividad de *Scenedesmus* sp. cultivadas en agua residual de faenamiento avícola con fotoperiodos de luz LED roja y blanca (control).

Parámetro	Luz roja	Luz blanca (control)
Biomasa total (g/L)	0,062	0,056
Productividad volumétrica (g/L·d)	0,113	0,091
Productividad específica (d ⁻¹)	0,226	0,181
Tasa de crecimiento específica (μ)	0,0248	0,3497
Tiempo de duplicación (d)	0,988	1,42

•Análisis de parámetros fisicoquímicos y remoción de nutrientes

Con base en los análisis realizados sobre Nitrógeno Total (NT), Fósforo Total (PT) y Carbono Orgánico Total (COT), se realizaron gráficas en las que se representan el porcentaje de remoción de nutrientes a lo largo de los 14 días de cultivo en el agua de faenamiento avícola expuestas a un fotoperiodo de 12:12 h y luz artificial roja y blanca. En la Figura 3 se muestra la gráfica con los valores que se obtuvieron de la medición de la remoción de COT en el cultivo de agua residual de faenamiento; se puede evidenciar que en el día 1 en la luz blanca hubo la mayor concentración de carbono con $11 \pm 1,41$ mg/L C; el inicio de remoción de carbonos se dio a partir del día 2 removiendo 18,18 % de carbono en el medio, entre los días 7 y 8 existe un decrecimiento de remoción con un 40,91 % pero al cabo de 14 días se alcanza una concentración final $3,50 \pm 3,53$ mg/L C equivalente a 68,18 % de remoción.

En cambio, para la luz roja la curva muestra que, en los primeros días el medio no tuvo una alta remoción de COT, su concentración al comienzo fue de $34 \pm 16,97$ mg/L C, y entre el día 0 y 1 hubo una remoción de 0,01% de carbono, mientras que en el día 2 se removió un 11,76 % del nutriente, hasta que al cabo de 14 días se obtuvo una remoción final de 77,94 % con una concentración de $7,5 \pm 2,12$ mg/L C. De forma general puede observarse que la luz roja obtuvo un mejor porcentaje de remoción final de COT respecto de la luz blanca.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

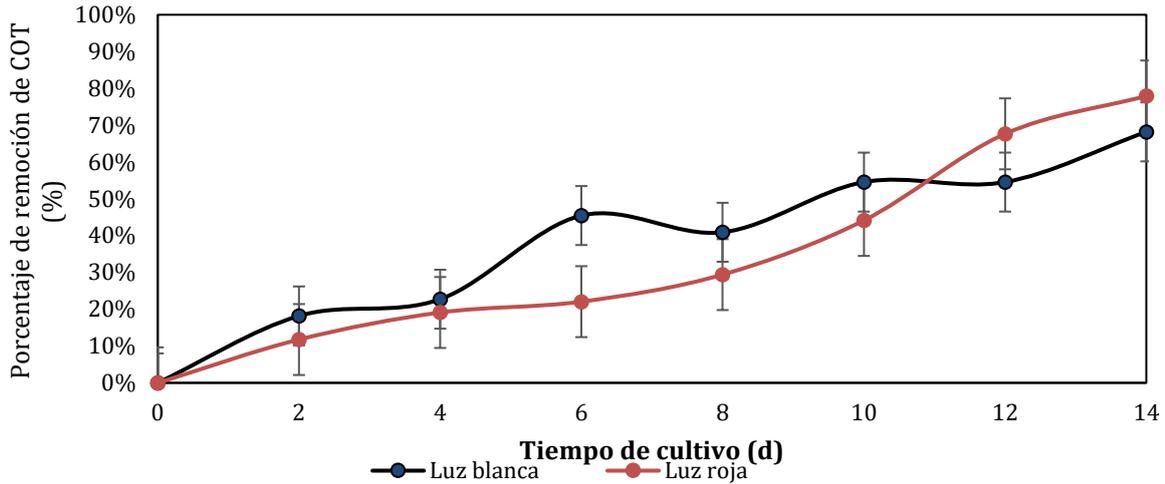


Figura 3 Porcentaje de remoción COT en el fotoperiodo con luz artificial blanca y roja

En la Figura 4 se observa el porcentaje de remoción de fósforo total (PT) que se obtuvo durante los 14 días del medio de cultivo. Al igual que en la gráfica anterior el porcentaje de remoción fue aumentando con el paso de los días. Para la luz blanca se evidencia desde el día 0 al 2 una concentración inicial de $32,5 \pm 3,53 \text{ mg/L PO}_4^{-3}$, su remoción inicial fue de 36,54 %, incrementando gradualmente hasta obtener un porcentaje de remoción final de 59,23 % con una concentración final de $2 \pm 0 \text{ mg/L PO}_4^{-3}$. Para la luz roja puede distinguirse en cambio que no existe un porcentaje de remoción muy alto en los 6 primeros días en comparación con la luz blanca. En el día 2 de 8,03 %, en el día 3 y 4 hay una disminución en relación con el día 2 con un porcentaje de remoción de 5,64 %; sin embargo, a partir del día 5 en adelante se empieza a incrementar la curva y para el día 14 se obtiene un porcentaje de remoción del 70,26 % superando al de la luz blanca, y concluyendo con una concentración de $3 \pm 2,82 \text{ mg/L PO}_4^{-3}$.

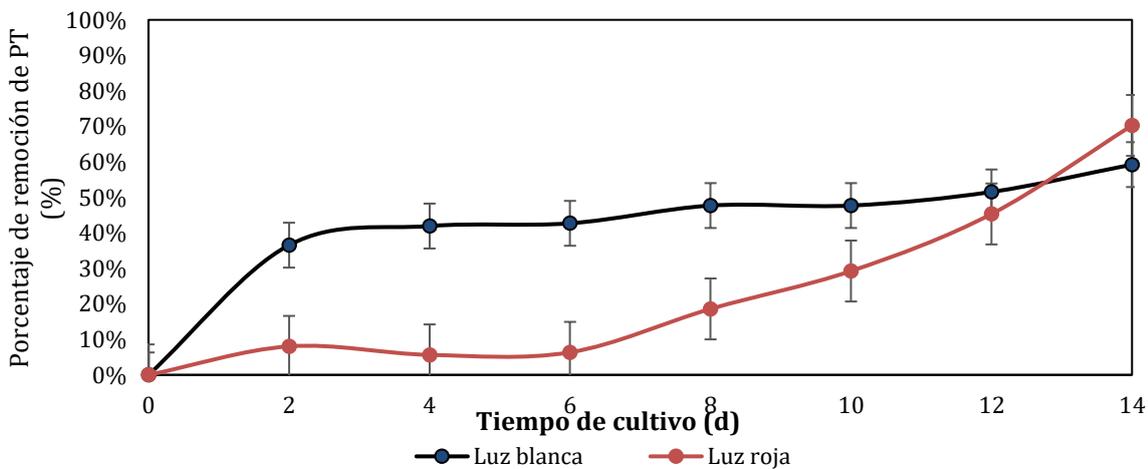


Figura 4 Porcentaje de remoción fósforo total en el fotoperiodo con luz artificial blanca y roja.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Para el porcentaje de remoción de nitrógeno total (NT) se tiene la figura 5, en donde se muestra a lo largo de los 14 días de cultivo en el agua de faenamiento avícola la curva de remoción de NT. Para la luz blanca en el día 1 se observa una mayor concentración de nitrógeno en el medio con un $32,5 \pm 3,53$ mg/L de NT. Conforme avanzaban los días el comportamiento de remoción para el nitrógeno fue en aumento con un 24,62 % en el día 2 hasta llegar a un 93,85 % en el día 14 con una concentración final de 2 ± 0 mg/L NT. En la luz roja se observó un crecimiento de remoción similar al de la luz blanca. Para el día 1 se obtuvo una concentración de $37,5 \pm 3,53$ mg/L NT; sin embargo, a partir del día 4 se observa un crecimiento exponencial hasta el 14 con una remoción del 92,00 % y una concentración final de $3 \pm 2,82$ mg/L NT. En comparación con los posteriores datos en la remoción del nitrógeno se determina que el mejor rendimiento se obtuvo en la luz blanca superando a la luz roja por una ligera diferencia.

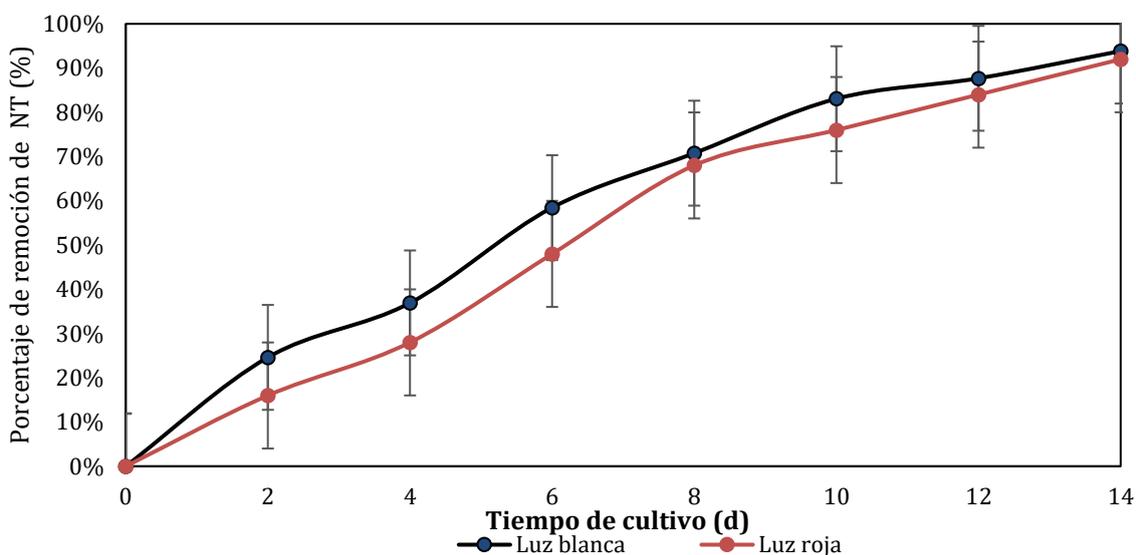


Figura 5 Porcentaje de remoción nitrógeno total en el fotoperiodo con luz artificial blanca y roja.

Los porcentajes de remoción de COT, NT y PT pueden visualizarse de forma resumida en la tabla 2 en donde se detalla la concentración inicial de los nutrientes, su concentración final y la remoción para la luz blanca. Se observa que el nutriente que obtuvo un mayor porcentaje de remoción fue el NT con 93,85 % de remoción, seguido del COT con 68,18 % y por último el PT con un porcentaje final de 59,23 %.

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Tabla 2 Datos de los porcentajes de remoción de los nutrientes COT, NT y PT, obtenidos del cultivo en luz blanca LED.

Parámetros fisicoquímicos	Concentración inicial	Concentración final	Remoción total (%)
Nitrógeno total (mg/Ln)	32,50 ± 3,53	2 ± 0	93,85 %
Fósforo total (mg/L PO_4^{-3})	26,00 ± 18,38	10,60 ± 7,49	59,23%
Carbono orgánico total (mg/L COT)	11,00 ± 1,41	3,50 ± 3,53	68,18%

En la Tabla 3 se presencia la remoción de los nutrientes cultivados en la luz roja en donde se detalla su concentración inicial y su concentración final. Al igual que en la luz blanca el nutriente que obtuvo la mejor remoción fue el NT con un 92,00 % de remoción, seguido por el COT con 77,94 % y el PT con un 70,26 % de remoción final. Los resultados de la remoción de los nutrientes realizados con el método HACH indican que para la luz roja hubo un mayor porcentaje de remoción en los nutrientes de fósforo y carbono; sin embargo, el nitrógeno en la luz blanca rindió mejor que en la roja con un margen de diferencia de 1,85 %.

Adicionalmente se realizó un análisis ANOVA en el cual los datos del porcentaje de remoción en ambas luces obtuvieron un valor de $p < 0,005$ para los nutrientes COT y PT (Ver Anexos), lo que indica que existe una diferencia significativa entre los valores analizados, esto puede deberse a varios factores como la relación nitrógeno/fósforo, el tipo de agua residual, las condiciones de cultivo o el tipo de fotoperiodo empleado (Xin L, et al., 2010).

Tabla 3 Datos de los porcentajes de remoción de los nutrientes COT, NT y PT, obtenidos del cultivo en luz roja LED.

Parámetros fisicoquímicos	Concentración inicial	Concentración final	Remoción total (%)
Nitrógeno total (mg/L n)	37,5 ± 3,53	3 ± 2,82	92,00%
Fósforo total (mg/L PO_4^{-3})	41,7 ± 1,13	12,4 ± 0,84	70,26%
Carbono orgánico total (mg/L COT)	34 ± 16,97	7,50 ± 2,12	77,94%

En la tabla 4 se observa el porcentaje de remoción de los parámetros fisicoquímicos y metales pesados en los cuales se compara las características del agua residual de faenamiento avícola original (concentración inicial) junto con el sobrenadante obtenido del cultivo (concentración final) con el fotoperiodo en luz LED blanca. Para efectos de los resultados obtenidos en la remoción de los nutrientes y metales en la luz blanca se puede evidenciar que

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

existió remoción en: el nitrógeno total con un porcentaje de 96 %, fósforo total con 64,17 %, carbono orgánico total 75,14%, en metales como el hierro 96,31 %, nitrógeno amoniacal 97,44 %, potasio 27,97 %, sodio 52,32 % y de turbidez (NTU) se obtuvo un porcentaje final de 91,50 %.

En relación con los datos obtenidos del calcio no se obtuvo una remoción debido a que se observó un incremento de concentración y del cobre, cromo, molibdeno, níquel y plomo, no fue posible medir los porcentajes de remoción porque las concentraciones estuvieron fuera del rango de la técnica analítica. Cabe resaltar que el incremento de la concentración de calcio pudo deber a que en la muestra tomada del agua de faenamiento es posible que plumas, huesos y otros elementos ricos en calcio de aves muertas hayan llegado al agua utilizada en el proceso de sacrificio. Estos restos pueden aumentar el contenido de calcio del agua de riego, lo que puede tener un impacto en la forma en que las microalgas absorben el calcio (*Fernando Gálvez Martínez et al., 2020*).

Tabla 4 Remoción de nutrientes del cultivo en luz blanca analizado en un laboratorio externo certificados para el análisis de agua en la ciudad de Quito

Parámetros fisicoquímicos	Concentración inicial (mg/l)	Concentración final (mg/l)	Remoción total (%)
Nitrógeno total (mg/L n)	135,15	5,40 ± 0,07	96
Fósforo total (mg/L PO_4^{-3})	34,52 ± 2,07	12,37 ± 0,74	64,17
Carbono orgánico total (mg/L c)	200,36 ± 7,49	49,8 ± 3,0	75,14
Calcio (mg/L)	2,10 ± 0,13	7,36 ± 0,07	-
Cobre (mg/L)	0,0050 ± 0,0003	<0,01 LC	*
Cromo (mg/L)	< 0,02 LD	<0,01 LD	*
Hierro (mg/L)	1,60 ± 0,10	0,059 ± 0,004	96,31
Molibdeno (mg/L)	< 0,1 LD	< 0,1 LD	*
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	117,25	3,0 ± 0,01	97,44
Níquel (mg/L)	< 0,05 LC	< 0,05 LC	*
Plomo (mg/L)	< 0,004 LD	< 0,004 LD	*
Potasio (mg/L)	56,20 ± 4,10	40,48 ± 2,80	27,97
Sodio (mg/L)	78,55 ± 5,73	37,43 ± 0,67	52,34
Turbidez (NTU)	73	6,2	91,50

LD: Límite de Detección. () Valores fuera de rango. (-) Sin remoción*

En la tabla 5 se muestra el porcentaje de remoción de los parámetros fisicoquímicos y metales pesados en los cuales se compara las características del agua residual de faenamiento avícola junto con el sobrenadante obtenido del cultivo con el fotoperiodo en la luz roja. En los resultados obtenidos de esta luz se evidencia una escasa remoción de los nutrientes y metales en

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

comparación con la luz blanca, se puede evidenciar que existió remoción en los siguientes nutrientes: nitrógeno total con un porcentaje de 97,38 %, carbono orgánico total 69,7 %, en metales como el hierro 92,5%, sodio 13,94% y de turbidez (NTU) se obtuvo un porcentaje final de 93,42%. En relación con los datos obtenidos del fósforo, calcio y potasio no se obtuvo una remoción debido a que se observó un incremento de su concentración; y del cobre, cromo, molibdeno, nitrógeno amoniacal, níquel y plomo, no fue posible medir los porcentajes de remoción porque las concentraciones estuvieron fuera del rango de la técnica analítica empleada. El aumento del hierro puede deberse a varios factores, las aves suelen tener niveles de hierro entre 50 y 200 µg/dL o aproximadamente entre 9 y 36 µmol/L, aunque la cifra exacta puede variar según la especie (*Estrada-Guerrero, et al., 2023*). Sin embargo, la presencia de plumas, piel y restos de carne son ejemplos de desechos orgánicos que se encuentran en el agua del sacrificio de aves. A medida que estos materiales se oxidan y desintegran, se puede liberar hierro al agua.

Tabla 5 Remoción de nutrientes del cultivo en luz roja analizado en un laboratorio externo certificados para el análisis de agua en la ciudad de Quito.

Parámetros fisicoquímicos	Concentración inicial	Concentración final	Remoción total (%)
Nitrógeno total (mg/L N)	135,15	3,54 ±0,01	97,38
Fósforo total (mg/L PO_4^{-3})	34,52 ±2,07	43,73 ± 2,62	-
Carbono orgánico total (mg/L C)	200,36 ± 7,49	60,7 ± 3,6	69,7
Calcio (mg/L)	2,10 ±0,13	3,88 ± 0,04	-
Cobre (mg/L)	0,0050 ± 0,0003	<0,01 LC	*
Cromo (mg/L)	< 0,02 LD	< 0,01 LD	*
Hierro (mg/L)	1,60 ± 0,10	0,12 ± 0,01	92,5
Molibdeno (mg/L)	< 0,1 LD	< 0,1 LD	*
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	117,25	<0,3 LC	*
Níquel (mg/L)	< 0,05 LC	< 0,05 LC	*
Plomo (mg/L)	< 0,004 LD	0,0219 ± 0,0009	*
Potasio (mg/L)	56,20 ± 4,10	67,10 ± 4,65	-
Sodio (mg/L)	78,55 ± 5,73	67,60 ± 1,22	13,94
Turbidez (NTU)	73	4,8	93,42

LD: Límite de Detección. () Valores fuera de rango. (-) Sin remoción*

•Extracción de lípidos

Conforme con los lípidos extraídos por los solventes metanol, etanol, cloroformo: metanol (CM) (1:2), cloroformo: metanol (2:1), acetato de etilo y metilciclohexano analizados en biomasa seca obtenida de *Scenedesmus* sp. la cual fue cultivada en agua residual de faenamiento avícola, En la Tabla 6 se muestra la productividad volumétrica para cada solvente extractor; puede observarse que los mejores solventes extractores para lípidos en ambas luces son

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

en primer lugar CM (2:1) obteniendo un porcentaje de lípidos del 21,47% y una producción de lípidos de 1,56 g/L·d para el control en luz blanca, mientras que para la luz roja los valores fueron de 38,55% y 0,330 g/L·d. El segundo mejor solvente fue el MCH con un porcentaje de obtención de lípidos de 12,81 % y una producción total de 0,009 g/L·d para luz roja y de 13,83% con una productividad de 0,020 g/L·d para la luz blanca y como tercer solvente tenemos al CM (1:2) con un 12,08 % de lípidos y una productividad volumétrica de 0,037 d⁻¹ en luz roja y 12,67% con una productividad de 0,019 g/L·d luz blanca.

Para los solventes restantes (etanol, metanol y acetato de etilo) no se observó una buena extracción de lípidos debido a que su porcentaje oscilaba entre 4,62 % para el acetato, 8,20 % para el etanol y un 11,32 % para el metanol. Cabe destacar que el porcentaje de obtención de lípidos de cada solvente en ambas luces varía; por ejemplo, para la luz roja se obtuvo un mejor rendimiento con el CM (2:1) que, en la luz blanca; sin embargo, el MCH obtuvo mejor resultado en la luz blanca y para el CM (1:2) en ambas luces permitió una extracción similar.

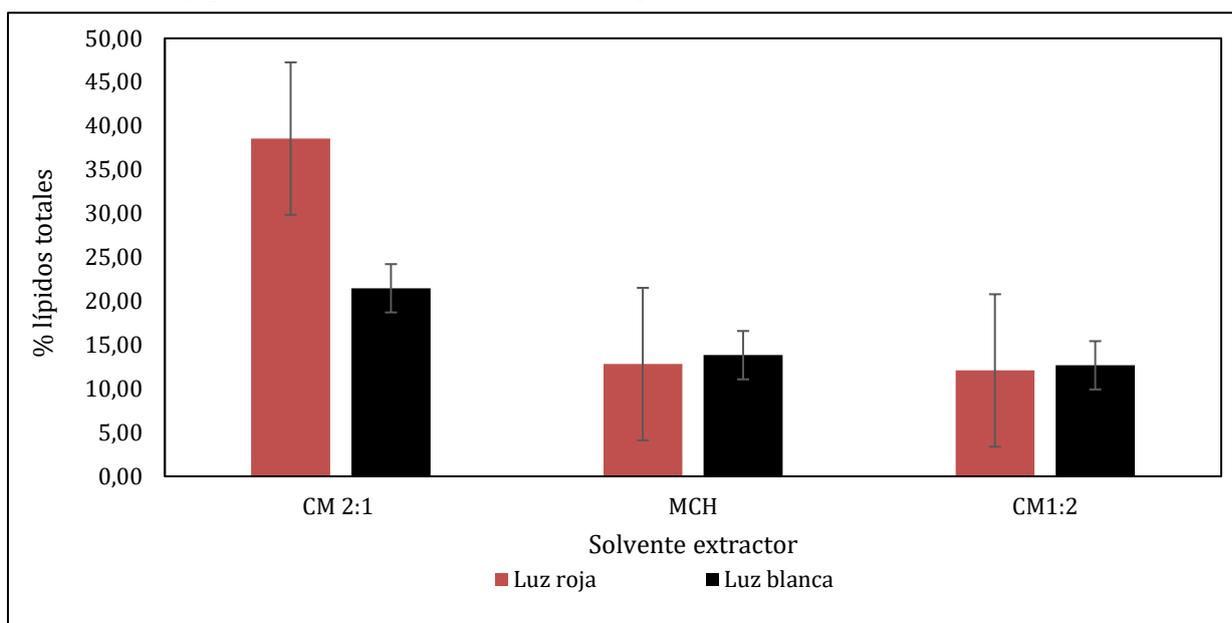


Figura 6 Porcentaje de extracción de lípidos de la especie *Scenedesmus* sp. cultivada en agua residual de faenamiento con un fotoperiodo de luz artificial blanca y roja, con seis solventes extractores: Metilciclohexano, Cloroformo: metanol 1:2, Cloroformo: metanol 2:1, Etanol, Acetato de etilo y Metanol.

Con los datos obtenidos de la tabla 6 mediante un análisis de varianza ANOVA con la herramienta estadística Infostat e implementando un test de Tukey se determinaron los valores de p para los seis solventes extractores, los cuales dieron como resultado que para el cloroformo metanol 2:1 en ambas luces no cuenta con una diferencia significativa y se posiciona como el mejor solvente, seguido por el metil ciclohexano el cual si muestra una diferencia significativa en relación con el CM (2:1) y como ultimo mejor solvente se tiene al CM (1:2) (Ver Anexos).

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Tabla 6 Productividad de lípidos con los seis solventes extractores utilizados para la microalga *Scenedesmus* sp. en luces LED blanca(control) y roja.

Solventes	Productividad de lípidos luz blanca (g/L·d)	Productividad de lípidos luz roja (g/L·d)
Acetato de etilo	3,91 ± 0,002	1,07 ± 0,01
Etanol absoluto	3,43 ± 0,013	1,27 ± 0,01
CM (1:2)	2,21 ± 0,019	4,02 ± 0,01
CM (2:1)	1,56 ± 0,020	0,33 ± 0,04
MCH	3,99 ± 0,025	6,93 ± 0,009
Metanol	3,33 ± 0,009	2,38 ± 0,015

• **Extracción de Ácidos Grasos Libres (AGL)**

Los porcentajes de la extracción de AGL se muestran en la Figura 7, se observa que el primer mejor solvente extractor para la luz blanca fue el metanol con un porcentaje de AGL del 29,19 % con biomasa seca; el segundo mejor solvente para la misma luz fue el CM (2:1) con un 25,69 % y como tercer mejor solvente tenemos al CM (1:2) con un porcentaje final de 20,91 %. Para la luz roja en cambio los solventes varían en los siguientes, en primer lugar, tenemos al metanol con un porcentaje de AGL del 28,46 % en biomasa seca. Como segundo mejor solvente tenemos al CM (2:1) con un 24,95 % y en último lugar, el etanol absoluto brindó un porcentaje de 15,05 % respectivamente.

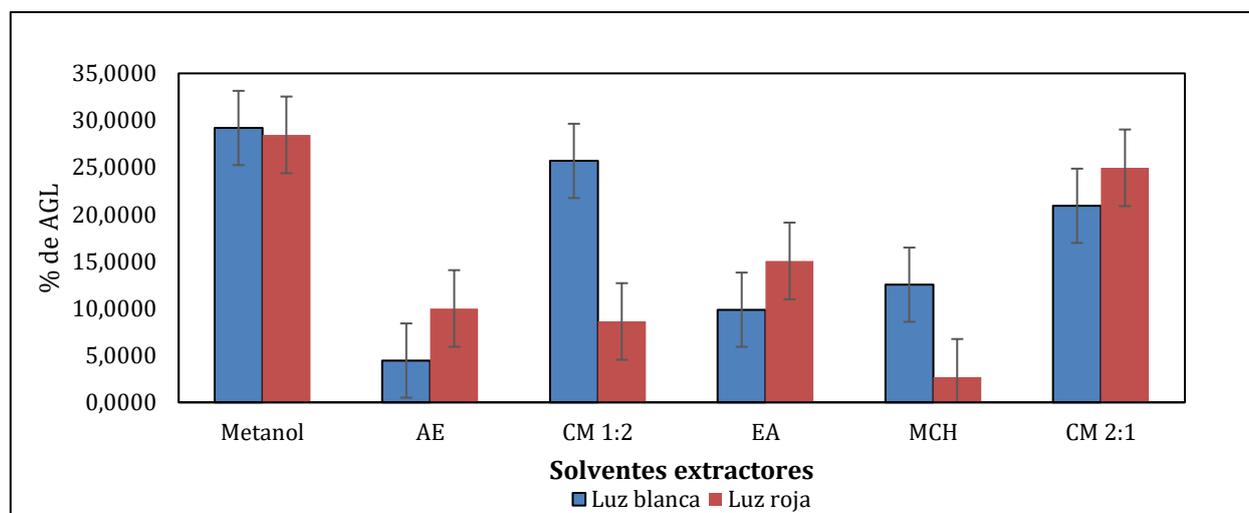


Figura 7 Porcentaje de extracción de AGL de la especie *Scenedesmus* sp. Cultivada en agua residual de faenamiento avícola, en luz LED roja y blanca (control).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

• Extracción de Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos (FAME)

La Figura 8 muestra los porcentajes de FAME de acuerdo con los tres métodos descritos en la sección de Metodología. Para la especie cultivada en la luz blanca y empleando la biomasa directa seca (método directo) se obtuvo que con la ayuda del catalizador ácido heterogéneo (resina CT-269) la extracción superó el 80,9 % de FAME en relación con el catalizador homogéneo (ácido sulfúrico) que logró obtener un 59,8 %. Con la luz roja en cambio el mejor catalizador para la extracción de FAME fue el ácido sulfúrico con porcentaje de 88,33 % en comparación con la resina que tuvo un 62,44 %.

Para el método de extracción indirecto a partir de lípidos previamente extraídos se determinó que en la luz blanca el catalizador heterogéneo (resina CT-269) obtuvo un mayor porcentaje de obtención de FAME en la mayoría de los solventes en relación con el ácido sulfúrico. La mezcla de CM (2:1) fue el mejor solvente debido a que extrajo 94,7 %, seguido por el CM (1:2) con un 67,7 %. Para la luz roja en cambio el mejor solvente fue el CM (2:1) con un 86,45 % con el catalizador heterogéneo resina; sin embargo, se obtuvo también un buen porcentaje con el ácido sulfúrico en el mismo solvente con un 88,33 %. Para los demás solventes (etanol, metanol y acetato de etilo) sus porcentajes en ambos catalizadores eran muy bajos para ser tomados en cuenta, sus datos variaban entre 38 - 45,2 %. Para la extracción indirecta a partir de AGL previamente extraídos, se obtuvo que el mejor solvente para ambos colores de luces fue el CM (2:1) con el catalizador heterogéneo (resina CT-269), obteniendo un 73,61 % para la luz roja y un 77,26% para la luz blanca.

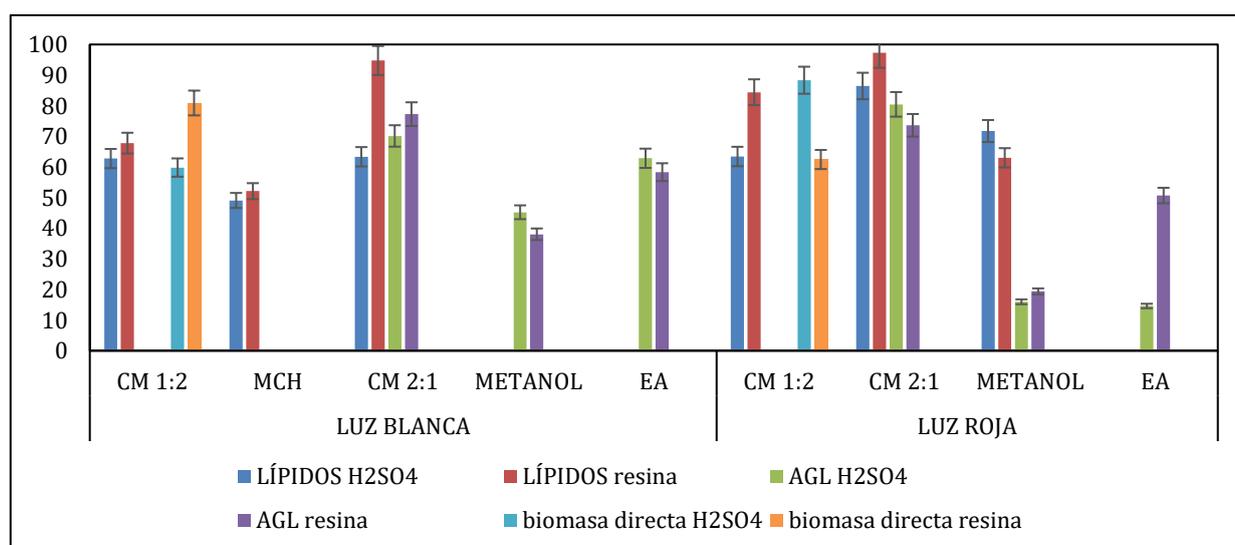


Figura 8. Porcentaje de extracción de Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos (FAME) de *Scenedesmus* sp. cultivadas en agua residual de faenamiento avícola. Los valores finales son el

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

resultado del promedio de sus triplicados con su desviación estándar.

• **Cromatografía en capa fina (Thin Layer Chromatography-TLC)**

En la cromatografía de capa fina (TLC) los resultados obtenidos se observan en la Figura 9, en donde se aprecia el recorrido de las muestras en las placas de sílice en donde el estándar corresponde a un éster de colesterol (oleato de colesterol) que sirve como un guía para determinar los recorridos de las demás muestras, las cuales se tomaron de la extracción de FAME de ambas luces blanca (control) y roja con biomasa directa de ambos catalizadores y con biomasa indirecta con el mejor solvente extractor CM (2:1) con los catalizadores (H_2SO_4 y resina CT-269).

En la figura 9 apartado (A) se muestra el resultado obtenido de la TLC para la muestra de biomasa directa con el catalizador de ácido sulfúrico (H_2SO_4), la fase móvil del estándar se observa en la parte superior izquierda y se evidencia la marca del éster de colesterol; para efectos de la luz roja se determina la presencia de monoglicéridos los cuales son compuestos orgánicos de bajo porcentaje de ácidos grasos, triglicéridos y ésteres metílicos (Alvarez, *et al.*, 2018). Para la luz blanca en su fase móvil se obtiene una marca que determina la presencia de ácidos grasos libres.

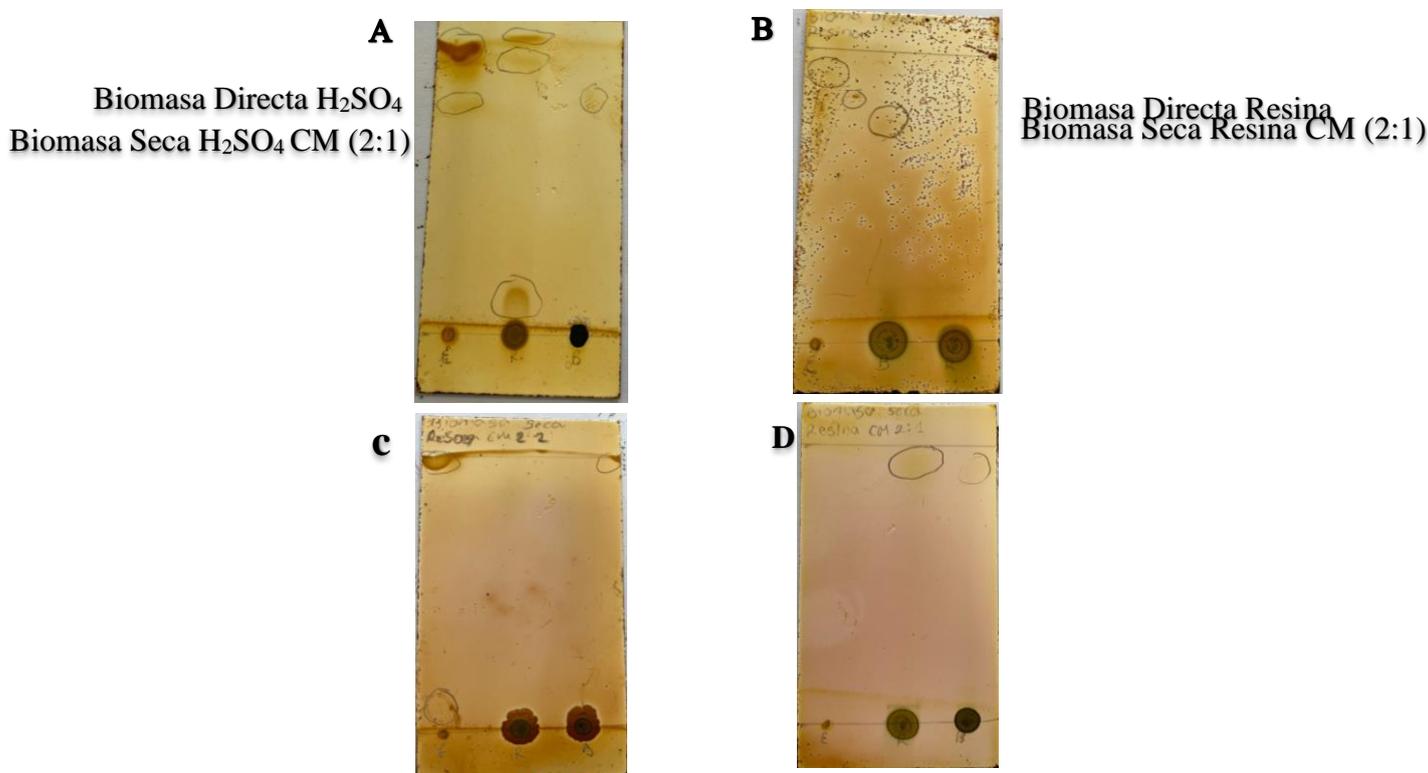


Figura 9 Cromatografía en capa fina de FAME obtenidos a partir de la microalga *Scenedesmus* sp. cultivada en agua de faenamiento avícola en un fotoperiodo 12:12 con luces artificiales blanca (control) y roja. E: Estándar (Oleato de colesterol).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

En el apartado (B) se tiene el resultado obtenido de la TLC para la muestra de biomasa directa, pero con el catalizador de resina en el cual la fase móvil de su estándar marca la presencia de ésteres de colesterol, y para efectos de la muestra en luz blanca se evidencia la presencia de ésteres metílicos de ácidos grasos y para la luz roja no se obtuvo ningún tipo de recorrido. Para los apartados (C) y (D) de biomasa directa FAME con el mejor solvente extractor CM (2:1), se obtuvo que en el catalizador con ácido sulfúrico (C) para la luz roja no hubo ninguna presencia de algún tipo de ácido graso o éster metílico esto se puede deber a que la muestra no contenía suficiente solvente para permitir la movilidad de los componentes de la muestra, la información obtenida en cambio en la luz blanca si nos indica la presencia de ésteres metílicos. En el apartado (D) usando la muestra de CM (2:1) con el catalizador resina para ambas luces se determina la presencia de ésteres metílicos.

Tabla 7 Factor de retención de FAME mediante biomasa directa con ambos catalizadores (H₂SO₄ y Resina) obtenidos a partir de *Scenedesmus* sp. en el medio de cultivo de faenamiento avícola con un fotoperiodo de luz artificial blanca (control) y roja.

Catalizador	Recorrido luz blanca	R_F	Recorrido del estándar	R_F
Resina	4,5	0,75	5,7	0,95
H₂SO₄	5,4	0,9	5,9	0,98
Catalizador	Recorrido luz roja	R_F	Recorrido del estándar	R_f
Resina	1,1	0,18	5,7	0,95
H₂SO₄	5,8	0,97	5,9	0,98

En la tabla 7 se observan los resultados obtenidos de la fase móvil con la muestra de biomasa directa para ambos catalizadores, para efectos de la determinación del factor de retención, se toma como referencia el recorrido de la muestra estándar para las dos luces. En la luz blanca el catalizador que más se acerca al valor del estándar (0,98) es el ácido sulfúrico con un factor de retención de 0,9 respectivamente. Para la luz roja los datos no varían tanto, el ácido sulfúrico (0,97) es el que más se acerca al valor del estándar (0,98).

En la placa de gel de sílice con cloroformo: metanol (2:1) como fase móvil se observó que las muestras colocadas recorrieron diferentes distancias, las cuales se especifican en la tabla 8, siendo posible su identificación a través de una comparación bibliográfica con el factor de retención de cada muestra; lo cual indicó que en la muestra de luz LED blanca (control) con el solvente extractor CM (2:1) el mejor recorrido se dio con catalizador H₂SO₄ debido a que su valor de factor de retención es el más cercano al estándar, mientras que para la luz roja el catalizador que rindió mejor fue la resina.

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Tabla 8 Factor de retención de FAME mediante biomasa indirecta teniendo como mejor solvente extractor el CM (2:1) con ambos catalizadores (H₂SO₄ y Resina) obtenidos a partir de *Scenedesmus* sp. en el medio de cultivo de faenamiento avícola con un fotoperiodo de luz artificial blanca (control) y roja.

Catalizador	Recorrido luz blanca	R _F	Recorrido del estándar	R _F
Resina	5,5	0,92	6	0,95
H ₂ SO ₄	5,8	0,97	5,8	0,88
Catalizador	Recorrido luz roja	R _F	Recorrido del estándar	RF
Resina	5,7	0,95	6	1
H ₂ SO ₄	2,9	0,48	5,8	0,97

5. Discusión de resultados

Crecimiento celular y peso seco

En el crecimiento celular de la microalga *Scenedesmus* sp. se pudieron evidenciar cuatro fases de crecimiento: lag, exponencial, estacionaria y muerte celular. Haciendo una comparación con ambas luces blanca y roja se puede observar en la Figura (1) que en el cultivo con agua de faenamiento avícola en luz blanca existe una pequeña fase de retraso, lo que nos puede indicar que tuvo un periodo más largo de adaptación al medio, esto debido a que quizás la intensidad de la luz era demasiado baja, ya que para que las microalgas puedan llegar a su fase de crecimiento exponencial de manera rápida se requiere de una alta intensidad de luz para maximizar su fotosíntesis y por ende el crecimiento celular (Ren, H et. 2023).

En la luz roja en cambio no se notó ninguna fase de retraso, lo que nos indica que hubo una adaptación normal al medio residual, pero este rápido crecimiento puede deberse también a que la luz roja cuenta con un efecto positivo en la regulación del florecimiento y la producción de biomasa ya que la microalga cuando se es expuesta a la luz roja su capacidad para absorber selectivamente esta longitud de onda le permite una mejor eficiencia en la conversión de la luz en energía química, lo cual aporta a un aumento en su productividad. (López T. et al., 2022). Para su estado estacionario en ambas luces se evidencia un periodo relativamente normal aproximadamente entre los días 4 al 8 en el caso de la luz roja y en la luz blanca los días 7 al 10. Comparando la especie *Scenedesmus* sp. con ambas luces se deduce que en la luz roja hubo una mayor concentración celular frente a la luz blanca, y los datos obtenidos en la tasa de crecimiento confirman la eficiencia y ventajas de esta luz y la adaptabilidad de las microalgas a este tipo de luces en un medio de cultivo de faenamiento avícola.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Para efectos de la discusión en el crecimiento de la microalga *Scenedesmus* sp. en agua de faenamiento avícola la literatura es muy escasa; sin embargo, el artículo de Quevedo et al., (2020) revela que realizaron un cultivo utilizando una cepa de la microalga *Scenedesmus* sp. en un medio estándar; cada cultivo recibió 0,2 g/L de inóculo y el experimento se realizó a temperatura ambiente (25 ± 3 °C), con un fotoperiodo día con luz solar y noche de 12:12, $12 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ de intensidad lumínica y 200 rpm de agitación. Los análisis y experimentos se realizaron por triplicado. Cabe resaltar que el periodo de cultivo de este estudio fue de 48 días, y se obtuvieron los siguientes resultados en cuestión de crecimiento celular, para la fase lag o de adaptación al medio se obtuvo que culminó a partir del día 4, y con una fase exponencial que duró 19 días, pasado ese tiempo a partir de los días 20 y 30 se presentó la fase estacionaria para posteriormente la muerte celular; obteniéndose así una concentración de biomasa final de $0,408 \pm 0,027$ (g/L), una productividad de 0,013 (g/Ld), un tiempo de duplicación celular de 0,824 (d) y una velocidad específica de crecimiento de $0,035 \mu$. Estos resultados son mejores en comparación con los obtenidos en el presente estudio, lo cual era de esperarse al usar un medio idóneo para el cultivo.

Para el peso seco no se aprecia gran diferencia en los resultados, lo que puede destacarse es que en peso seco la luz blanca los primeros días rindió mejor que la luz roja; sin embargo, a partir del segundo día de cultivo el peso seco realizado por triplicado en ambas luces, indicaba que la luz roja tenía un mejor crecimiento hasta finalizar los 14 días de cultivo. En un estudio realizado por Yaakob, M. A et al., (2021) se cultivó la microalga *Scenedesmus* sp. en luz blanca natural en un medio de cultivo de agua residual de faenamiento de pollos, en la cual se analizó el crecimiento de la microalga por recuento celular y peso seco. En este estudio los resultados demostraron que la biomasa de peso seco obtenida fue de 0,97 g/L a 20 °C con un fotoperiodo de 15 h para el resultado observado que fue ligeramente diferente a los resultados predichos (0,46). Por lo que al analizar la literatura y comparar con los datos del presente trabajo, se puede determinar que los valores estuvieron bajos en comparación a los del autor citado.

Adicionalmente se analizó otro estudio realizado por Mubashar, M. (2024), del crecimiento de *Scenedesmus* sp. en aguas municipales. Estos cultivos se mantuvieron en tanques al aire libre con aireación continua durante 20 días, temperatura de 23 °C y fotoperiodos no regulados. El peso seco fue de 0,036 g/L y el recuento de células se utilizó para evaluar el crecimiento de las microalgas. Se puede determinar que los resultados comparados con la literatura demuestran que los datos del presente trabajo de investigación son mejores que los del autor.

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Remoción de nutrientes

En las tablas 4 y 5 se muestran las remociones totales de los parámetros fisicoquímicos analizados en un laboratorio externo certificado para el análisis de agua en la ciudad de Quito. En el caso del análisis de la luz blanca se muestra que hubo remoción para nitrógeno, fósforo, carbono total, hierro, nitrógeno amoniacal, potasio, sodio y turbidez. Los valores de cobre, cromo, molibdeno, níquel y plomo se encontraron fuera de rango de la técnica analítica empleada; en el caso del calcio no se pudo cuantificar debido a que no hubo una remoción sino un incremento en la concentración; esto puede ser debido a que, al inocular el medio, al cultivo de microalgas se le agrega el medio BBM el cual contiene un porcentaje de calcio de 1 g.

Para efectos de la luz roja se evidencia la remoción para nitrógeno, carbono total, hierro, sodio y turbidez. En los valores del cobre, cromo, molibdeno, nitrógeno amoniacal, níquel y plomo no se obtuvo una remoción debido a que los valores se encontraron fuera del rango de la química analítica empleada, y para los casos del fósforo, calcio y potasio no se determinó una remoción ya que hubo un incremento en los valores de concentración final.

La literatura sobre la remoción de nutrientes en términos de metales pesados en agua residual de mataderos de origen avícola es escasa debido a que son trabajos de investigación relativamente nuevos. Sin embargo, Valdiveloo (2024) evaluó las propiedades fisicoquímicas de efluentes tratados en el cultivo de *Scenedesmus* sp. de mataderos digeridos anaeróticamente (ADAE), según el autor debido a que permite la descomposición y estabilización de materia orgánica, lípidos y aceites en ambientes con bajos niveles de oxígeno, la digestión anaeróbica (ADAE) es el método elegido por los mataderos que tratan las aguas residuales.

El porcentaje de remoción que reporta el documento para $\text{NH}_3\text{-N}$ fue de 38 y 98% para el cultivo de agua residual reciclada (RWW - recycled waste water). con ausencia de otras formas de nitrógeno como nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2). La eliminación semanal del nitrógeno osciló entre el 70 y el 100 %, las tasas de eliminación de $\text{NH}_3\text{-N}$ estaban entre 3,6 y 7,9 mg/ L·d y 2,5-8,8 mg/L·d. El fósforo representa otro nutriente encontrado en cultivo, la eliminación semanal promedio de PO_4^{3-} en este estudio osciló entre 6 y 52 % para la RWW. En términos de tasas de eliminación diaria, los valores registrados estuvieron entre y 0,4-2,6 mg/L·d para RWW, respectivamente. Para el carbono orgánico total hubo una reducción del 55 % y en turbidez se obtuvo un dato de 43 NTU, se reportaron también metales como hierro, magnesio y manganeso los cuales indicaron una reducción baja. Una vez analizados los valores de la bibliografía

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

obtenida se compara con los resultados de la presente investigación y se determina que para efectos de la calidad en remoción de nutrientes los datos obtenidos señalan que el presente trabajo cuenta con mejores datos que los del autor, esto puede deberse a que fue un medio con mayor control.

Se compararon además, los valores finales de la remoción del agua residual de faenamiento avícola con los valores establecidos por la normativa ambiental del acuerdo ministerial 097-A de noviembre (2015). Los datos revelaron que el contenido de fósforo (43,73 mg/L) supera el valor permisible de la normativa (10 mg/L); el resto de los parámetros cumple satisfactoriamente las concentraciones establecidas para la descarga de aguas al sistema de alcantarillado municipal. En relación con los valores de los metales pesados, no se evidencia ningún cambio significativo con los establecidos por la normativa, por lo cual también hay cumplimiento respecto de las concentraciones de estos metales para la descarga al sistema de alcantarillado.

Extracción de lípidos

Según la metodología implementada por (Medrano-Barboza, et al., 2022).

para que exista una extracción de lípidos efectiva la composición del solvente usado es determinante. En el presente trabajo se evaluaron seis tipos de solventes extractores seleccionados de la bibliografía para determinar si cuentan con la capacidad para extraer lípidos de la microalga *Scenedesmus* sp. cultivada en agua residual de faenamiento avícola esterilizada en la autoclave y sin dilución con un fotoperiodo de luz blanca (control) y roja. En la Figura 7 se observa que el mejor solvente extractor para la luz blanca y roja fue la mezcla cloroformo: metanol (2:1) (38,55 % L.R y 21,47 % L.B), seguido por el metilciclohexano y la mezcla cloroformo: metanol (1:2).

Según la investigación realizada por Lenin Flores Ramos, et al., (2020) en un cultivo con un medio de agua residual de tratamiento acuícola en condiciones no controladas, durante un periodo de 24 días, el estudio determinó que el solvente de extracción de lípidos óptimo para la microalga *Scenedesmus* sp. es cloroformo: metanol (2:1) con un porcentaje de extracción de 45,05 %. Según los resultados del estudio, por el tipo de microalga, se recomienda una proporción de CM de 1:2 o 2:1. Además, se recomienda utilizar una masa de muestra de 25 mg y una duración de extracción de 30 minutos para la microalga *Desmodesmus ametricus* y 10 minutos para la microalga *Nannochloropsis 4Iceánica*. Analizando los datos del solvente implementado en este

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

caso el CM (2:1) con un porcentaje de 38.55% en el presente trabajo de investigación se determina que los datos obtenidos son próximos en comparación con la información bibliográfica.

Extracción de ésteres metílicos de ácidos grasos

En los resultados de la extracción de los ésteres metílicos obtenidos por el cultivo en luz artificial blanca (control) y roja, se determinó que se presentó una mejor extracción con el catalizador resina a comparación del H₂SO₄ en la bimesa directa. Según la investigación realizada por Bermúdez Sierra (2022), los catalizadores de resina cuentan con grupos funcionales específicos que incrementan la reacción de la transesterificación al contar con propiedades estructurales, lo cual agiliza la obtención de los lípidos que se encuentran en la biomasa de las microalgas de la especie *Scenedesmus*.

Para efectos de la extracción de ésteres metílicos de; ácidos grasos con biomasa indirecta (apartado 3.2) el mejor solvente de producción de FAME fue el cloroformo: metanol (2:1) usando el catalizador heterogéneo la resina CT-269 con un valor máximo de 94,78 %. Según el artículo de Bermúdez Sierra, (2022) un buen disolvente para obtener FAME (ésteres metílicos de ácidos grasos) de los lípidos de la microalga *Scenedesmus* sp. es cloroformo-metanol el cual obtuvo un porcentaje de extracción de FAME de 89,7 %. El estudio sugiere una proporción de 1:2 entre disolventes orgánicos polares y no polares, esto debido a su impacto en la solubilidad de las moléculas orgánicas. Dado que dos especies deben estar en la misma fase para poder interactuar, las reacciones químicas suelen ocurrir en una fase homogénea (*Soto-García, et al.2016*). La longitud reducida de la cadena de hidrocarburos, la presencia de grupos funcionales polares y la capacidad de establecer enlaces de hidrógeno con el disolvente aumentan la polaridad y, posteriormente, la solubilidad de los compuestos orgánicos en disolventes polares (*Soto-García, et al.2016*). En *Scenedesmus* sp., esta relación demostró ser efectiva tanto para la extracción de lípidos totales como para la medición de FAME. Sin embargo, hoy en día el uso de disolventes halogenados es cada vez más limitado tomando en cuenta los impactos ambientales negativos de este tipo de solventes, por lo cual las investigaciones en el campo de obtención de lípidos de microalgas buscan usar solventes más amigables o respetuosos con el medio ambiente (*Medrano-Barboza, et al., 2022*).

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

Para efectos de los resultados obtenidos en la cromatografía de capa fina (TLC), se puede observar que en las cuatro plantillas con las cuatro muestras de biomasa directa e indirecta con los catalizadores resina y ácido sulfúrico (H_2SO_4) hubo presencia de ésteres metílicos específicamente en la luz roja para la muestra de biomasa directa con el catalizador de ácido sulfúrico (A), lo mismo sucedió con la muestra de biomasa indirecta con el solvente extractor CM (2:1) resina (D). Sin embargo, para las demás muestras no se presentó ninguna señal para FAME para la muestra de luz roja y blanca, esto no indica que no existe presencia de ésteres metílicos de ácidos grasos ya que algunos factores de la metodología implementada para la TLC pudieron haber afectado la correcta lectura de los componentes presentes en las muestras lipídicas, para efectos de nuestro trabajo se usó una cámara con el medio de cloroformo puro para la corrida de las muestras, pero en el estudio realizado por Pandian Prabakaran, et al., (2022) se analizaron dos placas de sílice para TLC con muestras de agua tomadas en cuerpos de agua dulce con la microalga *Scenedesmus* sp. empleando una fase móvil en acetato de etilo:metanol:agua a una concentración (40:5:4.4). Las moléculas de lípidos separadas eran visibles gracias al vapor de yodo, el cual fue un material también utilizado en el presente trabajo. Los resultados obtenidos por el autor demostraron puntos marrones sobre un fondo blanco, indicando la presencia de moléculas lipídicas en las placas, según el autor esto se pudo deber al tiempo de espera para el recorrido (15 min). Comparando los datos se puede determinar que al haber sido un medio con una concentración diluida y un tiempo de recorrido más amplio que el brindado en el presente trabajo de investigación (10min), pudo obtener resultados óptimos que los presentados en esta investigación.

Considerando que la metodología de la cromatografía en capa fina es una técnica más cualitativa que cuantitativa, la mayoría de los autores que investigan en el campo de lípidos de microalgas optan por una opción más cuantitativa como la obtención del perfil lipídico de microalgas en los que se encuentran porcentajes y cantidades de concentración de cada tipo de ésteres metílicos de ácidos grasos clasificados según si se trata de ácidos saturados, insaturados, ácidos grasos totales, etc. Esto permite una mejor comparación con la composición de los ésteres metílicos de ácidos grasos encontrados en el biodiesel y en los FAME extraídos de microalgas.

Para efecto de los análisis de varianza ANOVA realizados para el porcentaje de remoción de nutrientes, según el p value ($<0,005$) obtenido de los datos, se evidencia una diferencia significativa en la remoción de los nutrientes del COT y fósforo en ambas luces, siendo la luz roja la que cuenta con un mejor porcentaje de remoción. Según los autores (Lee C, et al., 2015) diversos factores como el tipo de luz empleado pueden afectar al porcentaje de eliminación

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

de fósforo y COT en un cultivo de microalgas *Scenedesmus* sp. En el caso de este tipo de microalgas el autor señala que la luz LED blanca con longitudes de onda entre 380 y 750 nm cuenta con un porcentaje de remoción mínimo en comparación con la luz LED roja que cuenta con 620 y 750 nm y producen máximas eficiencias de eliminación de COT y fósforo.

6. Conclusiones

En el presente trabajo se caracterizó el agua residual de faenamiento avícola en fotoperiodos 12:12 de luz artificial blanca (control) y roja, para la determinación de sus parámetros fisicoquímicos, obteniendo así resultados óptimos para su uso potencial como medio de cultivo para la microalga *Scenedesmus* sp. en donde la microalga logró crecer de manera eficaz.

Adicionalmente se analizó el crecimiento celular en ambas luces (blanca y roja) de *Scenedesmus* sp. siendo la luz roja el tipo de luz con mayor crecimiento de biomasa. Para la parte de remoción de nutrientes como NT, PT y COT la luz blanca cuenta con el mayor potencial de remoción con un factor óptimo (> 90 %), así como de ciertos metales pesados encontrados. Con los datos obtenidos también se determinó el cumplimiento de la normativa ambiental ecuatoriana para la descarga de aguas al sistema de alcantarillado municipal, observando que se cumplen los límites permisibles establecidos en la legislación con la excepción de la concentración del fósforo (>10 %).

Finalmente se logró caracterizar el porcentaje de extracción de lípidos de ambas luces mediante la biomasa microalgal, obteniendo así al mejor solvente extractor en las dos luces al CM (2:1), seguido por el MCH y CM (1:2). En la parte de AGL y FAME se obtuvieron porcentajes altos (> a 90%), a través de las distintas técnicas de extracción establecidas, siendo similares y en algunos casos inferiores a la de los citados por autores.

En conclusión, el uso de agua residual de faenamiento avícola en el cultivo con fines de obtención de biomasa para la potencial producción de lípidos representa una idea prometedora dentro de la biotecnología ambiental. Sin embargo, para determinar si este tipo de agua residual es adecuado para dicho cultivo, se requiere un análisis exhaustivo que evalúe la composición química y biológica del agua, así como su impacto en el crecimiento y la calidad de la biomasa

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

y lípidos producidos. Además, es crucial considerar los aspectos de sostenibilidad y seguridad ambiental en la implementación de esta práctica.

En última instancia, con la investigación adecuada, el aprovechamiento de agua residual de faenamiento avícola en cultivos de microalgas para la producción de biomasa y lípidos podría ofrecer una solución innovadora y sostenible para el tratamiento de desechos industriales y la producción de recursos valiosos en el campo de la biotecnología ambiental.

7. Recomendaciones

Sería recomendable ampliar las investigaciones en relación con el uso de agua residual de faenamiento de diversas especies animales, debido a que estas contienen nutrientes y propiedades que pueden ser aprovechados para el crecimiento óptimo y exponencial de las microalgas, además de que se le brindaría un mejor uso para ese tipo de agua que suele ser desechada sin pretratamiento (especialmente en pequeñas industrias), lo cual genera contaminación y sería una alternativa útil para la biorremediación de aguas residuales.

También se recomienda el uso de fotoperiodos 12:12 para los cultivos con microalgas debido a que el mayor tiempo que una planta este expuesta a la luz puede afectar el crecimiento de las microalgas, este tiempo le brinda a la microalga un ambiente óptimo. La iluminación artificial permite regular el fotoperiodo según las necesidades de las microalgas, lo que podría resultar beneficioso para su desarrollo y crecimiento. También se pueden hacer pruebas con cultivos con diferente intensidad de luz para comprobar el efecto sobre los cultivos.

Para futuras investigaciones se recomienda el uso de disolventes más amigables con el ambiente como una opción para orientar las investigaciones hacia el uso de tecnologías verdes. Un ejemplo de ellos podrían ser los solventes iónicos, los cuales son sales líquidas que se encuentran a temperatura ambiente y que consisten en iones positivos y negativos. En cuanto a sus características físicas y químicas, los líquidos iónicos superan a los disolventes orgánicos tradicionales como éteres, cetonas y alcoholes. Los líquidos iónicos tienen la capacidad de disolver compuestos orgánicos polares y no polares, así como materiales inorgánicos y poliméricos debido a su contenido y naturaleza iónica (*Florianne, et al. 2015*). Los líquidos iónicos tienen algunos beneficios, como la capacidad de permanecer líquidos a temperaturas superiores a las del entorno y el hecho de que no reaccionan ni cambian cuando hay reactivos,

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

productos o catalizadores presentes; además, no liberan emisiones que contaminen la atmósfera, algunos ejemplos de líquidos iónicos son los siguientes acetato de 2-hidroxi-dietilamonio (2-HDEAA), acetato de 2-hidroxi-etilamonio (2-HEAA) y formiato de 2-hidroxi-etilamonio (2-HEAF) (*Florianne, et al. 2015*).

Adicionalmente se recomienda analizar el contenido de lípidos, AGL y FAME con análisis de perfil lipídico para tener valores más certeros en cuanto a contenidos y composiciones de los lípidos extraídos y que son mucho más completos para analizar en comparación con las técnicas gravimétricas aplicadas en esta investigación.

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

8. Anexos

Anexo 1 Límites de descarga de un cuerpo de agua dulce del Acuerdo Ministerial 097-A del Ministerio de Ambiente de fecha 4 de noviembre de 2015

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y Grasas.	Sust. solubles en hexano	mg/l	30,0
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	2,0
Boro Total	B	mg/l	2,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Cianuro total	CN ⁻	mg/l	0,1
Cinc	Zn	mg/l	5,0
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cloroformo	Ext. carbón cloro formo ECC	mg/l	0,1
Cloruros	Cl ⁻	mg/l	1 000
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	NMP	NMP/100 ml	Remoción > a 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	* Inapreciable en dilución: 1/20
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/l	0,2
Cromo hexavalente	Cr ⁺⁶	mg/l	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO ₅	mg/l	50,0
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg/l	100,0
Estaño	Sn	mg/l	5,0
Fluoruros	F	mg/l	5,0
Fósforo Total	P	mg/l	10,0
Hierro total	Fe	mg/l	10,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20,0
Manganeso total	Mn	mg/l	2,0
Materia flotante	Visibles		Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/l	0,005
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitrógeno amoniacal	N	mg/l	30,0
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	50,0
Compuestos Organoclorados	Organoclorados totales	mg/l	0,05
Compuestos Organofosforados	Organofosforados totales	mg/l	0,1
Plata	Ag	mg/l	0,1
Plomo	Pb	mg/l	0,2
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Selenio	Se	mg/l	0,1
Sólidos Suspendedos Totales	SST	mg/l	80,0
Sólidos totales	ST	mg/l	1 600
Sulfatos	SO ₄ ⁻²	mg/l	1000
Sulfuros	S ⁻²	mg/l	0,5
Temperatura	°C		< 35
Tensoactivos	Activas al azul de metileno	mg/l	0,5
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/l	1,0

* La apreciación del color se estima sobre 10 cm de muestra diluida

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Anexo 2 Tabla de crecimiento celular de la microalga *Scenedesmus* sp. en luz artificial LED blanca (control).

FACTOR DE DILUCIÓN	DÍAS	A1	A2	B1	B2	TOTAL	CONC. CELULAR (CEL/ML)
1	0	35	32	35	35	34,25	5,35 ± 1,50
1	1	38	36	30	30	33,5	5,23 ± 4,12
10	2	28	27	32	30	29,5	4,57 ± 2,22
10	3	14	15	20	19	17	2,66 ± 2,94
100	4	19	17	18	18	18	2,81 ± 8,16
100	5	32	36	32	31	32,75	5,12 ± 2,22
100	6	43	44	54	56	49,25	7,70 ± 6,70
100	7	44	42	49	50	46,25	7,23 ± 3,88
100	8	49	50	42	45	46,50	7,27 ± 3,70
100	9	50	48	46	46	47,50	7,42 ± 1,91
100	10	47	46	46	45	46	7,19 ± 8,16
100	11	40	41	43	43	41,75	6,52 ± 1,05
100	12	38	38	32	31	34,75	5,43 ± 3,77
100	13	36	35	31	31	33,25	5,20 ± 2,63
100	14	29	28	30	28	28,75	4,49 ± 9,57

Anexo 3 Tabla de crecimiento celular de la microalga *Scenedesmus* sp. en luz LED artificial roja

FACTOR DE DILUCIÓN	DÍAS	A1	A2	B1	B2	TOTAL	CONC. CELULAR (CEL/ML)
1	0	30	29	40	40	34,8	5,43 ± 6,08
1	1	20	21	25	26	23	3,59 ± 2,94
10	2	61	62	47	50	55	8,59 ± 7,62
10	3	52	51	60	62	56,3	8,79 ± 5,56
100	4	56	55	66	67	61	9,53 ± 6,38
100	5	68	69	70	72	69,8	1,09 ± 1,71
100	6	72	70	65	60	66,8	1,04 ± 5,38
100	7	76	75	70	73	73,5	1,15 ± 2,65
100	8	75	77	74	71	74,3	1,16 ± 2,50
100	9	72	72	64	66	68,5	1,07 ± 4,12
100	10	62	65	66	63	64	1,00 ± 1,83
100	11	60	58	55	51	56	8,75 ± 3,92
100	12	48	50	49	46	48,3	7,54 ± 1,71
100	13	44	45	44	43	44	6,88 ± 8,16
100	14	40	42	35	33	37,5	5,86 ± 4,20

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Anexo 4 Tabla de peso seco de la microalga *Scenedesmus* sp. en luz artificial LED blanca (control).

DÍAS	A	B	C	PROMEDIO (g/L)
0	0,0022	0,0020	0,0043	0,0028
1	0,0039	0,0052	0,0010	0,0034
2	0,0036	0,0031	0,0033	0,0033
3	0,0011	0,0044	0,030	0,0028
4	0,0014	0,0050	0,0020	0,0028
5	0,0020	0,0060	0,0021	0,0034
6	0,0066	0,0025	0,0009	0,0033
7	0,0032	0,0050	0,0018	0,0033
8	0,0014	0,0041	0,0078	0,0044
9	0,0061	0,0044	0,0032	0,0046
10	0,0033	0,0071	0,0057	0,0054
11	0,0015	0,0060	0,0085	0,0053
12	0,0043	0,0041	0,0086	0,0057
13	0,0033	0,0048	0,0028	0,0036
14	0,0014	0,0009	0,0034	0,0019

Anexo 5 Tabla de peso seco de la microalga *Scenedesmus* sp. en luz artificial LED roja.

DÍAS	A	B	C	PROMEDIO (g/L)
0	0,0046	0,0006	0,0031	0,0028
1	0,0027	0,0003	0,0037	0,0022
2	0,0018	0,0028	0,0037	0,0028
3	0,0028	0,0011	0,0073	0,0037
4	0,0027	0,0025	0,0053	0,0035
5	0,0047	0,0015	0,0065	0,0042
6	0,0034	0,0022	0,0075	0,0044
7	0,0018	0,0061	0,0059	0,0046
8	0,0012	0,0016	0,0118	0,0049
9	0,0072	0,0045	0,0056	0,0058
10	0,0091	0,0050	0,0037	0,0059
11	0,0033	0,0057	0,0079	0,0056
12	0,0061	0,0058	0,0060	0,0060
13	0,0020	0,0020	0,0085	0,0042
14	0,0024	0,0025	0,0010	0,0020

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Anexo 6 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en la remoción del nitrógeno en ambas luces LED

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
N (mg/L)	32	0.03	1.6E-03	71.82

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	140.28	1	140.28	1.05	0.3137
Tipo de Luz	140.28	1	140.28	1.05	0.3137
Error	4008.44	30	133.61		
Total	4148.72	31			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=8.34633
 Error: 133.6146 gl: 30

Tipo de Luz	Medias	n	E.E.
LUZ ROJA	18.19	16	2.89 A
LUZ BLANCA	14.00	16	2.89 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 7 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en la remoción del carbono orgánico total en ambas luces LED

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
c (mg/L)	32	0.54	0.53	50.44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1953.13	1	1953.13	35.89	<0.0001
Tipo de Luz	1953.13	1	1953.13	35.89	<0.0001
Error	1632.38	30	54.41		
Total	3585.50	31			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=5.32621
 Error: 54.4125 gl: 30

Tipo de Luz	Medias	n	E.E.
LUZ ROJA	22.44	16	1.84 A
LUZ BLANCA	6.81	16	1.84 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Anexo 8 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en la remoción del fósforo total en ambas luces LED

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
P (mg/L)	32	0.53	0.52	33.19	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2148.40	1	2148.40	34.21	<0.0001
Tipo de Luz	2148.40	1	2148.40	34.21	<0.0001
Error	1883.92	30	62.80		
Total	4032.32	31			
Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=5.72189					
Error: 62.7973 gl: 30					
Tipo de Luz	Medias	n	E.E.		
LUZ ROJA	32.07	16	1.98	A	
LUZ BLANCA	15.68	16	1.98	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)					

Anexo 9 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en la remoción de biomasa total en ambas luces LED

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Biomasa Total (g/L)	30	0.03	0.00	30.86	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.4E-06	1	1.4E-06	0.92	0.3464
Tipo de Luz	1.4E-06	1	1.4E-06	0.92	0.3464
Error	4.2E-05	28	1.5E-06		
Total	4.3E-05	29			
Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00091					
Error: 0.0000 gl: 28					
Tipo de Luz	Medias	n	E.E.		
LUZ ROJA	4.2E-03	15	3.2E-04	A	
LUZ BLANCA	3.7E-03	15	3.2E-04	A	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)					

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Anexo 10 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en la remoción de productividad total en ambas luces LED

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Productividad Volumetrica ..	12	0.12	0.03	142.63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.2E-03	1	2.2E-03	1.31	0.2794
Tipo de Luz	2.2E-03	1	2.2E-03	1.31	0.2794
Error	0.02	10	1.7E-03		
Total	0.02	11			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.05266
 Error: 0.0017 gl: 10

Tipo de Luz	Medias	n	E.E.
LUZ ROJA	0.04	6	0.02 A
LUZ BLANCA	0.02	6	0.02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 11 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en la remoción de productividad específica en ambas luces LED

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Productividad Específica (..	12	0.03	0.00	70.31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.7E-04	1	1.7E-04	0.30	0.5953
Tipo de Luz	1.7E-04	1	1.7E-04	0.30	0.5953
Error	0.01	10	5.7E-04		
Total	0.01	11			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.03073
 Error: 0.0006 gl: 10

Tipo de Luz	Medias	n	E.E.
LUZ ROJA	0.04	6	0.01 A
LUZ BLANCA	0.03	6	0.01 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp.
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

Anexo 12 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en los solventes utilizados para la extracción de lípidos en luz LED roja.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1489.34	5	297.87	29.80	<0.0001
Solvente	1489.34	5	297.87	29.80	<0.0001
Error	119.93	12	9.99		
Total	1609.28	17			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=9.19629					
Error: 9.9946 gl: 12					
Solvente	Medias	n	E.E.		
2:1 CLOROFORMO METANOL	38.55	2	2.24	A	
METIL CICLOHEXANO	12.81	2	2.24	B	
1:2 CLOROFORMO METANOL	12.08	4	1.58	B	
METANOL	10.14	4	1.58	B	
ACETATO DE ETILO	9.22	2	2.24	B	
ETANOL ABSOLUTO	7.50	4	1.58	B	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 13 Análisis de varianza ANOVA, realizado en la herramienta infostat para la determinación de diferencias significativas en los solventes utilizados para la extracción de lípidos en luz LED blanca

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	353.39	5	70.68	7.23	0.0024
Solvente	353.39	5	70.68	7.23	0.0024
Error	117.23	12	9.77		
Total	470.62	17			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=9.09204					
Error: 9.7693 gl: 12					
Solvente	Medias	n	E.E.		
2:1 CLOROFORMO METANOL	21.47	2	2.21	A	
METIL CICLOHEXANO	13.83	2	2.21	A	B
1:2 CLOROFORMO METANOL	12.67	4	1.56	A	B C
METANOL	11.32	4	1.56	B	C
ETANOL ABSOLUTO	8.20	4	1.56	B	C
ACETATO DE ETILO	4.62	2	2.21		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

9. Referencias Bibliográficas

- Aguilar, C., & Montoya, H. (2020). Distribución geográfica de la microalga *Dunaliella salina* Teodoresco (Chlorophyta) en territorio peruano. https://www.researchgate.net/publication/337404442_Distribucion_geografica_de_la_microalga_Dunaliella_salina_Teodoresco_Chlorophyta_en_territorio_peruano
- ABALDE, J., Cid, A., Pablo Fidalgo, J., Torres, E., & Herrero, C. (2019). Microalgas: Cultivo y Aplicaciones (e. g/10.17979). Facultad de Ciencias Universidad De La Coruña.
- Maldonado Barraza, C. R. (2011, October). “INDUCCIÓN LIPÍDICA POR LIMITACIÓN DE NUTRIENTES EN LAS MICROALGAS *Scenedesmus dimorphus* y *Chlorella sorokiniana*.” CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES AVANZADOS, S. C. <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2306/1/TESIS%20CARMEN%20MALDONADO%20TESIS-CIMAV%20-.pdf>
- Guauque Díaz, C. (2019, June). EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE MERCURIO EN AGUAS CONTAMINADAS CON EL METAL EMPLEANDO LA MICROALGA *Scenedesmus* sp. Universidad De Antioquia. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/12238/3/GuauqueIngrid_2018_EvaluacionRemocionMercurio.pdf.
- Beligni, M. V., Bagnato, C., & Pérez, G. L. (2021). Exposición de *Scenedesmus dimorphus* a Cr (VI): selección de cepas tolerantes, mecanismos de resistencia y remoción del metal. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE. https://www.cnea.gob.ar/nuclea/bitstream/handle/10665/1274/Toranzo%2C%20Regina%20María_Tesis%20Doctorado%20en%20Biología.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Quevedo, C., Morales, S. P., & Acosta, A. (2020). CRECIMIENTO DE *Scenedesmus* sp EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROALGAL. REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v15n1/v15n1a04.pdf>
- López Pacheco, I. Y. (2020). Análisis de efectividad de *Chlorococcum littorale* y *Scenedesmus* sp. en biorremediación de aguas residuales. Escuela Agrícola Panamericana. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/faadf616-0702-4dff-9153-89e18e70bf9b/content>
- Nanduca Nolasco, H. E. (2021). Utilización de aguamiel de café y melaza en agua residual sintética en el cultivo de la microalga *Scenedesmus* sp. para la producción de lípidos. CICY. https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/385/1/PCER_M_Tesis_2015_Nanduca_Harbey.pdf

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

- Hernández-Pérez, A., & I. Labbé, J. (2019). Microalgas, cultivo y beneficios. Revista De Biología Marina Y Oceanografía. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>
- Pancha, I., Chokshi, K., Maurya, R., Trivedi, K., Patidar, S. K., Ghosh, A., & Mishra, S. (2015). Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresource Technology*, 189, 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.017>
- Catalina, Q. O. (2008). *Crecimiento de Scenedesmus sp en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal*. Vitae (Medellín);15(1): 25-31, Jan.-jun. 2008. Mapas, Tab | LILACS. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-502217>
- Anabel, R. L. L. (2014). *Evaluación in vitro de la capacidad de biorremediación del consorcio microalgal Chlorella sp – Scenedesmus sp., en la biorremoción de materia orgánica de aguas residuales del Camal de Ambato*. Repositorio Digital UCE. <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/9f936d6f-73aa-4edc-a3f9-1a0d38e62c50>
- Anyanwu, R. C., Rodriguez, C., Durrant, A., & Olabi, A. G. (2022). Evaluation of Growth Rate and Biomass Productivity of *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris* under Different LED Wavelengths and Photoperiods. *Sustainability* (Switzerland), 14(10). <https://doi.org/10.3390/su14106108>
- Alcocer, D. A. Z., curp, & ZAAD950829MQTLLN04. (2022). Energías Renovables en la Agroindustria Queretana como Factor de Competitividad. <https://ring.uaq.mx/handle/123456789/8709>
- Biocombustibles de primera, segunda y tercera generación: ¿qué son? ¿cómo contribuyen a reducir emisiones? · AOP. (2019.). Retrieved January 28, 2024, from <https://www.aop.es/blog/2021/06/03/biocombustibles-de-primera-segunda-y-tercera-generacion-que-son-como-contribuyen-a-reducir-emisiones/>
- Medrano-Barboza, J., Herrera-Rengifo, K., Aguirre-Bravo, A., Ramírez-Iglesias, J. R., Rodríguez, R., & Morales, V. (2022). Pig Slaughterhouse Wastewater: Medium Culture for Microalgae Biomass Generation as Raw Material in Biofuel Industries. *Water* (Switzerland), 14(19). <https://doi.org/10.3390/w14193016>
- Ophantie, G., Escuela, J., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2020). Aplicación de microalgas para la remoción de nutrientes en efluentes agrícolas: Revisión de literatura.
- Uso eficiente del agua en plantas de faenamiento: 1 - El Sitio Avicola. (2019). Retrieved February 4, 2024, from <https://www.elsitioavicola.com/articles/2524/uso-eficiente-del-agua-en-plantas-de-faenamiento-1/>
- La influencia de la luz en el crecimiento del cultivo | PRO-MIX. (2022). <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/la-influencia-de-la-luz-en-el-crecimiento-del-cultivo/>
- López, T. R., Galeano, E. F., dos Santos, M., Rodriguez Bonet, S., & Benitez, A. D. (2022). Cinética de crecimiento y productividad lipídica del alga *Tetrademus wisconsinensis* S. obtenida en un cuerpo de agua de Paraguay. *Investigación Agraria*, 18(1), 22–29. <https://doi.org/10.18004/INVESTIG.AGRAR.2016.JUNIO.22-29>
- Ren, H. Y., Liu, B. F., Ma, C., Zhao, L., & Ren, N. Q. (2023). A new lipid-rich microalga *Scenedesmus* sp. strain R-16 isolated using Nile red staining: Effects of carbon and nitrogen sources and initial pH on the biomass and lipid production. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-143/TABLES/1>

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

- Andrade R, C. E., Vera B, A. L., Cárdenas L, C. H., & Morales A, E. D. (2019). Producción de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. utilizando aguas residuales de pesquería. *Revista Técnica de La Facultad de Ingeniería Universidad Del Zulia*, 32(2), 126–134. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0254-07702009000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Yaakob, M. A., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A., Tiey, A., & Kassim, A. H. M. (2019). Optimizing of *Scenedesmus* sp. biomass production in chicken slaughterhouse wastewater using response surface methodology and potential utilization as fish feeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(12), 12089–12108. <https://doi.org/10.1007/S11356-019-04633-0/TABLES/9>
- Vadiveloo, A., Isiramen, O. E., Bahri, P. A., & Moheimani, N. R. (2024). Effect of recycling treated effluent on the cultivation of *Scenedesmus* sp. in anaerobically digested abattoir effluent (ADAE). *Algal Research*, 77, 103367. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103367>
- Leenin Flores Ramos, Anthony Ruiz Soto, Alberto Isidoro Oscanoa Huaynate, & Miguel Angel Cervantes Gallegos. (2020). Extracción e identificación de lípidos polares de las microalgas *Nannochloropsis oceanica* y *Desmodesmus asymmetricus*. *Revista Colombiana de Química*. <https://www.redalyc.org/journal/3090/309063462001/html/>
- Acevedo, H. H., Ramos, L. F., & Soto, A. R. (2019). Fatty acids in microalgae strains from Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos of IMARPE, Peru. *Revista Peruana de Biología*, 26(3), 369–378. <https://doi.org/10.15381/RPB.V26I3.15356>
- BERMUDEZ-SIERRA, J. J. (2022). EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS DE LA MICROALGA *Scenedesmus* sp. CON DIFERENTES MEZCLAS DE SOLVENTES ORGANICOS. *Biología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(2), 88–98. <https://doi.org/10.18684/BSAA.16N2.1169>
- Cuellar-Bermudez, S. P., Garcia-Perez, J. S., Rittmann, B. E., & Parra-Saldivar, R. (2020). Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: An approach on flue gases utilization for third generation biofuels. *Journal of Cleaner Production*, 98, 53–65. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2014.03.034>
- Lebedev, S. v., Marshinskaia, O. v., & Kazakova, T. v. (2023). Evaluation of the Elemental Composition of Broiler Chickens' Blood Serum Against the Background of Different Nutrient Supply of the Diet. *Russian Agricultural Sciences* 2023 49:1, 49(1), 68–74. <https://doi.org/10.3103/S1068367423010111>
- Peter Nagle, & Kaltrina Tema. (2021). Oil market developments—rising prices amid broader surge in energy prices. *World Bank*. <https://blogs.worldbank.org/opendata/oil-market-developments-rising-prices-amid-broader-surge-energy-prices>
- Acid Fidalgo, E Torres, C Herrero, & Jabalde P. (1998). *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*. UNIVERSIDAD DE CORUÑA. <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>
- Fernando Gálvez Martínez, C., Fernando, G., Benavides, R., & Osorio, J. H. (2020). EL LABORATORIO CLÍNICO EN HEMATOLOGÍA DE AVES EXÓTICAS. *Biosalud*, 8(1), 178–188. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502009000100020&lng=en&nrm=iso&tlng=es

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus* sp. CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL

- Estrada-Guerrero, D. M., & Soler-Tovar, D. (2023). Las aves como bioindicadores de contaminación por metales pesados en humedales. *Ornitología Colombiana*, 14, 145–160. <https://asociacioncolombianadeornitologia.org/ojs/index.php/roc/article/view/355>
- Mubashar, M., Zulekha, R., Cheng, S., Xu, C., Li, J., & Zhang, X. (2024). Carbon-negative and high-rate nutrient recovery from municipal wastewater using mixotrophic *Scenedesmus acuminatus*. *Journal of Environmental Management*, 354, 120360. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2024.120360>
- Reinoso, D. M. (2024). Síntesis de ésteres metílicos de ácidos grasos empleando catalizadores de zinc con propiedades ácido-base. <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/445>
- Pandian Prabakaran, & A. David Ravindran. (2022). *Scenedesmus* as a potential source of biodiesel among selected microalgae on JSTOR. JSTOR. <https://www.jstor.org/stable/24084122>
- Mandal, S., & Mallick, N. (2009). Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(2), 281–291. <https://doi.org/10.1007/S00253-009-1935-6/METRICS>
- Alvarez, M. S., Bahía, S., & Argentina, B. (2018). Valorización catalítica de aceites vegetales: síntesis de ésteres metílicos y monoglicéridos de ácidos grasos. <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/4187>
- Romanelli, G. P., Ruiz, D. M., & Pasquale, G. A. (2017). *Química de la biomasa y los biocombustibles*. Edulp.
- Archana, K., Visckram, A. S., Senthil Kumar, P., Manikandan, S., Saravanan, A., & Natrayan, L. (2024). A review on recent technological breakthroughs in anaerobic digestion of organic biowaste for biogas generation: Challenges towards sustainable development goals. *Fuel*, 358, 130298. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2023.130298>
- Morillas-España, A., Sánchez-Zurano, A., Lafarga, T., del Mar Morales-Amaral, M., Gómez-Serrano, C., Ación-Fernández, F. G., & González-López, C. V. (2021). Improvement of wastewater treatment capacity using the microalga *Scenedesmus* sp. and membrane bioreactors. *Algal Research*, 60, 102516. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.10251>.
- Biomara S. (2015). Cuarta generación: La milla verde - Naukas. <https://naukas.com/2015/07/20/cuarta-generacion-la-milla-verde/>
- Fao. (2022). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos 91 ESTUDIO FAO ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 18(4), 701–714. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>
- Chávez Ordoñez, G. A. (2020). *¿Fincas o empresas agropecuarias? Análisis del contexto de las unidades de producción agropecuarias en la parroquia de Puerto Limón*. <https://dspace.uniandes.edu.ec/handle/123456789/11256>
- Florianne, D., & Borja, C. (2015.). *Líquidos Iónicos: Métodos de Síntesis y Aplicaciones Ionic Liquids: Methods of Synthesis and Applications*.
- María Vélez, Luis, J., Sánchez, G., Carlos, J., & Úbeda, M. (n.d.). *ESTUDIO SOBRE EL MODELADO Y CONTROL DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS EN FOTOBIOREACTORES PARA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL*.
- Flores Ramos, L., & Ruiz Soto, A. (2017). *MANUAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL PERFIL BIOQUÍMICO DE ORGANISMOS ACUÁTICOS MANUAL OF ANALYTICAL METHODS FOR BIOCHEMICAL PROFILE DETERMINATION OF AQUATIC ORGANISMS. Bol Inst Mar Perú*.
- Xin, L., Hu, H., Ke, G., & Sun, Y. (2010). Efectos de las diferentes concentraciones de nitrógeno y fósforo en el crecimiento, la absorción de nutrientes y la acumulación de lípidos de una microalga de agua dulce *Scenedesmus* sp.. *Tecnología de biorecursos*, 101 14, 5494-500. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.016>.

**OBTENCIÓN DE LÍPIDOS A PARTIR DE BIOMASA MICROALGAL DE *Scenedesmus sp.*
CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL DE FAENAMIENTO AVÍCOLA CON LUZ ARTIFICIAL**

- Lee, C., Lee, S., Ko, S., Oh, H., & Ahn, C. (2015). Efectos del fotoperíodo en la eliminación de nutrientes, la producción de biomasa y la dinámica de la población de algas y bacterias en fotobiorreactores a escala de laboratorio que tratan las aguas residuales municipales. *Investigación del agua*, 68, 680-91. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.10.029>.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2020). InfoStat (Versión 2020). Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. <https://www.infostat.com.ar>